



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STUDIUM PROFILU SENZORICKY AKTIVNÍCH LÁTEK MORAVSKÝCH VÍN

STUDY OF THE PROFILE OF SENSORY ACTIVE COMPOUNDS IN MORAVIAN WINES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Markéta Havlíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1725/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Markéta Havlíková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a technologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Studium profilu sensoricky aktivních látek moravských vín

Zadání bakalářské práce:

- Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - víno – charakteristika, složení, technologie výroby,
 - charakteristika vybraných odrůd,
 - sensorické vlastnosti a sensoricky aktivní látky vína – vznik v průběhu výroby,
 - možnosti stanovení sensoricky aktivních látek ve víně, – princip, provedení, přehled aplikací.
- Stanovte a porovnejte sensorický profil vybraných vzorků moravských vín.

Termín odevzdání bakalářské práce: 3.6.2022:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Markéta Havlíková
studentka

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Předmětem této bakalářské práce bylo stanovení a porovnání profilu těkavých látek vybraných vzorků červených vín původem z Moravské vinařské oblasti. Byla analyzována vína tří odrůd – Frankovka, Zweigeltrebe a Rulandské modré.

Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS, součástí práce bylo ověření její linearity (R^2 v rozmezí 0,829–0,999).

Ve vzorcích bylo identifikováno celkem 80 těkavých aromaticky aktivních látek, z nich bylo následně vybráno 23 jako nejvíce zastoupených a charakteristických pro sledované odrůdy. Hlavní pozornost byla věnována odrůdě Frankovka, u níž byla prokázána variabilita v obsahu sledovaných sloučenin nejen v rámci odrůdy, ale i v rámci sledovaných ročníků (2017 vs. 2018).

KLÍČOVÁ SLOVA

víno, aromatické látky, SPME, GC-MS

ABSTRACT

The subject of this bachelor thesis was to determine and compare the profile of volatile substances in selected samples of red wines originating from the Moravian wine region. Wines of three varieties were analyzed – Frankovka, Zweigeltrebe and Pinot Noir.

The HS-SPME-GC-MS method was used for the determination of volatile substances, part of the work was the verification of its linearity (R^2 in the range of 0.829–0.999).

A total of 80 volatile aromatic active substances were identified in the samples, of which 23 were subsequently selected as the most represented and characteristic of the monitored varieties. The main attention was paid to the Frankovka variety, which showed variability in the content of the monitored compounds not only within the variety, but also within the monitored years (2017 vs. 2018).

KEYWORDS

wine, aroma compounds, SPME, GC-MS

HAVLÍKOVÁ, Markéta. *Studium profilu senzoričky aktivních látek moravských vín* [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-06-02]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/138891>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych především velice ráda poděkovala své vedoucí bakalářské práce, paní doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D. a panu Ing. Michalu Grossovi za ochotu, trpělivost, odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi poskytovali během konzultací v průběhu zpracování mé bakalářské práce.

OBSAH

1. ÚVOD.....	8
2. TEORIECKÁ ČÁST.....	9
2.1. Historie a současnost vinohradnictví v České republice	9
2.2. Pěstované odrůdy révy vinné.....	9
2.2.1. Frankovka	10
2.2.2. Zweigeltrebe	11
2.2.3. Rulandské modré	12
2.3. Technologie výroby vína.....	13
2.3.1. Zralost hroznů.....	13
2.3.2. Sklizeň	13
2.3.3. Drcení a odstopkování bobulí.....	14
2.3.4. Předfiltrační macerace	14
2.3.5. Využití hydrolytických enzymů	15
2.3.6. Lisování	15
2.3.7. Oxid siřičitý	15
2.3.8. Odkalování.....	16
2.3.9. Alkoholové kvašení	16
2.3.9.1. Nástroje řízení alkoholového kvašení.....	17
2.3.10. Odkyselování	17
2.3.11. Školení vína	18
2.4. Víno a jeho látkové složení	19
2.4.1. Látkové složení vína	20
2.4.1.1. Voda, minerální látky a vitaminy	20
2.4.1.2. Sacharidy	21
2.4.1.3. Kyseliny	21
2.4.1.4. Fenolické látky.....	22
2.4.1.5. Těkavé látky	24
Alkoholy	24
Estery	25
Karbonylové sloučeniny	26
Karboxylové kyseliny	26
Terpeny a jejich deriváty	27

Dusíkaté sloučeniny.....	28
Sírné sloučeniny.....	29
2.5. Analýza vína.....	29
2.5.1. Provozní metody analýzy	29
2.5.2. Instrumentální metody	30
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	32
3.1. Použité vybavení	32
3.2. Použité chemikálie.....	32
3.3. Analyzované vzorky	33
3.4. Metody a postupy	33
3.4.1. Příprava vzorků před analýzou	33
3.4.2. Nastavené podmínky analýzy pomocí HS-SPME-GC-MS	33
3.4.3. Příprava roztoků standardů	33
3.5. Validace metody	33
3.5.1. Linearita.....	33
3.6. Zpracování dat.....	34
4. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	37
4.1. Kvalitativní analýza těkavých látek.....	37
4.1.1. Odrůda Frankovka	41
5. ZÁVĚR.....	44
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	45

1. ÚVOD

Víno, jako alkoholický nápoj je součástí lidských životů odedávna. Za kolébku jeho vzniku se nejčastěji považuje území dnešního státu Gruzie, kde vzniklo pravděpodobně náhodným zkvašením moštu. Starověká Egyptská a Řecká civilizace jej považovala za dar od bohů a bylo tedy součástí nejen kultury, ale i jednou ze základních životních potřeb. Výroba vína se proto stále zdokonalovala a společně s pěstováním révy vinné, byly tyto postupy zaznamenány např. v hieroglyfech na náhrobních stěnách králů, či ve slavné Homérově Iliadě.

Velký podíl na rozšíření vinohradnictví a vinařství mají dobytvační Římané, jejichž vlivem se výroba a pěstitelství ujala i v dalších evropských zemích jako je Francie, Španělsko a v neposlední řadě i na naše území.

V dnešním moderním světě dochází k neustálé modernizaci a automatizaci všech procesů souvisejících s vínem. K dispozici je i samostatný vědní obor zabývající se vínem – enologie. Velké popularitě se dnes těší vinařská turistika a všeobecný zájem o víno, s čímž rostou i požadavky zákazníků a snaha vinařů, co nejlépe porozumět svému vínu.

Jedním z hlavních faktorů, které laik i odborník na víně hodnotí je jeho aroma. Tato bakalářská práce se proto zaměřuje na studium látek tvořících aromatický profil odrůd Frankovka, Rulandské modré a Zweigeltrebe.

2. TEOTERICKÁ ČÁST

2.1. Historie a současnost vinohradnictví v České republice

Okolo 3. století n. l. iniciovali Římané výsadbu vinic za Alpami, a tedy i na našem území došlo k rozšíření révy vinné a vína. Další zmínky pocházejí až z konce 9. století z pověstí o narození Svytlahněva, syna českého knížete Bořivoje a jeho ženy Ludmily. První písemné dokumenty o vinařství se, především díky klášterům, objevují od 11. století. Jako příznivec vína, přispěl k velkému rozvoji vinohradnictví císař Karel IV., který vydal nařízení o zakládání vinic pro Prahu a následně pro královská města. Následující obrození české vinařství zažilo v devadesátých letech 20. století, kdy se kolektivní hospodářství začíná zaměřovat opět na kvalitu produktu a modernizaci technologií. Základ nevídanému rozvoji oboru dal zákon z roku 1995 (zákon č. 115/1995 Sb.) a široká privatizace. V roce 2004 byla při vstupu do Evropské unie nutná legislativní úprava, které bylo docíleno přijetím zákona č. 321/2004 Sb. [1].

Česká republika se v Evropě řadí mezi státy s tzv. „cool climate viticulture“, neboli vinohradnictví chladného podnebí. V těchto oblastech se při dozrávání střídají vyšší denní teploty a nižší noční, což pozitivně ovlivňuje především vývoj aromatických a fenolických látek [2].

2.2. Pěstované odrůdy révy vinné

Tuzemské vinice se dělí do dvou vinařských oblastí – Čechy a Morava, které se dále člení do šesti menších celků. Čechy na Litoměřickou a Mělnickou podoblast, Morava pak na Znojenskou, Mikulovskou, Velkopavlovickou a Slováckou vinařskou podoblast [3; 4].

Na našem území se během posledních šedesáti let ztrojnásobila plocha osázená révou vinnou. Dle dat Českého statistického úřadu (výsledky šetření Vinice 2020), s platností ke dni 5. 2. 2021, je v registru vinic evidováno 18 099,36 ha vinic, rozdělených mezi 16 541 pěstitelů. Z toho 94 % (16 957 ha) z celkové osázené plochy se nachází v Jihomoravském kraji [3; 4].

Bílé odrůdy v České republice procentuálně zastupují 61 % (10 975,97 ha) celkové výměry. Modré odrůdy jsou vysazeny na 5 112,04 ha a ostatní odrůdy na 2 011,36 ha. Nejvíce pěstované odrůdy podle výměry jsou uvedeny v Tabulce 1 [5].

Tabulka 1: Nejvíce zastoupené odrůdy révy vinné v ČR podle plochy výsadby [6]

	Odrůda	Plocha (ha)
Modré odrůdy	Frankovka	1 030,01
	Modrý Portugal	535,82
	Rulandské modré	720,71
	Svatovavřínecké	977,08
	Zweigeltrebe	740,41
Bílé odrůdy	Chardonnay	986,52
	Müller Thurgau	1 408,71
	Pálava	688,20
	Rulandské bílé	794,54
	Ryzlink rýnský	1 363,82
	Ryzlink vlašský	1 151,82
	Sauvignon	977,02
	Veltlínské zelené	1 636,72

2.2.1. Frankovka

Frankovka byla pravděpodobně vyšlechtěna ve Slovinsku. K jejímu rozšíření došlo z Rakouska v 18. století, kde byla poprvé doložena. Odrůda vznikla křížením odrůdy ‚Heunisch bílý‘ a ‚Skořicový hrozen‘ (Blaue Zimttraube) a v roce 1941 byla tato odrůda zapsána do Státní odrůdové knihy. Vyznačuje se pětiúhelníkovitým tvarem listu s rovným profilem čepele. Její hrozny jsou středně velké s malými až středně velkými, modročernými bobulemi, které mají nepatrné antokyanové zbarvení dužiny, popřípadě jej nemají vůbec [7; 4].

Jakožto pozdní moštová odrůda má, díky své odolnosti proti sprchávání, mrazu a dobré plodnosti nových klonů, skvělé předpoklady pro další rozšíření. K čemuž přispívá i dobrá jakost vín této odrůdy, především pokud je réva vysazena v teplé oblasti, ve štěrkovité půdě nebo závětrné spraši. Mohou pak vznikat vína s bylinnou a ovocnou vůní, ovocnou a kořenitou chutí, plná s vyšším obsahem tříslovin a kyselin [3; 7].



Obrázek 1: Typický vzhled hroznu a listu odrůdy Frankovka [8]

2.2.2. Zweigeltrebe

Původem Rakouská odrůda je křížencem ‚Frankovky‘ a ‚Svatovavříneckého‘. Dřívější název z roku 1922 Rotburger, jak odrůdu pojmenoval šlechtitel Dr. Friedrich Zweigelt, byl po druhé světové válce změněn na Zweigelt Lenzem Moserem, který se zasloužil o její rozšíření. Roku 1980 byla odrůda zapsána do Státní odrůdové knihy [3; 7].

Je pozdní moštovou odrůdou, hrozny dosahují plné zralosti v polovině října. Dospělé listy mají pětiúhelníkový tvar s profilem čepele do tvaru V. Je to odrůda odolná proti napadení padlím révy nebo plísní šedou a dobře odolává mrazům [3; 7].

Vína odrůdy Zweigeltrebe se vyznačují tmavě granátovou barvou s odlesky do fialova. Ovocnatokořenitá vůně může připomínat ostružiny, višně či višňový kompot. Tyto podobnosti lze hledat také v chuti, která je plná, při dostatečném množství tříslovin řízná až hebká. [9]



Obrázek 2: Typický vzhled hroznu a listu odrůdy Zweigeltrebe [10]

2.2.3. Rulandské modré

Odrůda pocházející z Francie je ve světě známá zejména pod svým původním francouzským názvem Pinot noir. Vnikla pravděpodobně náhodným křížením odrůd ‚Tramín‘ a ‚Mlynářka‘ (Pinot meunier). Zápis do Státní odrůdové knihy proběhl v roce 1941, i když tato odrůda byla na naše území přivezena už ve 14. stolén. Keř této odrůdy je středně hustě olistěný, tří- nebo pětilaločnými listy. Hrozny jsou spíše menší, zato husté s bobulemi majícími tenkou slupku. Kvůli tenkosti slupky je odrůda náchylná k napadení hnilobou, avšak dobře odolává mrazům [9].

Barva vína je obvykle bledě rubínová až cihlově červená s nazlátlým okrajem. Chuť je plná, při klouzání po jazyku hebká. Ve vůni a chuti převládají ovocné tóny jako ostružina, jahody, černé třešně, brusinky, někdy také hořká čokoláda, hořké mandle, kouř hořícího dřeva apod [9].



Obrázek 3: Typický vzhled hroznu a listu odrůdy Rulandské modré [11]

2.3. Technologie výroby vína

2.3.1. Zralost hroznů

Mimo původ a způsob pěstování hroznů je velmi důležitý stupeň zralosti a zdravotní stav plodů. Během dozrávání, kdy bobule začínají měknout, je nutné sledovat fyziologické a technologické parametry zralosti [12; 13].

Fyziologická zralost je určována nejčastěji sensoricky. Je možné pozorovat typické vybarvení slupky bobulí podle dané odrůdy. U bílých odrůd jednotlivé bobule zprůhlední a můžeme tak proti světlu pozorovat hnědá semena uvnitř. Bobule modrých odrůd získávají zbarvení antokyanových barviv (lze rozlišovat antokyanovou a taninovou zralost). Bobule měknou, postupně ztrácejí pružnost. Stopečky a slupku lze lehce oddělit od dužiny, která při oddělování neulpívá na semenech. Dalším sensorickým ukazatelem zralosti je šťavnatá, nasládlá chuť bez ostré kyselosti. V průběhu zrání dochází ke snižování bylinných chuťových projevů a zvyšování aroma daného odrůdou (optimální aromatická zralost hroznů) [12].

Technologické znaky jako je cukernatost, obsah titrovatelných kyselin, pH moštu, (případně obsah kyseliny vinné a jablečné) se stanovují fyzikálně-chemickými metodami. Při dozrávání dochází k velkému nárůstu obsahu zkrasitelných cukrů, především glukózy a fruktózy. Požadavky na minimální cukernatost jsou dány právními předpisy, které zároveň určují následné označení vyrobeného vína (např. stolní vína s cukernatostí méně než 11 °NM (stupňů normalizovaného mostoměru), vína jakostní odrůdová i známková s minimální cukernatostí 15 °NM aj. viz Tabulka 4 [12; 13].

V období růstu a dozrávání hroznů může působením různých vlivů dojít k poškození různého stupně závažnosti. Přílišným osluněním může hrozen trpět sluneční spálou, při vysokých teplotách slunečním úžehem, při vlhkém počasí pak hrozny následně postihuje hniloba a octění. Neméně závažná poškození působí např. vosy a larvy octomilky. Také padlí révy (původce *Erysiphe necator*), šedá hniloba (*Botrytis cinerea*) a modrá hniloba (původce *Penicillium expansum*) způsobují velmi závažná poškození hroznu. Takto znehodnocené hrozny nejsou nadále vhodné ke zpracování. Plíseň révová neboli peronospora (*Plasmopara viticola*) dokáže vinici v krajních případech i zcela zničit. Šíří se nejlépe ve vlhkém a teplém počasí a napadá zelené orgány révy. Dochází k postupnému hnědnutí a odumírání keře [9; 12; 13].

2.3.2. Sklizeň

V závislosti na odrůdě se sběr hroznů provádí v našich podmínkách od poloviny srpna do začátku listopadu. Výjimkou jsou sběry v zimních měsících, které jsou nutné pro vytvoření specifických podmínek pro následnou výrobu ledových vín. Uplatňuje se i tzv. postupná sklizeň, což je vynucený předčasný sběr, ke kterému se přistupuje v případě poškození hroznů, či záměrný sběr, využívaný pro získání hroznů s různým stupněm zralosti [12].

Před sklizní je nutné si veškeré vybavení a pomůcky připravit a očistit od případných plísní, reziduí nežádoucích látek apod. Je zapotřebí použití mechanického čištění. Od čistících prostředků na bázi chloru se v současné době upouští kvůli riziku nežádoucích pachutí ve víně, jsou tedy nahrazovány např. vodní parou. Hygienu je nutné zajistit v průběhu celého procesu sklizně a výroby vína [12].

Šetrný sběr, transport a zpracování je základem pro kvalitní zhodnocení hroznů. Ruční sklizeň je stále jednou z nejvíce využívaných metod sběru. Její velkou výhodou je minimální

poškození bobulí, čímž prakticky nedochází k oxidaci hroznové šťávy. S touto problematikou souvisí i doprava sklizených hroznů z vinice na místo zpracování. Na rozrušení bobulí při převozu má vliv výška přepravované vrstvy hroznů, frekvence otřesů a dopravní vzdálenost. Ručně se sklizeň provádí do plastových nebo smaltovaných kbelíků, jejichž obsah se dále přesypá do beden, případně speciálních přívěsů. Podle možností vinaře a daných podmínek (např. šířka meziřadí), lze využít i návěšové sběrné vany, vybavené šnekovým dopravníkem. Další možnou volbou jsou mlýnkoodzrňovací návěsy, pro snížení objemu převáženého materiálu. Tento způsob je ale rizikový z hlediska oxidace a fermentace šťávy [12; 14].

Oproti mechanizované sklizni je při ručním sběru možné přímo na vinici třídít nahnílé a jinak poškozené hrozny, případně provést sběr v několika termínech pro docílení určité zralosti. Plně mechanizovaná sklizeň přináší úsporu času a pracovní síly. Kvalita i produktivita práce závisí na vlastnostech stroje a schopnostech obsluhy. Moderní sklízeče mohou sklízet samotné bobule, je však nutné zajistit dobrý zdravotní stav a zralost. V případě mechanizované sklizně nahníklých, poškozených, či silně přezrálých hroznů se zvyšuje riziko vyluhování nahořklých fenolů a oxidace. V závislosti na teplotních podmínkách je možné sklizený materiál chladit pomocí pevného nebo kapalného oxidu uhličitého, a tím zabránit nežádoucím procesům [12; 14].

2.3.3. Drcení a odstopkování bobulí

Odzrňování nebo odstopkování hroznů je proces oddělení bobulí od třapin, které se dále mohou využívat jako hnojivo ve vinicích. Za tímto účelem se používají mlýnkoodzrňovače. Skrze násypku jsou hrozny vedeny k válcům s ostny a působením odstředivé síly se dostávají do kontaktu s bubnovým sítem. Održení bobulí se dosáhne otáčením síta v opačném směru. Třapiny jsou zachyceny ostnatým válcem a vynášeny ven. Samotné pomačkání bobulí zajišťují drtící válce [12].

Moderní horizontální přístroje mají volitelné některé parametry (průměr košů, vzdálenost mezi válci, rychlost otáčení) pro minimalizaci poškození semen, třapin a listů, které jsou zdrojem hořkých a svíravých látek. Nadměrně porušená slupka u méně vyzrálých hroznů může způsobovat nežádoucí bylinné příchutě. Při drcení je dobré co nejvíce snížit pohyb, mechanické namáhání rmutu a zatížení moštu kalovými částicemi. Zajistíme tak rovnoměrnější průběh kvasného procesu a nižší produkci tepla, v důsledku čehož nedochází k tak velkým ztrátám alkoholu a aromatických sloučenin [12].

2.3.4. Předfiltrační macerace

Účelem naležení rmutu před lisováním je vytvoření časového úseku pro činnost přirozeně se vyskytujících hydrolytických enzymů. Pektinázy, celulózy, glukonázy a další enzymy nacházející se v hroznech zvyšují tekutost rmutu a tím i jeho výlisnost [12].

Macerace účinně ovlivňuje chuťový a aromatický profil vín. Podle délky procesu (0–24 hodin) lze podpořit, nebo omezit uvolnění odrůdového aroma, dusíkaté výživy pro kvasinky, ale také rušivé bylinné příchutě a svíravé polyfenoly. S narůstající teplotou a dobou macerace stoupá riziko oxidace, intenzifikace nepříjemné svíravé až hořké chuti [12].

2.3.5. Využití hydrolytických enzymů

U odrůd s malou výlisností (Tramín červený, Hibernál, Neuburské aj.) či v suchých ročnících se přistupuje k přidávkám pektolytických enzymů, které zvyšují výlisnost a zkracují dobu naležení rmutu. Použitím pektináz a glukonáz, především u nahnílných hroznů a botritických sběrů, se urychluje odkalování moštů. Výhodou je také následné zlepšení čířitelnosti a filtrovatelnosti [12; 15].

Komerčně prodávané enzymatické preparáty s glykozidázovou aktivitou, napomáhají uvolňování aroma z pevných částí bobulí i při kratší době naležení. Některé sloučeniny tvořící primární hroznové aroma jsou totiž vázány na cukry a do rozštěpení této vazby je sloučeniny sensoricky inaktivní **Je zadán neplatný pramen.**[12; .

Při výrobě červených a rosé vín, kdy se snažíme udržet co nejatraktivnější barvu, se použitím glykosidáz mohou odštěpovat z antokyanů cukry. Důsledkem čehož může poklesnout barevnost vyrobeného vína [12; 15].

Pro vhodné použití většiny enzymových preparátů je klíčová teplota rmutu v rozmezí 10–20 °C. Při vyšších teplotách a delším naležení dochází kvůli vysoké aktivitě enzymů k intenzivnímu rozbřednutí hroznů a následkem toho ke vzniku většího množství kalových částic, hnědnutí atd. Nepříznivě působí na enzymatickou činnost vysoké koncentrace oxidu siřičitého a alkoholu [12; 15].

2.3.6. Lisování

V posledních dvaceti letech zaznamenala technika a technologie lisování výrazný pokrok. Podle principu lisování můžeme rozlišit lisy: *mechanické, hydraulické, pneumatické* [12].

Druh lisu nemusí mít rozhodující vliv na kvalitu. Nejčastěji se lisuje čerstvý či macerovaný rmut, při výrobě červeného vína pak rmut vykvašený. Maximální výtěžnost nemusí být primárním cílem lisování. Vhodné je oddělit samotok, tzn. samovolně odtékající část z pevného podílu (až 60 % celkového výtěžku), a první lisované frakce od dotažků. První podíly moštu obsahují nižší koncentrace polyfenolů a dusíkatých látek, mají však vysoký obsah cukrů, kyselin a kalových částic. Zvýšením tlaku v lisu narůstá i množství tříslovin. Pevné částice slisované uvnitř lisu působí jako filtr a zachytávají kalové částice, jejich obsah se tedy s postupem lisování snižuje. Dotažky se v chuti vína projevují jako neharmonické cizí aroma. Ze 130–140 kg hroznů vznikne cca 100 litrů hroznového moštu a celková výlisnost se tedy pohybuje v rozmezí 60–80 % [12; 15].

2.3.7. Oxid siřičitý

Oxid siřičitý má ve vinařství velký význam jako stabilizátor a konzervační prostředek. Ve vysokých koncentracích může způsobovat zdravotní obtíže např. bolest hlavy. Ve víně působí inhibičně na chemickou a enzymatickou oxidaci, a také má antiseptické účinky, především potlačuje růst a rozvoj bakterií [15].

Víno obsahuje tři formy oxidu siřičitého: *volnou, molekulární a vázanou*. *Volný SO₂* své antiseptické a další vlastnosti projevuje až v koncentracích nad 10 mg·l⁻¹. *Vázaná forma* vzniká vazbou volného oxidu siřičitého na látky obsažené ve víně (např. acetaldehyd, fenolické látky, glukózu). Nejdůležitější je vazba s acetaldehydem, který má při nízkých koncentracích příjemné ovocné aroma. S rostoucí koncentrací se aroma mění v nepříjemnou až pichlavou vůni s travnatými nebo jablečnými tóny. Tato látka vzniká při alkoholovém kvašení a může dále

oxidovat na kyselinu octovou a nepříznivě ovlivňovat senzorický profil vína. Přítomnost a reakce oxidu siřičitého s acetaldehydem už při kvašení omezuje takovéto poškození chuti a vůně vína. Nejvýznamnějším inhibátorem rozvoje mikroorganismů v moštu je *molekulární oxid siřičitý*. Jeho množství ve víně je závislé na obsahu volného SO₂ a pH moštu či vína. Antimikrobiálně molekulární forma působí už v rozmezí koncentrací 0,5–0,8 mg·l⁻¹ [12; 15; 16].

Způsobů aplikace oxidu siřičitého je několik. Ve velkovýrobních podmínkách se hodí dávkování oxidu siřičitého ze zásobní tlakové nádoby. U malovinařů je využíváno spíše spalování sirných plátek, případně použití práškového disiřičitanu draselného (kaliumpyrosulfit) v různých formách nebo tekutých přípravků kyseliny siřičité a disiřičitanů [12; 15].

Tabulka 2: Mezní hranice celkového obsahu oxidu siřičitého, ve vínech vyrobených v České republice, udává nařízení Komise EU č. 606/2009 ze dne 10. července 2009 [17]

Druh vína	Obsah oxidu siřičitého
Tichá vína	150 mg/l u červených vín
	200 mg/l u bílých a růžových vín
Tichá vína s obsahem zbytkového cukru vyšším než 5 g/l	200 mg/l u červených vín
	250 mg/l u bílých a růžových vín
Některá vína s přívlastkem	300 mg/l pozdní sběr
	350 mg/l výběr z hroznů
	400 mg/l výběr z bobulí, výběr z cibéb, ledové víno, slámové víno

2.3.8. Odkalování

Velmi důležitý aspekt pro řízení fermentace a kvalitu vína. Odkalováním moštu se snižuje riziko výskytu divokých kvasinek a nežádoucích mikroorganismů, dochází k odstranění minerálních nečistot, reziduí chemické ochrany hroznů, rostlinných částic, které narušují čistotu chuti a aroma budoucího vína. Nejpřirozenějším způsobem je sedimentace koloidních částic kalu. Zvolená intenzita odkalování se odvíjí od zdravotního stavu hroznů a jejich předchozího zpracování. Hrozny napadené hnilobou, s vyšším obsahem polysacharidů, je vhodné rychle a intenzivně odkalit, případně aplikovat čiridla a oxid siřičitý. Při ostrém odkalení moštu (např. filtrací) dochází k úbytku živin využívaných kvasinkami, a tedy zpomalení či zastavení kvašení. Optimální teplota se pohybuje mezi 10–16 °C. Nejčastěji se odkaluje po dobu 12–24 hodin. V závislosti na kvalitě a zdravotním stavu hroznů se běžně používají další prostředky jako aktivní uhlí, pektolytické enzymy, moštová želatina či bentonit [12] [15].

2.3.9. Alkoholové kvašení

Alkoholové kvašení je zásadní biochemický proces přeměny hroznů na víno. Jedná se o neúplnou oxidaci cukrů působením vinných kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*), které touto cestou získávají energii a stavební jednotky. V tomto souboru reakcí vzniká z cukru etanol a oxid uhličitý. Výrazně se tedy mění látkové složení, organoleptické a fyzikální vlastnosti moštu [12].

Necelá polovina (cca 48,9 %) hmotnosti cukru je přetvořena na oxid uhličitý, zbytek hmotnosti (51,1 %) tvoří alkohol. Praktický výtěžek ethanolu však kolísá mezi 46 % a 48 %

v závislosti na podmínkách (objem, teplota atd.). Kromě ethanolu a CO₂ při procesu kvašení vznikají i vedlejší produkty s různou důležitostí a množstevním zastoupením. Můžeme je rozdělit na *primární* – glycerol, kyselina mléčná, kyselina octová, kyselina jantarová, kyselina citronová, *sekundární* – aromatické látky, aceton, diacetyl, vyšší alkoholy, estery, aldehydy, ketony [15].

Na alkoholovém kvašení se podílí mnoho rodů kvasinek, např. *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* atd. Tento anaerobní proces lze rozdělit do šesti stádií, které jsou současně fázemi růstu kvasinek. *Lag-fáze* je období adaptace kvasinek v novém prostředí a počet kvasinek v moštu je konstantní. *Fáze zrychleného růstu* trvá poměrně krátkou dobu, kdy se kvasinky již adaptovaly na prostředí a začínají se rozmnožovat. Ve *fázi exponenciální* se počet kvasinek zdvojnásobuje za každou jednotku času. K útlumu nárůstu počtu kvasinek dochází ve *fázi zpomaleného růstu*. Ta je současně přechodem do *fáze stacionární*, která tvoří hlavní část v alkoholovém kvašení (tzv. hlavní kvašení). V tomto údobí je rychlost množení a odumírání kvasinek stejná a jejich počet tím pádem konstantní. S tím souvisí i neměnná, konstantní rychlost kvašení. *Fáze odumírání* – dochází k postupnému zpomalení a zastavení procesu v důsledku úbytku cukru a zvýšeného obsahu alkoholu. Kvasný proces může proběhnout zcela úspěšně pouze pokud jsou splněny všechny požadavky kvasinek na výživu. V opačném případě dochází k neprokvašení veškerého cukru [12] [15].

Těmito faktory jsou: teplota, koncentrace cukru v moštu, oxid uhličitý, turbidita moštu, obsah asimilovaného dusíku, obsah oxidu siřičitého, obsah ethanolu, přítomnost kyslíku, množství těkavých kyselin, přítomnost těžkých kovů a reziduí pesticidů [15; 18].

2.3.9.1. Nástroje řízení alkoholového kvašení

Při řízeném kvašení je využíváno širokého komplexu biologických, fyzikálních, chemických a bioinženýrských nástrojů. Výběr vhodného druhu, kterým bude kvašení řízeno, je závislý jak na kvalitě hroznů, tak na druhu vyráběného vína [12].

Do biologických nástrojů řízení spadá, dostatečný zákvas čistou (kultura tvořená pouze jedním druhem kvasinek, bez kontaminace jiným druhem), nebo směsnou kulturou kvasinek či postupný způsob kvašení. Úprava hodnoty pH (obsah titrovatelných kyselin), odkalení moštu, práce s teplotou moštu (rmutu), omezené ošetření oxidem siřičitým, dávkování kyslíku případně řízený přetlak oxidu uhličitého. Tyto postupy, stejně jako přídavek podpůrných preparátů kvašení, obsahující látky využitelné pro kvasinky (dusík, fosfor, síra, vitamíny), patří mezi chemické a fyzikální metody regulace alkoholového kvašení. K bioinženýrským nástrojům je přihlíženo již při výběru tvaru a materiálu kvasných nádob, tak aby ideálně docházelo k nenucenému míchání a sedimentaci [12].

2.3.10. Odkyselování

Jednou z možností je biologické odbourávání kyselin (BOK) či jiným názvem malolaktická fermentace (MLF); je to technologický postup používaný zejména u výroby červených vín. Jedná se o proces formování vína, kdy dochází přeměně jablečné kyseliny na kyselinu mléčnou. Z biochemického hlediska dochází k dekarboxylaci *L*-jablečné kyseliny za vzniku *L*-mléčné kyseliny a oxidu uhličitého heterofermentativním kvašením za účasti bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*). K jablečno–mléčné fermentaci se přistupuje, pokud

je nutné odstranit nadbytečné množství jablečné kyseliny a tím i její nežádoucí ostrou kyselost na příjemnější a hladší chuť kyseliny mléčné [18; 19; 20].

Chemické postupy odkyselování se zakládají na přidavku látek, které vytváří nerozpustné soli s kyselinou vinnou. K takovým látkám patří uhličitan vápenatý (jednoduché a podvojně odkyselení) a hydrogenuhličitan draselný [12].

2.3.11. Školení vína

Základními technikami školení vína je stáčení, síření, číření a filtrace mladého vína. Při procesu stáčení je víno separováno od usazených kalových částic, čímž se dále podporuje jeho samovolné kvašení. Síření bylo blíže popsáno v kapitole 2.3.7. [12].

Číření vína je dalším způsobem odstraňování kalů a nestabilních látek (např. termolabilních bílkovin). Eliminace takových částí následně zvyšuje výkon filtrace a stabilizuje víno. Číření s sebou nese také nežádoucí účinky jako odbarvování, odstranění aromatických a extraktivních látek. Je to proces založený na přidavku čířidla opačného elektrického náboje, které vyvolá fyzikálně-chemické děje, jakými je adsorpce látek na povrch čířidla či přímo chemická reakce s čířidlem. Čířící látku vybíráme podle náboje sloučeniny, kterou je nutné odstranit. K nepoužívanějším přípravkům na číření patří bentonit, želatina a křemičitý sol [12].

Filtrace využívá pro oddělení pevných částic od tekuté části průtok přes filtrační materiál, který má porézní povrch. Filtrací se může docílit jiskrnosti vín, ale i mikrobiální stability. Mimo stále používanou membránovou a vložkovou filtrace skrze křemelinovou či celulóзовou vložku, se do popředí dostává také „cross-flow“ filtrace. Tento poměrně nový druh filtrace využívá modelu filtrování přes systém kapilár a využívá vznikajícího tangenciálního toku [12]. Při skladování vína v sudech, řízené mikrooxidací apod. dochází k pomalému okysličování, a tím i rozvoji komplexnosti vína. Náhlá oxidace, kromě hyperoxidace moštu, má naopak nežádoucí vliv na sensorické vlastnosti vína. Za vázání kyslíku ve víně zodpovídají polyfenoly, kterých je v červených vínech více, a proto jsou schopny vázat až desetkrát více ($800 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) kyslíku než bílá vína ($80 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$). V lahvích přístup kyslíku umožňují korkové zátky, jakožto přírodní materiál propouští kyslík v neurčitěm množství a je tedy možné, že jednotlivé šarže vín se budou lišit [12].

Nádoby použité pro skladování a zrání vína mají velký vliv na kvalitu a formování vín. Při použití dřevěných sudů dochází, na rozdíl od nerezových nádob, k obohacení látkového složení vína. Z nejčastěji používaného dubového dřeva se extrahují elagitaniny, ligniny, lignany a triterpeny. Zraní v sudech „barrique“ lze identifikovat i ve vůni. Z vína vystupuje aroma hřebíčku (eugenol), dubu a vanilky (vanilin a syringaldehyd). Mohou se objevovat také negativní aroma zeleného vlašského ořechu, kůže, špatně vysušeného dřeva [12].

Těsně před lahvováním je nutné dodržet několik zásad pro stabilizaci vína v lahvi a otestovat obsah termolabilních bílkovin, kovů a oxidu siřičitého, krystalickou a mikrobiální stabilitu vína atd. Vhodná doba pro lahvování vína je individuální. Bílá vína by se měla lahvovat několik měsíců po dokvašení, lehká rosé vína se doporučují lahvovat jako velmi mladá. U červených vín záleží na mohutnosti v rozptylu od půl roku do dvou let od sklizně. Lahvování se provádí ručně, ve vlastní automatizované plnicí lince či v pojízdné lince [12].

2.4. Víno a jeho látkové složení

Podle nařízení Rady (ES) č. 491/2009 ze dne 25. května 2009 se vínem rozumí výrobek, který byl získán výhradně úplným nebo částečným alkoholovým kvašením čerstvých, rozdrcených nebo nerozdrcených vinných hroznů nebo hroznového moštu [21].

Zatřizování vín dané zákonem je možné do tzv. *jakostních tříd*, které jsou založeny na minimální cukernatosti moštu. Toto třídění společně s určujícími parametry pro jednotlivé třídy je u vedeno v Tabulce 3. Cukernatost se uvádí ve stupních normalizovaného moštoměru (°NM). Tato jednotka udává, kolik kilogramů cukru obsahuje 100 litrů moštu. Zákon o vinohradnictví a vinařství z roku 2004 (č. 321/2004 Sb.) zavádí po francouzském vzoru označení – víno originální certifikace (V.O.C.) [9].

Tabulka 3: Jakostní třídy vína dané zákonem č. 321/2004 Sb. podle Krause [9]

Kategorie vín	Minimální cukernatost moštu [°NM]	Přirozený obsah alkoholu [% obj.]
Stolní víno	11	6,5
Zemské víno	14	8,3
Jakostní víno		
odřůdové	15	8,9
známkové	15	8,9
Jakostní víno s přívlastkem		
kabinetní víno	19	11,3
pozdní sběr	21	12,5
výběr z hroznů	24	14,3
výběr z bobulí	27	16,1
výběr z cibéb	32	19,0
ledové víno	27	16,1
slámové víno	27	16,1

Některé kategorie vyžadují pro možnost užívání daného přívlastku speciální metody při zpracování. *Výběr z cibéb* se vyrábí ze seschlých přezrálých bobulí, přičemž se můžeme setkat také s názvem botrytický výběr, kdy většina úrody byla napadena ušlechtilou plísní *Botrytis cinerea*. Hrozny pro výrobu *ledového vína* musí být sklizeny při teplotách nejméně $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$. Slámové víno je vyráběno z hroznů, které byly po dobu minimálně tří měsíců pověšeny ve větraném prostoru či byly uloženy na slámě nebo rákosu [9].

Dalším druhem vína je *víno šumivé*, které se vyrábí ze stolního vína prvotním případně druhotným kvašením. Jakostní šumivá vína jsou pak známá pod názvem sekt, v němž musí obsah alkoholu překročit hranici 10 % obj, a přetlak při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ musí být 0,35 MPa. Rozdílňá technologie výroby se uplatňuje u *perlivých vín*, kdy je víno syceno oxidem uhličitým do přetlaku 0,1–0,25 MPa v lahvi při teplotě $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Spodní hranice 17,5 % obj. celkového alkoholu je potřeba k získání označení likérové víno [9].

Víno lze rozčlenit i do skupin podle obsahu cukru. Jednotlivé kategorie charakterizuje nařízení Komise (ES) č. 607/2009 a jsou uvedeny v Tabulce 5 [22].

Tabulka 4: Dělení vína podle obsahu zbytkového cukru dané nařízením Komise (ES) č. 607/2009 [22]

Výraz	Podmínky pro použití
suché	<ul style="list-style-type: none"> do 4 g·l⁻¹ cukru, nebo do 9 g·l⁻¹ cukru, pokud je celková kyselost vyjádřená v g·l⁻¹ kyseliny vinné je maximálně o 2 g nižší než obsah zbytkového cukru
polosuché	<ul style="list-style-type: none"> 5–12 g·l⁻¹ cukru, nebo do 18 g·l⁻¹ cukru, pokud je celková kyselost vyjádřená v g·l⁻¹ kyseliny vinné je maximálně o 10 g nižší než obsah zbytkového cukru
polosladké	<ul style="list-style-type: none"> 13–45 g·l⁻¹ cukru
sladké	<ul style="list-style-type: none"> obsah cukru minimálně 45 g·l⁻¹

2.4.1. Látkové složení vína

Sloučeniny nacházející se v moštu jsou záměrně i nechtěně přeměňovány řadou mechanismů (např. alkoholové kvašení, biologické odbourávání kyselin, stabilizace, enzymatická činnost atd.). Těmito procesy vzniká široká škála látek, které utváří celkový dojem konzumovaného vína po stránce zrakové, čichové i chuťové [16; 23].

2.4.1.1. Voda, minerální látky a vitamíny

Voda je nejzastoupenější složkou bobulí, moštu i vína. Díky svým chemickým vlastnostem slouží jako dobré rozpouštědlo polárních a málo polárních látek. Kombinací s majoritním zástupcem alkoholů, ethanolem, se v tomto prostředí dobře rozpouští i řada sloučenin nepolárních. V běžných vínech se obsah vody pohybuje přibližně v rozmezí 80–92 % [19].

Jako *minerální látky* v potravinách se označují prvky, které obsahuje popel potraviny po úplné oxidaci organického podílu na oxid uhličitý a vodu. Hmotnost popela suchého extraktu zcela zbaveného uhlíku udává přibližně obsah minerálních látek. Ve víně se celkové množství minerálních látek pohybuje cca od 1,5 do 4 g·l⁻¹, v závislosti na mnoha faktorech, jako je počasí, odrůda, hnojení apod. Nejzastoupenější je kation draslíku. Dalšími prvky, které se ve víně nachází jako kationty jsou sodík, hořčík, vápník, železo, měď. Kovové prvky (železo, měď, nikl, cín...) mají negativní účinek na sensorické vlastnosti vína. Do skupina aniontů pak spadají chloridy, sírany (další sloučeniny síry), fosforečnany, uhličitany. Další prvky nacházející se ve víně jako fosfor, fluor, brom, jod, bor, zinek, křemík, mangan, olovo, arsen, hliník a jiné stopové a ultra-stopové prvky vína [19; 24].

Vitamíny, jakožto organické nízkomolekulární látky, působí zejména jako součást katalyzátorů biochemických reakcí. Ve víně jsou obsaženy vitamíny hydrofilní (rozpuštěné ve vodě), tedy vitamíny skupiny B a vitamín C. Jejich přibližný obsah je uveden v Tabulce 5 [24].

Tabulka 5: Vitamíny obsažené ve víně [24]

Vitamín	Obsah $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$
B ₁ – Thiamin	stopy až 60
B ₂ – Riboflavin	stopy až 100
B ₃ – Niacin	1 000 až 2 000
B ₅ – Kyselina pantothenová	1 000
B ₆ – Pyridoxin	600 až 700
B ₇ – Biotin (H)	2 až 5
B ₉ – Kyseliny listové	2 až 10
B ₁₂ – Kobalamin	0,1
C – Kyselina askorbová	1 až 10 000

2.4.1.2. Sacharidy

Obecně jsou sacharidy skupinou polyhydroxyderivátů karbonylových sloučenin, které se dále dělí podle funkční skupiny na aldózy a ketózy, podle počtu uhlíků na triózy (3 atomy uhlíku ve struktuře), tetřózy (4 atomy uhlíku), pentózy (5 atomů uhlíku) atd. Dále mohou být děleny podle počtu jednotek ve struktuře sacharidu: monosacharidy (1 jednotka), oligosacharidy (2–10 jednotek), polysacharidy (více než 10 jednotek) [24].

Sacharidy obsažené ve víně vznikly fotosyntézou při vývoji a dozrávání hroznů. Majoritní podíl sacharidů je tvořen glukózou, fruktózou a sacharózou, které zaujímají 98 % cukrů ve víně. Zbývá 2 % náleží ostatním sacharidům (pentózám). Ty jsou však po fermentaci a dalších technologických úpravách, obsaženy v tak malém množství, že jejich vliv na sladkou chuť a stabilitu vína je minimální či vůbec žádný [19; 25].

Monosacharidy, konkrétně nejvíce zastoupená *D*-glukóza a *D*-fruktóza (hexózy), jsou nositelem sladké chuti. Mají také vliv na kvalitu vína, jeho plnost, texturu. Další hexózou nalezenou ve víně je *D*-galaktóza v koncentracích od 0,1 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Glukóza (hroznový cukr) a fruktóza (ovocný cukr) se nachází v hroznovém moštu v poměru glukóza:fruktóza přibližně 0,95 : 1,00. Alkoholovým kvašením se tento poměr mění v prospěch fruktózy, kvůli upřednostňování zpracování *D*-glukózy kvasinkami. Trióza – dihydroxyaceton ve víně vzniká možnou oxidací glycerolu za účasti bakterií octového kvašení, glycerinaldehyd je meziproductem metabolismu sacharidů u kvasinek, proto může být přítomen ve stopovém množství i ve víně. Nezkvasitelnými sacharidy pro kvasinky rodu *Saccharomyces* jsou pentózy (např. *L*-arabinóza, *D*-ribóza, *D*-xylóza, *L*-rhamnóza), které jsou obsaženy ve víně v množství 0,5–1,0 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [23; 24].

Oligosacharid *D*(+)-sacharóza je při ethanolové fermentaci hydrolyzována na *D*-glukózu a *D*-fruktózu. Disacharid trehalózu vylučují kvasinky během kvašení a autolýze, proto její obsah může dosáhnout hodnot až 600 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ vína [24].

Polysacharidy, jakožto koloidní látky, jsou ve víně v množství 2–4 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Koncentrace těchto nežádoucích sloučenin se odvíjí od odrůdy, zralosti hroznů, způsobu vinifikace, uchování vína apod [24].

2.4.1.3. Kyseliny

Organické karboxylové kyseliny, jakožto sekundární metabolity rostlinné říše, jsou důležité jak technologicky, tak senzorycky. Acidita vína je tvořena hlavně organickými kyselinami, ale ve víně nacházíme také minerální kyseliny (např. oxidy siřičitý a uhličitý jsou v rovnováze s kyselinami uhličitou a siřičitou, či fosfáty) [19; 24].

Těkavé kyseliny mají už při malém množství vliv na aroma a chuť vína, ve větším množství spíše nežádoucí. Zástupci této skupiny jsou octová, mravenčí a propionová kyselina. Veškeré kyseliny, které lze stanovovat neutralizací roztokem hydroxidu sodného, řadíme do kategorie *titrovatelných kyselin* (v České republice vyjádřeny v $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ vinné kyseliny). Do této skupiny spadají i anorganické kyseliny (např. kyselina fosforečná), hlavními organickými kyselinami jsou vinná, jablečná a mléčná [19].

Vinná kyselina se nachází ve dvou opticky aktivních formách a jako racemická směs. Aktivní formy tvoří zejména v alkoholickém prostředí a nižších teplotách, špatně rozpustné soli s atomy draslíku a vápníku tzv. vinný kámen. Společně s jablečnou kyselinou utváří kyselina vinná kyselost vína. Jablečná kyselina je při jablečno–mléčném kvašení odbourávána na chuťově jemnější mléčnou kyselinu a oxid uhličitý. Malolaktické fermentace se využívá v období vývoje mladých vín a to zejména v technologii výroby červených vín [13; 19].

Dalšími kyselinami nacházejícími se ve víně jsou citronová kyselina (spíše u vín z jižních států), šťavelová, jantarová, a ve velkém množství nežádoucí octová kyselina [19].

2.4.1.4. Fenolické látky

Fenolové látky ve své struktuře mají zakomponovanou nejméně jednu hydroxylovou skupinu vázanou na aromatickém jádru. Jsou odpovědné za barvu, hořkou a tříslovitou chuť i antioxidační vlastnosti vína. Do vína se dostávají extrakcí z bobulí, jsou syntetizovány kvasinkami nebo jsou přejaty ze sudu („barrique“). Velké množství těchto sloučenin se při zpracování ztrácí vlivem oxidace, nedokonalým lisováním nebo zůstávají v matolinách apod. Z celkového množství, obsaženého v bobulích či moštu, se do konečného produktu dostane pouze 10–50 % [18; 19].

Tyto sekundární produkty katabolismu cukrů vznikají reakcí nazývanou jako reakce kyseliny šikimové (benzoová a skořicová kyselina), nebo kondenzací tří molekul acetylkoenzymu A, pocházejících z Krebsova cyklu, za vzniku benzenového jádra, které dále kondenzuje s kyselinou skořicovou (základ flavonoidů) [18; 26].

Fenolické látky můžeme rozdělit do dvou kategorií na *neflavonoidy* a *flavonoidy*. Skupina *neflavonoidů* jsou strukturně jednodušší látky. Podskupina fenolových kyselin zahrnuje benzoovou a skořicovou kyselinu. Rozdíl mezi obsahem těchto látek v červených a bílých vínech je cca desetinásobný. V červených vínech se množství pohybuje zhruba mezi 100 až 200 mg/l , zatímco v bílých vínech je obsah pouze v rozmezí cca 10 až 20 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. U červených vín je obsah těchto látek navýšen zejména kvůli hydrolýze a tepelnému rozkladu složitějších molekul jako jsou anthokyany. Deriváty hydroxyskořicové kyseliny (p-kumarová, kávová a ferulová kyselina), převažující v bílém víně, snadno podléhají oxidaci a zapříčiňují hnědnutí moštu a vína. Deriváty kyseliny hydroxybenzoové jsou přítomny ve víně ve formě glykosidů a esterů tzv. gallové a elagické taniny [18; 19].

Druhou podskupinou neflavonoidů jsou další polyfenolické látky, stilbeny. Jejich koncentrace ve víně i hroznech se s podmínkami pěstování a danou odrůdou mění. Některé stilbeny, tzv. fytoalexiny, mají antimikrobiální vlastnosti, a tím posilují obranu organismu proti plísni šedé a plísni révy. Známým antioxidantem patřícím do této skupiny je trans-resvetrol [18; 19].

Skupinu *flavonoidů* lze rozřadit do tří, pro víno významných, kategorií: anthokyany, flavonoly a flavan-3oly (katechiny). Do skupiny anthokyanů se řadí i červené pigmenty vína

a hroznů. Základním skeletem anthokynových barviv je tzv. aglykon (anthokyanidin), odvozený od flavyliového kationtu. Sloučením aglykonu s jednou nebo více cukernými jednotkami vznikají anthokyaniny. V mladých vínech z červených odrůd bylo nalezeno cca 200–500 mg·l⁻¹ anthokyanů ve volném stavu, přičemž v bílém víně se nachází pouze stopové množství. Anthokyaniny jsou u modrých odrůd tvořeny převážně malvidinem v menším množství také peonidinem, petunudinem, delfinidinem a kyanidinem [24].

Při zrání a staření vína se mění původní anthokyaniny, citlivé na změny pH a oxid siřičitý, na stabilnější červená barviva v důsledku reakcí enzymového hnědnutí. Dochází ke kopigmentaci, neboli reakci anthokyanů s prokyanidiny, za vzniku dimeru spojeného kovalentní vazbou. Jinou možností je transformace anthokyanů v přítomnosti reaktivních karbonylových sloučenin, nebo u starých vín reakce, při které vznikají vyšemolekulární nerozpustné látky (flobafeny) [27].

Za žluté a zelené barevné tóny vína jsou zodpovědné rozkladné produkty chlorofylu, karoten, xantofyl, kvercetin a kvercitrin. Jantarové a hnědé odstíny u starších červených vín, po částečném vysrážení anthokyanových barviv, způsobují žlutá barviva kvercetin a kvercitrin [13].

U flavonolů jsou základní strukturou dvě benzenová jádra, spojená okysličeným heterocyklem. V bobulích je jejich vznik iniciován UV zářením, chrání tak rostlinu, před nežádoucími účinky záření. Katechiny v bobulích polymerují na kondenzované taniny (prokyanidiny). S výjimkou katechinů získaných ze sudů „barrique“, pochází majoritní množství těchto polymerů právě z bobulí. Prokyanidiny se v červených vínech nachází až ve dvacetinásobné koncentraci než u vín bílých, tam se jejich obsah zvyšuje především vysokým tlakem při lisování, aplikací oxidu siřičitého apod. V průběhu stárnutí vína reagují monomery flavonoidů s prokyanidiny za vzniku taninů s řetězcem obsahujícím 8–12 jednotek [18; 19; 27].

Třísloviny pocházející z hroznů vznikají většinou kondenzací katechinů, které mají pozitivní vliv na hladinu cholesterolu v krvi, na druhou stranu pravděpodobně podporují migrény. V hroznech jsou uloženy hlavně v třapínách a slupkách bobulí a jejich obsah tak záleží na době styku moštu a pevných částí hroznů. Monomerní formy (katechin, epikatechin, galokatechin, epigalokatechin) jsou prekurzory tříslovin, až po kondenzaci průměrně dvou až tří jednotek (následnými kondenzacemi až desítky jednotek), hovoříme o tříslovinách v pravém smyslu slova. Druhou (pouze kondenzovanou formou) jsou tzv. leukoanthokyanidiny [3; 24].

Taniny mohou pocházet i ze dřeva nádob, ve kterých bylo víno skladováno v procesu výroby. Jsou to produkty reakcí sacharidových molekul s gallovou, digallovou a ellagovou kyselinou, jiným názvem vznikají pyrogalové třísloviny. Při použití nových sudů je difúze těchto látek vyšší, pokud je zajištěn správný poměr objemu vína k ploše sudu [24].

Tabulka 6: Základní rozdělení fenolických sloučenin v hroznech a víně podle Pavlouška a Burešové 2015 [28]

Neflavonoidy	Hydroxybenzoové kyseliny	gallová, protokatechuová, vanilová, syringová kyselina
	Hydroxyskořicové kyseliny	kumarová, kávová, ferulová, koutarová, kaftarová, frtarová kyselina
	Stilbeny	<i>trans</i> a <i>cis</i> -resveratrol, piceid, picetanol, astringin
Flavonoidy	Anthokyany	malvidin-3-glukosid, caynidin-3-glukosid, peonidin-3-glukosid, delfinidin-3-glukosid, petunidin-3-glukosid a estery s kyselinami octovou, kumarovou a kávovou
	Flavan-3-oly	katechin, epikatechin, gallokatechin, epigallokatechin
	Flavonoly	quercetin, myricetin, kaempferol, isorhamnetin

2.4.1.5. Těkavé látky

Alkoholy

Velmi významná složka vína. Alkoholy s jedním (methanol) nebo dvěma uhlíky (ethanol) jsou ve víně kvantitativně nejvíce zastoupeny. Methanol je produktem enzymatické hydrolyzy pektinů v průběhu kvašení. Jeho koncentrace je tedy závislá na době naležení rmutu, z čehož lze usoudit, že obsah methanolu bude vyšší u červených vín a vín, u kterých se v průběhu výroby uplatňuje macerace. Naproti tomu ethanol je primárním produktem kvašení. Jeho podíl (8–9 % obj. až 18–18,5 % obj.) ve víně se odvíjí od vyzrállosti hroznů a druhu použitých kvasinek. Společně s vodou slouží jako rozpouštědlo a extrakční činidlo [18; 19; 24; 27].

Celkový obsah vyšších alkoholů (se třemi a více uhlíky) se pohybuje v rozmezí 200–600 mg/l, i tak hrají velkou roli z hlediska aroma vína. Jsou sekundárními produkty kvasného procesu, dále vznikají při metabolismu aminokyselin, popsány Ehrlichovou reakcí. Nejhojněji zastoupenými jsou 3-methylbutanol (50–400 mg·l⁻¹), 2-methylpropanol (20–80 mg·l⁻¹), 2-methylbutanol (10–30 mg·l⁻¹) a společně tvoří cca 70 % celkového obsahu těchto látek [18; 19; 24; 27].

Vícesytné alkoholy – jejich množství je zásadně ovlivněno stavem zpracovávaných hroznů. Třída diolů (dvojsytné alkoholy) má ve víně dva významnější zástupce. S průměrným množstvím 0,3–1,35 g·l⁻¹ se ve vínech vyskytuje butan-2,3-diol, který vzniká redukcí acetoinu. Další cestou jeho vzniku je rozklad kyseliny citronové, glukózy či fruktózy mléčnými bakteriemi. Stopové množství propan-1,3-diolu, druhého zástupce této skupiny, vzniká nejspíše rozkladem glycerolu působením mléčných bakterií a způsobuje hořknutí vína [24].

Odštěpením kyseliny fosforečné od glycerolfosfátu vzniká glycerol, který je se třemi vázanými hydroxylovými skupinami nejjednodušším polyolem. Se svou sladkou chutí přispívá k jemnosti a je třetí nejhojněji zastoupenou látkou vína (6 až 10 g·l⁻¹). Zároveň vínu dodává „tělo“ při hranici vnímání 5,2 g·l⁻¹. U moštů napadených plísní *Botrytis cinerea* a následně vín z nich vyrobených je glycerol doprovázen erytritolem, který se vyznačuje svou sladkou chutí a nízkou energetickou hodnotou [18; 24].

Pentoly a hexoly jako další skupiny cukerných alkoholů, se ve víně nachází ve zvýšeném množství zejména při napadení hroznů šedou plísní (hlavně ušlechtilé plísně). Tvorba pentolů pravděpodobně souvisí s redukcí aldóz kvasinkami na pátém uhlíku. Nejvíce zastoupenými pentoly jsou: arabinitol (ve zdravých hroznech 20–50 mg·l⁻¹ v napadených hroznech průměrně 120 mg·l⁻¹), xylitol (15–25 mg·l⁻¹), ribitol (stopové množství). Z hexolů je přítomný mezinoinositol, který je s průměrnou koncentrací 0,5 g·l⁻¹ růstovým faktorem kvasinek a jiných mikroorganismů. Mannitol při obsahu vyšším než 100 mg·l⁻¹ vypovídá o přítomnosti a činnosti bakterií mléčného kvašení. Znakem podvodné kupáže vína může být sorbitol v případě, že je jeho množství vyšší než 100 mg·l⁻¹ [24].

Také byl zjištěn zvýšený obsah především *D*-arabinitolu, *D*-sorbitolu, a *D*-manitolu při zkvašení hroznového moštu pomocí jiného rodu kvasinek než *Saccharomyces*, např. *Starmella bacillaris*, *Torulaspora dalbrueckii*, *Lachancea thermotolerans*.

Estery

Estery jsou produktem reakce alkoholů a organických kyselin (chemicky) nebo za účasti kvasinek a bakterií (biologicky). Největší část je vytvořena při fermentaci, zbytek vzniká v pozdějších fázích (dokvašování, zrání atd.). Obecně je lze rozdělit do dvou skupin na neutrální a kyselé. Neutrální estery tvoří např. octová kyselina pomocí enzymatických procesů a kyselé estery vznikají esterifikačním procesem např. z jablečné a vinné kyseliny. Rychlost tvorby závisí na koncentraci substrátů (acyl-CoA a alkoholu) a aktivitě daných enzymů, které jsou součástí procesu syntézy a hydrolýzy. V průběhu kvašení jsou estery unášeny oxidem uhličitým z vína, které je tak ochuzováno o aroma [18; 19; 29].

Kvasinky hrají významnou roli i při tvorbě těkavých látek, především vyšších alkoholů a esterů. Zejména estery velkým dílem přispívají k vývoji ovocného aroma vína. Tabulka 7 ukazuje vybrané významné estery nacházející se ve víně a popis aroma, kterým se vyznačují [30].

Tabulka 7: Nejvýznamnější estery vytvořené kvasinkami a jejich aromatický projev ve víně [30]

Název esteru	Popis aroma
Ethyl propanoát	ovocný
Ethyl-2-methyl propanoát	ovocný, sladká ovoce
Ethyl butanoát	kyselé ovoce
Ethyl-3-methyl butanoát	bobuloviny
Ethyl hexanoát	zelené jablko
Ethyl laktát	jahoda
Ethyl oktanoát	sladké mýdlo
Ethyl dekanoát	příjemné, mýdlové
Ethyl dodekanoát	mýdlové
Ethyl acetát	ovocný, odlakovač (při vysokých koncentracích)
2-Fenyletyl acetát	květinový
Hexyl acetát	sladký, parfém
2-Methylpropyl acetát	banán, ovocný
2-Methylbutyl acetát	banán, ovocný
3-Methylbutyl acetát	banán

Nejčastěji zastoupeným esterem ve víně je ethyl acetát s běžným obsahem 30–80 mg·l⁻¹. Pokud jeho obsah stoupne nad 100 až 150 mg·l⁻¹ hrozí riziko nechtěných pachů po rozpouštědle a laku na nehty. K jeho vzniku přispívají nesacharomycetní kvasinky („divoké“) např. některé rody druhů *Pichia*, *Candida* a patří tak do biologických esterů. Tvorbu vyššího množství esterů lze podpořit vyčiřením moštu, zabráněním přístupu vzduchu a snížením teploty při ethanolové fermentaci [18; 19].

Ethyllaktát (mléčnan ethylnatý) byl pozorován v rozmezí cca od 40 do 60 mg·l⁻¹ u vín, ve kterých proběhlo jablečno-mléčné kvašení. Působí jako zjemňovač aroma a při skladování vína může jeho obsah mírně vzrůstat [24].

Estery mastných kyselin, např. ethyl hexanoát s prahem vnímání 0,5 mg·l⁻¹ nebo ethyloktanoát (čichový práh 1 mg·l⁻¹) a další estery viz Tabulka 7. Esterem vyšších alkoholů je isoamylacetát v mladých vínech a fenylacetát, nebo podle vývoje vína 2-fenylacetát [24].

Chemickou cestou (esterifikací) se rychleji mění monokyseliny za tvorby neutrálních kyselin než polykyseliny, které vytváří i kyselé (ethyls ukcinát) a smíšené estery (methyl sukcinát) [24].

Karboxylové sloučeniny

Přítomnost aldehydů a ketonů ovlivňuje vícero faktorů. Zvýšení jejich obsahu ovlivňuje vyšší vyzrálost hroznů, prodloužení doby macerace, čímž zřejmě dochází k nárůstu koncentrace prekurzorů (aminokyseliny, glukóza atd.) [31].

Při hydrolýze pektinů vzniká methanol, který se následnou oxidací mění na formaldehyd. Vazbou na fenolické látky a oxid siřičitý se obsah jeho volné formy ve víně snižuje. Zprostředkovává také kondenzaci některých anthokyaninů s flavanoly, a tím přispívá ke stabilitě barvi vína [31].

Acetaldehyd je tvořen jako meziproduct kvašení a je také důležitým faktorem pro aktivaci tohoto procesu. Vzniká i v průběhu zrání a skladování vína neenzymatickou oxidací ethanolu. U červených vín přispívá ke stabilizaci barviv reakcí s anthokyany, flavan-3-oly a glycerolem. Vysoké koncentrace acetaldehydu ubírají vínu na jeho kvalitě, kdy je víno cítit např. jako nahnílé jablko [28; 31].

Tvorba acetoinu (3-hydroxybutan-2-on) probíhá skrze kyselinu pyrohroznovou a acetylkoenzym A. Vyšší obsah než 100 mg/l může být ve vínech typu Portské, kde byl proces kvašení zastaven. Akrolein se ve vínech tvoří spontánně enzymatickou hydrolýzou glycerolu bakteriemi mléčného kvašení. Interakcí s oxidem siřičitým a polyfenoly vzniká produkt mající za následek zhoršení sensorické kvality vína zhořknutím. Dalším ketonem ve víně je diacetyl (butan-2,3-dion), který je sensoricky zaznamatelný při 2–4 mg·l⁻¹ a v tomto rozmezí doplňuje aroma červených vín o jemné máslové a oříškové tóny [18; 31].

Další aldehydy a ketony běžně se vyskytující ve víně, vytvořené kvasinkami jsou: propanal, hexanal, fenylacetaldehyd, hydroxypentanon aj. [24].

Karboxylové kyseliny

Pojmenování těkavé kyseliny náleží mastným kyselinám s řetězcem o délce 1 až 6 atomů uhlíku. Celkové kyseliny jsou z 10–15 % tvořeny těkavými kyselinami, což znamená 500–1000 mg·l⁻¹ vína. Pouze 10 % těkavých kyselin vína tvoří zejména propionová, máselná, valerová a kapronová kyselina, zbytek je tvořen octovou kyselinou [18; 19; 24].

Biochemicky vzniká kyselina octová z pyruvátu jako acetylkoenzym A za účasti několika enzymů, případně enzymatickou oxidační reakcí acetaldehydu (enzym aldehyddehydrogenáza). Její množství za normálních podmínek dosahuje hodnot 0,2–0,7 g·l⁻¹. Vyšší koncentrace už ve víně mohou působit nežádoucí aromatické tóny po octu. V závislosti na koncentraci cukru v hroznovém moštu dochází i ke vzniku této kyseliny a glycerolu. S vyšší cukernatostí se vytváří více octové kyseliny, což je vysvětleno mechanismem přizpůsobení kvasinek na příliš cukernaté prostředí [18; 19; 24].

Terpeny a jejich deriváty

Terpenoidy jsou látky rostlinného původu, vytvářené metabolickou dráhou biologické syntézy sterolů a jejich základní jednotkou je geranylpyrofosfát. V bobulích hroznů se nachází především v glykosidicky vázané formě (vázba na glukózu či některé disacharidy) bez aromatického charakteru. Účinkem glykosidáz při fermentaci dochází k jejich uvolnění. Jednotlivé odrůdy vína lze rozdělit také podle obsahu monoterpenů na intenzivně aromatické (muškátové) odrůdy s obsahem vyšším než 6 mg/l, nemuškatové odrůdy (1–4 mg/l), a neutrální odrůdy, jejichž aroma monoterpeny prakticky neovlivňují [19].

V současné době jsou objeveny desítky monoterpenických látek, z nichž k nejaromatictějším a nejhojnějším ve víně patří linalool, nerol, citronellol, hotrienol, geranitol (forma 3-*O*-rutinosidu) a α -terpineol. Trendem ve vinařství je snaha o zvýšení obsahu monoterpenů ve vínech. Může toho být docíleno speciálními kvasinkami kmene *Saccharomyces* či vybranými přírodními kmeny a vyšším množstvím využitelného dusíku [19; 24; 32].

Linalool (3,7-dimethyloktan-1,6-dien-3-ol) je látka s čichovým prahem cca 0,1 mg·l⁻¹. Její vůně se u vína popisuje jako vůně květů, vůně růží. Jakožto acyklický terciární alkohol je oxidací a zacyklením přeměněn na α -terpineol. Při běžných teplotách kvašení jeho množství není tímto procesem nijak ovlivněno [24].

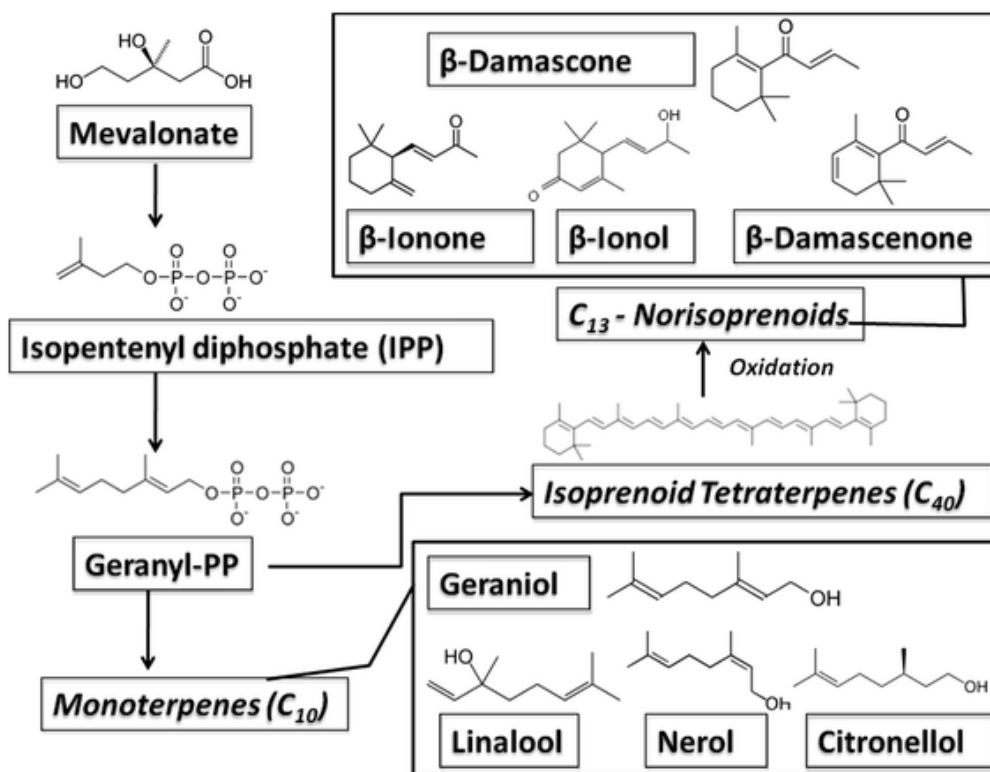
Geraniol (*trans*-3,7-dimethyloktan-2,6-dien-1-ol), jakožto hlavní složka růžového a citronelového oleje, se pro své aroma růžového dřeva využívá při výrobě parfémů. Sensorický práh se pohybuje ve stejných řádech jako u linaloolu. Při alkoholovém kvašení klesá jeho obsah a v procesu zrání vína pomalu dochází k transformaci na α -terpineol [24].

Izomerem geraniolu s konfigurací *cis* je nerol (*cis*-3,7-dimethyloktan-2,6-dien-1-ol). Vyznačuje se sladkou vůní po růžích. Množstevní změny stejně jako u geraniolu probíhají při kvašení a zrání [24].

Zástupcem cyklických monoterpenů je α -terpineol, který se vyskytuje ještě v dalších dvou izomerních formách β - a γ -, ty však ve vínech nejsou příliš zastoupeny. Koncentrace terpineolu se zvyšuje na úkor acyklických monoterpenů v průběhu zrání vína. Aroma vína, kvůli prahu vnímání 0,35 mg·l⁻¹, není touto látkou prakticky ovlivněno [24].

Třináctiuhlíkaté norisoprenoidy vznikají odbouráváním karotenoidů (lutein, β -karotenu atd.). Jsou součástí celkového odrůdového aroma. Významné jsou β -ionon (aroma fialky, maliny, dřeva), β -damascenon (aroma jablka, kdoule, květinové tóny), vitispiran (kafr, eukalyptus). Derivátem norisoprenoidů (non-megastigman) je 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaflalen (TDN). Aromatický charakter v podobě petrolejové vůně může mít negativní vliv, při projevu už šest měsíců po sklizni. Nachází se zejména u vín z teplejších krajín a ve

vínech ryzlinkových odrůd po zrání na lahvi. Obrázek 5 ukazuje způsob vzniku některých monoterpenoidů a norisoprenoidů důležitých pro odrůdové aroma vína [19].



Obrázek 4: Schéma vzniku monoterpenů a norisoprenoidů, důležitých pro odrůdové aroma [33]

Dusíkaté sloučeniny

Hlavními původci „zeleného“ aroma jsou látky skupiny methoxypyraziny. Struktura těchto dusíkatých heterocyklických látek vznikla z aminokyseliny leucinu transformovaného na amid, který následně reaguje s 1,2-dikarbonylovou sloučeninou, za vzniku pyrazinonové formy. V konečné fázi je pyrazinon methylován na methoxypyrazin enzymem ortomethyltransferázou. Díky velmi nízkému prahu vnímání $2 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ má tato skupina látek jasný vliv na buket vína. Jsou to fotocitlivé látky a se zvyšující se teplotou a osvětlením hroznů jejich obsah v hroznech klesá.

U odrůdy Savignon Blanc jsou důležitými nositeli aroma 3-isobutyl-2-methoxypyrazin (IBMP), popisovaný ve vůni jako chřest, paprika, kopřivy nebo zelený pepř, a 3-isopropyl-2-methoxypyrazin (IPMP), který s sebou přináší zemité tóny [18; 34].

Acetamidy jsou známkou nežádoucí přítomnosti mléčných bakterií ve víně. Například *N*-isoamylacetamid či 2-acetyltetrahydropyridin jsou ve vínech velmi nechtěné látky, jejich přítomnost totiž zapříčiňuje myší zápach [24].

Tabulka 8: Methoxypyraziny nalezené v bobulích a vínech podle Swigerse, upravil Michlovský [18]

Název	Aroma	Obsah [$\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$]
2-methoxyl-3-isobutylpyrazin	zelený pepř, hrachový lusk	1
2-methoxyl-3-isopropylpyrazin	zelený pepř, hrachový lusk. zemitá	2
2-methoxyl-3-sec-butylpyrazin	zelený pepř, hrachový lusk	1
2-methoxyl-3-ethylpyrazin	zelený pepř, hrachový lusk	40
2-methoxyl-3-methylpyrazin	zelený pepř, hrachový lusk	400

Sírné sloučeniny

Vonné thioly nebo také merkaptany jsou obecně původci sensorických vad vína. Vedle toho jsou ale i nemalou součástí odrudového aroma některých druhů ovoce, jakožto i révy vinné (především Sauvignon Blanc). Vznik je podmíněn vyváženou výživou dusíkem, protože vychází z derivátů aminokyselin a peptidů (cysteinylový nebo glutationylový) [34].

U odrůdy Sauvignon jsou zásadními thioly 4-merkpto-4-methylpentan-2-on (4MMP), 3-merkptohexan-1-ol (3MH), 3-merkptohexylacetát (3MHA). Látky 3MH (práh vnímání $60 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$) a 3MHA (práh vnímání $4 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$) dodávají vínu aroma mučenky, grapu, angreštu a guavy [34]

Degradací *S*-methylmehioninu vzniká dimethyldisulfid, který vnáší do vína při vyšších koncentracích tóny zimostřazu a lanýže. Oproti tomu nechtěnou sloučeninou je sirovodík s pachem zkažených vajec při prahu znatelnosti $10\text{--}80 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [18; 19].

Tabulka 9: Příklady thiolů ve víně podle Swigerse, úprava Michlovský [18]

Thiol	Koncentrace	Aroma
Methanthiol	$2,1\text{--}5,1 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	hnijící voda
Ethanthiol	$1,9\text{--}18,7 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	cibule, guma, zemní plyn
4-merkpto-4-methyl-pentan-2-on	$0\text{--}30 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$	aroma krušpánku, černý rybíz
markptohexynol	$0,5\text{--}5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	černý ribíz, grapefruit, granátové jablko
thiofen-2-thiol	$0\text{--}11 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$	spálená guma, pražená káva
2-furanmethanthiol	$0\text{--}350 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$	spálená guma, pražená káva

2.5. Analýza vína

Kvalita vína je dána chemickým složením, proto je žádoucí zjišťovat jeho látkovou strukturu jak z hlediska kvalitativního, tak z hlediska kvantitativního. Pro orientační analýzu, především u malovinařů, mohou sloužit metody, které jsou méně náročné na vybavení, čas i finance. V případě přesného zatřídění vína, musí analytický rozbor provést akreditovaná laboratoř za použití metod stanovených zákonem č. 256/2011 Sb. Dále se pak používají složitější instrumentální techniky, na které je nutné mít konkrétní analytické přístroje [19; 35].

2.5.1. Provozní metody analýzy

Metody stanovení fyzikálně-chemických vlastností jsou specifikovány v rukověti analytických metod Mezinárodní organizace pro révu a víno (OIV). *Stanovení skutečného alkoholu pyknometricky* se provádí destilačně a hodnota je vyjádřena jako objem ethanolu v litrech obsaženého ve 100 l vína (% obj.) při $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Ve skutečnosti však není určován pouze ethanol, ale suma těkavých alkoholů a esterů. Zalkalizovaný vzorek je destilován a hustota destilátu je stanovena pyknometricky a následně je odečtena hodnota pro vztah hustoty a složení roztoku. *Ebulioskopické stanovení alkoholu* je založeno na závislosti bodu varu alkoholického roztoku na koncentraci alkoholu (ethanolu) [12; 36].

Stanovení celkových titrovatelných kyselin je stanovení sumy kyselin (bez kyseliny uhličitě) pomocí titrace odměrným alkalickým roztokem do pH 7. Stanovení těkavých kyselin je prováděno titrací vinného destilátu roztokem hydroxidu sodného, které předchází odstranění oxidu uhličitého. Dalšími složitějšími metodami stanovení mohou být enzymatické stanovení či spektrofotometrické stanovení při 530 nm [12; 37].

Oxid siřičitý lze ve víně stanovit *destilačně* nebo *titrací odměrným roztokem jódu* po odkyselení. *Destilační metoda* využívá uvolnění celkového volného oxidu siřičitého kyselinou fosforečnou (pro uvolnění vázané formy je nutno dosáhnout ještě varu) a přenesení proudem plynu do sorpční nádoby. V nádobce je zachycován a oxidován peroxidem vodíku za vzniku kyseliny sírové. Ta je vzápětí titrována hydroxidem sodným. Složitější *spektrofotometrická metoda určování oxidu siřičitého* pomocí průtokové injekční analýzy (FIA), je založena na odbarvení malachitové zeleně tímto oxidem [12; 38].

Bílkovinnou stabilitu vína můžeme ověřovat pomocí jednoduchého tepelného testu s přidávkem nasyceného roztoku síranu amonného nebo pěnovou zkouškou. Všechny metody jsou založeny na změně teploty, přičemž termolabilní proteiny vypadají z roztoku nebo mění povrchové napětí vína [12].

Stanovením glukózy a fruktózy enzymatickou cestou lze tyto monosacharidy stanovit jednotlivě. Měření se provádí v ultrafialovém a viditelném spektru pomocí UV/VIS-spektrofotometru s vlnovou délkou 340 nm. *Gravimetrické metoda stanovení redukujících cukrů* má princip založený na schopnosti sacharidů redukovat alkalicko-měďnatý roztok (Fehlingovy roztoky), za vzniku oxidu měďného, který se váží. *Stanovení redukujících cukrů jodometricky* tyto cukry redukuje vařící roztoky síranu měďnatého v alkalickém prostředí a koncentrace měďnatého kationtu se stanoví jodometricky. *Stanovení redukujících cukrů podle Bertranda (manganometricky)* spočívá v redukcí Fehlingových roztoků za vzniku oxidu měďného. Oxid měďný následně redukuje železité ionty na železnaté, které se stanoví odměrným roztokem manganistanu draselného [12; 19].

2.5.2. Instrumentální metody

Instrumentální metody dokáží poskytnout výsledky i o stopových koncentracích látek. Dalšími výhodami jsou jejich rychlost a automatizace v porovnání s metodami klasickými [19].

Plynová chromatografie (GC) je velmi využívaná metoda pro analýzu, nejen vína. Mobilní (pohyblivou) fázi tvoří tzv. nosný plyn a stacionární fáze je umístěna v kolně. Ve spojení s ní se dá využít různých detektorů, jako třeba plamenově ionizační detektor (FID), detektor elektronového záchytu (ECD). Jednou z nejpoužívanějších detekcí je hmotnostní spektrometrie, která detekuje ionizované molekuly na základě poměru hmotnosti ku náboji. K vysoké využitelnosti MS přispívá dostupnost rozsáhlých databází hmotnostních spekter a retenčních indexů. Současné MS detektory obsahují různé složení a typy hmotnostních analyzátorů např. kvadrupól, iontové pasti, TOF (doba letu) atd. Pro analýzu vysoce komplexních vzorků se také může použít dvourozměrná plynová chromatografie (GC/GC) [39].

Mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) je v současné době jednou z nejvíce používaných technik extrakce. Je často využívána k analýze těkavých látek z nápojů a potravin. Ve článku Williamse a Buica [40] byly porovnávány dvě metody, v tomto případě využitě konkrétně pro analýzu těkavých terpenoidů. Pro kvantifikaci byla využita plynová chromatografie společně s hmotnostním spektrometrem (GC-MS). Rozdíl byl v použité extrakci, konkrétně online headspace mikroextrakce tuhou fází (HS-SPME) a offline extrakce na pevné fázi (SPE). Metodou online HS-SPME-GC-MS bylo dosaženo citlivější analýzy a tím i přesnějších výsledků. U obou metod však byl limit kvantifikace větší než sensorický práh těchto látek ve víně [40; 41].

Využívanou metodou pro stanovení organických kyselin je kapilární zónová elektroforéza (CZE) s přímou UV detekcí či nepřímou detekcí UV. Výhodou je provedení ve velmi malém časovém horizontu (někdy i méně než 3 minuty) a dobré rozlišení. CZE společně s izotachoforézou (ITP) jsou metody separující látky na základě jejich pohyblivosti v stejnosměrném elektrickém poli [19; 42; 43].

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) se dá využít v kombinaci s mnoha detektory, např. UV detektor, MS, detektor s diodovým polem (DAD) atd. Kolona, ve které se provádí separace, obsahuje dvě fáze – stacionární fázi (nepohyblivou) a kapalnou mobilní fázi (pohyblivou). Složky analyzované látky jsou pak po různé době zachycovány ve stacionární fázi (mají k ní jinou afinitu) a na základě toho jsou separovány a dopadají na detektor. Analýza pomocí HPLC-DAD-MS vína Saperavi vedla k identifikaci a kvantifikaci těžkých látek – anthokyanů, flavonolů, stilbenů, hydroxyskořicových kyselin a dalších fenolických kyselin. Pro analýzu thiolů je po derivatizaci vína (4,4'-dithiodipyrindinem) možné použít HPLC-MS/MS (tandemová hmotnostní spektrometrie), přičemž je účinnost této metody srovnatelná s běžně používanou GS-MS [19; 41; 44].

Atomová emisní a fluorescenční spektrometrie (AES, AFS) v kombinaci s iontově vázaným plazmatem (ICP) jsou metody založené na měření záření emitovaného danou částicí. Atomovou absorpční spektrometrií (AAS), které je založena na měření absorbovaného záření, které je přímo úměrné koncentraci prvku. Všechny tři tyto metody jsou využívány k prvkové analýze vína. Pomocí AAS byl ve víně stanoven obsah majoritně zastoupených kovových prvků (K, Mg, Ca, Fe, Zn) [19; 45; 46].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V experimentální části práce byly stanovovány aromatické sloučeniny ve vybraných vzorcích pomocí headspace mikroextrakce na tuhou fázi spojené s plynovou chromatografií a detekce byla provedena hmotnostním spektrometrem.

3.1. Použité vybavení

- Plynový chromatograf TraceTM 1310 se split/splitless injektorem (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostní spektrometr ISQTM LT Single Quadrupole (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Xcalibur 2.2 (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knihovna hmotnostních spekter NIST/EPA/NIH (Gaithersburg, MA, USA)
- Microsoft Excel 2020 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)
- Statistica 13 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA)
- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 (Supelco, Bellefonte, PA, USA)
- Kapilární kolona TG-WAXMS (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm) (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Předvážky EK-1200i a analytické digitální váhy GR-202 (A&D Instrument Ltd, Abingdon, Spojené království)
- Vialky (10ml) se závitovým magnetickým uzávěrem, náhradní septa
- Běžné laboratorní sklo a náčiní

3.2. Použité chemikálie

- Helium 4.8 (SIAD Czech s.r.o., Rajhradice, Česko)
- Ethanol 96%, p.a. (Penta Chemicals, Chrudim, Česko)
- Linalool 97% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo)
- Terpineol (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- Citronellol 96% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo)
- Geraniol 97% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo)
- Eugenol 99% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo)
- Ethyl hexanoát (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- Methyl hexanoát (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- 2-Nonanol 98% (Merck, Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Německo)
- Ethyl oktanoát (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- Methyl oktanoát (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- Dekan-1-ol (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- (R)-(+)-Limonen 97% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo)
- Linalool oxid 97% (GC) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- Geranial, p.s. (GC) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- Neral, p.s. (Merck, Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Německo)
- Ethyl dekanoát 99% (Merck, Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Německo)

3.3. Analyzované vzorky

Vzorky analyzované v této práci pochází z vinařské oblasti Morava. Jednotlivé vzorky byly pro účely této bakalářské práce věnovány samotnými vinaři. Bylo zanalyzováno celkem 33 vzorků. Z toho 27 vín odrůdy Frankovka a po 3 vzorcích odrůd Rulandské modré a Zweigeltrebe. Seznam vzorků a základní informace o nich je uveden v Tabulce 10.

3.4. Metody a postupy

3.4.1. Příprava vzorků před analýzou

Ihned po otevření lahve z ní byly odebrány 3 ml vzorku a napipetovány do vialky o objemu 10 ml. Takto připravené vzorky byly bezprostředně podrobeny analýze bez jakýchkoliv dalších chemických úprav.

3.4.2. Nastavené podmínky analýzy pomocí HS-SPME-GC-MS

- HS-SPME: DVB/CAR/PDMS vlákno, 3 ml vzorku v 10ml vialce, inkubace 5 min při teplotě 40 °C, doba extrakce 30 min, doba desorpce: 7 min, míchání
- Teplota inletu: 250 °C
- Průtok nosného plynu: 1 ml/min
- Teplotní program: 40 °C po dobu 1 min, 2 °C/min do 100 °C po dobu 3 min, 5 °C/min do 130 °C po dobu 5 min, 2 °C/min do 220 °C po dobu 2 min
- MS detekce: teplota transfer line: 245 °C, iontový zdroj: elektronová ionizace při 70 eV, teplota iontového zdroje: 230 °C, skenovací rozsah 30–300 m/z

3.4.3. Příprava roztoků standardů

Pro vytvoření zásobních roztoků standardů byl použit „simulátor vína“, tedy 12% vodný roztok ethanolu obsahující: 15 g·l⁻¹ glukózy, 15 g·l⁻¹ fruktózy, 1,5 g·l⁻¹ kyseliny vinné, 1,5 g·l⁻¹ kyseliny jablečné, 1,5 g·l⁻¹ kyseliny mléčné, 6 g·l⁻¹ glycerinu, 1 g·l⁻¹ 2,3-butandiolu, 40 mg·l⁻¹ 2-fenylethanolu. Roztok připravený smísením těchto látek, byl následně kalibrován pomocí přiměřeně silného roztoku hydroxidu draselného na hodnotu pH 3,5.

Pro účely kvantifikace byl připraven směsný zásobní roztok standardů (viz seznam v Tabulce 10) o koncentraci 1 mg·ml⁻¹, z něhož byly následně připraveny body pro vnější kalibraci o koncentracích 1; 3; 10; 30; 100; 300 a 1000 mg·ml⁻¹.

3.5. Validace metody

Jako validace je brán proces, kterým se určuje vhodnost použití konkrétní analytické metody pro získání dat s jistou vypovídající hodnotou [47].

3.5.1. Linearita

Linearita je závislostí analytického signálu na koncentraci analytu (množství analytu, na které metoda dokáže reagovat přímo úměrnou odezvou) [47]. Sloučeniny uvedené v Tabulce 11 byly vybrány, jako zástupci terpenoidů, esterů a karbonylových sloučeniny, které se nachází ve víně. Technikou vnějšího standardu za použití 12% ethanolických roztoků standardů o koncentraci 3, 10, 30, 100, 300, 1 000 µg·l⁻¹ (příprava roztoků standardů viz výše).

Tabulka 10: Ověření linearity

Sloučenina	Kalibrace (A=ac)	Koeff. spolehlivosti R ²	Rozsah [μg·l ⁻¹]
	a		
Linalool	1,11862·10 ⁷	0,969	1-300
Terpineol	1,43914·10 ⁷	0,977	1-300
Citronellol	1,14034·10 ⁷	0,981	1-300
Geranial	8,99868·10 ⁶	0,995	1-300
Geraniol	7,4042·10 ⁵	0,845	1-300
Eugenol	3,91286·10 ⁶	0,999	1-300
Methyl hexanoát	2,37726·10 ⁸	0,996	1-300
Ethyl hexanoát	5,06559·10 ⁸	0,997	1-300
Methyl oktanoát	6,87373·10 ⁸	0,990	1-1000
Ethyl oktanoát	8,45795·10 ⁸	0,993	1-1000
Nonanol	6,79598·10 ⁸	0,999	1-300
Ethyl dekanóát	1,08342·10 ⁹	0,989	1-300
Dekanol	1,29264·10 ⁹	0,997	1-300
Limonen	1,40136·10 ⁶	0,829	1-300
<i>trans</i> -Linalool oxid	5,70264·10 ⁵	0,990	1-300
<i>cis</i> -Linalool oxid	9,29940·10 ⁵	0,992	1-300
Neral	6,73868·10 ⁶	0,992	1-300

3.6. Zpracování dat

Duplicitní analýzou vzorků byla získána data, ze kterých byl vypočten aritmetický průměr. Zpracování dat proběhlo v programu MS Excel, kde byly přepočítány plochy píků na koncentrace pomocí vytvořených kalibračních křivek, z nich vypočítány aritmetické průměry, směrodatné odchylky, medián atd. Pomocí programu Statistica byly vytvořeny krabicové grafy pro názorné porovnání obsahu analytů ve vzorcích.

Tabulka 11: Seznam vzorků a základní informace

Č.	Odrůda	Ročník	Vinařská obec	Vinařství	Trat'	Podoblast
1	Frankovka	2018	Čejkovice	Veverka	Novosádky	velkopavlovická
2	Frankovka	2018	Velké Bílovice	Rodinné vinařství Sedlák	Dlouhá hory	velkopavlovická
3	Frankovka	2017	Velké Bílovice	Vladimír Tetur	-	velkopavlovická
4	Frankovka	2017	Popice	Gotberg	Svidrunk	mikulovská
5	Frankovka	2017	Dolní Dunajovice	Château Valtice	Pod Slunným vrchem	mikulovská
6	Frankovka	2018	Novosedly	Maňák	Kamenný vrch	mikulovská
7	Frankovka	2017	Dolní Kounice	Trpělka & Oulehla	Na nivách	znojemská
8	Frankovka	2018	Dolní Kounice	Vinselekt Michlovský	Na nivách	znojemská
9	Frankovka	2017	Olbramovice u Mor. Krumlova	Lahofer	Na vyhlídce	znojemská
10	Frankovka	2018	-	U Urbana	-	slovácká
11	Frankovka	2018	Hovorany	Zámecké vinařství Bzenec	Podvinohradí	slovácká
12	Frankovka	2018	Mařatice	Vinný dům	Prostřední hora	slovácká
13	Frankovka	2018	Vrbice	Horák	Krátký	velkopavlovická
14	Frankovka	2017	Vrbice	Horák	Krátký	velkopavlovická
15	Frankovka	2018	Vrbice	MITOMA	Skale	velkopavlovická
16	Frankovka	2018	Vrbice	Vít Sedlák	Skale	velkopavlovická
17	Frankovka	2018	Vrbice	Syfany	Úlehle	velkopavlovická
18	Frankovka	2017	Němčičky	Herzánovi	Růžený	velkopavlovická
19	Frankovka	2017	Němčičky	J. Stávek	Růžený	velkopavlovická
20	Frankovka	2018	Němčičky	Vinařství Pavel & Radim Stávkovi	Soudná	velkopavlovická
21	Frankovka	2018	Bořetice	Rodinné vinařství Jedlička	Terasy	velkopavlovická
22	Frankovka	2017	Bořetice	Rodinné vinařství Jedlička	Terasy	velkopavlovická
23	Frankovka	2018	Kobyly	Herzánovi	Nivky	velkopavlovická
24	Frankovka	2017	Velké Pavlovice	Baraque	Nadzahrady	velkopavlovická
25	Frankovka	2017	Miroslav	Znovín Znojmo	Weinperky	znojemská

Tabulka 12: Seznam vzorků a základní informace (pokračování)

Č.	Odrůda	Ročník	Vinařská obec	Vinařství	Trat'	Podoblast
26	Rulandské modré	2017	Stošíkovice	Znovín Znojmo	U Tří dubů	znojemská
27	Zweigeltrebe	2016	Božice	Znovín Znojmo	Stará hora	znojemská
28	Zweigeltrebe	2015	Josefov	Vinařství Klubus	Kukvička	slovácká
29	Rulandské modré	2017	-	Vinařství Krist	-	slovácká
30	Rulandské modré	2017	Mikulov	MORAVÍNO	Pod Starým kopečkem	mikulovská
31	Frankovka	2017	Valtice	MORAVÍNO	Pod Reistnou	mikulovská
32	Zweigeltrebe	2018	Velké Bílovice	Vladimír Tetur	-	velkopavlovická
33	Frankovka	2016	Velké Bílovice	Vladimír Tetur	Nadrahady	velkopavlovická

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

Analýza látek tvořících aromatický profil, ve vybraných vzorcích moravských vín byla provedena metodou HS-SPME-GC-MS. Konkrétní specifikace a parametry použité metody byly zvoleny na základě literární rešerše, s ohledem na dosažení maximální účinnosti separace na chromatografické koloně, spolehlivosti vzhledem k dostatečnému rozlišení píků na chromatogramu a udržení únosné doby trvání celé analýzy. V rámci provedené validace metody byl v této práci ověřen aspekt linearity metody (viz Tabulka 10). Takto validovanou metodou byl analyzován všechny vzorky.

4.1. Kvalitativní analýza těkavých látek

Celkově analýzou prošlo 33 vzorků jakostních vín (viz Tabulka 11), odrůd Frankovka (27 vzorků), Zweigeltrebe (3 vzorky) a Rulandské modré (3vzorky).

U vzorků bylo provedeno kvalitativní stanovení látek podílejících se na aromatickém profilu vína. Bylo nalezeno 80 těkavých aromaticky aktivních látek, jejich přehled je uveden v Tabulce 12. Z nich bylo následně vybráno 23 sloučenin s velkou četností zastoupení ve vzorcích, a které se dle literatury podílí na charakteristickém aroma vybraných odrůd Frankovka, Zweigeltrebe a Rulandské modré.

Za účelem potvrzení identifikace sloučenin byly vypočítány jejich retenční indexy, které byly následně porovnány s literaturou a jsou uvedeny v Tabulce 13 [48; 49; 50; 51; 52]. V Tabulce 13 lze nalézt také četnost výskytu analytů ve vzorcích zkoumaných odrůd.

Vybrané sloučeniny byly kvantifikovány na základě kalibrace metodou vnějšího standardu. Byly použity standardy vybraných sloučenin, popřípadě standardy látek s podobnou strukturou molekuly a hmotnostním spektrem.

Standardy, na jejichž základě byly látky kvantifikovány, jsou methyl hexanoát (dle něj kvantifikován 1-hexanol a hexanová kyselina), ethyl hexanoát (podle něj – ethyl hexanoát, hexyl acetát, ethyl heptanoát, ethyl hex-2-enoát, 3-(methylthio)-1-propanol), methyl oktanoát (1-oktanol, oktánová kyselina), ethyl oktanoát (ethyl oktanoát), nonanol (nonanal, 1-nonanol), ethyl dekanóat (ethyl dekanóat, ethyl dodekanoát, ethyl hexadekanoát, ethyl oktadekanoát), dekanol (1- dekanol, dekanová kyselina), linalool (linalool), eugenol (butyrolakton, TDN, 2-fenylacetát, fenylethyl alkohol).

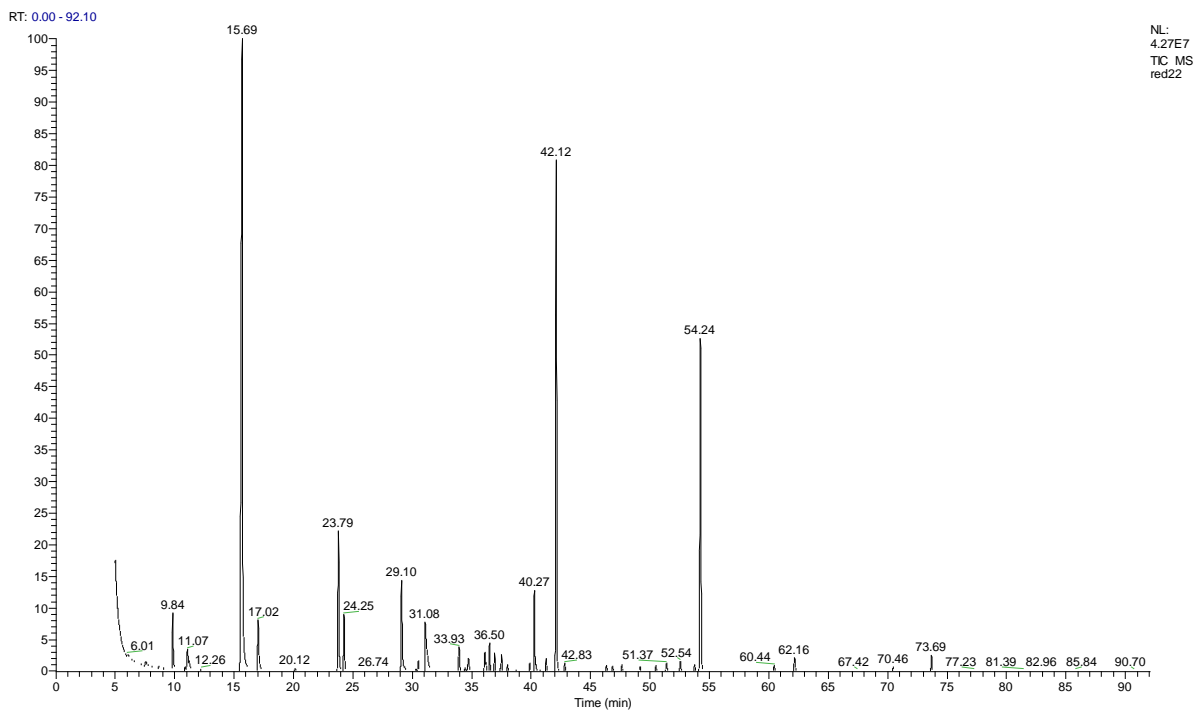
Tabulka 13: Identifikované těkavé látky seřazené dle retenčního času

RT [min]	Sloučenina	RT [min]	Sloučenina
10,09	2-Methylpropan-1-ol	37,35	3-Methylbutyl acetát
10,75	3-Methyl-1-butyl acetát	38,38	Methyl dekanoát
15,66	3-Methylbutanol	39,89	Butyrolakton
16,76	Ethyl hexanoát	40,16	Ethyl dekanoát
18,32	Ethyl heptanoát	40,88	3-Methylbutyl oktanoát
18,43	2-Propenyl 2-ethyl butanoát	41,15	1-Nonanol
18,52	Pentyl butanoát	41,94	Diethylsukcinát
19,07	Hexyl acetát	42,39	Ethyl ester kyseliny <i>trans</i> -11-Hexadekenové
20,08	3-Hydroxybutan-2-on	42,40	Ethyl dek-9-enoát
21,07	Ethylester kyseliny hex-4-enové	42,78	cis-4-tert-Butylcyclohexanol
21,08	Geranylvinyl ether	42,73	α -Terpineol
22,50	3-Methyl-1-pentanol	43,82	3-(Methylthio)-1-propanol
22,69	Ethyl heptanoát	44,79	1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaftalen (TDN)
23,44	Ethyl hex-2-enoát	46,15	1-Dekanol
23,61	Ethyl-2-hydroxy propanoát	47,91	4-Amino-1,5-pentandiová kyselina
24,13	1-Hexanol	48,14	Methyl dodekanoát
24,76	3-Hexen-1-ol	48,46	2-Ethoxybenzoová kyselina
24,78	3-methyl-4-penten-1-ol	49,01	2-Fenylethyl acetát
26,06	2-nonanon	50,32	Ethyl dodekanoát
26,13	Methyl oktanoát	51,25	Hexanová kyselina
26,36	Nonanal	51,85	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentandiol diisobutyrát
28,95	Ethyl oktanoát	52,40	Benzylalkohol
30,11	1-Octen-3-ol	53,78	α -Calacorene
30,21	3-Methylbutylhexanoát	54,09	Fenylethyl alkohol
30,35	1-Heptanol	56,93	Dodekan-1-ol
30,62	2-Methylpropyl 2-hydroxypropanoát	57,98	Furan-2,5-dikarbaldehyd
30,91	Octová kyselina	58,84	Methyl tetradekanoát
31,15	Furfural	59,77	γ -Dodekalakton
32,76	Dekanal	60,09	1,4-Dimethylnaftalen
32,84	3-Hydroxydodekanová kyselina	60,12	4-Ethyl-2-methoxyfenol
33,61	Geranylvinylether	60,73	Ethyl tetradekanoát
33,62	Ethylhexa-2,4-dienoát	60,77	Ethyl hexadekanoát
33,75	3-Ethyl-4-methyl-1-pentanol	61,20	Methyl ester 9-oxo-nonanové kyseliny
34,20	3-Isopropyl-7a-methyl-1,4,5,6,7,7a-hexahydro-2H-inden-2-on	62,02	Oktanová kyselina
34,37	Ionon	66,57	Eugenol
34,70	Benzaldehyd	67,21	3-Ethylfenol
35,32	Ethyl nonanoát	68,64	4-Isopropyl-1,6-dimethylnaftalen
35,97	2,3-Butandiol	70,36	Ethyl oktadekanoát
36,31	Linalool	71,89	Dekánová kyselina
36,78	1-Octanol	81,28	5-Hydroxymethylfurfural

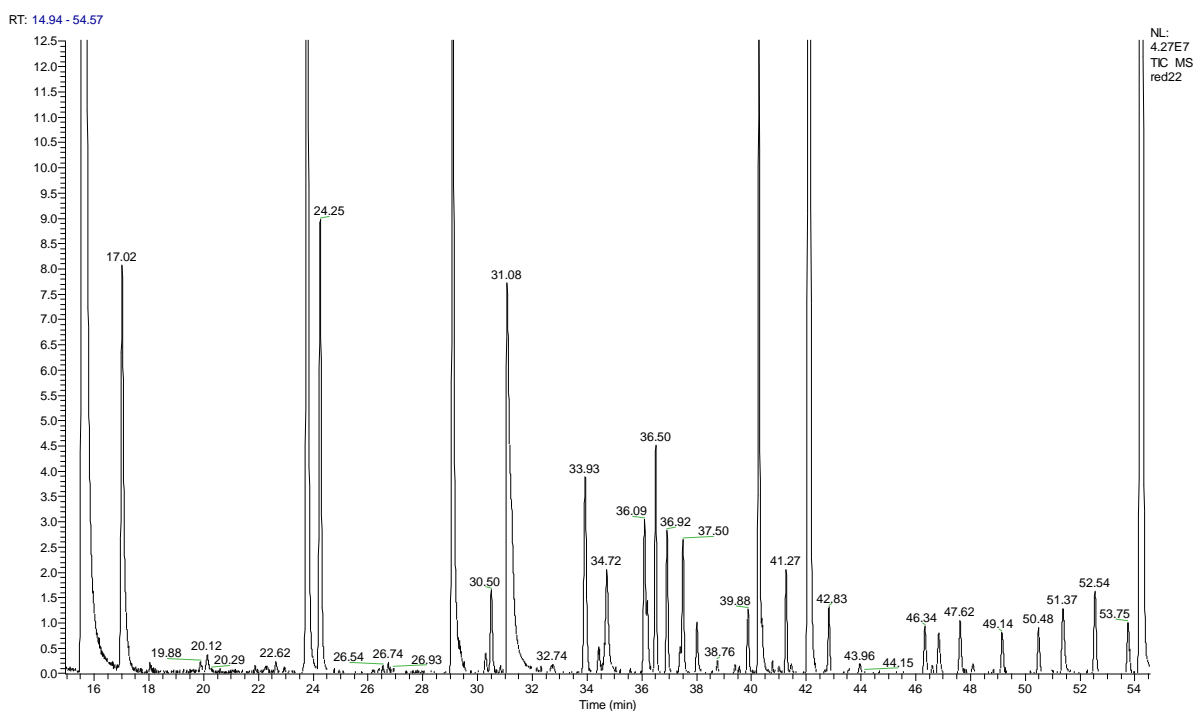
Tabulka 14: Vybrané těkavé látky dle analyzovaných odrůd [48; 49; 50; 51; 52]

Analyt	RT [min]	RI	RI _{lit}	Aroma deskriptor	RM	ZW	Fr
Ethyl hexanoát	16,98	1243	1238	Zelené jablko [30]	A	A	A
Hexyl acetát	19,28	1282	1269	Sladký, parfém [30]	A	A	A
Ethyl heptanoát	22,69	1339	1331		A	A	A*
Ethyl hex-2-enoát	23,60	1354	1345		A	A	A
1-Hexanol	24,19	1364	1354	Bylinné, sladké, dřevo [53]	A	A	A
Nonanal	26,50	1395	1396	Bylinná [53]	A	A*	A
Ethyl oktanoát	29,17	1441	1438	Sladké mýdlo [30]	A	A	A
Linalool	36,45	1553	1554	Růže, levandule, citrus [54]	A	A	A
1-Oktanol	36,87	1563	1561–1566	Hořká mandle	A	A	A
Butyrolakton	39,83	1648	1650	Karamel, broskev [53]	A	A	A
Ethyl dekanoát	40,16	1655	1647	Příjemné, mýdlové [30]	A	A	A
1-Nonanol	41,15	1667	1668		A	A	A*
3-(Methylthio)-1-propanol	43,89	1726	1725	Ovocné, ananas [53]	A	A	A
TDN	44,79	1745	1747	Rostlinné, ovocné [53]	A	A*	A
1-Dekanol	46,28	1773	1924–1980	Mastné [53]	A*	A*	A*
2-Fenylethyl acetát	49,10	1826	1784–1851	Med [55]	A	A*	A
Ethyl dodekanoát	50,32	1847	1820–1866	Mýdlové [30]	A	A	A
Hexanová kyselina	51,34	1867	1807–1873	Sýrové [53]	A	A	A
Fenylethyl alkohol	54,19	1923	1859–1944	Med, rostlinné [53]	A	A	A
Ethyl hexadekanoát	60,84	2162	1969–1985		A*	A	A
Oktanová kyseliny	62,13	2188	2011–2089	Sýrové, mastné [53]	A	A	A
Ethyl oktadekanoát	70,44	2356	2386–2445		A	A	A
Dekanová kyselina	71,89	2386	2227–2301	Sýrové, mastné [53]	A	A	A

TDN – 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen; RT – retenční čas; RI – retenční index stanovený experimentálně; RI_{lit} – retenční index nalezený v literatuře; RM – Rulandské modré; ZW – Zweigeltrebe; Fr – Frankovka; A – látka identifikovaná ve všech vzorcích dané odrůdy; A* – látka nebyla identifikována ve všech vzorcích odrůdy



Obrázek 5: Ukázka chromatogramu pro vzorek č. 22 (Frankovka 2017); identifikace sloučenin viz Tabulka 12



Obrázek 6: Ukázka přiblíženého chromatogramu pro vzorek č. 22 (Frankovka 2017); identifikace sloučenin viz Tabulka 12

4.1.1. Odrůda Frankovka

Pro bližší charakterizaci celkového aroma byly vybrány vzorky odrůdy Frankovka, která je v této práci zastoupena nejvíce; zde bylo výše uvedených 23 vybraných těkavých látek kvantifikováno (viz Tabulka 14).

Tabulka 15: Charakteristika obsahu vybraných aromatických látek ve všech vzorcích odrůdy Frankovka

Analyt	Koncentrace [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]				
	Min	Max	Medián	Průměr	Sm. odchylka
Ethyl hexanoát	0,06	341,32	157,43	156,56	98,77
Hexyl acetát	nd	4,92	0,90	1,12	0,98
Ethyl heptanoát	0,00	18,51	1,01	1,70	2,94
Ethyl hex-2-enoát	0,00	2,05	0,39	0,50	0,56
1-Hexanol	6,38	195,45	87,02	91,25	40,04
Nonanal	0,00	3,01	0,15	0,37	0,64
Ethyl oktanoát	11,33	617,43	239,52	270,62	166,15
Linalool	0,02	0,73	0,14	0,18	0,15
1-Oktanol	0,78	8,05	5,44	5,50	1,60
Butyrolakton	0,23	0,94	0,65	0,64	0,14
Ethyl dekanoát	4,51	144,17	66,16	70,71	46,19
1-Nonanol	0,81	7,37	2,63	3,09	1,51
3-(Methylthio)-1-propanol	0,31	2,40	1,36	1,31	0,49
TDN	0,00	0,52	0,00	0,07	0,12
1-Dekanol	0,08	73,27	2,25	8,00	14,98
2-Fenylethyl acetát	0,15	1,26	0,43	0,50	0,23
Ethyl dodekanoát	0,22	52,65	4,60	8,09	11,50
Hexanová kyselina	6,20	44,65	25,88	25,85	8,09
Fenylethyl alkohol	0,61	126,20	38,99	44,18	22,18
Ethyl hexadekanoát	0,00	6,66	0,46	0,94	1,62
Oktanová kyseliny	5,03	37,57	19,16	19,48	7,64
Ethyl oktadekanoát	0,04	14,41	1,80	3,54	3,84
Dekanová kyselina	0,00	5,41	1,22	1,41	1,17

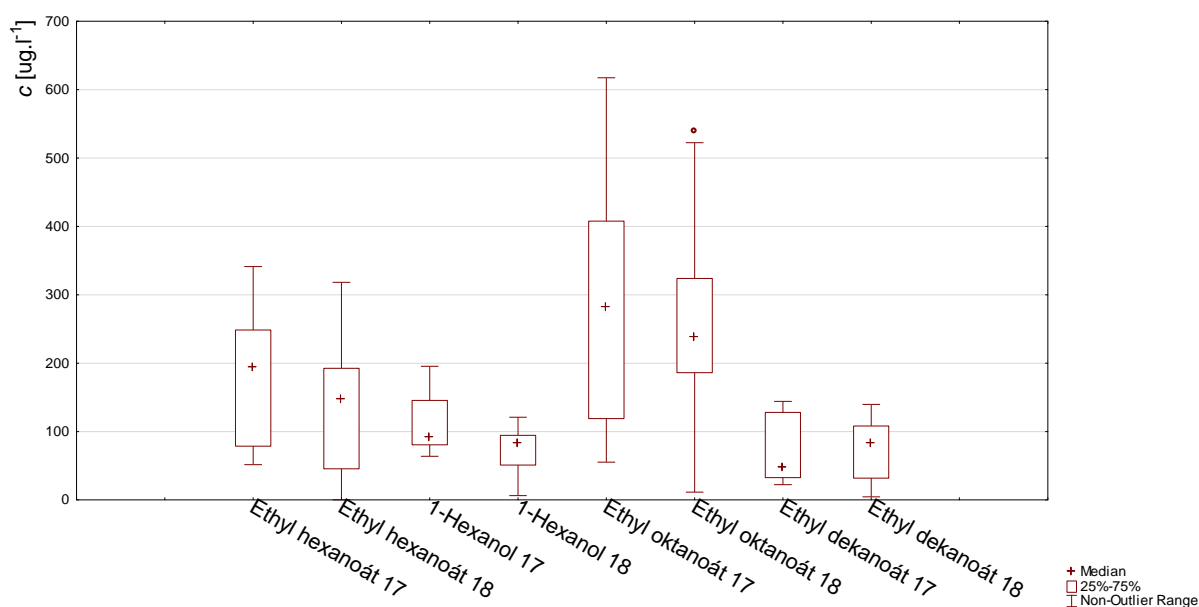
nd –nebylo detekováno

Průměrné koncentrace kvantifikovaných látek ve vínech odrůdy Frankovka byly srovnány s literaturou. Pro ethyl estery karboxylových kyselin byly naměřeny nejvyšší koncentrace, které jsou srovnatelné s publikovanými hodnotami těchto esterů v červených vínech. Například experimentálně stanovený obsah ethyl hexanoátu byl $156,56 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, přičemž v literatuře byly uvedeny hodnoty $111,6$ a $207,57 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [56; 57]. Dalším takto stanoveným esterem byl ethyl dekanoát s průměrnou koncentrací $70,71 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, v publikacích byla nalezena konkrétně množství $28,38 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $90,8 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [56; 58]. Dle vypočítaných koncentrací byl nejvíce obsaženou sloučeninou ethyl oktanoát, jehož obsah v analyzovaných vzorcích byl průměrně $270,62 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a v literárních zdrojích byly uvedeny hodnoty porovnatelné, tj. $237,7 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a $298,7 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [57; 58]. K méně zastoupeným esterům se řadil hexyl acetát s koncentrací $1,12 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, při porovnání s literaturou je však patrné, že jeho hodnoty se běžně pohybují pouze v jednotkách miligramů na liter (např. $3 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$; $5,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) [57; 58].

Kvantifikované alkoholy převyšují svými koncentracemi hodnoty nalezené ve člancích, které byly použity pro srovnání. K takovýmto alkoholům patří 1-oktanol, který byl identifikován v koncentraci $5,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, což je oproti hodnotám ve vyhledaných zdrojích cca o $2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ více a 1-dekanol svou vypočtenou koncentrací $8,0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ převyšuje hodnotu nalezenou v článku přibližně o $6 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [57; 56].

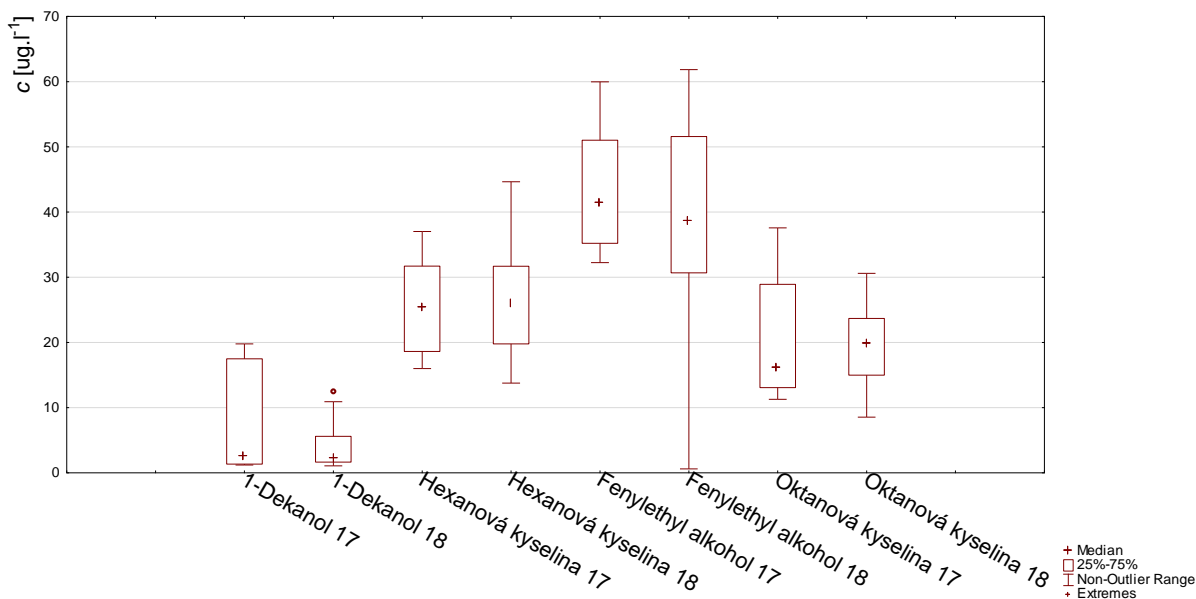
Vzhledem k tomu, že bylo analyzováno více ročníků odrůd Frankovky, 1 vzorek ročníku 2016, 12 vín ročníku 2017 a 14 vín ročníku 2018, pro ročníkové srovnání (2017 vs 2018), bylo dle mediánu stanovených koncentrací ve všech vzorcích odrůdy Frankovka vybráno celkem 8 sloučenin. Ty byly dále rozřazeny na 4 látky s majoritním obsahem a 4 látky s minoritním obsahem. Vypočtená data byla zanesena do dvou krabicových grafů, které je možné vidět na Obrázcích 7 a 8.

Obrázek 7 je graf vytvořený pro majoritně obsažené aromatické látky, resp. jejich obsah (ethyl hexanoát, 1-hexanol, ethyl oktanoát, ethyl dekanóát). V grafu jsou vedle sebe umístěna data pro tutéž látku a rozdílný ročník. Grafy ukazují, že všechna interkvartilová rozpětí látek ve vzorcích náležejících ročníku 2018 mají nižší hodnoty než rozpětí vzorků ročníku 2017, tedy 75 % hodnot koncentrací je vyšší než v ročníku 2018.



Obrázek 7: Krabicový graf majoritně obsažených těkavých látek v odrůdě Frankovka

Na obrázku 8 je znázorněn krabicový graf tentokrát pro látky s menším obsahem ve vzorcích a to konkrétně 1-dekanol, hexanová kyselina, fenylethyl alkohol a oktánová kyselina. V tomto případě je u 1-dekanolu a oktánové kyseliny podobná tendence ročníku 2018, tedy že obsahují nižší množství těchto látek. Pro hexanovou kyselinu je rozložení hodnot koncentrace velmi podobné u obou ročníků, stejně jako medián (pro 2017 – $25,22 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$; pro 2018 – $25,88 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Fenylethyl alkohol pro rok 2018 má nepatrně vyšší hodnotu horního kvartilu, nicméně mezikvartilový rozptyl zabírá interval téměř od $30 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ do cca $52 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a jeho hodnoty koncentrace se v jednotlivých vzorcích pohybují ve velkém rozpětí. Podle mediánu (pro 2017 – $41,10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$; pro 2018 – $38,46 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) se vyšší koncentrace fenylethyl alkoholu vyskytují ve vinech ročníku 2017.



Obrázek 8: Krabicový graf minoritně obsažených těkavých látek v odrůdě Frankovka

Z uvedených výsledků vyplívá, že obsah vybraných sloučenin se v jednotlivých ročnících liší. Výrazný vliv na obsah těkavých látek může mít počasí. Ročník 2017 byl oproti dlouhodobému průměru teplotně nadprůměrný. Výrazný teplotní nadprůměr začal v polovině května a trval až do září. V polovině července došlo k mírnému ochlazení a příchodu očekávaných dešťových srážek, v důsledku čehož byl tento měsíc teplotně i srážkově nad běžným průměrem, což pozitivně podpořilo vývoj hroznů. Měsíc srpen s tropickými teplotami s lokálními bouřkami také přispěl k tvorbě těkavých látek v bobulích. Záříjové ochlazení s sebou přineslo velké množství spadené vody, které na jižní Moravě činilo až o 150 % více než je dlouhodobí srážkový průměr [59].

Oproti tomu byl v roce 2018 výrazný srážkový nedostatek, což se mohlo odrazit v množství porovnávaných látek. Už březen tohoto roku byl nad teplotním průměrem o 7 °C a následkem tohoto zrychleného nástupu jarních teplot došlo k posunutí kvetení až o 3 týdny. Tento posun se neprojevil pouze u kvetení, ale zapříčinil také uspíšení dozrávání hroznů a jejich sklizeň. Kombinace vysokých teplot a nedostatku vláhy, která přicházela většinou nerovnoměrně ve formě krátkých intenzivních dešťů, může být příčinou poklesu obsahu zkoumaných sloučenin v porovnání s rokem 2017, kdy v době dozrávání hroznů před sklizní měly keře révy nadprůměrné množství vody [60].

5. ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zaměřuje na studium těkavých látek tvořících aromatický profil moravských vín. Pro experimentální část byly vybrány vzorky červených jakostních vín odrůd Frankovka, Rulandské modré a Zweigeltrebe. Celkem bylo analyzováno 33 vzorků.

Pro stanovení těkavých látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS, u níž byla nejprve ověřena linearita v rozsahu předpokládaných koncentrací ve vzorcích ($1\text{--}1000\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) za využití 17 standardů těkavých látek, které byly vybrány jako zástupci nejvýznamnějších sloučenin ve víně. Koeficient spolehlivosti R^2 pro jednotlivé sloučeniny se pohyboval v rozmezí 0,829–0,999.

Na základě retenčních časů, retenčních indexů a hmotnostních spekter, srovnáním s knihovnou spekter a s dostupnou literaturou, bylo ve vzorcích identifikováno celkem 80 těkavých látek, jejich aromatická aktivita byla ověřena taktéž v literatuře. Z uvedených sloučenin bylo následně vybráno 23 nejvíce zastoupených pro stanovení aromatických profilů tří zkoumaných odrůd. Z výsledků vyplývá, že profil těkavých látek se mírně lišil i v rámci jednotlivých odrůd.

Pro bližší charakterizaci aroma pak byla vybrána odrůda Frankovka (26 vzorků), u níž byly vybrané sloučeniny kvantifikovány a porovnány v rámci dvou analyzovaných ročníků (2017 vs. 2018). Z výsledků vyplývá, že obsah vybraných sloučenin se v jednotlivých ročnících lišil. Ve vínech z roku 2017 byly zjištěny vyšší koncentrace sledovaných látek v porovnání s víny z roku 2018; toto zjištění je v souladu se známým faktem, že aromatický profil vína je ovlivňován řadou před- a posklizňových faktorů, přičemž vnější vlivy jako např. teplota, slunečnost, srážky apod. (jak bylo ověřeno v případě uvedených ročníků) hrají pravděpodobně významnou roli.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] KRAUS, Vilém. *Réva a víno v Čechách a na Moravě*. Praha: Radix, 1999. Tradice a současnost (Radix). ISBN 80-860-3123-3.
- [2] PAVLOUŠEK, Pavel. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3314-2.
- [3] KRAUS, Vilém, Zdeněk KUTTELVAŠER a Bohumil VURM. *Encyklopedie českého a moravského vína*. Vyd. 1. Praha: Melantrich, 1997. ISBN 80-702-3250-1.
- [4] *Přehled odrůd révy .. 1. vyd.* [Velké Bílovice]: Svaz vinařů České republiky, 2004. Odrůdy. ISBN 978-80-903534-8-0.
- [5] Ploch vinic se rozšířila, malých pěstitelů ubývá. In: *Český statistický úřad* [online]. Praha: Český statistický úřad, 2021 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/plocha-vinic-se-rozsirila-malych-pestitelu-ubyva>
- [6] Vinice (strukturní šetření) – 2020. In: *Český statistický úřad* [online]. Praha: Český statistický úřad, 2021 [cit. 2022-05-09]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/vinice-strukturalni-setreni-2020>
- [7] *Přehled odrůd révy 2020*. 3. vydání. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, 2020. Odrůdy. ISBN 978-80-7401-182-5.
- [8] Frankovka. In: *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. Brno: Vinařský fond, 2022 [cit. 2022-05-17]. Dostupné z: <https://www.datocms-assets.com/25489/1596619741-16-frankovka-hrozen-list.jpg?auto=compress%2Cformat&w=550>
- [9] KRAUS, Vilém, Zuzana FOFFOVÁ a Bohumil WURM. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Vydání první. Praha: Praga Mystica, 2008. ISBN 80-86767-00-0.
- [10] Zweigeltrebe. In: *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. Brno: Vinařský fond, 2022 [cit. 2022-05-17]. Dostupné z: <https://www.datocms-assets.com/25489/1596696531-17-zweigeltrebe-hrozen-list.jpg?auto=compress%2Cformat&w=550>
- [11] Rulandské modré. In: *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. Brno: Vinařský fond, 2022 [cit. 2022-05-17]. Dostupné z: <https://www.datocms-assets.com/25489/1596620463-42-rulandske-modre-hrozen-list.jpg?auto=compress%2Cformat&w=550>
- [12] BALÍK, Josef a Jan STÁVEK. *Vinařská technologie*. První vydání. Valtice: Národní vinařské centrum, 2017. ISBN 978-80-87498-77-4.
- [13] KUTTELVAŠER, Zdeněk. *Abeceda vína*. Praha: Radix, 2003. ISBN 80-860-3143-8.
- [14] *Všechno, co potřebujete vědět o víně*. 1. vyd. Praha: OTTOVO NAKLADATELSTVÍ, s.r.o., 2004. ISBN 80-7360-153-4.
- [15] PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů* [online]. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2010 [cit. 2022-03-11]. ISBN 978-80-247-3487-3. Dostupné z: <https://www.grada.cz/vyroba-vina-u-malovinaru-6348/>

- [16] KRAUS, Vilém, Zuzana FOFFOVÁ a Bohumil WURM. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Vydání první. Praha: Praga Mystica, 2008. ISBN 978-80-86767-09-3.
- [17] *Nariadení Rady (ES) č. 606/2009*. In: . Štrasburk: Evropská komise, 2009, ročník 2009, číslo 606.
- [18] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Mikrobiologie a biochemie vína*. 1. vyd. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2020. ISBN 978-80-907545-1-5.
- [19] FIC, Vlastimil. *Víno: analýza, technologie, gastronomie*. 1. vydání. Český Těšín: 2 THETA, 2015. ISBN 978-80-86380-77-3.
- [20] MALÍK, Fedor. *Ze života vína: [pro milovníky vína]*. Pardubice: Filip Trend Publishing, 2003. ISBN 80-862-8227-9.
- [21] *Nariadení Rady (ES) č. 491/2009*. In: . Štrasburk: Rada Evropské unie, 2009, ročník 2009, číslo 491.
- [22] *Nariadení Komise (ES) č. 607/2009*. In: . Brusel: Komise Evropské unie, 2009, ročník 2009, číslo 607.
- [23] STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce vyd. 2., aktualiz. Valtice: Národní vinařské centrum, 2010. ISBN 978-80-903201-9-2.
- [24] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. Vydání první. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-2-5.
- [25] WILKES, E., P. HUCKABA, G. HODSON a Jean-Marie AURAND. Harmonizing expression of measurement results in wine analysis: Best practices when testing and reporting sugar in wine. *BIO Web of Conferences*. 2019, **12**. ISSN 2117-4458. Dostupné z: doi:10.1051/bioconf/20191203021
- [26] RIBÀEREAU-GAYON, Pascal. *Handbook of enology*. 2nd ed. Chichester: John Wiley, 2006. ISBN 978-0-470-01037-2.
- [27] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [28] PAVLOUŠEK, Pavel a Pavla BUREŠOVÁ. *Vše, co byste měli vědět o víně: --a nemáte se koho zeptat*. První vydání. Praha: Grada, 2015. ISBN 978-80-247-4351-6.
- [29] Aromatic profile of red wines from grapevine varieties rubin, storgozia, bouquet, trapezitsa, kaylashky rubin and pinot noir. cultivated in the region of central northern Bulgaria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2018, **8**(3), 885-889. ISSN 13385178. Dostupné z: doi:10.15414/jmbfs.2018-19.8.3.885-889
- [30] Flavour-active wine yeasts. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2012, **2012**(96), 601–618. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1007/s00253-012-4370-z
- [31] LAGO, Laura a Juliane WELKE. Carbonyl compounds in wine: factors related to presence and toxic effects. *Ciência Rural*. 2019, **49**(8). ISSN 1678-4596. Dostupné z: doi:10.1590/0103-8478cr20190349

- [32] FURDÍKOVÁ, Katarína a Fedor MALÍK. The influence of the yeast on aromatic profile of the wine. *Kvasny Prumysl.* 2007, **53**(7-8), 215-221. ISSN 00235830. Dostupné z: doi:10.18832/kp2007013
- [33] STYGER, Gustav, Bernard PRIOR a Florian BAUER. Wine flavor and aroma. *Journal of industrial microbiology & biotechnology.* 2011, **38**(9), 1145-1159. ISSN 1367-5435. Dostupné z: doi:10.1007/s10295-011-1018-4
- [34] Ještě k odrůdě Sauvignon Blanc technologicky. *Vinařský obzor.* 2007, **1002007**(1-2), 38-39. ISSN 1212-7884.
- [35] *Zákon č. 256/2011 Sb.* In: . Praha: Parlament České republiky, 2011, ročník 2011, číslo 256.
- [36] Alcohol Analysis Measurement Determination. In: *Monash Scientific Glass Blowing Services* [online]. [cit. 2022-05-28]. Dostupné z: <http://www.monashscientific.com.au/AlcoholMeasurement.htm>
- [37] Determination of organic acid in wines. A review. *Quimica Analitica.* 1998, **17**(4), 167-175. ISSN 0212-0569.
- [38] ATANASSOV, G., R. LIMA, R. MESQUITA, A. RANGEL a I. TÓTH. Spectrophotometric determination of carbon dioxide and sulphur dioxide in wines by flow injection. *Analisis.* 2000, **28**(1), 77-82. ISSN 0365-4877. Dostupné z: doi:10.1051/analisis:2000100
- [39] ROBINSON, A., P. BOSS, P. SOLOMON, R. TRENGOVE, H. HEYMANN a S. EBELER. Origins of Grape and Wine Aroma. Part 2. Chemical and Sensory Analysis. *American Journal of Enology and Viticulture.* 2014, **65**(1), 25-42. ISSN 0002-9254. Dostupné z: doi:10.5344/ajev.2013.13106
- [40] WILLIAMS, Cody a Astrid BUICA. Comparison of an Offline SPE–GC–MS and Online HS–SPME–GC–MS Method for the Analysis of Volatile Terpenoids in Wine. *Molecules.* 2020, **25**(3). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25030657
- [41] IERI, Francesca, Margherita CAMPO, Chiara CASSIANI, Silvia URCIUOLI, Keti JURKHADZE a Annalisa ROMANI. Analysis of aroma and polyphenolic compounds in Saperavi red wine vinified in Qvevri. *FOOD SCIENCE & NUTRITION.* 2021, **9**(12), 6492-6500. ISSN 2048-7177. Dostupné z: doi:10.1002/fsn3.2556
- [42] CASTIÑEIRA, A., R.M. PEÑA, C. HERRERO a S. GARCÍA-MARTÍN. Analysis of Organic Acids in Wine by Capillary Electrophoresis with Direct UV Detection. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2002, **15**(3), 319-331. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1006/jfca.2002.1056
- [43] MATO, Inés, Silvia SUÁREZ-LUQUE a José HUIDOBRO. Simple determination of main organic acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *Food Chemistry.* 2007, **102**(1), 104-112. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2006.05.002
- [44] CAPONE, Dimitra, Renata RISTIC, Kevin PARDON a David JEFFERY. Simple Quantitative Determination of Potent Thiols at Ultratrace Levels in Wine by

- Derivatization and High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS) Analysis. *Analytical Chemistry*. 2015, **87**(2), 1226-1231. ISSN 0003-2700. Dostupné z: doi:10.1021/ac503883s
- [45] Analysis of major metallic elements in Chilean wines by atomic absorption spectroscopy. *CIENCIA E INVESTIGACION AGRARIA*. 2010, **37**(2), 77-85.
- [46] FOURNIER, J.-B., O. HIRSCH a G. MARTIN. Intérêt de l'analyse élémentaire des produits viticoles: dosage de vingt-cinq éléments par spectrométrie d'émission atomique dans un plasma à couplage induit. *Analisis*. 1998, **26**(1), 28-32. ISSN 0365-4877. Dostupné z: doi:10.1051/analisis:1998106
- [47] *Zajištění kvality analytických výsledků: Sborník přednášek ze seminářů 19.-21.3.2001 a 11.-13.3.2002 v Komorní Lhotce*. Český Těšín: 2 THETA, 2002, 303 s. ISBN 80-86380-11-4.
- [48] DE LA FUENTE, Esther, Isabel MARTÍNEZ-CASTRO a Jesús SANZ. Characterization of Spanish unifloral honeys by solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*. 2005, **28**(9-10), 1093-1100. ISSN 1615-9306. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.200500018
- [49] VERNIN, Gaston, Jacques METZGER, Christian BONIFACE, Marie-Hélène MURELLO, Antoine SIOUFFI, Jean-Louis LARICE a Cyril PÁRKÁNYI. Kinetics and thermal degradation of the fructose-methionine Amadori intermediates. GC-MS/SPECMA data bank identification of volatile aroma compounds. *Carbohydrate Research*. 1992, **230**(1), 15-29. ISSN 00086215. Dostupné z: doi:10.1016/S0008-6215(00)90510-X
- [50] BABUSHOK, V., P. LINSTROM a I. ZENKEVICH. Retention Indices for Frequently Reported Compounds of Plant Essential Oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 2011, **40**(4). ISSN 0047-2689. Dostupné z: doi:10.1063/1.3653552
- [51] BIANCHI, Federica, Maria CARERI, Alessandro MANGIA a Marilena MUSCI. Retention indices in the analysis of food aroma volatile compounds in temperature-programmed gas chromatography: Database creation and evaluation of precision and robustness. *Journal of Separation Science*. 2007, **30**(4), 563-572. ISSN 16159306. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.200600393
- [52] DREGUS, Márta a Karl-Heinz ENGEL. Volatile Constituents of Uncooked Rhubarb (*Rheum rhabarbarum* L.) Stalks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, **51**(22), 6530-6536. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf0303991
- [53] PERESTRELO, Rosa, Catarina SILVA a José CÂMARA. Madeira Wine Volatile Profile. A Platform to Establish Madeira Wine Aroma Descriptors. *Molecules*. 2019, **24**(17). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24173028
- [54] MARNETT, Lawrence, Samuel COHEN, Shoji FUKUSHIMA et al. GRASr2 Evaluation of Aliphatic Acyclic and Alicyclic Terpenoid Tertiary Alcohols and Structurally Related Substances Used as Flavoring Ingredients. *Journal of Food*

Science. 2014, **79**(4), 428-441. ISSN 00221147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.12407

- [55] PETRONILHO, Sílvia, Ricardo LOPEZ, Vicente FERREIRA, Manuel COIMBRA a Sílvia ROCHA. Revealing the Usefulness of Aroma Networks to Explain Wine Aroma Properties: A Case Study of Portuguese Wines. *Molecules*. 2020, **25**(2). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25020272
- [56] KORENIKA, Ana-Marija, Ivana TOMAZ, Darko PREINER, Marina LAVRIĆ, Branimir ŠIMIĆ a Ana JEROMEL. Influence of *L. thermotolerans* and *S. cerevisiae* Commercial Yeast Sequential Inoculation on Aroma Composition of Red Wines (Cv Trnjak, Babić, Blatina and Frankovka). *Fermentation*. 2021, **7**(1). ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation7010004
- [57] MUÑOZ GARCÍA, Raquel, Rodrigo OLIVER SIMANCAS, María DÍAZ-MAROTO, María ALAÑÓN PARDO a María PÉREZ-COELLO. Effect of Microwave Maceration and SO₂ Free Vinification on Volatile Composition of Red Wines. *Foods*. 2021, **10**(6). ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods10061164
- [58] DEL BARRIO GALÁN, Rubén, Marta BUENO-HERRERA, Pedro DE LA CUESTA a Silvia PÉREZ-MAGARIÑO. Volatile composition of Spanish red wines: effect of origin and aging time. *European Food Research and Technology*. 2022. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-022-04014-x
- [59] *Situační a výhledová zpráva 2018*. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2018. ISBN 978-80-7434-741-8.
- [60] *Situační a výhledová zpráva 2019*. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky, 1993. ISBN 978-80-7434-531-9.