



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

STANOVENÍ TĚKAVÝCH LÁTEK VÍN ODRŮDY HIBERNAL

DETERMINATION OF VOLATILE SUBSTANCES IN WINES OF HIBERNAL VARIETY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Martin Burian

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1793/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Martin Burian**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a technologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Stanovení těkavých látek vín odrůdy Hibernal

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární rešerši dané problematiky – látkové složení vína se zaměřením na těkavé (aromatické) látky, charakteristika odrůdy, možnosti stanovení odrůdově typických těkavých látek.
2. Analyzujte vína odrůdy Hibernal z různých regionů ČR.
3. Porovnejte aromatický profil jednotlivých vzorků, diskutujte rozdíly/podobnosti mezi vzorky.

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

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

Martin Burian
student

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

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Předmětem předkládané bakalářské práce bylo stanovení aromatických látek u vín odrůdy Hibernál a následné porovnání aromatického profilu jednotlivých vzorků s cílem prozkoumat možnosti geografické autentifikace vín této odrůdy na základě obsahu těkavých látek. Celkem bylo analyzováno 19 vzorků ze čtyř moravských podoblastí. Analýza aromatického profilu byla provedena pomocí techniky HS-SPME-GC-MS. Všechny vzorky byly následně podrobeny deskriptivní statistické analýze. Z výsledků je patrné, že z profilu 25 vybraných těkavých sloučenin nelze rozeznat vzorky podle místa původu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Víno, aromatické látky, SPME, GC-MS

ABSTRACT

The subject of the present bachelor thesis was the determination of aromatic substances in wines of the Hiberna variety and subsequent comparison of the aromatic profile of individual samples in order to investigate the possibilities of geographical authentication of these varietal wines on the basis of its volatile compounds content. In total, 19 samples from four Moravian sub-regions were analysed. The analysis of the aromatic profile was carried out using the HS-SPME-GC-MS technique. All samples were then subjected to descriptive statistical analysis. The results show that from the profile of 25 selected volatile compounds, the samples cannot be distinguished according to their place of origin.

KEY WORDS

Wine, aroma compounds, SPME, GC-MS

BURIAN, Martin. *Stanovení těkavých látek vín odrůdy Hibernál*. Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148966>. 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 chtěl poděkovat vedoucí své bakalářské práce doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a čas, který mi věnovala po celou dobu řešení této práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Michalu Grossovi za jeho odbornou pomoc.

OBSAH

| | | |
|-------|-------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Úvod..... | 9 |
| 2 | Teoretická část..... | 10 |
| 2.1 | Symbolika vína..... | 10 |
| 2.2 | Vinařství v Čechách a na Moravě..... | 10 |
| 2.2.1 | Historie..... | 10 |
| 2.2.2 | Současný stav..... | 10 |
| 2.2.3 | PIWI odrůdy | 11 |
| 2.2.4 | Pěstované bílé odrůdy révy vinné a jejich aromatický profil..... | 13 |
| 2.2.5 | Pěstované modré odrůdy révy vinné a jejich aromatický profil..... | 14 |
| 2.3 | Terroir a vína originální certifikace VOC | 14 |
| 2.4 | Složení vína | 15 |
| 2.4.1 | Kyseliny..... | 15 |
| 2.4.2 | Sacharidy | 16 |
| 2.4.3 | Pektiny | 16 |
| 2.4.4 | Dusíkaté látky..... | 16 |
| 2.4.5 | Třísloviny (taniny)..... | 17 |
| 2.4.6 | Barviva ve vínech..... | 17 |
| 2.4.7 | Cizorodé látky ve víně | 18 |
| 2.4.8 | Aromatické látky | 18 |
| 2.5 | Technologie výroby vína | 22 |
| 2.5.1 | Sekundární aroma..... | 23 |
| 2.5.2 | Terciární aroma..... | 23 |
| 2.6 | Autentifikace vín..... | 23 |
| 2.6.1 | Geografická autenticita..... | 24 |
| 2.7 | Plynová chromatografie..... | 25 |
| 2.7.1 | Detektory..... | 25 |
| 2.7.2 | Extrakce | 25 |
| 3 | Experimentální část..... | 26 |
| 3.1 | Použité vybavení a chemikálie | 26 |
| 3.1.1 | Přístroje, software a laboratorní pomůcky | 26 |
| 3.1.2 | Pomůcky | 26 |
| 3.1.3 | Chemikálie a pracovní roztoky | 26 |
| 3.2 | Ověření vybraných validačních parametrů | 27 |
| 3.3 | Analyzované vzorky | 27 |
| 3.4 | Stanovení aromatických látek pomocí HS-SPME-GC-MS | 27 |

| | | |
|-------|-----------------------------------------------------------|----|
| 3.4.1 | Příprava vzorků | 27 |
| 3.4.2 | Podmínky analýzy | 28 |
| 3.5 | Zpracování výsledků | 28 |
| 4 | Výsledky | 28 |
| 4.1 | Ověření opakovatelnosti a lineárního rozsahu metody | 28 |
| 4.2 | Identifikace těkavých látek ve vzorcích vín | 29 |
| 4.3 | Kvantifikace těkavých látek ve vzorcích vín | 31 |
| 4.4 | Porovnání aromatického profilu vzorků vín | 31 |
| 5 | Závěr | 35 |
| 6 | Seznam použitých zdrojů | 36 |
| 7 | Seznam použitých zkratk | 42 |
| 8 | Přílohy | 43 |

1 ÚVOD

„Touha po poznání a překonání běžného. Kreativní přístup, intuice, zápal, nasazení a odříkání. To vždy bylo, je a bude hnací silou lidského poznávání.“

Antonín Holý, český chemik

Člověk vždy reagoval na přírodní změny, ale také se snažil přírodu aktivně využívat a přetvářet – ať už v pozitivním, či negativním smyslu. Součástí této snahy byla rovněž kultivace plodin, které slouží k jeho obživě. Nejinak tomu bylo u vinné révy, která je nejen potravinou, ale v podobě vína se stala kulturním a historickým fenoménem.

Podstatou šlechtění je selekce odlišných genotypů, které jsou dědičně přizpůsobeny půdním a klimatickým podmínkám, zejména mrazu a suchu, biotickým vlivům, tedy hlavně chorobám a škůdcům, a vyhovují požadavkům konzumentů. Cílem je například zlepšení chuti a barvy hroznů.

Posun v oblasti šlechtění byl poháněn snahami získat odrůdy odolné vůči škůdcům, kteří decimovali evropské vinohrady. Výsledkem snahy o zvýšení odolnosti vinné révy jsou i tzv. PIWI odrůdy, které jsou vysoce rezistentní vůči houbovým chorobám, čímž splňují současné požadavky na redukci užívání pesticidů. Jsou rovněž vhodné pro produkci vína v biokvalitě, což značná část zákazníků oceňuje.

Biokvalita však není jediným požadavkem spotřebitelů. Jejich pozornost se upírá zejména k sensorickým a chuťovým kvalitám výsledného produktu. Tyto požadavky PIWI odrůdy naplňují, protože poskytují kvalitní hrozny pro výrobu jakostních vín, včetně těch s přívlastkem.

Jednou z těchto odrůd je i odrůda Hibernál, které je věnována tato práce, se zaměřením na chemické složení a aromatické látky obsažené ve víně vyrobeném z této odrůdy. Cílem práce bylo porovnat aromatický profil vybraných vzorků vín této odrůdy a na základě zjištěných výsledků potvrdit, příp. vyvrátit možnost rozlišení vzorků z různých vinařských podoblastí.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Teoretická část práce uvádí do dané problematiky. Je zmíněn symbolický význam vína, následuje historický exkurz do českého a moravského vinohradnictví a popis současného stavu se zaměřením na výše uvedené odrůdy. Opomenuta nebyla ani právní úprava certifikace vín. Následuje podrobný popis složení vína, technologie jeho výroby a autentifikace vín. Teoretická část se uzavírá popisem metody, kterou byl aromatický profil analyzován.

2.1 Symbolika vína

Vinnou révu řadíme mezi starobylé plodiny, přičemž ji zmiňuje už biblická kniha Genesis. První věcí, kterou vykonal praotec Noe – jenž měl jako jediný se svou rodinou přežít potopu světa – bylo obhospodaření země po vysušení, což zahrnovalo i výsadbu nových vinic [1].

V křesťanském pojetí symbolizuje červené víno krev a oběť, ale současně se považuje i za symbol mládí a věčného života. Staří Řekové se domnívali, jak je zachyceno ve starověkých básních, že existuje jakési božské opojení duše vínem a umožnilo člověku spolupodílet se na stavu bytí, jenž přísluší pouze bohům [1].

Vinná réva je též symbolem křesťanské víry a Krista: Prvním zázrakem, který Kristus učinil, byla přeměna vody ve víno. Avšak víno je spojováno už s mnohem starším patronem, a sice řeckým bohem Dionýsem. Pěstování révy vyžaduje píli a pracovitost, a tudíž byl Dionýsos původcem uvedených ctností [1].

2.2 Vinařství v Čechách a na Moravě

2.2.1 Historie

Počátek vinařství na našem území se datuje do 3. století, kdy římský císař Probus nařídil vysazovat vinice v římských koloniích za Alpami. První vinice na našem území vysázela posádka z Vindobony, která vybudovala opěrný bod na Římském vrchu pod Pálavou. Při vykopávkách u obce Mušov v roce 1926 byl nalezen 28 cm dlouhý vinařský nůž [2].

Další období, jež potvrzuje rozšíření vinařství na území Moravy, představuje éra Velkomoravské říše. V místech, kde sídlilo slovanské obyvatelstvo, byly nalezeny vinařské nože a semena révy [2].

O pěstování vinné révy na území Čech se zasadila kněžna Ludmila, jejíž zásluhou se rozšířily vinice v okolí dnešního Mělníka. Ludmila se později také stala patronkou vinařů. Nejvíce se o rozvoj vinařství v Čechách zasloužil český král a římský císař Karel IV., jenž rozšířil seznam pěstovaných odrůd o kvalitní odrůdy z oblasti dnešní Francie [3].

2.2.2 Současný stav

V České republice existují dvě hlavní vinařské oblasti a šest podoblastí. Do Čech spadá podoblast Litoměřická a Mělnická, Morava zahrnuje podoblast Znojemskou, Velkopavlovickou, Mikulovskou a Slováckou. Celková rozloha vinic činí 17 200 ha, přičemž většina vín vyprodukovaných na území České republiky pochází z moravské vinařské oblasti, kam je situováno 96 % ploch všech registrovaných vinic [4][5].

Vinařskou oblast Morava tvoří 312 vinařských obcí, 1 126 viničních tratí a hospodaří zde okolo 18 870 pěstitelů. Vinařské tratě se nacházejí především v Jihomoravském kraji v okresech Znojmo, Břeclav a Hodonín. Nejseverněji položené vinařské obce se rozkládají ve Slovácké vinařské podoblasti, kde jsou rozptýleny okolo Uherského Hradiště a zasahují do Zlínského

kraje (viz obr. 2). Moravská vinařská oblast se vyznačuje vhodnými klimatickými podmínkami pro pěstování bílých vín. Zdejší bílá vína jsou charakteristická vyšší koncentrací aromatických látek, kořenitostí, minerálností a látkovou plností. Pěstování vinné révy se zajímavým aromatickým profilem prospívá mírné klima s příklonem k vnitrozemskému, které doprovázejí vpády vlhkého vzduchu od Atlantického oceánu nebo studeného vzduchu z vnitrozemí [4][6].

U vín z Moravy a Čech se uplatňují dva způsoby značení a zařďování. Dosud převládající metodou zůstávalo tzv. germánské značení vín, pro které je rozhodující cukernatost hroznů. Cukernatost se udává jako relativní množství cukru v moštu před zahájením procesu kvašení. Pro měření obsahu zkrasitelných cukrů se používají standardizované moštoměry, u nichž se v jednotlivých regionech liší používaná metodika. V České republice a na Slovensku se nejčastěji uplatňuje standardní stupnice moštoměru. Pomocí stupnice normovaného moštoměru lze zjistit obsah cukru v jednotkách kg na 100 l moštu. Obsah cukru v moštu představuje jeden z nejdůležitějších parametrů, jenž se aplikuje při zařďování vín do jednotlivých jakostních tříd a určuje potenciální obsah alkoholu v budoucím víně [6].

Druhou metodu zařďování vín, jež se u spotřebitelů těší stále větší popularitě, reprezentuje tzv. románské značení. Zde tvoří nejdůležitější ukazatel kvality vína původ hroznů a území, odkud víno pochází. V České republice byl s novým vinařským zákonem č. 321/2004 Sb. zaveden pojem „víno originální certifikace“ neboli VOC. Jednotlivá VOC sdružují lokální vinaře a umožňují jim získat konkurenční výhodu na trhu s vínem [6].

2.2.3 PIWI odrůdy

Vyšlechtění prvních PIWI odrůd představovalo reakci na zanesení rizikových původců houbových chorob, jako jsou *padlí révy* či *plísňé révy*, a také nebezpečného škůdce *mšičky révokaze* na evropský kontinent [7].

Konvenční vinohradnictví používají na ochranu proti škůdcům široké spektrum syntetických pesticidů, oproti tomu ekologické vinohradnictví se při ochraně proti houbovým chorobám spoléhají především na fungicidy na bázi síry a mědi. Avšak po dlouhodobém aplikování zmíněných přípravků bylo zjištěno, že se měď hromadí v množství nebezpečném pro životní prostředí. K její kumulaci docházelo na pozemcích s víceletými plodinami, mezi něž řadíme i révu vinnou, jelikož se na nich pravidelně aplikují fungicidy s obsahem mědi. Evropská unie na vzniklou situaci reagovala stanovením cílů pro snížení množství aplikovaných fungicidů ve vinařství. Mezi přijaté strategie patří přechod od ošetřování rostlin pomocí speciálních přípravků k prevenci chorob prostřednictvím šlechtění odrůd odolných vůči houbám [8].

Jedny z prvních odrůd odolných proti houbovým chorobám byly vyšlechtěny mezidruhovým křížením středomořských odrůd *Vitis vinifera* a severoamerických a asijských druhů *Vitis*, například *V. riparia*, *V. amurensis* a *V. rupestris* [8]. První hybridní odrůdy neměly u konzumentů vždy pozitivní ohlas. Problém nastal u odrůd vzniklých křížením révy s genotypem amerických *Vitis* spp. Staré francouzské hybridy vzniklé křížením amerických *Vitis* spp. s *Vitis vinifera* produkovaly vína nižší kvality [7]. Dnes už se PIWI odrůdy považují za velmi kvalitní i ve srovnání s dalšími odrůdami evropské révy vinné. Značnou oblibu u pěstitelů a konzumentů si získal především Hibernal, jenž potvrzuje vysokou konkurenceschopnost zmíněných odrůd [9].

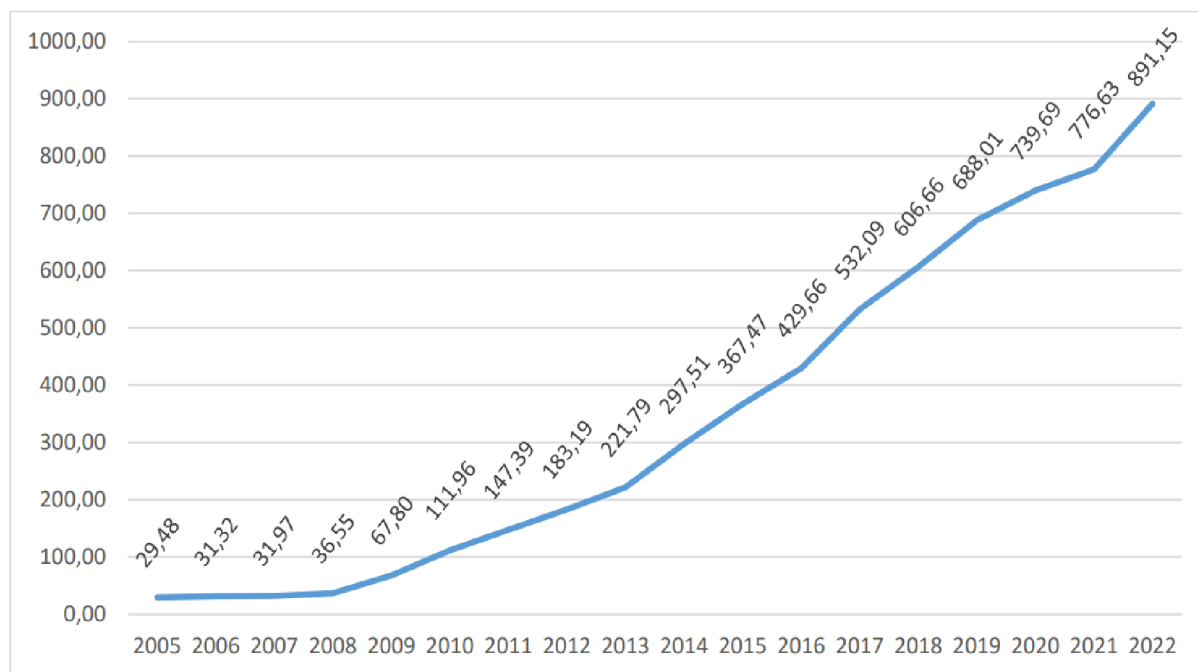
PIWI odrůdy našly uplatnění zejména v ekologickém vinohradnictví. Jejich pěstování vede k minimalizaci používání fungicidních přípravků a jsou nedílnou součástí výlučně ekologického nebo biodynamického pěstování. Biodynamika představuje sadu opatření, která pečují o

ekosystém a organismus krajiny; měla by vést k ozdravení půdy a rostlin, jež jsou degradovány a poškozeny vlivem konvenčního zemědělství [9][10].

2.2.3.1 PIWI odrůdy vyšlechtěné v Čechách a na Moravě

První pokusy s pěstováním hybridů na území tehdejší Československé republiky se odehrály ve 20. letech 20. století. Zkoušením nových odrůd se zabýval Karel Neoral ze šlechtitelské stanice v Mutěnicích, avšak testování velkého množství odrůd ještě nevyústilo v jejich zavedení do praxe. Další vlna zájmu o odrůdy, jež by byly odolné vůči houbovým chorobám, se zvedla až v 60. letech 20. století. Svou práci započal v lednickém ústavu Mendeleum Vilém Kraus křížením odrůd *Vitis vinifera* a *Vitis amurensis* společně s vybranými hybridy seibel. Ke shromáždění bohatého genofonu PIWI odrůd došlo v 80. letech 20. století, zásluhou spolupráce Zahradnické fakulty v Lednici s Milošem Michlovským. Do genofonu byly zařazeny odrůdy z Rakouska, Maďarska, Německa, Kanady, USA a ze zemí bývalého Sovětského svazu. Nejdůležitější odrůdu, jež se uplatnila při šlechtění nových hybridů na území Československé republiky, představoval Seibel 13666: Vyniká svou rezistencí vůči chorobám, a proto posloužil jako donor zmíněných vlastností [7].

V současnosti pokračuje šlechtění interspecifických odrůd na Zahradnické fakultě Mendelovy univerzity v Lednici nebo v podniku Vinselekt. Z PIWI odrůd vyšlechtěných na našem území byly do Státní odrůdové knihy zapsány Laurot, Sevar, Cerason, Nativa, Malverina a Rinot [7].



Graf 1: Vývoj plochy (ha) PIWI odrůd révy vinné v ČR v letech 2005–2022 [11]

2.2.3.2 Hibernál

Hibernál byl vyšlechtěn v německém výzkumném ústavu v Geisenheimu. Dnes se v České republice pěstuje na ploše asi 13 ha [12]. Řadíme ho mezi hybridní odrůdy, jež vznikly křížením dvou různých odrůd: v jeho případě šlo konkrétně o Seibel 7053 a Ryzlink rýnský [13]. Pěstuje se výhradně ve střední a východní Evropě, ale i zde je jeho produkce oproti dalším odrůdám patřícím k *Vitis vinifera* zanedbatelná. Vývoj plochy PIWI odrůd révy vinné na území České republiky v hektarech zachycuje graf 1 [14].

Hibernal je velmi odolný vůči mrazům, a proto je umísťován i do mrazových dolin ve viničných tratích. Využívá se k produkci biovín a k barikování. Ve vůni a chuti lze nalézt tóny grapefruitu, broskví či kořenité tóny [15].



Obrázek 1: Hrozen odrůdy Hibernal [16]

2.2.4 Pěstované bílé odrůdy révy vinné a jejich aromatický profil

Pro výrobu bílých vín u nás dominují tři hlavní odrůdy, jež zaujímají zhruba polovinu plochy našich vinic. Na rakousko-moravském pomezí se pěstuje Ryzlink vlašský a Veltlínské zelené, v severnějších částech Moravy a v Čechách raněji zrající odrůda Müller Thurgau [1].

2.2.4.1 Ryzlink vlašský

Rostlina je středního vzrůstu, se středně hustým olistěním, dřevo dobře vyžívá a je dostatečně mrazuodolné. Bobule dorůstají střední velikosti, jsou žlutozelené a na vrcholku mají černou tečku [1]. Vína z hroznů Ryzlinku vlašského jsou svěží, v chuti plná a harmonická. Ve žlutozeleně zbarveném víně lze hledat širokou škálu chutí a vůní, od ovocných rybízových či angreštových přes vůně lučního kvítí až po chutné medové tóny s příchutí hroznů. Víno je vhodné k dlouhodobé archivaci [17].

2.2.4.2 Veltlínské zelené

U nás se pěstuje především na Mikulovsku, Znojemsku a Velkopavlovicku. Rostlina je středního vzrůstu i olistění, dřevo dobře vyžívá a je středně mrazuodolné. Bobule dorůstají menší velikosti a jsou zelené nebo zelenožluté. Jedná se o pozdní odrůdu, citlivou na správné zatížení keřů úrodou [1]. Bobule hroznů Veltlínského zeleného dávají svěží vína s jemně muškátovými tóny či vysoce jakostní vína zelenožluté barvy s medově lipovou vůní. V průběhu

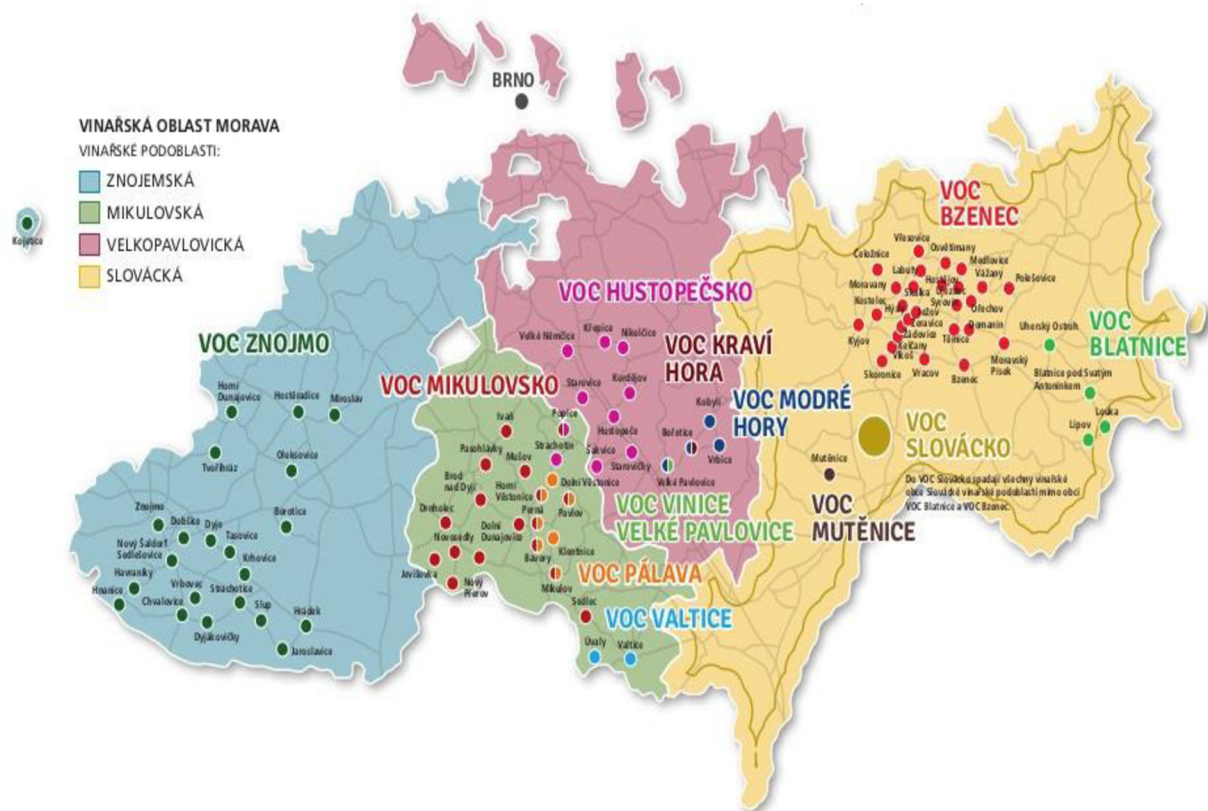
procesu dozrávání se nejprve objevují kořenité tóny bílého pepře a postupně přecházejí do jemné mandlové chuti se smetanovou dochutí [17].

2.2.4.3 Müller Thurgau

Výsledné víno má jemně broskvové, vanilkové, angreštové nebo muškátové aroma. Odrůda se rychle rozšířila pro nižší obsah kyselin a příjemný aromatický profil. Dřevo rostliny je středně dozrávající a mrazuodolnost nižší. Vína mají světlou barvu se zelenožlutým odstínem a jsou středně plná, svěží a harmonická [1][17].

2.2.5 Pěstované modré odrůdy révy vinné a jejich aromatický profil

Červená vína tvoří necelou čtvrtinu z celkového objemu u nás vyráběných vín. Klimatické podmínky v Čechách a na Moravě jsou vhodnější pro pěstování hroznů k výrobě vín bílých. Hlavní složky červených vín, jimiž se liší od bílých, představují třísloviny a antokyany, které jsou intenzivnější v jihoevropských vinařských oblastech. U červených vín je vyžadován nižší obsah kyselin, především kyseliny jablečné. Největší zastoupení z modrých odrůd na vinicích v Česku mají Frankovka a Svatovavřínecké [1].



Obrázek 2: Vinařské podoblasti Vinařské oblasti Morava a jednotlivá vinařská sdružení [18].

2.3 Terroir a vína originální certifikace VOC

Terroir představuje široce používaný pojem, který zahrnuje několik klíčových faktorů. Prvním jsou přírodní faktory, jež souvisejí s životním prostředím, klimatickými podmínkami a půdními vlastnostmi. Druhý faktor tvoří lidská činnost, konkrétně používání různých technik na vinici a ve vinařství, jež jsou omezeny na konkrétní region. Poslední, neméně důležitý faktor reprezentuje historie vinařství v daném regionu, která odráží znalost veřejnosti o víně pocházejícím z uvedené oblasti [19].

V roce 2004 byl s novým vinařským zákonem č. 321/2004 Sb. zaveden pojem „víno originální certifikace“ neboli VOC [20]. Umožňuje zřizovat nová regionální sdružení vinařů, založená na odlišném původu vín ve Vinařské oblasti Morava. Vznik sdružení je reakcí na preference spotřebitelů, kteří kladou při výběru vína větší důraz na jeho původ z určité oblasti, pěstitelské obce a na konkrétní pěstitele [21].

Vína lze v České republice zařítřít pomocí dvou klasifikačních systémů. Dodnes jsou mnohá vína klasifikována germánským systémem, který se zaměřuje především na odrůdu; avšak stále více vinařů přechází na systém románský, jehož podstatu tvoří apelační systémy, klasifikující vína na základě původu z konkrétní vinice, viniční trati, vinařské obce a vinařské podoblasti. Pokud se vinař nebo vinařství rozhodnou uplatňovat apelační systém Víno originální certifikace (VOC), musejí vyhovět několika zákonným předpisům. Víno nesoucí označení Víno originální certifikace musí být vyrobeno na území, jež je stejné nebo menší než vinařská oblast. Vinař musí být příslušníkem sdružení, které má oprávnění vína certifikovat, a řídit se podmínkami stanovenými v rozhodnutí o povolení označovat vína systémem VOC [22].

V České republice je v současnosti evidováno 13 apelačních systémů, a to VOC Znojmo, VOC Mikulovsko, VOC Pálava, VOC Modré Hory, VOC Blatnice, VOC Vinice Velké Pavlovice, VOC Bzenec, VOC Mutěnice, VOC Slovácko, VOC Valtice, VOC Hustopečsko, VOC Kraví Hora a VOC Mělník [23]. Jako první sdružení začalo apelační systém VOC na území České republiky používat v roce 2009 VOC Znojmo. Členové sdružení mohou vyrábět pouze vína, která jsou pro danou oblast charakteristická a odrážejí terroir viničních tratí; ve znojmské oblasti se jedná o odrůdy Sauvignon, Ryzlink rýnský a Veltlínské zelené. Vinaři nejsou omezeni pouze volbou odrůd, ale také zpracováním hroznů. Výroba by měla mít minimální vliv na výslednou chuť vína. Regulaci podléhá též cukernatost hroznů: Společná pravidla stanovují, že hrozny musejí mít cukernatost aspoň 19 stupňů normalizovaného moštoměru při výnosu 2,5 kg hroznů na keř. Kvůli nepříznivému vlivu na charakter vín bylo vinařům sdruženým ve VOC Znojmo zakázáno i používání sudů barrique [22].

2.4 Složení vína

Látky obsažené ve víně dělíme na ty, jež jsou přirozeně přítomny v moštu nebo rmutu, látky vznikající při kvasném procesu a látky cizorodé, které se mohou do vína dostat v průběhu technologického procesu. V moštu jsou přítomny kyseliny, třísloviny, sacharidy, dusíkaté látky, minerální látky, barviva a látky tvořící aromatické a chuťové složky vína [1].

2.4.1 Kyseliny

Ve víně jsou přítomny zejména organické kyseliny. Rozlišujeme je na ty, jež vznikají přímo v bobulích hroznů – konkrétně kyselina vinná, jablečná a citronová – a kyseliny vznikající během fermentačních procesů, z nichž nejvýznamnější jsou kyselina jantarová, mléčná a octová. Uvedená šestice představuje více než 95 % všech organických kyselin, které tvoří součást vína [24][25].

Kyseliny mohou být extrahovány z hroznů, vznikat v rámci mikrobiálních metabolismů nebo je může přidat vinař. S výjimkou kyseliny octové jsou všechny netěkavé. Kyselina jablečná a vinná se v hroznech tvoří na počátku vegetačního období, ale jejich koncentrace v bobulích se v průběhu dozrávání liší. Před dozráváním hroznů je v bobulích vysoká koncentrace kyseliny jablečné, která však v průběhu dozrávání metabolizuje vlivem oxidačních procesů [24].

Obsah kyseliny jablečné v moštu se pohybuje v rozmezí od 1 do 13 g na litr, oproti tomu obsah kyseliny vinné je konstantní kolem 6 g na litr. Pokud je kyselost moštu nižší, obsahuje zpravidla menší množství kyseliny jablečné. Kyselina citronová je v něm přítomna jen v nepatrném množství a působením mikroorganismů se ihned rozkládá. Jako vedlejší produkty alkoholového kvašení vznikají kyselina octová, mléčná, propionová a máselná. Větší obsah těkavých kyselin vzniká při nečistém kvašení, které zapříčiňují různé druhy bakterií. Podle zákona č. 321/2004 Sb. je množství uvedených kyselin limitováno [1][20].

2.4.2 Sacharidy

Nezralé plody obsahují vysokou koncentraci kyselin a malé množství cukrů, v průběhu dozrávání kyselost klesá a obsah cukrů se zvyšuje. Nárůst jejich množství může vinař kontrolovat pomocí refraktometru. Příznivost podmínek v daném roce – především teplé a slunné počasí – je určující pro vyšší procentuální zastoupení sacharidů v moštu [26].

Cukr je zde přítomen ve formě glukózy a fruktózy. V příznivých letech obsahují mošty cukr v rozmezí 16–24 %, v nepříznivých letech i pod 15 %. V některých případech se mošt získaný z nezralých hroznů musí dosladit sacharózou, avšak vína získaná z doslazeného moštu se nesmějí zařizovat jako přívlastková. Sacharóza se během kvašení enzymaticky rozkládá na glukózu a fruktózu. Cukr hraje v procesu kvašení nezastupitelnou roli, kdy jeho prokvašením vzniká ethanol. Pokud není proces prokvašení dokončen, zůstává ve víně různě vysoký obsah zbytkového cukru [1].

Hlavní kvasinku pro kvašení vína představuje stále *Saccharomyces cerevisiae*. Ovšem ve výrobě lze aplikovat i další neobvyklé druhy, jako *Saccharomyces bayanus* a *Saccharomyces kudriavzevii*. Zmíněné kvasinky vykazují zajímavé fermentační schopnosti, dokážou vyprodukovat vína s nižším obsahem ethanolu a vyšším obsahem glycerolu. Uvedeným způsobem se producenti vína snaží čelit zvýšenému obsahu cukrů v hroznech v důsledku globálního oteplování. Navíc se může zamezit zaseknutému kvašení, k němuž může dojít, pokud se omezí přísun dusíku [27].

2.4.3 Pektiny

Pektinové látky se ve větším množství nacházejí ve slupkách bobulí a jejich obsah narůstá v suchých letech. Polymerní struktura pektinů je štěpena pektinázami, jež jsou v bobulích přítomny. Štěpením pektinů se snižuje viskozita moštu, což přispívá k lepší sedimentaci. Rychlost štěpení lze ovlivnit přidávkem pektolytických enzymů [28].

Pektiny se řadí mezi deriváty kyseliny polygalakturonové, jejíž karboxylové skupiny se esterifikují methanolem. Ve víně jsou obsaženy ve stopovém množství, jelikož se kvašením hydrolyzují. Mohou komplikovat proces čiření, které je nutné, pokud nejsou sklizené hrozny zcela zdravé. Pektiny se mohou podílet na srážení nestabilních koloidních látek při zrání vína. Ve víně jsou přítomny i další glycidy, například pentósy a pentosany, avšak ve velmi malém množství, jež nemá vliv na jeho jakost [1].

2.4.4 Dusíkaté látky

Obsah dusíku v moštu závisí na mnoha faktorech, jako je odrůda hroznů, použití hnojiv, období sklizně, používání doplňků ve vinařství a rozsah čiření moštu. Množství a forma proteinů ovlivňují růst buněk kvasinek a rychlost kvašení. Hlavní dusíkaté látky v moštu tvoří amonné kationy, aminy, aminokyseliny, polypeptidy a jednoduché proteiny, dále je v něm přítomno menší množství dusičnanů, nukleotidů a vitaminů. Chuťový a aromatický profil vín z velké části utvářejí tyto převážně rozpustné dusíkaté látky [29].

Dusíkaté látky představují rovněž nepostradatelnou výživu pro bakterie, jež způsobují biologické odbourávání kyselin, a pro kvasinky rozmnožující se při kvašení moštu. Proteiny tvoří součást koloidního systému ve vínech, postupnou oxidací a reakcemi s tříslovitými látkami koagulují, srážejí se a postupně z daného systému vypadávají. Pokud není koloidní systém stabilizován, jsou příčinou tvorby zákalů u lahvových vín [1].

2.4.4.1 Výzkum za účelem zlepšení aroma vína

Za účelem zlepšení aroma vína byl proveden výzkum u odrůd révy vinné Garnacha, Tempranillo a Graciano. Na list révy vinné byly aplikovány dvě dusíkaté látky, močovina a fenylalanin, a dva elicitory, methyl jasmonát a kvasničný extrakt. Vzorky vín byly analyzovány pomocí metody HS-SPME-GC-MS. U odrůdy Garnacha se aplikováním močoviny, fenylalaninu, a především methyl jasmonátu zvýšil obsah terpenů a C13 norisoprenoidů. Syn téza terpenoidů se zlepšila i u odrůdy Tempranillo, a to účinkem močoviny a methyl jasmonátu. U odrůdy Graciano se projevila tendence ke snižování terpenoidů, avšak po aplikování fenylalaninu se zvýšil obsah C13 norisoprenoidů. Z práce vyplývá, že aplikace močoviny, fenylalaninu a elicitoru na list révy vinné může vést ke zlepšení kvality hroznů [30].

2.4.5 Třísloviny (taniny)

Třísloviny řadíme do skupiny polyfenolických látek, jedná se o směs skládající se z fenolů, katechinů a vysokomolekulárních taninů. Víno obsahuje především kondenzované třísloviny, které jsou extrahovány z hroznů, a také některé hydrolyzovatelné třísloviny extrahované z dubu. Kondenzované třísloviny následně podléhají strukturním změnám v důsledku oxidace a dalších reakcí včetně polymerace menších polyfenolů. Koncentrace taninů přímo ovlivňuje trpkost červeného vína a jejich složení může mít vliv na jemnější sensorické vlastnosti. Trpkost v ústech je pocítována po interakci taninů vína s bílkovinami slin. Vzájemné působení se uskutečňuje prostřednictvím kombinace hydrofobní interakce a vodíkové vazby [31][32].

Fyzikálně-chemický základ vnímání chuti tříslovin ještě není stanoven. Vnímání tvrdé chuti vína se pojí s vysokými koncentracemi tříslovin, především velkých polymerů a galloylovaných tříslovin ze semen. Vnímání chuťově měkkých tříslovin může být zapříčiněno nízkou koncentrací daných tříslovin či přítomností sloučenin, jako jsou adukty antokyaninu a třísloviny. Mezi možná vysvětlení může patřit i začlenění třísloviny do proteinových nebo polysacharidových komplexů. Nelze opomenout ani psychologický faktor. U vín, která neměla dostatek červené barvy, byla více vnímána přítomnost nezralých taninů. Vnímání nezralých a zralých taninů se lišilo, když byla stejná vína testována v černých či bílých sklenicích odbornou komisí [33].

Třísloviny jsou přítomny především v třápinách a slupkách bobulí, a tudíž je jejich obsah ve víně rozdílný v závislosti na délce styku moštu s nimi. Vína vyráběná bez předchozího odzrnění nebo červená vína nakvašená na rmutech obsahují více taninu než vína bílá vyrobená tradičním způsobem s odzrňováním hroznů. Obsah tříslovin narůstá i u vín uložených v dubových sudech. Oenotantin obsažený ve víně představuje velmi důležitou látku, jež interaguje s bílkovinami za tvorby sraženin, což přispívá k samočištění vína. U červených vín taniny příznivě působí na rozpuštění a stabilitu červeného barviva [1].

2.4.6 Barviva ve vínech

Antokyaniny u modrých hroznů a flavony u bílých hroznů jsou fenolické biflavonoidní sloučeniny, které hroznům dávají jejich charakteristické zbarvení a tvoří antioxidanty konzervující víno [26].

Červené nebo modré barvivo je obvykle – až na odrůdy, jež mají antokyany ve slupce i dužině – obsaženo ve slupkách bobulí [34]. Pokud je v kvasícím rmutu vyšší množství alkoholu, plastidy křehnou, rozpadají se a při promíchávání se z nich uvolňuje barvivo. Červené barvivo ve víně se nazývá oenin a chemicky se řadí mezi antokyany: Jedná se o glykosidy, jež se v kyselém prostředí štěpí na cukr a antokyanidy [1]. Během kvašení, a především v prvních dvou letech dozrávání vína podléhají monomerní antokyany různým reakcím, které vedou ke vzniku nových barviv odvozených od antokyanů. Tato nová barviva mají výrazný vliv na stálost barvy [34]. Barvu antokyanů ovlivňuje kyselost prostředí; kyselejší červená vína jsou světle červeného zbarvení, oproti tomu vína s nižším obsahem kyselin mají zbarvení tmavě červené. Konečná červená barva je výsledkem vzájemného poměru obsahu antokyanů a tříslovin, které jsou samy žluté. Pokud se v dlouhodobě skladovaném červeném víně vyloučí tmavě červená sraženina, je příčinou účinek vzdušného kyslíku a stárnutí na oenin, jenž se rozkládá a stává se nerozpustným [1].

Antokyany jsou prospěšné zdraví: Byl potvrzen jejich antioxidační charakter, který se projevuje vychytáváním volných radikálů, a to tím způsobem, že jim předají elektron [35].

Z dalších barviv obsahuje víno zbytky zeleného chlorofylu, červeného karotinu a žlutého xantofylu. Jejich kombinace dává vínům různé odstíny zelenkavé až žluté. Vína ze samotoku jsou nazelenalá; pokud byl mošt v delším kontaktu se slupkami, je barva vína zlatožlutá. Vyšší obsah chlorofylu ve víně se může projevit nečistou travní chutí a žlutým až hnědým zbarvením [1].

2.4.7 Cizorodé látky ve víně

Běžnou součástí vín tvoří volná i vázaná kyselina siřičitá, jež se používá při školení vín pro své výborné antioxidační a konzervační účinky. Její maximální obsah stanovuje zákon č. 321/2004 Sb. Při dodržení povolených hodnot nelze obvykle kyselinu siřičitou ve vínech sensoricky rozeznat [1][20].

Konzervace oxidem siřičitým se používá zejména u potravin s nízkým pH, jako jsou ovocné šťávy a kvašené nápoje. Cílem je regulovat množství nežádoucích mikroorganismů a aktivitu polyfenoloxidázy. Oxid siřičitý se přidává například k hroznům po strojové sklizni nebo do vína po jablečno-mléčné fermentaci. Uvedeným způsobem se kontroluje oxidační proces i nežádoucí fermentace [36].

Oxid siřičitý dokáže působit na oxidativní enzymy i při koncentraci pod 20 mg/l, ale nejedná se o příliš efektivní způsob. Pokud je v drti přítomno velké množství cizích kvasinek, je nutné alespoň po dobu ležení drti aplikovat vyšší dávku SO₂. Standardně se dává 30–50 mg/l SO₂ [37].

2.4.8 Aromatické látky

Jedná se o souhrn dnes již známých látek patřících mezi estery, aldehydy, acetal, vyšší alkoholy a štěpné produkty bílkovin [1].

U vína se často rozlišuje mezi pojmy „aroma“ a „buket“. První zmíněný se používá, pokud hovoříme o primárních (odrůdových) vůních pocházejících z hroznů. Termín „buket“ zahrnuje všechny vlastnosti, které jsou výsledkem změn, jež nastaly v průběhu kvašení činností kvasinek; poté mluvíme o tzv. sekundární vůni (sekundárním aroma). Největší vliv na výsledný buket má fáze zrání, jelikož se utváří tzv. terciární vůně. Ve víně bylo identifikováno více než 400 různých aromatických sloučenin [1][26]. Mezi prekurzory vůní vína řadíme volné

aminokyseliny, fosfolipidy, glykolipidy, aldehydy a fenoly. V průběhu kvašení vznikají alkylestery, které dávají vínu sekundární aromatické vlastnosti. Terpeny, jež jsou přítomny v hroznech, se v průběhu kvašení nemění a přispívají k primárním aromatickým vlastnostem; při zrání se však měnit mohou, a poté přispívají k terciárnímu aroma [26].

2.4.8.1 Alkoholy

V ovoci a alkoholických nápojích se uplatňují jako aromatické látky především volné primární alkoholy a jejich estery [38].

Ethanol

Ethanol jako produkt tzv. alkoholového kvašení vzniká enzymatickým rozkladem glukózy nebo fruktózy za anaerobních podmínek [38][39]. Není považován za podstatnou aromatickou látku, ale má významný vliv na vůni a chuť vína [40]. Obsah ethanolu ve víně je proměnlivý v závislosti na množství zkvasitelných cukrů v původním moštu. Běžná stolní vína obsahují 10–13 % obj. ethanolu [39].

Minimální obsah ethanolu, jenž zajišťuje určitou mikrobiologickou stabilitu vína, představuje 10 % obj. Vyšší obsah ethanolu stabilizuje víno proti kvasničným zákalům a chrání ho před bakteriálními onemocněními, jako je octovatění, a před mléčným kvašením [1].

V posledních desetiletích se průměrný obsah ethanolu ve stolních vínech zvýšil; výrobci tak reagovali na preference spotřebitelů pro určité styly vína. Spotřebitelé preferují vína s bohatým, plným a zralým ovocným chuťovým profilem. Příkladem mohou být odrůdy Cabernet Sauvignon a Shiraz, které se sklízají s poměrně vysokou koncentrací cukru, což má za následek produkci vín s vyšším obsahem ethanolu. Podle dat sbíraných v Austrálii od 80. let 20. století se koncentrace alkoholu v australských červených vínech zvýšila přibližně o 1 % za desetiletí [41].

Methanol

Methanol bývá ve vínech přítomen pouze v zanedbatelném množství [39]. Volný methanol je produktem hydrolýzy pektinů katalyzované rostlinnými pektinesterasami [38]. Pektinové látky jsou přítomny především ve výliscích [39].

Vyšší alkoholy

Koncentrace vyšších alkoholů, jež vznikají jako vedlejší produkt ethanolového kvašení, by měla být sledována, jelikož mohou mít různý efekt na chuť a aroma vína. Koncentrace pod 300 mg/l dávají vínu komplexní a plnou chuť, oproti tomu koncentrace nad 400 mg/l vedou k silné, svíravé chuti a vůni [38][40].

Při kvašení vzniká jako primární produkt glycerol, který nepatří mezi aromatické látky, ale dodává vínu plnost. Na vzniku glycerolu se podílejí především divoké kvasinky [28].

2.4.8.2 Aldehydy

Aldehydy mohou být ve víně přítomny ve volné nebo vázané formě [39]. K nejprozkoumanějším aldehydům řadíme formaldehyd, acetaldehyd a p-benzaldehyd [40].

Acetaldehyd patří mezi těkavé karbonylové sloučeniny, jež vznikají degradací sacharidů. Vzniká také jako sekundární produkt alkoholového kvašení či při termických procesech Streckerovou degradací z aminokyseliny alaninu [38].

Koncentrace aldehydů ve vínech se pohybuje v rozmezí od 20 do 100 mg/l. Obsah aldehydů u bílých a červených vín se významně liší: Bílá vína obsahují v průměru 80 mg/l aldehydů a červená 30 mg/l. Prahu vnímavosti je dosaženo při koncentraci 100–125 mg/l [40][39]. Nízké koncentrace aldehydů tvoří zdroj příjemného ovocného aroma; pokud jsou koncentrace příliš vysoké, připomíná aroma vína nahnilá jablka [40].

Není-li acetaldehyd dále redukován alkoholdehydrogenázou na alkohol a zůstává ve větším množství ve víně, je nutné zvýšit dávky SO₂. Oxid siřičitý je pro acetaldehyd hlavním vazebným partnerem. V literatuře se udává, že pro vyvázání 1 g acetaldehydu je nutné aplikovat 1,45 mg oxidu siřičitého. Acetaldehyd, který je nepostradatelný při zrání vína, nepochází z procesu kvašení, ale zpětně z alkoholu [28][42].

2.4.8.3 Estery

Estery kyselin vznikají reakcí alkoholů s organickými kyselinami a řadí se mezi nejvýznamnější aromatické a buketní látky vín [39][40]. Většina esterů není v hroznech přítomna a vzniká až jako sekundární nebo terciární aromatické látky během kvašení či skladování. Na výsledném aroma vína se nejvíce podílejí dvě třídy esterů, a to ethylestery a acetátové estery, ačkoliv k vůni vína mohou přispívat také cyklické estery s pětičlennými kruhy [24].

Množství esterů ve víně se mění v závislosti na esterolytické aktivitě, což má vliv na výsledné vnímání chuti a kvality. Na chuti se podílejí nejen samotné estery, ale též sloučeniny, jež jsou uvolňovány pomocí činnosti enzymu esterázy. Jedná se například o mastné kyseliny a vyšší alkoholy [43].

Na tvorbě esterů se podílejí různé kmeny kvasinek, jež mají vliv i na jejich množství. Jedním z mnoha zástupců jsou divoké kvasinky *Apiculatus*. Významné estery vytvořené kvasinkami ve víně a jejich aromatické projevy uvádí tabulka 1. Pro chuť a aroma vína jsou nejvýznamnější estery kyseliny octové, estery terpenových alkoholů, geraniolu a terpenolu [39].

Tabulka 1: Významné estery vytvořené kvasinkami ve víně a jejich aromatické projevy [44]

| Těkavé sloučeniny | Popis aromatického projevu |
|------------------------|-------------------------------------------|
| Ethylpropanoát | ovocný |
| Ethyl 2-metylpropanoát | ovocný, sladké ovoce |
| Ethylbutanoát | kyselé ovoce |
| Ethyl 3-metylbutanoát | bobuloviny |
| Ethylhexanoát | zelené jablko |
| Ethyllaktát | jahoda |
| Ethyl-oktaonát | sladké mýdlo |
| Ethyl-dekanoát | příjemné, mýdlové |
| Ethyl-dodekanoát | mýdlové |
| Ethylacetát | ovocný, odlakovač (ve vysoké koncentraci) |
| 2-methylpropylacetát | banán, ovocný |
| 2-methylbutylacetát | banán, ovocný |
| Hexylacetát | sladký, parfém |
| 2-fenylethylacetát | květinový |

2.4.8.4 Těkavé kyseliny

Do skupiny senzoryicky aktivních těkavých kyselin řadíme kyselinu octovou, propionovou, máselnou, valerovou a kapronovou. Jsou tvořeny krátkým uhlíkovým řetězcem a jejich koncentrace ve vínech se pohybuje v rozmezí od 500 do 1 000 mg/l. Pokud je jejich koncentrace ve víně nadlimitní, a tedy vyšší než 1 000 mg/l, jedná se o projev jeho vady nebo nemoci [40].

Kyselina octová

Kyselina octová vzniká především aerobně oxidací ethanolu. V případě, že je víno přítomno v anaerobním prostředí, mohou některé druhy kvasinek vytvořit 300–600 mg/l kyseliny octové. Její koncentrace by neměla přesáhnout hranici 600 mg/l [28]. Vyšší koncentrace se stávají příčinou chuti vína, která je přirovnávána k salátovému octu. Znalci jsou schopni rozeznat vadu vína při koncentraci 600–700 g/l [42].

2.4.8.5 Terpenoidy

Pro aroma vína jsou podstatné monoterpeny a seskviterpeny; vyšší terpenové uhlovodíky jeho aroma neovlivňují [38]. Monoterpeny i seskviterpeny vznikají syntetickou reakcí z isopentenylpyrofosfátu (IPP) a dimethylallylpyrofosfátu (DMAPP) [45].

Většina terpenů je před kvasným procesem glykosidicky vázána na cukr, a tudíž ještě nemají vliv na aroma. Uvolňují se v průběhu kvašení a skladování. Jsou velice důležité pro odrůdový charakter vín. Vyšší koncentrace terpenoidů se vyskytují u aromatických odrůd [28][40].

Zdroje terpenoidů představují houby, řasy a vyšší rostliny, které je produkují v metabolické dráze biosyntézy sterolů. Nejpočetnější skupinu terpenoidů tvoří monoterpeny, jejichž květinová vůně připomíná růžovou esenci. Mezi nejaromatictější monoterpeny řadíme linalool, α -terpineol, nerol, citronelol, hotrienol a geraniol. Na základě obsahu monoterpenů dělíme odrůdy na intenzivně aromatické muškátové, nemuškatové aromatické a neutrální [40].

Ačkoliv jsou monoterpeny pro svůj vliv na aroma velmi vyhledávané, nelze je – kvůli složitosti matrice vína a nízkým koncentracím – snadno analyzovat. Pokud chceme terpenoidy izolovat, je nutné provést předkoncentrační krok nebo použít velice citlivé přístroje. Jelikož mohou terpeny snadno oxidovat, provádějí se analýzy, které jsou rychlé a jednoduché. Mezi techniky, jež lze aplikovat v praxi, patří headspace mikroextrakce na tuhou fázi (HS-SPME) [46].

2.4.8.6 Norisoprenoidy

Norisoprenoidy se díky příjemným deskriptorům vůně spojují s vysoce kvalitními vlastnostmi vína. Jednotlivé vůně mohou připomínat čaj, fialku, exotické květiny, dušené jablko, eukalyptus nebo kafr. Ve vínech byly nalezeny norisoprenoidy vznikající degradací karotenoidů, například β -damascenon, β -ionon, TDN a izomery vitispiranu [47].

TDN (1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen) se vyskytuje především v hroznech révy vinné, které byly vystaveny nadměrnému slunečnímu svitu. Jedná se o C₁₃-norisoprenoidový derivát řadící se mezi ne-megastigmany. Projevuje se typickou petrolejovou vůní [40].

2.4.8.7 Methoxypyraziny

Methoxypyraziny, dusíkaté heterocyklické sloučeniny, se tvoří v rámci metabolismu aminokyselin. Mohou mít velice intenzivní, až nepříjemný vonný projev, nejčastěji vegetativní či bylinný, který se podobá paprice. Mají velice nízký senzoryický práh 1–10 ng/l [40][48].

Methoxypyraziny se vyskytují v bobulích některých odrůd révy vinné, a to především u odrůd Sauvignon Blanc a Cabernet Sauvignon. Na jejich vyšší koncentrace v bobulích mají vliv zejména chladnější klimatické podmínky. Vína pěstovaná v teplejších oblastech vykazují nižší koncentrace methoxypyrazinů, z čehož plyne, že vínům stejné odrůdy jsou propůjčovány odlišné vlastnosti v závislosti na regionu. [48].

2.4.8.8 Těkavé fenoly

Těkavé fenoly se ve víně často projevují nežádoucím způsobem; u červených vín mohou být příčinou zápachu, který je popisován jako živočišný. Aroma vína s nadměrnou koncentrací těkavých fenolů připomíná koňský pot či farmaceutické prostředí. U některých vinařů převládá názor, že nízké koncentrace těkavých fenolů – konkrétně 4-ethylfenolu a 4-ethylguajakolu – mohou přispívat ke komplexnímu buketu. Prekurzory těkavých fenolů se přirozeně vyskytují v hroznové šťávě; jedná se o hydroxyskořicové kyseliny, z nichž lze zmínit například kyselinu p-kumarovou a ferulovou [49].

Významný vliv na aroma mají těkavé fenoly zejména u bílých vín, jelikož jsou v nich obsaženy ve vyšších koncentracích. Mezní hodnota, nad níž se začínají projevovat nepříjemné chuťové a vonné vlastnosti, činí 725 µg/l. Příčinou enzymové aktivity, při které jsou kyseliny p-kumarová a ferulová přeměněny dekarboxylací na příslušné vinylfenoly, představují kvasinky rodu *Saccharomyces cerevisiae*. Zmíněná nitrobenoňná aktivita se projevuje pouze během alkoholového kvašení a s odlišnou intenzitou, jež závisí na kmeni kvasinek [50].

2.4.8.9 Vonné thioly a další sirné sloučeniny

V letech 2010 a 2015 byly studovány a identifikovány některé odrůdové thioly, mezi nimi například 4-merkapt-4-methyl-pentan-2-on, 3-merkaptohexan-1-ol a 3-merkaptohexylacetát. Z odrůd, jejichž aroma utvářejí vysoce vonné thioly, lze zmínit Sauvignon Blanc. Specifické skupiny thiolů jsou ve vínech zdrojem ovocných tónů [40][51].

Za vůni připomínající mučenku či bedrník zodpovídají 3-merkaptohexan-1-ol a 3-merkaptohexylacetát. Vůni košťálu, černého rybízu a bedrníku vykazuje 4-merkapt-4-methyl-pentan-2-on. Vzhledem k nízkému prahu vnímavosti thioly pozitivně přispívají k ovocným tónům mladých vín. Odrůdové thioly se uvolňují v průběhu alkoholového kvašení z netěkavých prekurzorů, jako jsou cysteinové konjugáty a glutathion, enzymatickým působením kvasinek [51].

Thioly nemají na sensorické vlastnosti vína pouze pozitivní vliv – některé sirné sloučeniny jsou příčinou jeho sensorických vad. K nežádoucím sloučeninám patří sulfan, jehož aroma se přirovnává ke zkaženým vejším [40].

2.5 Technologie výroby vína

Při výrobě vína se uplatňují především tři procesy: předkvašení, kvašení a dokvašení. U vín vyráběných z hroznů tvoří součást předfermentace rozdrcení bobulí a uvolnění šťávy. Další postup se liší u červených a bílých vín; u bílého vína se slupky a šťáva oddělují, zatímco u vín červených zůstávají pohromadě. U bílého vína následuje odstranění pevných látek (čiření) sedimentací nebo odstředěním při nízké teplotě 5–8 °C. Následně se do vyčištěné šťávy přidávají speciální vinné kvasinky rodu *Saccharomyces cerevisiae*, které zahájí kvašení [52].

Kvašení moštu probíhá v kvasné kádi. Při výrobě červeného vína se dužina, slupky a semena během celého kvašení nebo jeho části uchovávají pohromadě, aby bylo dosaženo typické barvy a chuti vína. Proces kvašení je započat přidáním kvasinek do rozmačkané dužiny nebo

moštu. V průběhu alkoholového kvašení se cukry ve šťávě přeměňují za přítomnosti kvasinek na ethanol a oxid uhličitý. Kvašení může být zpomalené nebo zastaveno, pokud kvasinky nedokážou maximálně využít dostupný cukr. Problém lze vyřešit scezením, filtrací nebo odstředěním. Kvašení probíhá za anaerobních podmínek a je možné ho posílit přidáním fosforečnanu amonného, jenž doplní dusík potřebný pro růst kvasinek [52].

Po dosažení požadované fáze kvašení se provádějí postfermentační postupy. Víno se z kvasničných kalů stáčí do nádob z nerezové oceli nebo do dubových sudů. V průběhu skladování se mohou vína filtrovat, stabilizovat, míchat či zjemňovat. Aromatické a chuťové vlastnosti vína se v průběhu zrání mění a ve vhodné chvíli se filtruje a stáčí do lahví [52].

2.5.1 Sekundární aroma

V procesu výroby vína z moštu se uplatňují dva typy kvašení: alkoholové a jablečno-mléčné. Během procesu kvašení vzniká celá řada sekundárních aromatických látek. Z alkoholů vzniká při alkoholovém kvašení především 2-methylbutanol, 3-methylbutanol, 1-propanol, 2-methylpropanol, 1-butanol, 1-pentanol a 2-fenylethanol. Alkoholy vznikají v metabolismu aminokyselin. Jejich koncentrace ve víně se pohybuje v rozmezí 400–500 mg/l a je ovlivněna obsahem dusíku v bobulích révy vinné [45].

Společně s alkoholy představují hlavní markery kvasného aroma mastné kyseliny a estery. Mastné kyseliny vznikají v okamžiku, kdy je hydrolýzou přerušen proces prodlužování acetyl-CoA. Estery se tvoří enzymatickou cestou, počáteční aktivací mastných kyselin v kombinaci s koenzymem A (CoA). Dekarboxylace α -ketonových kyselin, vznikajících při biosyntéze vyšších alkoholů, vede k tvorbě karbonylových sloučenin. Dekarboxylační proces se odehrává v metabolismu kvasinek. Sírné sloučeniny jsou obecně zdrojem nepříjemného a intenzivního vonného projevu. Řadíme sem sulfidy, thioly a thioestery. Z dusíkatých sloučenin se na sekundárním aroma nejvíce podílejí acetamidy z primárních aminů a jim odpovídající aminy. Jejich vůně je připodobňována ke kyselině močové. Laktony se získávají intramolekulární esterifikací hydroxykyselin. Ze 4-hydroxykyselin jsou produkovány γ -laktony a z 5-hydroxykyselin δ -laktony; v obou případech se jedná o kyslíkaté heterocyklické sloučeniny. Činností kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* vznikají dva hlavní těkavé fenoly, a to 4-vinylfenol a 4-vinylguajakol. Do uvedené skupiny se řadí rovněž 4-ethylfenol, ten nicméně produkují jiné kvasinky, rodu *Brettanomyces/Dekkera* [45].

2.5.2 Terciární aroma

Terciární aroma utvářejí sloučeniny vznikající v průběhu zrání vína. Proces uchovávání vína provází řada fyzikálně-chemických a biochemických reakcí, které přeměňují aromatické látky vzniklé v předešlých krocích výroby. Tzv. buket je výsledkem buď oxidačních reakcí v sudech, kde jsou syntetizovány acetaldehydy a acetaly, nebo dozrávání vína v lahvi. Sloučeniny vzniklé při fermentaci mezi sebou interagují a utvářejí buket. U vín, která byla uložena v sudu, se chuťově projevují látky uvolněné ze dřeva. Jedná se o furany, jejichž vonný projev může připomínat pražené mandle, fenolové aldehydy, fenylyketony, kyslíkaté heterocykly, těkavé fenoly a laktony [45].

2.6 Autentifikace vín

Identitu vína určuje více faktorů, mezi něž řadíme odrůdu hroznů, zeměpisný původ, biofyzikální prostředí vinice, podmínky sklizně a vstupy při výrobě. Postupně se při výrobě vín začaly uplatňovat různé způsoby padělání související s uvedenými údaji. Za padělání vína se

považuje uvádění nepravdivých údajů na značkách a etiketách, přidávání nepovolených přísad, provádění nepovolených postupů a záměna na základě odrůdy hroznů nebo oblasti původu [53].

Měsíční zprávy Evropské komise uvádějí, že víno patří mezi nejvíce falšované potraviny. V důsledku popsaného jednání pak nejsou naplněna očekávání spotřebitelů, což může vést k poklesu důvěry zákazníka v autenticitu produktu. Druhým aspektem nekalého jednání je narušení konkurenční soutěže mezi výrobci vína. V posledních letech byly vyvinuty, ale také se stále vyvíjejí metody, jimiž lze pravost vín ověřit. Cílem výzkumníků bylo vytvořit rychlé, přesné a levné metody pro potvrzení či zamítnutí hypotézy [54]. Obvykle aplikované analytické metody stavějí na profilování stopových prvků, fenolových sloučenin, těkavých sloučenin a izotopových poměrů pomocí různých chromatografických a spektroskopických metod [55]. Z prvních zmíněných se běžně využívá plynová chromatografie s hmotnostní detekcí a vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Spektroskopické metody pak představují velice efektivní nástroj pro svou jednoduchost, rychlost přípravy vzorků a rychlost analýzy [53].

2.6.1 Geografická autenticita

Při ověřování geografické autenticity vín se uplatňuje celá řada biometrických metod, které vinaři využívají pro charakterizaci, klasifikaci a autentizaci vzorků. K ceněným metodám pro ověření zeměpisného původu vín se řadí stanovení stopových kovů. Kovy se do vína dostávají z endogenních nebo exogenních zdrojů. Endogenní zdroj tvoří prvky, jež se přirozeně vyskytují v půdě, nebo také klimatické podmínky a zralost hroznů. Exogenním zdrojem jsou různé kontaminanty, které se do vína mohou dostat během růstu a při technologickém zpracování. Výskyt stopových prvků ve vínech lze ověřit pomocí metod, jako je atomová absorpční spektroskopie, atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES) nebo hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) [56].

V jedné studii, jež se snažila potvrdit korelaci mezi výskytem stopových prvků v půdě a víně, bylo analyzováno 1 397 komerčních vín z 51 australských oblastí, 39 odrůd a 19 ročníků. Ze studie vyplynulo, že oblast původu představuje nejdůležitější aspekt, který přispívá k víceprvkovému složení australských vín, následovaná barvou hroznů, ročníkem a odrůdou. Ve studii byla použita jedna z metod mnohorozměrné statistické analýzy, konkrétně lineární diskriminační analýza (LDA), jejíž pomocí se potvrdilo, že spolehlivými ukazateli původu vín jsou následující prvky: Li, Na, Mg, Si, P, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Zn, Rb, Sr, Cs a Ba [56].

Další metodu, jež umožňuje rozsáhlou analýzu přírodních molekul, reprezentuje izotopová analýza nukleární magnetickou rezonancí (SNIF-NMR). Používá se pro určování zeměpisného původu vína, které bylo ve všech členských státech zavedeno nařízeními EU č. 2670/90, 2347/91 a 2348/9. Vlastnosti vína se porovnávají s údaji uvedenými na etiketě za využití databanky autentických vzorků, jež byla Evropskou unií zřízena v roce 1991 [56].

Původ vína lze ověřit i metodou sledující poměr $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$. Technika umožňuje identifikovat přidanou podzemní nebo vodovodní vodu v hroznovém moštu. Hodnota $\delta^{18}\text{O}$ vody obsažené ve víně reflektuje poměr ve srovnání s mezinárodním standardem Vienna Standard Mean Ocean Water a odráží zeměpisný původ vína [56].

Při ověřování autenticity vína a v boji proti podvodům se uplatňuje více analytických metod, při nichž je sledován poměr izotopů. Z metod, jež stále tvoří předmět výzkumu, se v praxi využívá poměr izotopů $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, již zmíněný $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ a $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ [57].

Jeden z možných přístupů propojuje izotopové charakteristiky půdy, rostliny, meziprojektu a konečného produktu na základě poměrů izotopů ^{87}Sr a ^{86}Sr . Avšak pro izotopovou vlastnost není izotopové složení půdy spolehlivým ukazatelem. Vhodný ukazatel představuje izotopové složení pórové vody, která vymývá různé minerální fáze a poté přechází do kořenového systému. Nevýhoda takového odběru tkví v jeho komplikovanosti, proto byla vyvinuta metoda odběru a zpracování vzorků půdy a následného vyhodnocení vzorků moštu a vína. Po provedení rozboru jsou srovnány vzorky půdy a biologického materiálu. Na základě provedených analýz lze spolehlivě určit zeměpisnou, regionální i místní pravost vína. Červená a bílá vína procházejí odlišným procesem zpracování hroznů, proto je v případě druhých zmíněných nutné brát v potaz i poměr ^{87}Sr a ^{86}Sr bentonitů [58].

2.7 Plynová chromatografie

Studium těkavých látek ve víně patří mezi první aplikace plynové chromatografie (GC) po jejím rozvoji na počátku 50. let 20. století. GC se stala nepostradatelnou pro pochopení chemického složení vína a v současnosti je její využití při analýze vzorků vína mnohem rozsáhlejší. Postupem času byla technika zdokonalována, pokrok se projevil zejména v technologii kolon, zlepšení stacionárních fází a v nových detekčních metodách. Zavedení kapilárních kolon s vysokou rozlišovací schopností na konci 80. let 20. století vedlo k identifikaci stovek nových těkavých látek, včetně sloučenin, jež jsou ve víně přítomny pouze ve stopovém množství [59].

2.7.1 Detektory

Pro analýzu vína se nejčastěji využívají dva typy detektorů, a to plamenově ionizační (FID) a hmotnostně spektrometrický (MS); avšak kromě těchto univerzálních detektorů se v praxi uplatňují i detektory s vyšší citlivostí a selektivitou pro některé analyty. Příkladem mohou být plamenově fotometrické (FPD) a chemiluminiscenční detektory schopné detekovat látky obsahující síru. Rezidua pesticidů, těkavé aldehydy a stopová množství haloanisolů se stanovují pomocí detektorů s elektronovým záchytem (ECD). Pro analýzu reziduí pesticidů, ale také methoxypyrazinů, které přispívají k paprikovému aroma některých odrůd vín, jako je Cabernet Sauvignon, slouží detektory dusíku a fosforu (NPD). Kromě tradičních GC detektorů se v praxi využívají i novější typy, jež umožnily rychlejší analýzu s lepší selektivitou i citlivostí. Patří mezi ně hmotnostní spektrometrie s dobou letu (TOF) a kombinované techniky jako tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS) [59].

2.7.2 Extrakce

Víno je velice složitou maticí, jelikož obsahuje velké množství sloučenin různých chemických skupin. Před samotným měřením je nutné ze vzorku izolovat sloučeniny tvořící předmět výzkumu. Přípravné kroky většinou zahrnují izolaci a koncentraci stanovovaných sloučenin a jejich provedení je zásadní pro kvalitu i relevantnost následné analýzy. Mezi nejčastěji používané extrakční techniky řadíme extrakci kapalina–kapalina (LLE), extrakci na pevné fázi (SPE) a headspace (HS), který se může provádět staticky i dynamicky [60].

Při statickém HS-GC se analyt odebírá z hermeticky uzavřené vialky, poté co matrice dosáhne rovnováhy s vlastními parami při určité teplotě [61]. U dynamického HS-GC prochází plyn maticí a unáší aromatické látky na vhodný záchytný systém, jako je pevný adsorbent, kapalná stacionární fáze nebo selektivní činidlo. Sloučeniny jsou uvolněny pomocí tepelné eluce, případně elucí rozpouštědlem [61]. S ohledem na životní prostředí se stále více prosazují miniaturizační techniky, které výrazně omezují množství použitých rozpouštědel. Příkladem je mikroextrakce jednou kapkou (SDME) a mikroextrakce na pevné fázi (SPME) [60].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Aromatické látky ve vzorcích byly stanoveny pomocí headspace mikroextrakce na tuhé fázi ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostně spektrometrickou detekcí. Vedle toho bylo provedeno ověření opakovatelnosti a lineárního rozsahu stanovení vybraných analytů.

3.1 Použité vybavení a chemikálie

3.1.1 Přístroje, software a laboratorní pomůcky

- Plynový chromatograf Trace™ 1310 se split/splitless injektorem (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostní spektrometr ISQ™ LT Single Quadrupole (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm (Supelco, Bellefonte, PA, USA)
- Kapilární kolona TG-WAXMS (30 m × 0,25 mm × 0,5 µm) (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- pH metr HI 981032 (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)
- Xcalibur 2.2 (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knihovna hmotnostních spekter NIST/EPA/NIH (Gaithersburg, MA, USA)
- Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)
- Statistica 13 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA)

3.1.2 Pomůcky

- Předvážky EK-1200i a analytické digitální váhy GR-202 (A&D Instruments Ltd, Abingdon, Spojené království)
- Vialky (10 ml) se závitovým magnetickým uzávěrem
- Běžné laboratorní sklo a náčiní

3.1.3 Chemikálie a pracovní roztoky

- Helium 4.8 (SIAD Czech s.r.o., Rajhradice, Česko)
- Chlorid sodný p.a. (Lach-ner, s. r. o., Neratovice, Česko)
- Roztok modelového vína (MV), tj. 12% v/v roztok ethanolu p.a. (Penta Chemicals, Chrudim, Česko) ve vodě s obsahem:
 - 15,0 g/l glukózy a fruktózy (Merck, Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Německo),
 - 1,5 g/l vinné, jablečné a mléčné kyseliny (Merck, Německo),
 - 6,0 g/l glycerolu (HPLC grade, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA),
 - 1,0 g/l 2,3-butandiolu (Merck, Německo),
 - 40 mg/l 2-fenylethanolu (Merck, Německo),
 - nasyceného vodného roztoku hydroxidu draselného do pH 3,5 celkového MV
- Vnitřní standard (IS) 2-heptanolu a 2-nonanolu (oba Merck, Německo) o koncentraci 10 mg/l v roztoku MV
- Linalool 97% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo)
- α-Terpineol (Sigma-Aldrich Co., USA)
- Citronellol 96% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Německo)
- Ethyl hexanoát (Sigma-Aldrich Co., USA)

3.2 Ověření vybraných validačních parametrů

Za účelem ověření správnosti fungování použité metody byly proměřeny opakovatelnost a lineární rozsah metody. Tato měření byla provedena pomocí modelového vína (MV) simulujícího matrici reálných vzorků s přidavky standardů ve vhodných koncentracích.

3.3 Analyzované vzorky

V této bakalářské práci bylo zkoumáno 19 vzorků moravských vín odrůdy Hibernál. Vzorky byly vybrány tak, aby byly zastoupeny všechny čtyři moravské podoblasti (slovácká, mikulovská, velkopavlovická a znojmská). Vína byla zakoupena v běžné obchodní síti nebo přes e-shop jednotlivých vinařů. Poté byla skladována v temných a chladných prostorách a k jejich otevření bylo přistoupeno až před samotným měřením. Přehled analyzovaných vzorků uvádí tabulka 2.

Tabulka 2: Přehled analyzovaných vzorků

| Vzorek | Ročník | Vin. obec | Vin. trať | Vinařství | Alk. [obj.%] | Kys. [g/l] | Cukr [g/l] |
|----------------------------------|--------|-----------------------|----------------|-------------------|--------------|------------|------------|
| Podoblast mikulovská | | | | | | | |
| MIK1 | 2020 | Ivaň | | Holánek | 13,0 | 7,7 | 5,1 |
| MIK2 | 2019 | Pouzďřany | Kolby | Kolby | 11,0 | | |
| MIK3 | 2021 | Sedlec | Nad Nesytem | ZD Sedlec | 11,0 | | |
| MIK4 | 2020 | Pouzďřany | Kolby | Kolby | 13,0 | | |
| Podoblast velkopavlovická | | | | | | | |
| VP1 | 2021 | Němčičky | | ZD Němčičky | 13,0 | | |
| VP2 | 2021 | Němčičky | | Ludwig | 12,5 | | |
| VP3 | 2020 | Velké Pavlovice | Išperky | Arte Vini | 12,5 | 6,5 | 3,0 |
| VP4 | 2019 | Velké Pavlovice | Išperky | Arte Vini | 12,5 | 6,8 | 3,4 |
| Podoblast slovácká | | | | | | | |
| SL1 | 2021 | Mutěnice | Úlehle | B\V | 14,0 | 7,1 | 1,4 |
| SL2 | 2021 | Blatnice pod sv. Ant. | Stará hora | Rauš | 13,0 | 7,4 | 8,5 |
| SL3 | 2021 | Jalubí | Vinohrádky | Víno Hruška | 12,0 | 8,2 | 16,4 |
| SL4 | 2021 | Blatnička | Vinohrádky | Víno Hruška | 12,5 | 8,5 | 11,9 |
| Podoblast znojmská | | | | | | | |
| ZN1 | 2020 | Starovice | Podhoří | Znovín Znojmo | 12,0 | 7,2 | 31,2 |
| ZN2 | 2019 | Dolní Kounice | Šibeniční hora | Trpělka a Oulehla | 13,5 | 7,1 | 2,2 |
| ZN3 | 2020 | Božice | Pustina | Znovín Znojmo | 12,0 | 7,2 | 14,0 |
| ZN4 | 2020 | Vrbovec | U sv. Urbana | WALDBERG | 10,0 | 6,5 | 23,2 |
| ZN5 | 2021 | Mělčany | Seslice | Jan Plaček | 13,5 | 7,3 | 2,3 |
| ZN6 | 2020 | Dolní Kounice | Šibeniční hora | Trpělka a Oulehla | 13,5 | 7,0 | 1,6 |
| ZN7 | 2021 | Dolní Kounice | Šibeniční hora | Oulehla | 13,5 | 6,8 | 1,8 |

3.4 Stanovení aromatických látek pomocí HS-SPME-GC-MS

3.4.1 Příprava vzorků

Nejdříve byly všechny vialky důsledně očištěny a vhodně označeny. Z čerstvě otevřených lahví byly pipetovány 3 ml vína do 10 ml vialek s předváženým 1,0 g chloridu sodného. Po přidavku

90 µl vnitřního standardu (IS) byly vialky hermeticky uzavřeny závitovým magnetickým uzávěrem opatřeným septem. Všechny vzorky byly analyzovány do 24 hodin od odběru.

3.4.2 Podmínky analýzy

- SPME vlákno: DVB/CAR/PDMS vlákno, 3 ml vína v 10 ml vialce
- Kapilární kolona: TG-WAXMS (30 m × 0,25 mm × 0,5 µm)
- Doba inkubace: 5 min, teplota inkubace: 40 °C
- Doba extrakce: 30 min
- Doba desorpce: 7 min
- Teplota desorpce / inletu injektoru: 250 °C
- Průtok nosného plynu (He): 1 ml/min
- Teplotní program: 40 °C (1 min), 2 °C/min do 100 °C (3 min), 5 °C/min do 130 °C (5 min), 5 °C/min do 200 °C (1 min)
- Detekce: SCAN režim snímání
- Iontový zdroj: elektronová ionizace při 70 eV
- Teplota iontového zdroje: 200 °C
- Skenovací rozsah: 30-300 m/z

3.5 Zpracování výsledků

Obsahy jednotlivých těkavých sloučenin byly vypočteny srovnáním plochy píku daného analytu a plochy píku 2-heptanolu jako vnitřního standardu (koncentrace látek v tabulce č. 4 jsou tak vyjádřeny v µg/l 2-heptanolu). Získaná data byla zpracována pomocí deskriptivní statistiky.

4 VÝSLEDKY

4.1 Ověření opakovatelnosti a lineárního rozsahu metody

Opakovatelnost metody byla ověřena pomocí vnitřního standardu (IS) přidaného do MV, tedy na 2-heptanolu a 2-nonanolu na koncentrační hladině přidávané do všech vzorků (300 µg/l). Výsledné relativní směrodatné odchylky uvedené v tabulce 3 vychází z měření 7 shodných vzorků.

Tabulka 3: Opakovatelnost metody

| Sloučenina | RSD [%] |
|------------|---------|
| 2-heptanol | 2,66 |
| 2-nonanol | 3,37 |

Lineární rozsahy byly proměřeny přidávkou standardů vybraných analytů do MV v koncentračním rozsahu (LR) uvedeném v tabulce 4, v níž je linearita stanovení vyjádřena jako směrnice lineárního proložení (slope) spolu s koeficientem spolehlivosti (R^2). Směrnice vychází z podílu plochy píku analytu k ploše píku 2-heptanolu z IS.

Tabulka 4: Lineární rozsah metody

| Sloučenina | LR [µg/l] | Slope | R^2 [-] |
|----------------|------------|---------|-----------|
| 1-hexanol | 5 – 1000 | 0,00077 | 0,99794 |
| Ethyl hexanoát | 100 – 5000 | 6,28576 | 0,99899 |
| Linalool | 0,5 – 500 | 0,02031 | 0,99623 |
| α-Terpineol | 0,5 – 500 | 0,00367 | 0,99927 |
| Citronellol | 0,5 – 500 | 0,01023 | 0,99959 |

4.2 Identifikace těkavých látek ve vzorcích vín

Těkavé látky ve vzorcích vín byly identifikovány na základě jejich retenčních časů a shody detekovaných spekter se spektry v knihovně NIST.

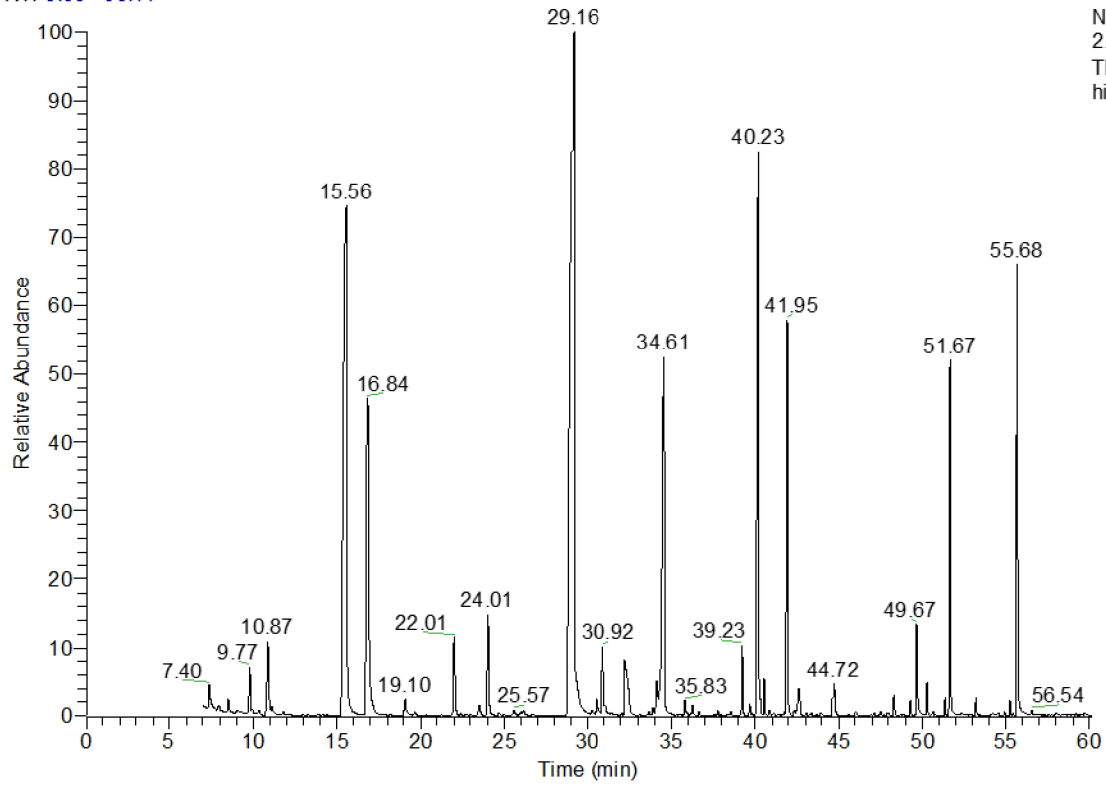
Celkem bylo identifikováno 30 sloučenin nalezených alespoň v 5 vzorcích, jak uvádí tabulka 5, včetně jejich retenčních časů a četností nálezů ve vzorcích napříč podoblastmi. Mezi těmito sloučeninami se nachází 16 esterů karboxylových kyselin, z toho 9 ethyl esterů a 2 isoamyl estery, dále 6 alkoholů, 4 terpenoidy, 3 karboxylové kyseliny a anethol, fenolický ether vycházející z metabolismu kumarové kyseliny.

Na obrázcích 3 a 4 je uvedena ukázka chromatogramu těkavých látek identifikovaných ve vzorku MIK3. Z chromatogramů je patrná značná variabilita výšek píků, které jsou až na výjimky vzájemně velmi dobře rozlišeny, což lze označit za znak kvality použité metody.

Tabulka 5: Četnost výskytu sloučenin v jednotlivých vzorcích (podoblastech)

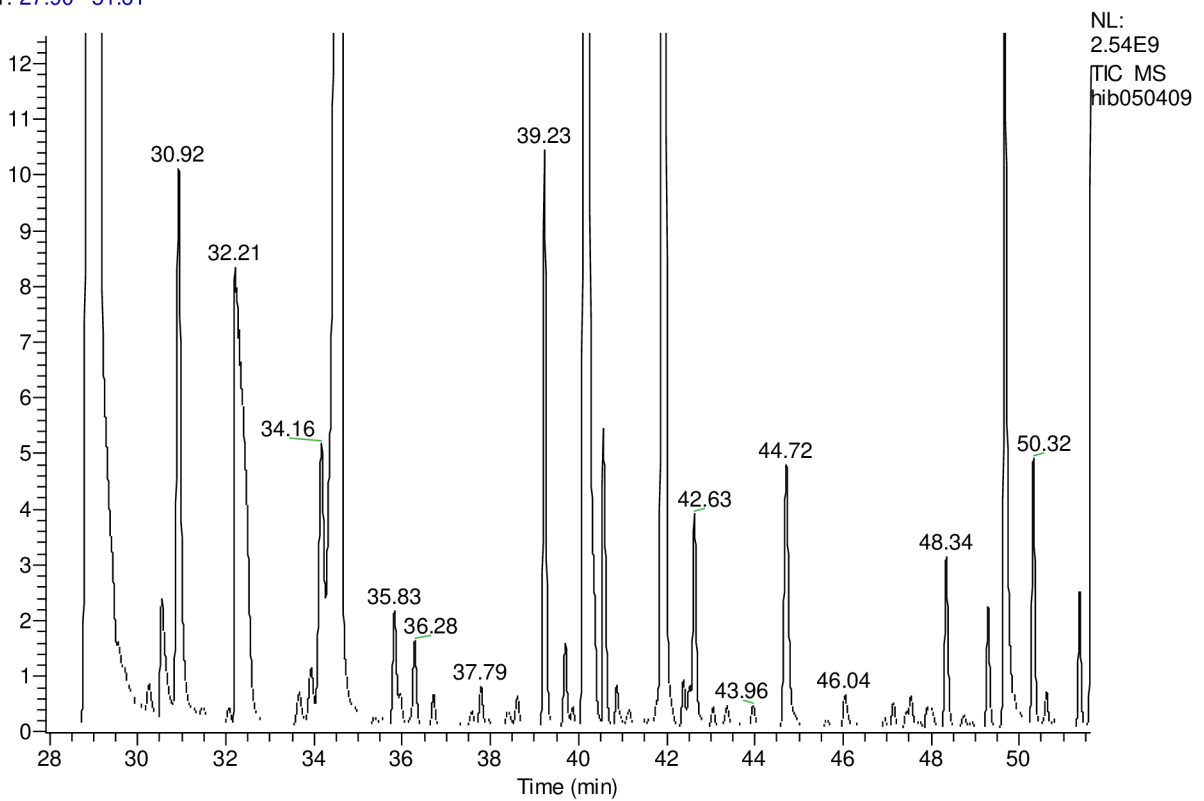
| RT [min] | Sloučenina | SI | VP | MIK | ZN |
|----------|--------------------------|-----|-----|-----|-----|
| 7,40 | Ethyl butanoát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 8,50 | Ethyl isovalerát | 3/4 | 2/4 | 4/4 | 7/7 |
| 9,76 | Isobutanol | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 10,89 | Isoamyl acetát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 15,53 | Isopentyl alkohol | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 16,86 | Ethyl hexanoát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 19,09 | Hexyl acetát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 6/7 |
| 22,71 | Ethyl heptanoát | 1/4 | 1/4 | 2/4 | 1/7 |
| 23,49 | Ethyl 2-hydroxypropanoát | 1/4 | 2/4 | 3/4 | 3/7 |
| 24,01 | 1-Hexanol | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 26,15 | Methyl oktanoát | 3/4 | 2/4 | 2/4 | 2/7 |
| 29,13 | Ethyl oktanoát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 30,51 | Kyselina octová | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 30,91 | Nerol oxid | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 35,82 | 2,3-butandiol | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 36,28 | Linalool | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 36,70 | 1-Oktanol | 2/4 | 1/4 | 3/4 | 7/7 |
| 39,23 | Hotrienol | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 40,18 | Ethyl dekanoát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 40,86 | Isoamyl oktanoát | 4/4 | 3/4 | 3/4 | 4/7 |
| 41,92 | Diethyl sukcinát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 42,62 | α -terpineol | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 48,34 | 2-fenylethyl acetát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 48,79 | Anethol | 0/4 | 1/4 | 3/4 | 1/7 |
| 49,30 | Ethyl dodekanoát | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 49,66 | Kyselina hexanová | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 51,67 | Fenylethyl alkohol | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |
| 54,92 | Isopropyl myristát | 2/4 | 1/4 | 2/4 | 1/7 |
| 55,24 | Diethyl malát | 3/4 | 3/4 | 4/4 | 7/7 |
| 55,68 | Kyselina oktanová | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 7/7 |

RT: 0.00 - 60.11



Obrázek 3: Ukázka chromatogramu těkavých látek ve vzorku odrůdy Hibernal

RT: 27.90 - 51.61



Obrázek 4: Ukázka chromatogramu těkavých látek ve vzorku odrůdy Hibernal, přibliženo

4.3 Kvantifikace těkavých látek ve vzorcích vín

Kvantifikace těkavých látek ve vzorcích byla provedena u 25 sloučenin, které byly nalezeny v nejméně 10 z analyzovaných vzorků, tj. ve většině. Ze seznamu identifikovaných sloučenin pro kvantifikaci tak byly vypuštěny ethyl heptanoát, ethyl hydroxypropanoát, methyl oktanoát, anethol a isopropyl myristát. Koncentrace sloučenin, uvedené v tabulce 6, byly vypočteny pomocí odezvy vnitřního standardu, viz kap. 3.5.

Nejvyšší koncentrace ve vzorcích zaujímají podle očekávání ethyl estery – ethyl hexanoát, ethyl oktanoát a ethyl dekanóat, vyskytující se v koncentracích v řádech mg/l, dále následují některé alkoholy – isopentyl alkohol, fenylethyl alkohol a 1-hexanol.

Terpenoidy, které jsou považovány za typické odrůdové látky, nabývaly koncentrací v řádech desítek, spíše však nižších stovek $\mu\text{g/l}$. Z toho lze říci, že vína odrůdy Hibernál mohou poskytovat širokou paletu aromatických vjemů po květinách, bylinách či ovoci, jejichž silic jsou terpenoidy součástí.

4.4 Porovnání aromatického profilu vzorků vín

Ze získaných koncentrací byly vypočítány průměrné nálezy ve vzorcích z jednotlivých podoblastí, příslušné relativní směrodatné odchylky, které poskytují informaci o variabilitě koncentrací látek v každé z podoblastí, p hodnota Shapiro-Wilkova testu ukazující na shodu s normální distribucí dat a t hodnota dvouvýběrového t -testu srovnávajícího průměrnou koncentraci sloučeniny v dané podoblasti s celkovou průměrnou koncentrací ve všech vzorcích. Tyto hodnoty uvádí tabulka 7.

Tato popisná statistika ukázala, že zjištěné koncentrace většinou (vyjma 6 z 89 případů) odpovídají normální distribuci dat (hodnota $p > 0,05$), tedy že obsahují pouze málo významně odlehých hodnot, přestože pochází ze souborů se značnou variabilitou – průměrná relativní směrodatná odchylka pro všechny analyty činila 48 %. Ukázky rozptylů hodnot ukazují varianční grafy na obrázcích 5 a 6 na příkladu hexyl acetátu a α -terpineolu (vizualizace rozptylů ostatních sloučenin je uvedena v příloze 1). Z grafů je zřejmá podobnost mezi vzorky z různých podoblastí. Vzájemnou nerozdílnost potvrdily hodnoty t -testu, u něhož $t < 0,05$ znamená významný rozdíl mezi průměry, zde z konkrétní podoblasti proti celému souboru. Jedinými výjimkami, u nichž $t < 0,05$, byly isoamyl acetát v případě mikulovské podoblasti, isopentyl alkohol a oktánová kyselina ve vzorcích z velkopavlovické podoblasti a ethyl hexanoát ve vínech ze znojenské podoblasti.

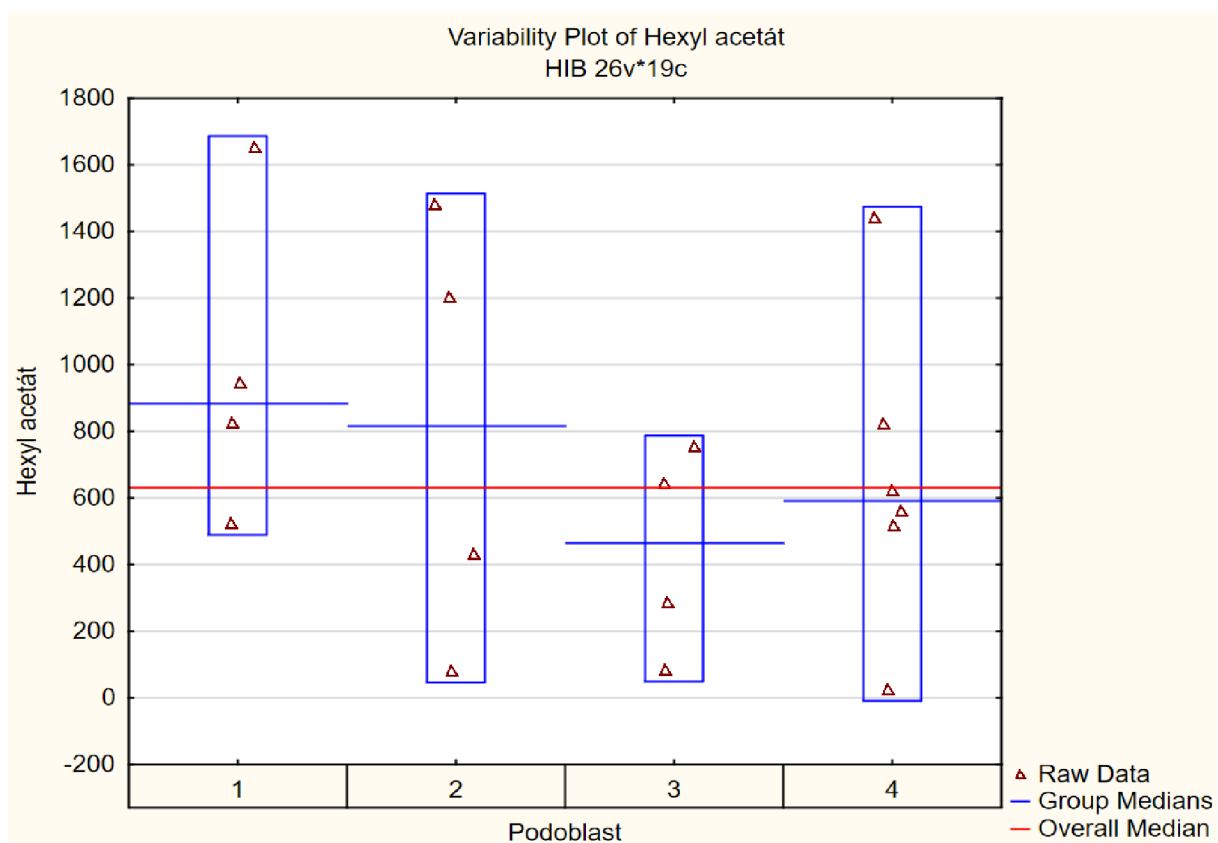
Souhrnně se tedy dá říct, že analyzované látky se ve vínech napříč moravskými podoblastmi nachází v příliš podobných rozptylech koncentrací, než aby bylo možné určit některé ze sloučenin jako marker použitelný pro geografickou autentifikaci.

Tabulka 6: Koncentrace těkavých látek ve všech analyzovaných vzorcích [$\mu\text{g/l}$]

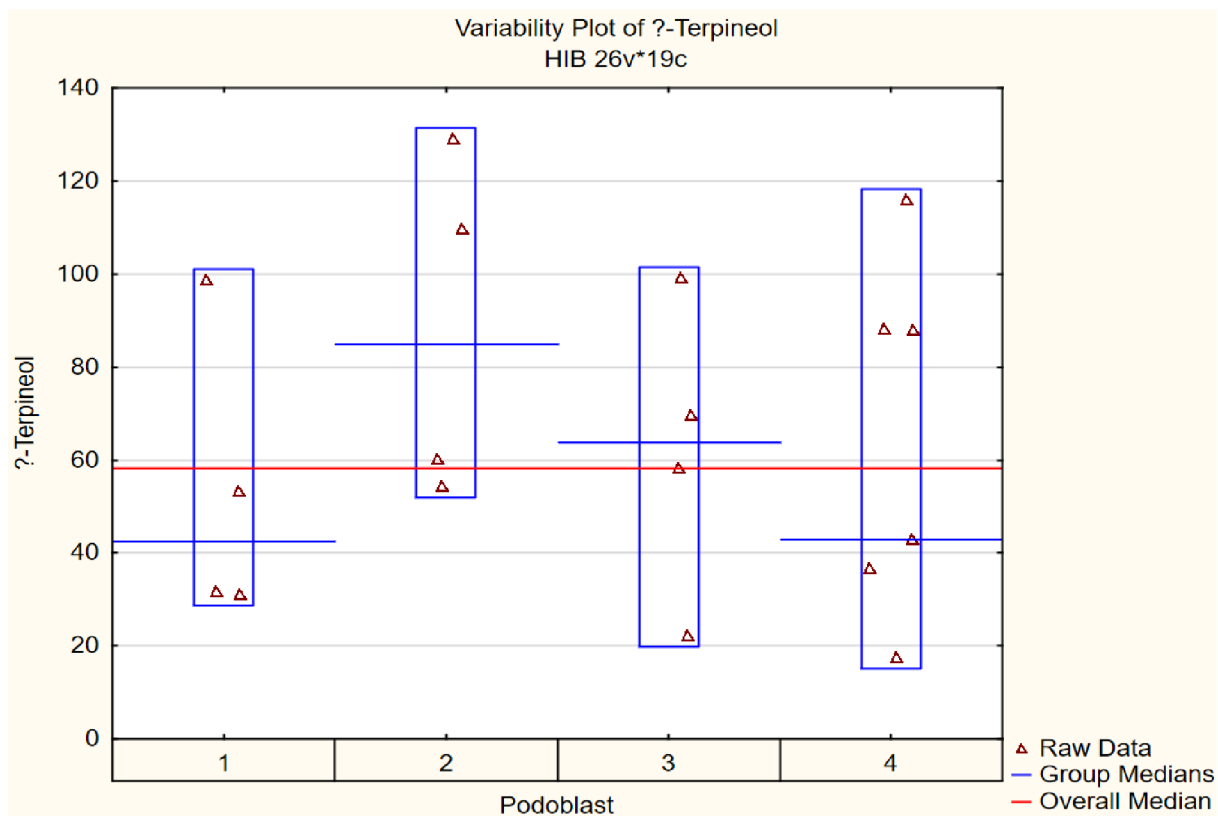
| Sloučenina | SL 1 | SL 2 | SL 3 | SL 4 | VP 1 | VP 2 | VP 3 | VP 4 | MIK 1 | MIK 2 | MIK 3 | MIK 4 | ZN 1 | ZN 2 | ZN 3 | ZN 4 | ZN 5 | ZN 6 | ZN 7 |
|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|--------|--------|
| Ethyl butanoát | 134,5 | 253,7 | 193,8 | 196,7 | 169,4 | 332 | 171,7 | 119,2 | 312,7 | 206,3 | 143,8 | 356,1 | 281,6 | 262,1 | 281,5 | 207,9 | 62 | 196,4 | 245,3 |
| Ethyl isovalerát | N/A | 24,4 | 11,5 | 14 | N/A | N/A | 82,3 | 41,9 | 68,3 | 65,3 | 50,5 | 99,3 | 58,4 | 124,5 | 16,6 | 11 | 9,8 | 78,1 | 43,6 |
| Isobutanol | 154,4 | 202,1 | 120,5 | 113,8 | 78,3 | 341,8 | 263,1 | 133,7 | 368 | 314,9 | 235,1 | 319,1 | 393,7 | 302,7 | 217,9 | 82,8 | 64,8 | 198,9 | 120,6 |
| Isoamyl acetát | 1427,3 | 2156,7 | 1149,2 | 1098,4 | 1623,9 | 3686,6 | 1316,7 | 278 | 1448,4 | 315 | 2945,6 | 823,8 | 1988,5 | 260,8 | 600,8 | 661,4 | 2834,5 | 137,1 | 980,6 |
| Isopentyl alkohol | 4984,2 | 4109,9 | 2903,1 | 2992,1 | 3783,2 | 10440,8 | 7776,1 | 3359 | 10554,9 | 5728,8 | 8850,3 | 10901,1 | 8906,7 | 9734,1 | 3967,2 | 3005,9 | 5452,1 | 4547,8 | 3658,3 |
| Ethyl hexanoát | 6544,4 | 2910 | 2977,2 | 3513,4 | 5604,4 | 6317,3 | 5734,3 | 1970,4 | 7192,6 | 5117,9 | 5646,9 | 7373,2 | 6542,6 | 7915 | 5330,7 | 3346,1 | 4876,7 | 3378,2 | 3969,3 |
| Hexyl acetát | 1652,3 | 522,1 | 825,3 | 944,6 | 1481,2 | 1203 | 431,4 | 81,3 | 643,7 | 84,6 | 755 | 287,5 | 621,1 | N/A | 820,7 | 559,1 | 1441,3 | 23,8 | 516,2 |
| 1-Hexanol | 708,7 | 585,9 | 452,2 | 485,4 | 390,7 | 977,3 | 619 | 357,2 | 731,3 | 312,1 | 520,8 | 484 | 514,4 | 694,7 | 848,5 | 760 | 379,3 | 438 | 597 |
| Ethyl oktanoát | 18887 | 7904,5 | 9351,4 | 10157 | 13848 | 14310,5 | 16384 | 6012,2 | 26071,3 | 20386 | 7855,3 | 17343,8 | 16619,5 | 17536 | 12922,2 | 10032,2 | 12757,5 | 8186,9 | 9486,1 |
| Kyselina octová | 385,7 | 69,5 | 111 | 127,1 | 100,7 | 194,6 | 126,3 | 62,7 | 165,1 | 76,2 | 85,4 | 123,6 | 186,2 | 235,2 | 282,5 | 94,1 | 132 | 116,2 | 135,4 |
| Nerol oxid | 154,6 | 146,9 | 40,5 | 49 | 131,1 | 100,6 | 326,2 | 245,8 | 241,8 | 240,9 | 50,9 | 188 | 214,8 | 671,3 | 166,8 | 92,4 | 122,4 | 501,3 | 189,2 |
| 2,3-Butandiol | 307,2 | 48,3 | 40,2 | 26,7 | 120 | 246,5 | 142,1 | 54,7 | 140,9 | 94,3 | 147,8 | 177,5 | 112,2 | 201,5 | 45,1 | 68,2 | 66,7 | 60,9 | 84,3 |
| Linalool | 542,8 | 108,3 | 107,7 | 113,1 | 527,9 | 199,3 | 147,2 | 31,5 | 134,1 | 180,3 | 110,7 | 97,2 | 236,1 | 74,6 | 319,9 | 91,8 | 197,1 | 21,7 | 36,2 |
| 1-Oktanol | 35,3 | 24 | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A | 12,2 | N/A | 70,4 | 46,2 | 43,2 | 30,4 | 34,4 | 33,7 | 25,4 | 18,3 | 30,7 | 16,1 |
| Hotrienol | 268 | 235,4 | 79,6 | 82,3 | 249,5 | 269,8 | 293,9 | 178 | 216,6 | 316,9 | 82 | 260,3 | 272,1 | 473,4 | 299 | 106,6 | 255,7 | 286,2 | 201,9 |
| Ethyl dekanoát | 4138,7 | 2478,1 | 2343,4 | 2648,1 | 4871 | 4701,6 | 6441,6 | 2175,3 | 5657,8 | 5814,7 | 1934,2 | 3729,7 | 4392,7 | 2997,6 | 3516,4 | 1426,5 | 3289,8 | 1423,4 | 2012,2 |
| Isoamyl oktanoát | 37,6 | 23,9 | 23,6 | 23,2 | 29,6 | N/A | 28,2 | 13,7 | 65,9 | 37,6 | N/A | 28,1 | 35,5 | N/A | N/A | N/A | 27,9 | 20 | 18,9 |
| Diethyl sukcinát | 681 | 618,2 | 221,7 | 166,7 | 246,8 | 383,2 | 1850,3 | 1248,7 | 960,5 | 1477,4 | 185,7 | 1565,3 | 662 | 2791,7 | 559,1 | 252,9 | 97 | 1822,4 | 417,9 |
| α -Terpineol | 98,7 | 53,2 | 31 | 31,8 | 129 | 54,2 | 109,6 | 60,1 | 69,7 | 99,1 | 22,1 | 58,1 | 88 | 115,9 | 88,2 | 36,5 | 42,9 | 36,6 | 17,5 |
| 2-Fenylethyl acetát | 344,7 | 203,3 | 176,1 | 177,8 | 175,9 | 206,3 | 147,1 | 59,6 | 288,1 | 108,5 | 187,3 | 147,3 | 256,7 | 77 | 132,8 | 177,1 | 293,2 | 63,3 | 116,8 |
| Ethyl dodekanoát | 78,8 | 62,5 | 41,8 | 45 | 118,9 | 183,5 | 125,2 | 38,5 | 93,4 | 182,4 | 35,7 | 81,9 | 62,3 | 34,6 | 30,4 | 21,2 | 21 | 12,3 | 19 |
| Kyselina hexanová | 427 | 488 | 466,9 | 480,2 | 359,4 | 853,3 | 373,8 | 272,6 | 767,9 | 744,2 | 351,3 | 521,1 | 548,7 | 538,7 | 487,5 | 484,4 | 360,1 | 444,6 | 591,2 |
| Fenylethyl alkohol | 1959,9 | 918,1 | 709,4 | 740,8 | 781,2 | 1468,5 | 1890,4 | 900,5 | 3988,6 | 1583,9 | 1366,1 | 2447,5 | 2229 | 1551 | 1007,7 | 868,8 | 749 | 862,9 | 729,7 |
| Diethyl malát | N/A | 20,9 | 10,6 | 11 | N/A | 31,4 | 38,3 | 28,4 | 72,5 | 52,9 | 16,7 | 46 | 29,1 | 53,6 | 26,7 | 20,2 | 8,9 | 32,9 | 39,7 |
| Kyselina oktanová | 1450,9 | 1681,6 | 1525,1 | 1542 | 1576,1 | 3463,8 | 2129,8 | 1165,5 | 3657,4 | 4013,2 | 1713,8 | 2333,9 | 2707,1 | 1857,1 | 1858,2 | 2267,2 | 1244,7 | 1192,6 | 1582 |

Tabulka 7: Průměrná koncentrace (avg) [µg/l], relativní směrodatná odchylka (std) [%], normalita (p) a shodu průměrů (t) u těkavých látek podle podoblastí

| Sloučenina | Podoblast slovácká | | | | Podoblast velkopavlovická | | | | Podoblast mikulovská | | | | Podoblast znojemská | | | |
|---------------------|--------------------|---------|---------|------|---------------------------|---------|---------|------|----------------------|---------|---------|------|---------------------|---------|---------|------|
| | avg [µg/l] | std [%] | p | t | avg [µg/l] | std [%] | p | t | avg [µg/l] | std [%] | p | t | avg [µg/l] | std [%] | p | t |
| Ethyl butanoát | 194,69 | 25 | 0,74961 | 0,48 | 198,09 | 47 | 0,18758 | 0,30 | 254,74 | 38 | 0,69245 | 0,58 | 219,54 | 35 | 0,05481 | 0,07 |
| Ethyl isovalerát | N/A | N/A | – | – | N/A | N/A | – | – | 70,85 | 29 | 0,52971 | | 48,86 | 86 | 0,28741 | – |
| Isobutanol | 147,69 | 27 | 0,42438 | 0,71 | 204,24 | 59 | 0,71481 | 0,09 | 309,27 | 18 | 0,61238 | 0,98 | 197,34 | 61 | 0,63285 | 0,15 |
| Isoamyl acetát | 1457,87 | 33 | 0,19082 | 0,11 | 1726,31 | 83 | 0,63291 | 0,37 | 1383,20 | 82 | 0,63818 | 0,03 | 1066,23 | 93 | 0,17632 | 0,62 |
| Isopentyl alkohol | 3747,33 | 26 | 0,37006 | 0,81 | 6339,79 | 53 | 0,39197 | 0,05 | 9008,75 | 26 | 0,33563 | 0,88 | 5610,29 | 47 | 0,11909 | 0,16 |
| Ethyl hexanoát | 3986,25 | 43 | 0,03718 | 0,67 | 4906,61 | 40 | 0,05660 | 0,10 | 6332,64 | 18 | 0,28462 | 0,88 | 5051,23 | 34 | 0,45408 | 0,01 |
| Hexyl acetát | 986,08 | 49 | 0,56011 | – | 799,23 | 82 | 0,59334 | – | 442,68 | 70 | 0,60386 | – | N/A | N/A | 0,62809 | – |
| 1-Hexanol | 558,04 | 21 | 0,60820 | 0,09 | 586,03 | 49 | 0,34058 | 0,13 | 512,06 | 34 | 0,86331 | 0,49 | 604,56 | 29 | 0,87448 | 0,42 |
| Ethyl oktanoát | 11575,06 | 43 | 0,09975 | 0,44 | 12638,47 | 36 | 0,18037 | 0,22 | 17913,96 | 43 | 0,86713 | 0,75 | 12505,78 | 29 | 0,49319 | 0,27 |
| Kyselina octová | 173,32 | 83 | 0,07356 | 0,33 | 121,07 | 46 | 0,86093 | 0,44 | 112,58 | 36 | 0,54227 | 0,65 | 168,81 | 41 | 0,41041 | 0,40 |
| Nerol oxid | 97,76 | 63 | 0,09148 | 0,87 | 200,90 | 52 | 0,58754 | 0,10 | 180,44 | 50 | 0,11727 | 0,08 | 279,74 | 78 | 0,05053 | 0,51 |
| 2,3-Butandiol | 105,60 | 128 | 0,00948 | 0,17 | 140,84 | 57 | 0,81081 | 0,39 | 140,12 | 25 | 0,75617 | 0,53 | 91,28 | 58 | 0,03435 | 0,55 |
| Linalool | 217,98 | 99 | 0,00174 | 0,29 | 226,46 | 94 | 0,43404 | 0,35 | 130,58 | 28 | 0,60533 | 0,68 | 139,61 | 81 | 0,41047 | 0,42 |
| 1-Oktanol | N/A | N/A | – | – | N/A | N/A | – | – | N/A | N/A | – | – | 27,01 | 27 | – | – |
| Hotrienol | 166,34 | 60 | 0,11864 | 0,73 | 247,80 | 20 | 0,54461 | 0,33 | 218,94 | 46 | 0,69515 | 0,09 | 270,67 | 41 | 0,54556 | 0,44 |
| Ethyl dekanoát | 2902,08 | 29 | 0,05156 | 0,53 | 4547,37 | 39 | 0,64150 | 0,59 | 4284,09 | 43 | 0,37097 | 0,42 | 2722,66 | 42 | 0,49167 | 0,62 |
| Isoamyl oktanoát | 27,09 | 26 | 0,00517 | – | N/A | N/A | – | – | N/A | N/A | – | – | N/A | N/A | – | – |
| Diethyl sukcinát | 421,90 | 63 | 0,17900 | 0,97 | 932,28 | 81 | 0,45970 | 0,17 | 1047,24 | 60 | 0,3776 | 0,41 | 943,29 | 105 | 0,05659 | 0,14 |
| α-Terpineol | 53,66 | 59 | 0,16999 | 0,47 | 88,23 | 42 | 0,31500 | 0,76 | 62,25 | 51 | 0,95083 | 0,15 | 60,80 | 60 | 0,3216 | 0,20 |
| 2-Fenylethyl acetát | 225,49 | 36 | 0,03299 | 0,73 | 147,21 | 43 | 0,59499 | 0,54 | 182,80 | 42 | 0,6922 | 0,06 | 159,57 | 55 | 0,46874 | 0,31 |
| Ethyl dodekanoát | 57,03 | 30 | 0,49292 | 0,33 | 116,56 | 51 | 0,72695 | 0,66 | 98,36 | 62 | 0,62632 | 0,37 | 28,67 | 58 | 0,10105 | 0,85 |
| Kyselina hexanová | 465,51 | 6 | 0,35014 | 0,46 | 464,78 | 57 | 0,06800 | 0,24 | 596,12 | 33 | 0,40236 | 0,66 | 493,60 | 15 | 0,82466 | 0,13 |
| Fenylethyl alkohol | 1082,03 | 55 | 0,03909 | 0,43 | 1260,17 | 41 | 0,52763 | 0,23 | 2346,52 | 51 | 0,38846 | 0,86 | 1142,59 | 49 | 0,02465 | 0,36 |
| Diethyl malát | N/A | N/A | – | – | N/A | N/A | – | – | 47,04 | 49 | 0,85484 | – | 30,15 | 47 | 0,99234 | – |
| Kyselina oktanová | 1549,89 | 6 | 0,62862 | 0,67 | 2083,80 | 48 | 0,58924 | 0,01 | 2929,60 | 37 | 0,51755 | 0,83 | 1815,59 | 30 | 0,66918 | 0,33 |



Obrázek 5: Graf variability koncentrace hexyl acetátu v jednotlivých podoblastech (1 – slovácká, 2 – velkopavlovická, 3 – mikulovská, 4 – znojenská)



Obrázek 6: Graf variability koncentrace α -Terpineolu v jednotlivých podoblastech (1 – slovácká, 2 – velkopavlovická, 3 – mikulovská, 4 – znojenská)

5 ZÁVĚR

V této bakalářské práci byly sestaveny profily těkavých látek 19 vzorků vín odrůdy Hibernál původem z vinařské oblasti Morava. Sloučeniny byly stanoveny technikou plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí, které předcházela headspace mikroextrakce na tuhou fázi v online spojení s chromatografií.

V teoretické části byla shrnuta problematika vína a jeho autentifikace. Byly popsány historie i současná situace v tuzemském vinařství a vinohradnictví, systémy třídění vín, chemické složení vína a nebyla opomenuta ani jeho společenská role.

V experimentální části byla dokázána účinnost metody stanovení těkavých látek celou tandemovou technikou jak velmi dobrou separací jednotlivých analytů, usnadňující jejich identifikaci a kvantifikaci, tak ověřením některých validačních parametrů. Opakovatelnost metody při stanovení 2-heptanolu a 2-nonanolu vykazovala odchylky 2,7 – 3,4 %, což lze považovat za vynikající hodnoty, za něž metoda vděčí především automatizaci extrakce. Lineární rozsah byl ověřen na pěti sloučeninách jak v jejich typickém koncentračním rozsahu, tak i nad a pod ním. Lineární rozsah stanovení je pro většinu sloučenin široký přes tři řády a plně postačuje pro určení přirozeně se vyskytujících koncentrací. Lineární proložení vykazuje velmi dobré koeficienty spolehlivosti, u proměřovaných látek v intervalu 0,996 – 1,000.

V praktické části pak byly provedeny analýzy vín a statistické zpracování získaných dat. Ukázalo se, že jednotlivé těkavé sloučeniny se buď nevyskytují v dostatečné četnosti, aby mohly být použity do statistik, nebo jsou jejich koncentrace napříč podoblastmi příliš podobné, než aby mohly být použity pro rozlišení původu. Zjištěné výsledky tak neposkytují klíč k možné kontrole geografické autenticity mezi moravskými vinařskými podoblastmi. Za úvahu by ovšem stálo porovnání s víny odrůdy Hibernál ze zahraničí, vzhledem k tomu, že jde o odrůdu těšící se ve střední Evropě rostoucí popularitě, a tak i rostoucím plochám vinic, na nichž se pěstuje.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] KRAUS, Vilém, Zdeněk KUTTELVAŠER a Bohumil VURM. Encyklopedie českého a moravského vína. Praha: Melantrich, 1997. ISBN 80-702-3250-1.
- [2] KRAUS, Vilém. Réva a víno v Čechách a na Moravě. Praha: Radix, 1999. Tradice a současnost (Radix). ISBN 80-860-3123-3.
- [3] KABOURKOVÁ, Kristina. Produkce vína v České republice a dalších vybraných zemích. Porovnání účetních postupů stanovených pro pěstování révy v České republice a ve Slovenské republice. Mladá veda [online]. Presov: Vydavateľstvo UNIVERSUM-EU, s.r.o, 2018, 6(2), 24-32 [cit. 2022-07-13]. Dostupné z: <https://www.proquest.com/docview/2011213147?pq-origsite=primo>
- [4] Vinařská oblast Morava. *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. Vinařský fond [cit. 2023-03-27]. Dostupné z: <https://www.vinazmoravyvinazcech.cz/cs/o-vine/pruvodce-vinem/deleni-vina/deleni-podle-regionu/vinarska-oblast-morava>
- [5] Vinařská oblast Čechy. *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. Vinařský fond [cit. 2023-03-27]. Dostupné z: <https://www.vinazmoravyvinazcech.cz/cs/o-vine/pruvodce-vinem/deleni-vina/deleni-podle-regionu/vinarska-oblast-cechy>
- [6] NAVRÁTILOVÁ, Miroslava, Markéta BERANOVÁ, Lucie SEVEROVÁ, Karel ŠRÉDL, Roman SVOBODA a Josef ABRHÁM. The impact of climate change on the sugar content of grapes and the sustainability of their production in the Czech Republic. *Sustainability (Basel, Switzerland)* [online]. Basel: MDPI, 2021, 13(1), 1-18 [cit. 2023-05-13]. ISSN 2071-1050. Dostupné z: doi:10.3390/su13010222
- [7] PAVLOUŠEK, Pavel. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, c2011. ISBN 978-80-247-3314-2.
- [8] PEDNEAULT, Karine a Caroline PROVOST. Fungus resistant grape varieties as a suitable alternative for organic wine production: Benefits, limits, and challenges. *Scientia horticulturae* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2016, 208, 57-77 [cit. 2023-05-13]. ISSN 0304-4238. Dostupné z: doi:10.1016/j.scienta.2016.03.016
- [9] PAVLOUŠEK, Pavel. *Bio odrůdy révy vinné*. Praha: Grada Publishing, 2016. ISBN 978-80-247-4330-1.
- [10] HRADIL, Radomil, Pavel PAVLOUŠEK, František MUŠKA a Lukáš RUDOLFSKÝ. *Biodynamické vinohradnictví a vinařství*. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0418-5.
- [11] Výběr statistik o vinicích k 31. 12. 2022. In: *Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský* [online]. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, 2023 [cit. 2023-04-24]. Dostupné z: https://eagri.cz/public/web/file/717534/Priloha_TZ_Statistiky_reva_za_rok_2022_.pdf
- [12] SOTTNÍKOVÁ, Viera, Ludek HRIVNA, Miroslav JUZL a Olga CWIKOVÁ. The difference in color and sensory of organic quality wine and wine from conventional cultivation. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences* [online]. Nitra: Faculty of Biotechnology and Food Sciences, 2014, 3, 285 [cit. 2023-05-13]. Dostupné z: <https://www.proquest.com/docview/1648118695?pq-origsite=primo>

- [13] MASCELLANI, Anna, Gokce HOCA, Marek BABISZ, Pavel KRŠKA, Pavel KLOUCEK a Jaroslav HAVLIK. 1H NMR chemometric models for classification of Czech wine type and variety. *Food chemistry* [online]. Elsevier, 2021, **339**, 127852-127852 [cit. 2023-05-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127852
- [14] KOWALCZYK, Barbara, Monika BIENIASZ a Anna KOSTECKA-GUGAŁA. The Content of Selected Bioactive Compounds in Wines Produced from Dehydrated Grapes of the Hybrid Variety 'Hibernal' as a Factor Determining the Method of Producing Straw Wines. *Foods* [online]. Switzerland: MDPI, 2022, **11**(7), 1027 [cit. 2023-02-20]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods11071027
- [15] SEDLÁČEK, Milan. Hibernal. *Znalec vín: Encyklopedie vína, vinařství a vinohradnictví* [online]. Valtice: Milan Sedláček, c2006-2023 [cit. 2023-02-20]. Dostupné z: <http://www.znalecvin.cz/hibernal/>
- [16] Main white wine varieties in Czechia. *Národní vinařské centrum, o.p.s.* [online]. Valtice: Národní vinařské centrum [cit. 2023-05-13]. Dostupné z: <https://www.vinarskecentrum.cz/en/o-vine/bile-odrudy>
- [17] ODRŮDY RÉVY VINNÉ. Národní vinařské centrum, o.p.s. [online]. Valtice: Národní vinařské centrum, 2019 [cit. 2022-07-19]. Dostupné z: <https://www.vinarskecentrum.cz/storage/files/odrudy-vune-brozura-CZ-2021-web.pdf>
- [18] VOC - Vína Originální Certifikace. In: VICOM-víno.CZ [online]. Praha: VICOM [cit. 2022-07-19]. Dostupné z: <https://www.vicom-vino.cz/novinky/voc-vina-originalni-certifikace-vite-o-co-jde-221>
- [19] WHITE, Robert E. The Value of Soil Knowledge in Understanding Wine Terroir. *Frontiers in environmental science* [online]. Lausanne: Frontiers Research Foundation, 2020, 8 [cit. 2022-07-19]. ISSN 2296-665X. Dostupné z: doi:10.3389/fenvs.2020.00012
- [20] Zákon č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o vinohradnictví a vinařství). In: *Sbírka zákonů*. Praha: Ministerstvo vnitra České republiky, 2004, ročník 2004, 321/2004.
- [21] TOMSIK, Pavel a Martin PROKES. New strategic alliances of wine producers in the Czech republic. *Agricultural economics (Praha)* [online]. PRAGUE: Czech Academy Agricultural Sciences, 2011, 57(12), 573-579 [cit. 2022-07-19]. ISSN 0139-570X. Dostupné z: doi:10.17221/183/2011-agricecon
- [22] PAVLOUŠEK, Pavel a Pavla BUREŠOVÁ. *Vše, co byste měli vědět o víně*. Praha: Grada, 2015. ISBN 978-802-4743-516.
- [23] VOC sdružení. *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. Vinařský fond [cit. 2023-04-25]. Dostupné z: <https://www.vinazmoravyvinazcech.cz/cs/o-vine/pruvodce-vinem/deleni-vina/vina-originalni-certifikace-voc/voc-sdruzeni>
- [24] WATERHOUSE, Andrew L, Gavin L SACKS a David W JEFFERY. *Understanding Wine Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, Incorporated, 2016. ISBN 1118730720.

- [25] REGMI, U., M. PALMA a C.G. BARROSO. Direct determination of organic acids in wine and wine-derived products by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and chemometric techniques. *Analytica chimica acta* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2012, **732**, 137-144 [cit. 2023-02-13]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2011.11.009
- [26] GRAINGER, Keith a Hazel TATTERSALL. Wine Production and Quality. 2. vydání. Chichester: John Wiley & Sons, Incorporated, 2016. ISBN 1118934563.
- [27] CLAUS, Harald. *Wine Fermentation*. Basel: MDPI - Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2019. ISBN 9783038976745. Dostupné z: doi:10.3390/books978-3-03897-675-2
- [28] STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. Valtice: Národní salon vín, 2002. ISBN 80-903-2010-4.
- [29] CARRASCOSA SANTIAGO, Alfonso V, Rosario MUNOZ a Ramon GONZALEZ GARCIA. *Molecular Wine Microbiology*. San Diego: Elsevier Science & Technology, 2011. ISBN 9780123750211. Dostupné z: doi:10.1016/C2009-0-01909-6
- [30] *VITIS: Journal of Grapewine Research*. 61. 2022. ISSN 2367-4156
- [31] MCRAE, Jacqui M., Zyta M. ZIORA, Stella KASSARA, Matthew A. COOPER a Paul A. SMITH. Ethanol concentration influences the mechanisms of wine tannin interactions with poly(l -proline) in model wine. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. WASHINGTON: Amer Chemical Soc, 2015, 63(17), 4345-4352 [cit. 2022-07-20]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.5b00758
- [32] YACCO, Ralph S, Aude A WATRELOT a James A KENNEDY. Red Wine Tannin Structure–Activity Relationships during Fermentation and Maceration. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. WASHINGTON: American Chemical Society, 2016, **64**(4), 860-869 [cit. 2023-02-14]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.5b05058
- [33] CHEYNIER, Veronique. Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. *American Journal of Enology and Viticulture* [online]. 2006, **57**(3), 298-305 [cit. 2023-05-13]. Dostupné z: <https://www.ajevonline.org/content/ajev/57/3/298.full.pdf>
- [34] HE, Fei, Na-na LIANG, Lin MU, Qiu-hong PAN, Jun WANG, Malcolm J. REEVES a Chang-qing DUAN. Anthocyanins and their variation in red wines I. Monomeric anthocyanins and their color expression. *Molecules* [online]. BASEL: Mdpi, 2012, **17**(2), 1571-1601 [cit. 2023-05-13]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules17021571
- [35] ALVAREZ GAONA, Iz mari Jasel, Martín FANZONE, Santiago SARI, Mariela ASSOF, Dolores PÉREZ, Jorge CHIRIFE a María Clara ZAMORA. Spray-dried Ancellotta red wine: natural colorant with potential for food applications. *European food research & technology* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2019, **245**(12), 2621-2630 [cit. 2023-05-13]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-019-03375-0
- [36] GUERRERO, Raúl F. a Emma CANTOS-VILLAR. Demonstrating the efficiency of sulphur dioxide replacements in wine: A parameter review. *Trends in food science & technology* [online]. LONDON: Elsevier, 2015, **42**(1), 27-43 [cit. 2023-05-13]. ISSN 0924-2244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2014.11.004

- [37] STEIDL, Robert a Georg LEINDL. *Cesta ke špičkovému vínu*. Valtice: Národní salon vín, 2004. ISBN 80-903-2014-7.
- [38] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [39] KUTTELVAŠER, Zdeněk. *Abeceda vína*. 2. vydání. Praha: Radix, 2003. ISBN 80-860-3143-8.
- [40] FIC, Vlastimil. *Víno: analýza, technologie, gastronomie*. Český Těšín: 2 THETA, 2015. ISBN 978-80-86380-77-3.
- [41] VARELA, C., P.R. DRY, D.R. KUTYNA, I.L. FRANCIS, P.A. HENSCHKE, C.D. CURTIN a P.J. CHAMBERS. Strategies for reducing alcohol concentration in wine. *Australian journal of grape and wine research* [online]. HOBOKEN: Blackwell Publishing, 2015, 21(S1), 670-679 [cit. 2022-07-20]. ISSN 1322-7130. Dostupné z: doi:10.1111/ajgw.12187
- [42] EDER, Reinhard. *Vady vína*. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006. ISBN 80-903-2016-3.
- [43] SUMBY, Krista M., Paul R. GRBIN a Vladimír JIRANEK. Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects. *Food chemistry* [online]. OXFORD: Elsevier, 2010, 121(1), 1-16 [cit. 2023-05-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2009.12.004
- [44] PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-3487-3.
- [45] *Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging*. IntechOpen, 2021. ISBN 9781839625763. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.87471
- [46] 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 (Basel, Switzerland)* [online]. Switzerland: MDPI, 2020, 25(3), 657 [cit. 2023-02-13]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25030657
- [47] VINHOLES, Juliana, Manuel A. COIMBRA a Sílvia M. ROCHA. Rapid tool for assessment of C 13 norisoprenoids in wines. *JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2009, 1216(47), 8398-8403 [cit. 2023-02-07]. ISSN 0021-9673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2009.09.061
- [48] RYAN, Danielle, Peter WATKINS, Jason SMITH, Malcolm ALLEN a Philip MARRIOTT. Analysis of methoxypyrazines in wine using headspace solid phase microextraction with isotope dilution and comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of separation science* [online]. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, 2005, 28(9-10), 1075-1082 [cit. 2023-02-08]. ISSN 1615-9306. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.200500097
- [49] SILVA, I., F.M. CAMPOS, T. HOGG a J.A. COUTO. Wine phenolic compounds influence the production of volatile phenols by wine-related lactic acid bacteria. *Journal of applied microbiology* [online]. 2011, 111(2), 360-370 [cit. 2023-02-13]. ISSN 1364-5072. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05052.x

- [50] CHATONNET, P, D DUBOURDIEU, J.N BOIDRON a V LAVIGNE. Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. *Journal of the science of food and agriculture* [online]. London: John Wiley, 1993, **62**(2), 191-202 [cit. 2023-02-13]. ISSN 0022-5142. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.2740620213
- [51] ROLAND, Aurélie, Rémi SCHNEIDER, Alain RAZUNGLES, Christine LE GUERNEVÉ a Florine CAVELIER. Straightforward Synthesis of Deuterated Precursors To Demonstrate the Biogenesis of Aromatic Thiols In Wine. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. WASHINGTON: American Chemical Society, 2010, **58**(19), 10684-10689 [cit. 2023-02-13]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf101996p
- [52] SWAMI, Shrikant Baslingappa, N. J. THAKOR a A. D. DIVATE. Fruit wine production: a review. *JOURNAL OF FOOD RESEARCH AND TECHNOLOGY* [online]. 2014, **2**(3), 93-100 [cit. 2023-05-13]. Dostupné z: http://jakraya.com/journal/pdf/5-jfrrtArticle_1.pdf
- [53] RANAWEERA, Ranaweera K. R., Dimitra L. CAPONE, Susan E. P. BASTIAN, Daniel COZZOLINO a David W. JEFFERY. A review of wine authentication using spectroscopic approaches in combination with chemometrics. *Molecules (Basel, Switzerland)* [online]. Basel: MDPI, 2021, **26**(14), 4334 [cit. 2023-02-21]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26144334
- [54] POPÎRDĂ, Andreea, Camelia Elena LUCHIAN, Valeriu V. COTEA, Lucia Cintia COLIBABA, Elena Cristina SCUTARAȘU a Ana Maria TOADER. A review of representative methods used in wine authentication. *Agriculture (Basel)* [online]. Basel: MDPI, 2021, **11**(3), 1-20 [cit. 2023-05-13]. ISSN 2077-0472. Dostupné z: doi:10.3390/agriculture11030225
- [55] VERSARI, Andrea, V. Felipe LAURIE, Arianna RICCI, Luca LAGHI a Giuseppina P. PARPINELLO. Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches. *Food research international* [online]. AMSTERDAM: Elsevier, 2014, **60**, 2-18 [cit. 2023-05-13]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2014.02.007
- [56] GRUMEZESCU, Alexandru a Alina Maria HOLBAN. *Quality Control in the Beverage Industry: Volume 17: The Science of Beverages*. Academic Press, 2019. ISBN 978-0-12-816681-9.
- [57] ZAVA, Andrea, Pedro J. SEBASTIÃO a Sofia CATARINO. Wine traceability and authenticity: Approaches for geographical origin, variety and vintage assessment. *Ciência e técnica vitivinícola* [online]. Lisbon: EDP Sciences, 2020, **35**(2), 133-147 [cit. 2023-04-24]. ISSN 0254-0223. Dostupné z: doi:10.1051/ctv/20203502133
- [58] GABEL, B. Wine origin authentication linked to terroir – wine fingerprint. *BIO Web of Conferences* [online]. Les Ulis: EDP Sciences, 2019, **15**, 2033 [cit. 2023-02-21]. ISSN 2117-4458. Dostupné z: doi:10.1051/bioconf/20191502033
- [59] POOLE, Colin a Colin F POOLE. Gas Chromatographic Analysis of Wines: Current Applications and Future Trends. In: *Gas Chromatography*. United States: Elsevier, 2012, s. 689 až 710. ISBN 9780123855404. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-385540-4.00030-4

[60] B., Maria João. Gas Chromatography in the Analysis of Compounds Released from Wood into Wine. In: *Advanced Gas Chromatography: Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications*. IntechOpen, 2012, s. 185-208. ISBN 9789535102984. Dostupné z: doi:10.5772/32659

[61] Headspace Gas Chromatography. *ScienceDirect* [online]. [cit. 2023-04-29]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/headspace-gas-chromatography>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

| | |
|-------|---------------------------------------------------------|
| HS | headspace |
| SPME | mikroextrakce na pevné fázi |
| GC | plynová chromatografie |
| MS | hmotnostní spektrometrie |
| FID | plamenově-ionizační detektor |
| FPD | plamenově fotometrický detektor |
| ECD | detektor s elektronovým záchytem |
| NPD | detektor dusíku a fosforu |
| TOF | hmotnostní spektrometrie s dobou letu |
| MS/MS | tandemová hmotnostní spektrometrie |
| HPLC | vysokotlaká kapalinová chromatografie |
| LLE | extrakce kapalina–kapalina |
| SPE | extrakce na pevné fázi |
| SDME | mikroextrakce jednou kapkou |
| IS | vnitřní standard |
| MV | modelové víno |
| p.a. | pro analýzu |
| LR | lineární rozsah |
| SL | Slovácká podoblast |
| MIK | Mikulovská podoblast |
| VP | Velkopavlovická podoblast |
| ZN | Znojemská podoblast |
| RT | retenční čas |
| avg | průměrná koncentrace |
| std | směrodatná odchylka |
| p | p hodnota Shapiro-Wilkova testu normální distribuce dat |
| t | hodnota dvouvýběrového t-testu |

8 PŘÍLOHY

Příloha 1: Rozptylové grafy jednotlivých sloučenin napříč podoblastmi

Pro všechny grafy platí pro horizontální osu: 1 – podoblast slovácká, 2 – podoblast velkopavlovická, 3 – podoblast mikulovská, 4 – podoblast znojemská; na vertikální ose je vynesena koncentrace daného analytu v $\mu\text{g/l}$ (výpočet dle kapitoly 3.5)

