

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Souvislost senzorického profilu vín Čech a Moravy
s GC-MS analýzou**

Bakalářská práce

Autor práce: Karolína Němcová

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: doc. Ing. Jaroslav Havlík, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Souvislost sensorického profilu vín Čech a Moravy s GC-MS analýzou" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 27.04.2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Jaroslavu Havlíkovi, Ph.D. za odborné vedení mé práce, za jeho trpělivost, čas, cenné rady a připomínky. Dále pak Šebnem Kurhan za poskytnutí potřebných podkladů, konzultace a ochotu poradit při zpracování experimentální části práce. Chtěla bych také poděkovat Národní soutěži vín a degustační expozici – SALONU VÍN za poskytnutí vzorků vín a podkladů potřebných ke zpracování experimentální části práce.

V neposlední řadě bych také chtěla poděkovat své rodině za poskytnutí zázemí a možnosti studovat.

Souvislost sensorického profilu vín Čech a Moravy s GC-MS analýzou

Souhrn

Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) je hojně využívanou metodou v analýze vín. Znalost těkavých látek a sensorických vlastností vín je dobrým nástrojem k poznání a určení jejich kvality.

Cílem této bakalářské práce je ověřit hypotézu existence vztahů některých chuťových vlastností vín s vybranými sloučeninami GC-MS profilu vzorku vína.

Základní kámen této práce tvoří analýza 72 vzorků bílých vín, které byly poskytnuty Národní soutěží vín a degustační expozicí – SALONEM VÍN (ročník 2019). Tyto vzorky nejdříve podrobil sensorické analýze panel trénovaných expertů, následně podstoupily proces GC-MS analýzy.

Software XCMS Online identifikoval 53 sloučenin. Za použití Pearsonovy korelace (r) byla hledána souvislost mezi přítomností několika těkavých sloučenin a sensorickými vlastnostmi vín. Nejvýznamnější korelace vykazovalo celkem 6 sloučenin – pentylacetát (korelace $r = 0,42$), butylacetát (korelace $r = 0,40$), ethyllaktát (korelace $r = 0,43$), ethylvalerát (korelace $r = 0,42$), kyselina nonanová (korelace $r = 0,42$) a jedna neidentifikovaná sloučenina (korelace $r = 0,40$).

Potvrdila se tak předpověď existence určitých vztahů mezi některými chuťovými vlastnostmi a několika vybranými analyty GC-MS profilu.

Tato práce může být použita jako podklad pro tvorbu modelů schopných predikovat sensorické a chuťové vlastnosti bez předchozí sensorické analýzy panelem trénovaných expertů.

Klíčová slova: GC-MS, analýza vín, těkavé sloučeniny, sensorické vlastnosti, jakost vín

Relationship between the sensory profile of Czech and Moravian wines and the GC-MS analysis

Summary

Gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS) is widely used method in wine analysis. Knowledge of wine volatile compounds and sensory properties is a good tool for understanding and determining the wine quality.

The aim of this bachelor thesis was to verify the hypothesis of the existence of relationships that some taste properties of wines with some selected compounds of the GC-MS profile.

There were analysed 72 samples of white wines, which were provided by the Wine Salon – National Wine Competition (year 2019). Firstly, these samples were subjected to sensory analysis by a panel of trained experts, then subjected to GC-MS analysis.

By using XCMS Online software 53 compounds were identified. Pearson's correlation (r) helped to find the relationship between the presence of several wine volatile compounds and sensory properties. The most significant correlations were shown by a total of 6 compounds – pentyl acetate (correlation $r = 0,42$), butyl acetate (correlation $r = 0,40$), ethyl lactate (correlation $r = 0,43$), ethyl valerate (correlation $r = 0,42$), nonanoic acid (correlation $r = 0,42$) and one unidentified compound (correlation $r = 42$).

The prediction of the existence of certain relationships between some taste properties and several selected GC-MS profile analytes has been confirmed.

This work can be used as a basis for making models that are capable to predict sensory and taste properties without previous sensory analysis by a panel of trained experts.

Keywords: GC-MS, wine analysis, volatile compounds, sensory properties, wine quality

Obsah

1. Úvod	7
2. Cíl práce	8
3. Literární rešerše	9
3.1 Réva vinná	9
3.2 Definice vína	9
3.3 Chemické složení vína	9
3.3.1 Ethanol a methanol.....	10
3.3.2 Vyšší alkoholy, glycerol a hexoly	10
3.3.3 Sacharidy.....	11
3.3.4 Dusíkaté látky	12
3.3.5 Kyseliny	14
3.3.6 Fenolové sloučeniny	16
3.4 Těkavé látky ve víně a jejich vliv na chuťové vlastnosti	18
3.4.1 Původ těkavých látek	18
3.4.2 Kompozice těkavých látek ve víně	19
3.5 GC-MS	22
3.5.1 Plynová chromatografie	22
3.5.2 Hmotnostní spektrometrie.....	23
3.5.3 Plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií	24
3.5.4 Využití GC-MS v analýze vína, zejména jeho chuťových vlastností	25
4. Metodika	27
4.1 Vzorky	27
4.2 Chemikálie	27
4.3 Hodnocení sensoriky vzorků v Salonu vín	27
4.4 Příprava vzorků pro těkavé aromatické látky	28
4.5 Kvalitativní analýza těkavých látek pomocí SPME	28
4.6 Identifikace sloučenin	29
4.7 GC QTOF-MS Data Pre-Processing	29
4.8 Korelace sloučeniny a sensorické vlastnosti	29
5. Výsledky a diskuze	31
5.1.1 Korelace instrumentálních a sensorických dat.....	31
5.1.2 Těkavé látky ve vínech	32
5.1.3 Chemické složení a sensorické vlastnosti vín.....	33
6. Závěr	35
7. Literatura	36
8. Seznam použitých zkratk a symbolů	43
9. Seznam obrázků a tabulek	44

1. Úvod

Víno je fermentovaný alkoholický nápoj, který byl vyráběn a konzumován už ve starém Egyptě. Pěstování révy vinné zaznamenáváme jako významnou součást také řecké a římské kultury. Právě římská vojenská tažení, mimoděk, zapříčinila rozšíření pěstování révy vinné a výroby vína na velkou část evropského území včetně území dnešní Jižní Moravy.

Z chemického hlediska je víno koktejlem různých druhů sloučenin, které mohou pozitivně působit na lidské zdraví nebo příznivě působit na lidské smysly. Právě takové sloučeniny, korelující se sensorickými vlastnostmi vína, jsou schopny navozovat širokou paletu aroma od pozitivního květinového a ovocného, přes dřevité, až k některým nežádoucím aromátům, které působí na lidské smysly negativně.

Senzorické vlastnosti vín mohou vypovídat o jejich kvalitě. Právě díky určitým sensorickým vlastnostem se dané víno dostává do obliby určité skupiny spotřebitelů. Je jasné, že sensorické vlastnosti vín v základu souvisí s jeho chemickým složením a v těchto konsekvencích řada expertních týmů provedla své studie.

Pro mnoho výrobců vín by bylo žádoucí předpovídat a modelovat právě sensorické vlastnosti svých výrobků intervencí do jejich chemického složení, například navýšením obsahu některých aromatických sloučenin.

Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) je hojně využívanou technikou v potravinářství, zejména k ověřování bezpečnosti a kvality potravin a nápojů. Mezi její velké výhody patří účinná separace, rychlost a citlivost. Z GC-MS analýzy získáme spektra různých sloučenin. Díky tomu jsme schopni identifikace sloučenin přítomných ve velmi nízkých koncentracích. GC-MS analýza vín, spojená se sensorickým hodnocením vlastností proto nevybočuje z běžně užívaných technik ověřování kvality, nezávadnosti a bezpečnosti potravinářského výrobku.

Tato práce je věnována vztahu instrumentálních dat z GC-MS analýzy a sensorických vlastností bílých vín, které byly poskytnuty Národní soutěží vín a degustační expozicí – SALONEM VÍN České republiky 2019.

První část práce, literární rešerše, se zabývá révou vinnou z pohledu původu, definicí vína, jeho chemického složení, obsažených těkavých látek a úvodem do GC-MS analýzy. Následující část obsahuje použitou metodiku. Následují výsledky a diskuse.

2. Cíl práce

Cílem této práce je ověřit hypotézu, podle které existuje souvislost některých chuťových vlastností vín s přítomností vybraných sloučenin GC-MS profilu vzorku vína.

Z výsledků analýzy 72 vzorků bílých vín poskytnutých Národní soutěží vín a degustační expozicí – SALONEM VÍN (ročník 2019) byl počítán Paersonův korelační koeficient (r) mezi daty GC-MS analýzy a sensorickými daty těchto vzorků, taktéž poskytnutých ze stejného zdroje.

3. Literární rešerše

3.1 Réva vinná

Réva vinná, v latinském překladu *Vitis vinifera*, náleží do čeledi Vitaceae. Zahrnuje dva podrody jako jsou *Euvitis* (pravé hrozny) a *Muscadinia*, který se vyskytuje v podobě separovaných bobulí. Podrod *Euvitis* zahrnuje kolem 60 interfertilních, divoce se vyskytujících druhů, které jsou rozšířeny v Asii, Severní Americe a Evropě (v subtropických, středomořských a kontinentálně mírných klimatických podmínkách) (Cormier a Do 1993; Terral et al. 2010). Celková plocha světových vinic představuje 7,66 milionu ha. Největší rozlohu zaujímají vinice v Evropě (Pavloušek 2010).

Réva vinná je jediným druhem, který postupem času získal významný ekonomický zájem. Některé ostatní druhy, kupříkladu severoamerická *Vitis rupestris*, jsou používány jako množící podnože díky jejich rezistenci vůči patogenům běžně napadají révu vinnou (Mšička révokaz, *Daktulosphaira vitifoliae*). Většina kultivarů, které jsou široce pěstovány pro produkci ovoce, výrobu moštů a hlavně vín, jsou klasifikovány jako *Vitis vinifera* L. subsp. *vinifera* (nebo *sativa*). Tento kultivar pochází z divokých forem (Terral et al. 2010).

3.2 Definice vína

Víno se řadí mezi potraviny dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin.

Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013 ze dne 17. prosince 2013, kterým se stanoví společná organizace trhu se zemědělskými produkty a zrušují nařízení Rady (EHS) č. 972/72, (EHS) 234/79, (ES) č. 10372001, (ES) č. 1234/2007) je víno definováno jako výrobek získaný výhradně úplným nebo částečným alkoholovým kvašením čerstvých, rozdrcených nebo nerozdrcených vinných hroznů nebo hroznového moštu. Má vykazovat skutečný obsah alkoholu nejméně 8,5 % objemových, jestliže bylo získáno výhradně z hroznů sklizených ve vinařských oblastech A a B, zatímco víno vyrobené z hroznů sklizených v ostatních vinařských zónách musí vykazovat nejméně 9 % objemových alkoholu. Víno má vykazovat celkový obsah alkoholu nejvýše 15 % objemových.

Existují výjimky, které tuto hranici objemového alkoholu překračují. Jsou to vína z některých vinařských oblastí v Evropské unii (až 20 % objemového alkoholu) nebo vína s chráněným označením původu. Dále víno má vykazovat celkový obsah kyselin minimálně 3,5 g/l s výhradou možných přijatých odchylek (Nařízení č. 1308/2013)

3.3 Chemické složení vína

Víno je, co se týče složení, velmi komplikovaná a obsáhlá směs, ve které se nacházejí látky vzniklé během jeho výroby. Dva významné komponenty jsou voda a ethanol, jejichž obsah ve víně tvoří přibližně 97 %. Další sloučeniny zodpovědné za chuť a vůni vína jsou ve

víně obvykle obsaženy v množství menším než 10 g/l vína. Přítomnost některých klíčových sloučenin ve víně je dokonce vyjadřována v ng/l vína (Waterhouse et al. 2016).

3.3.1 Ethanol a methanol

Ethanol je hned po vodě nejdůležitější složkou vín. Je produkován kvasinkami rodu *Saccharomyces* z jednoduchých cukrů ethanolovou fermentací. Vedlejšími produkty jsou oxid uhličitý, teplo a energie. Během procesu výroby vín má glukosa důležitý vliv na růst kvasinek, neboť je důležitým zdrojem uhlíku a substrátem, který omezuje jejich růst. Obsah ethanolu určuje obsah fermentované glukosy. Zbytek nefermentované glukosy má vliv na sladkost vín (Samphao et al. 2018). Během ethanolové fermentace jsou glukosa, fruktosa a v menší míře i sacharosa metabolizovány kvasinkami. Obsah glukosy klesá rychleji, než obsah fruktosy nebo galaktosy. Pomalejší pokles obsahu fruktosy a galaktosy je zapříčiněn tím, že tyto monosacharidy jsou metabolizovány bakteriemi, které se téměř nevyskytují v moštu ze zdravých hroznů. Suchá vína obsahují především pouze fruktosu jako zbytkový cukr po fermentaci (Michlovský 2014). Množství ethanolu vznikajícího při produkci vín závisí na stavu zralosti hroznů, který je ovlivňován klimatickými faktory, podmínkami pěstování, sluneční expozicí a také na druhem kvasinek.

Ethanol je popisován jako původce ovocného, éterického oděru, který může připomínat i zápach rozpouštědla (Michlovský 2014; Waterhouse et al. 2016). Během zrání vín v dřevěných sudech, ale i při různých rovnocenných manipulacích, může ve vínech docházet k prodýchávání ethanolu křísovými kvasinkami. Křísové kvasinky vytváří podmínky vhodné pro oxidaci alkoholu na acetaldehyd, dále na kyselinu octovou působením bakterií octového kvašení. Průměrný obsah ethanolu se ve vínech pohybuje mezi 9–13 % obj, což odpovídá asi 70–100 g/l. Člověk ethanol vnímá už v množství pohybujícího se kolem 100 mg/l (Michlovský 2014).

Methanol není produktem ethanolového kvašení. Obsah methanolu ve vínech souvisí s hydrolyzou pektinů, která je vykonávána enzymy hroznů během fermentace a je také závislá na délce macerace pevných částí hroznů (slupek). To je příčinou nižšího obsahu methanolu v bílých vínech oproti červeným vínům. Pokud víno obsahuje více než 500 mg/l methanolu, stává se toxickým. Vyšší dávky methanolu mohou způsobit slepotu a dokonce i smrt (Michlovský 2014).

3.3.2 Vyšší alkoholy, glycerol a hexoly

Vyšší alkoholy nebo také fuselové alkoholy jsou produkovány během fermentace moštu transaminací nebo deaminací odpovídající aminokyseliny podle Ehrlichovy dráhy. Některé vyšší alkoholy nemají mezi aminokyselinami žádný odpovídající prekurzor a jsou tvořeny z ketonových kyselin. Velká množství těchto látek jsou považována u stolních vín za negativní a koncentrace pod 350 mg/l lze považovat za pozitivní pro aroma vín. Mezi nejvíce ve vínech zastoupené vyšší alkoholy patří 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol, isobutanol, *n*-propanol, tyrosol, hexanol a 2-fenylethanol (Regodón Mateos et al. 2006). Vyšší alkoholy významně potlačují ovocné, dřevité a korkové aroma, ale nepotlačují kožené, zvířecí a inkoustové aroma (de-la-Fuente-Blanco et al. 2016). Např. hexanol dává některým vínům aroma třapin, které někdy může být chybně zaměněno za korkovou chuť. Dále může dodávat

některým červeným vínům (Pinot noir) a šampaňským peprnatě bylinné aroma (Michlovský 2015).

Glycerol vzniká jako vedlejší produkt ethanolové fermentace činností kvasinek rodu *Sacharomyces cerevisiae*. Ve vínech se vyskytuje v koncentraci v rozmezí 1–15 g/l a má mírně nasládlou chuť. Předpokládá se, že vyšší koncentrace glycerolu má vliv na hladkost a viskozitu vín (Scanes et al. 1998). Glycerol obsahuje tři hydroxylové skupiny, které mají velký vliv na jeho rozpustnost, hygroskopickou chuť, sladkou chuť a nízkou toxicitu. Patří mezi nejhojnější složky vín hned po vodě a ethanolu. V českých a moravských vínech se ve zvýšených koncentracích vyskytuje ve vyšších kategoriích přívlastkových vín, zatímco v jakostním a kabinetním vínu je ho méně (Michlovský 2014).

Mesoinositol se ve vinném moštu objevuje ve velkém množství, průměrně v koncentraci 0,5 g/l. Je hlavním růstovým faktorem pro některé kvasinky a mnohé mikroorganismy. Červená vína obsahují dvakrát více mesoinositolu než bílá vína. Mesoinositol může být částečně zničen bakteriální fermentací (Michlovský 2014).

Mannitol vzniká metabolismem fruktosy. Mannitolem zasažené víno je komplexní, protože je dále obvykle doprovázené kyselinou octovou, kyselinou D-mléčnou, *n*-propanolem a 2-butanolem. U takto zkaženého vína lze vnímat jeho slizkou strukturu s octovou vůní a mírně sladkou chutí. K tvorbě mannitolu prostřednictvím heterolaktické a mannitolové fermentace dochází na metabolické úrovni (Bartowsky 2009).

Sorbitol je isomer mannitolu a je spojován s ušlechtilou plísní hroznů a vín (Margalit 2012). Jeho obsah by ve vínech neměl přesahovat 100 mg/l. Pokud je ve vínech zjištěn jeho vyšší obsah, jedná se pravděpodobně o podvodný kup daného vína, které vzniklo naředěním jiným typem moštu (nejčastěji jablečným). Obsah sorbitolu závisí na ročníku a zvyšující se obsah sorbitolu je závislý v červených vínech na míře poškození hroznů plísní rodu *Botrytis cinerea* (Michlovský 2014).

3.3.3 Sacharidy

Sacharidy hrají ve vinařství velmi zásadní roli, protože se podílejí na tvorbě alkoholu, který vzniká během procesu kvašení. Podílejí se také na chuti vín tím, že způsobují jeho sladkost, která se pohybuje od suché až po sladkou chuť. Sacharidy jsou také příčinou vzniku dalších odvozených látek jako glycerol. Podílejí se také na aromatu vín, protože z nich vznikají některé těkavé látky (Sanz Luz & Martínez-Castro 2009)

Sacharidy jsou biologicky velmi důležitými látkami, protože jsou dobrým zdrojem energie, a jsou dobře rozpustné ve vodě. Glukosa je u velkého množství organismů významným energetickým substrátem (například v glykolýze). U révy vinné a u dalších druhů rostlin jsou sacharidy ve formě sacharosy transportovány skrze rostlinu, zatímco ve formě glukosy a fruktosy se shromažďují v hroznové bobuli během zrání (Waterhouse et al. 2016).

Sacharidy jsou po chemické stránce aldehydy nebo ketony, které obsahují více hydroxy skupin a vznikají fotosyntézou z oxidu uhličitého a vody (Sanz Luz & Martínez-Castro 2009; Margalit 2012).

Mezi nejběžnější sacharidy ve vínech patří monosacharidy jako hexosy a pentosy (Sanz Luz a Martínez-Castro 2009; Margalit 2012). Celkové množství pentos ve vínech se pohybuje v rozmezí 0,5–1,0 g/l. Nejvíce se vyskytující pentosy jsou L-arabiosa (0,2–1,5 g/l), D-ribosa

(0,1 g/l), D-xyloza (0,0–0,4 g/l) a L-rhamnosa (0,1 g/l). Hexosy jsou pro víno nejdůležitějšími sacharidy. Jsou metabolizovány kvasinkami rodu *Saccharomyces* za vzniku ethanolu a dalších vedlejších produktů. D-glukosa (obecně hroznový cukr) se ve vínech vyskytuje v množství 0,1–0,8 g/l, D-fruktosa (obecně ovocný cukr) v množství 0,5–1,5 g/l a D-galaktosa v množství menším než 0,1 g/l (Margalit 2012; Michlovský 2014).

Oligosacharidy (obsahují 2–10 monosacharidů) se ve vínech nacházejí ve stopovém množství a jsou snadno hydrolyzovatelné (rozpouštějí se ve vodě). Významné oligosacharidy jsou disacharidy, které jsou spojeny glykosidickou vazbou. Mezi disacharidy vyskytujícími se ve vínech patří laktosa, která není zkvašována kvasinkami, ale může být hydrolyzována bakteriemi mléčného kvašení. Ve vínech se běžně nevyskytuje, ale může být zbytkem z produktů na bázi kaseinu, které se používají na čiření vína. Dalším disacharidem je trehalosa, která je složená ze dvou molekul D-glukosy, spojených α -1->1 glykosidickou vazbou. Pravděpodobně ji vylučují kvasinky během ethanolové fermentace a autolýzy. Dále můžeme ve vínech nalézt maltosu a sacharosu, ale to jen v případě, že dané víno bylo falšováno (Michlovský 2014).

Přítomnost polysacharidů ve vínech vzniká rozkladem buněčných stěn mikroorganismů během alkoholové fermentace nebo působením enzymů degradujících pektiny v hroznových bobulích během zrání hroznů nebo při výrobě vín. Ve vínech tvoří jednu z hlavních skupin makromolekul a přispívají ke zvýšení jejich stability a viskozity (Sanz Luz a Martínez-Castro 2009). Celkově podíl polysacharidů během zrání vín klesá (Michlovský 2014). Hlavním kvasinkami produkovanými polysacharidy jsou mannoproteiny. Mannoproteiny jsou primárními konstituenty buněčných stěn kvasinek. Tyto sloučeniny jsou uvolňovány během kvasinkové autolýzy a jejich vyšší koncentrace je očekávána ve vínech zrajících na kalech. Mannoproteiny mají schopnost zabránit krystalizaci bitartanu draselného a stabilizovat pěnovost bublinkatých vín (Waterhouse et al. 2016). β -glukan je vylučovaným polysacharidem plísně *B. cinerea*. Nachází se výhradě ve vínech vyrobených z poškozených hroznů. β -glukan je někdy též nazýván cinerean. Už při velmi malém množství má významné vlastnosti, jako například zabránění slučování volných částic, tudíž působí příznivě na čiření vín nebo jako ochranný koloid. Při delším ležení vín může část β -glukanu, která má nejvyšší molekulovou hmotnost, sedimentovat. Dále může způsobit viditelnou vadu textury vín, která je viskózní, olejovitá a má vliv na filtrovatelnost a vnímání chuti vín v ústech (Michlovský 2014; Waterhouse et al. 2016)

3.3.4 Dusíkaté látky

Dusíkaté látky jsou produkovány během autolýzy kvasinek. Autolýza kvasinek nastává těsně před buněčnou smrtí. Dochází k uvolňování různých sloučenin z buněčných stěn v důsledku působení endogenních enzymů. Těmito sloučeninami jsou například aminokyseliny, peptidy a mannoproteiny (Perrot et al. 2002). Obsah dusíkatých látek ve zrajících (pomocí kvasinek) nebo šumivých vínech závisí na složení tichých vín a na kvasinkami uvolňovaných sloučeninách (Martínez-Rodríguez & Polo 2000). Velké množství dusíkatých látek, včetně aminokyselin či dipeptidů a tripeptidů, které mohou být asimilovány kvasinkami rodu *S. cerevisiae*, jsou zásobárnou polyaminů, nukleotidových bází a jejich derivátů. Tyto sloučeniny jsou nezbytné pro produkci buněčné biomasy (Crépin et al.

2012). Dusíkaté látky se v moštích a vínech vyskytují v různých formách: jako aminokyseliny, polypeptidy, proteiny, aminy, amidy, bílkoviny, amonium, nitráty a vitaminy (Margalit 2012).

Aminokyseliny jsou významným faktorem v růstu bakterií a kvasinek, které mají na starost produkci vín. Jsou přítomny ve zralém ovoci révy vinné a jsou akumulovány v bobulích během dozrávání (Nouadje et al. 1997). Aminokyseliny jsou v bobulích tvořeny vázáním amoniaku na organické ketokyseliny. Celkové množství aminokyselin ve vínech kolísá v rozmezí 1–3 g/l a je závislé, stejně jako jejich diverzita, na klimatických faktorech, odrůdě, typu a způsobu vinifikace. Tudíž složení aminokyselin může být velmi variabilní. Působení kvasinek během fermentace mění velmi často podstatu aminokyselin (Michlovský 2014). Hlavními aminokyselinami vyskytujícími se ve vínech jsou prolin, arginin a glutamin. Prolin je nejdominantnější aminokyselinou ve vínech. Obsah prolinu je zvyšován v průběhu dozrávání hroznů a také je původcem příznaků jejich dozrávání. Ve víně se však vyskytují všechny známe druhy aminokyselin, ale trojice prolinu, argininu a glutaminu tvoří asi 80 % všech. Sirné aminokyseliny jako cystein a methionin jsou naopak hůře detekovány. Některé aminokyseliny jako leucin, isoleucin, fenylalanin, tyrosin a tryptofan mají hořkou chuť a způsobují hořkou chuť vín, zatímco glycin, alanin, threonin a prolin mají sladkou chuť. Kyselou chuť mají kyselina asparagová a glutamová (Michlovský 2014; Long et al. 2018).

Biogenní aminy jsou látky přírodního původu přítomné v různých typech jídla (sýr nebo ryby) a nápojích (pivo a víno). Ve vínech vznikají biogenní aminy během fermentace činností bakterií mléčného kvašení dekarboxylací aminokyselin. Předpokládá se, že dekarboxylace aminokyselin podporuje růst a přežití bakterií v kyselém prostředí snížením pH. Ve vínech se nachází především histamin, tyramin, putrescin, dále kadaverin a fenylethylamin (Lonvaud-Funel 2001). Je třeba věnovat biogenním aminům větší pozornost, protože ethanol může zvýšit riziko škodlivosti na lidské zdraví přímou nebo nepřímou inhibicí enzymů odpovědných za detoxikaci organismu od těchto sloučenin. Lidský organismus dobře zpracovává nízkou koncentraci biogenních aminů, které jsou v gastrointestinálním traktu rozloženy mono a diaminoxidasou. Při vyšších koncentracích se můžou objevit příznaky intoxikace organismu. Příznaky intoxikace histaminem jsou především bolesti hlavy, dále vyrážky a zvracení. Jiné aminy jako tyramin a fenylamin můžou způsobit hypertenzi nebo příznaky spojené s vazokonstrikcí cév. Mezi hlavní strategie prevence tvorby biogenních aminů patří použití startérových bakteriálních kultur bez aminokyselinových dekarboxylas a prevence růstu kazotvorných bakterií. Další strategií je snížení koncentrace aminokyselinových prekurzorů vyvarováním se nadbytku dusíkatých aditiv během fermentace (Moreno-Arribas & Polo 2009; Waterhouse et al. 2016). Výskyt putrescinu a kadaverinu ve vínech souvisí se špatnými hygienickými podmínkami hroznů. Výskyt putrescinu je také spojován s nedostatkem draslíku v půdě. Je možné, že se tento biogenní amin kumuluje v hroznech a následně se objeví i ve vínech (Lonvaud-Funel 2001; Marques et al. 2008). Indol není klasickým biogenním aminem, ale vyskytuje se jako výsledek mikrobiálního metabolismu tryptofanu. Indol se ve vínech vyskytuje převážně v těkavé formě. Vyšší koncentrace indolu (nad 30 µg/l) způsobuje plastovou příchut' vína (Waterhouse et al. 2016).

Peptidy vznikají spojením několika aminokyselin, které jsou buď více nebo méně polarizované, peptidovou vazbou do pevných plošných struktur. Tyto látky můžou být původcem hořkosti vín. Peptidy dělíme na oligopeptidy (2–10 aminokyselin), polypeptidy (11–100 aminokyselin s polymerním charakterem) a bílkoviny (více než 100 aminokyselin)

(Michlovský 2014). Ve vínech mohou oligopeptidy, jejichž molekulová hmotnost nepřesahuje 1000 g/mol, vytvářet velmi důležitý substrát pro růst bakterií během jablečno-mléčné fermentace (Desportes et al. 2000). Polypeptidy se ve vínech vyskytují v koncentraci do 4 g/l a jejich obsah je ovlivněn faktory jako je odrůda nebo proces vinifikace. Původ těchto peptidů, kromě polymerizace aminokyselin, je zřejmě v rozkladu bílkovin. V červeném víně najdeme dvakrát více polypeptidů než v bílém víně. Nisin je složený ze 34 aminokyselin a vzniká produkcí bakterie *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Tento polypeptid má antibakteriální účinky a působí preventivně proti jablečno-mléčnému kvašení (Daeschel et al. 1991; Michlovský 2014). Glutathion je tripeptid tvořený L-glutamatem, L-cysteinem a glycinem. Je důležitou složkou hroznů, moštu a vín. Aplikace glutathionu souvisí s kontrolou oxidační zkázy vín. Oxidační znehodnocení bílých vín, a v menší míře červených vín, může vést ke ztrátě charakteristické vůně, vývoji atypických stárnoucích znaků a nežádoucím změnám barvy, tudíž představuje ve vinařském průmyslu značný problém. Glutathion působí preventivně proti hnědnutí, které způsobují trypsochinony vznikající během oxidace během vinifikace (Kritzinger et al. 2013; Michlovský 2014).

Bílkoviny jsou vysokomolekulární látky přírodního původu spojené peptidickými vazbami, dále disulfidovými, esterovými a amidovými vazbami. Jejich relativní molekulová hmotnost přesahuje 10^4 Da. Bílkoviny jsou ve vínech přítomny v nízkých koncentracích, tudíž mají malou výživovou hodnotu. Mají však technologický a ekonomický význam, protože mají velký vliv na stabilitu a jasnost vín. Bílkoviny pocházejí z hroznové dřevě a do vín se dostanou během procesu vinifikace, protože mají velkou odolnost vůči nízkému pH a proteolýze. Mezi katalytické bílkoviny řadíme i enzymy, které hydrolyzují bílkoviny, což způsobuje uvolnění aminokyselin nebo jednodušších peptidů. Pokud dojde k inhibici těchto enzymů nebo jejich špatné asimilaci kvasinkami, podíl bílkovin se tedy díky fermentaci zvýší. Tudíž v některých lahvových bílých vínech může docházet k tvorbě zákalu nebo usazenin, což je spojeno s vysokou koncentrací bílkovin z důvodu nedostatečného čiření (Ferreira et al. 2001; Michlovský 2014).

Ve vínech můžeme nalézt čtyři hlavní amidy a dále několik dalších. Asparagin je amid kyseliny aspartové, který v potravinách za vysoké teploty reaguje s redukcujícími cukry za vzniku akrylamidu, který je karcinogenem. Glutamin je amid kyseliny glutamové a je neesenciální. Asparagin a glutamin se ve vínech vyskytují jen v malé koncentraci (v mg/l). Močovina je diamid kyseliny uhličitě. Produkce močoviny závisí na složení původního moštu a kvasinkovém kmeni. Ethylkarbamát je ethylester kyseliny karbamové. Ve vínech je stanovitelný po delším ležení. Acetamidy mají svůj původ v amidu kyseliny octové. I v malém množství způsobují ke konci degustace pachutí, která připomíná zápach myší moči (Michlovský 2014).

3.3.5 Kyseliny

Celková acidita vín je jeden z nejdůležitějších faktorů vín. Je tvořena organickými a minerálními kyselinami (především kyselina vinná, jablečná, aminokyseliny a fosfáty HPO_3) Celková acidita je dále tvořena oxidem uhličitým a siřičitým v rovnováze s kyselinou uhličitou a siřičitou. Celková acidita ovlivňuje mikrobiální aktivitu vín, malolaktickou fermentaci, barvu a míru stárnutí, proteinovou stabilitu a vnímání chuti při ochutnávce (Michlovský 2014).

Rozlišujeme dva zdroje acidity ve vínech. Kyseliny, které vznikly v hroznech a byly přeneseny do vína jsou kyselina vinná, kyselina jablečná a kyselina citronová. Dalším zdrojem acidity jsou kyseliny, které vznikly během výroby. Je to kyselina mléčná nebo kyselina octová. Titrovatelná neboli volná acidita je založená na části celkové acidity a stanovujeme ji titrováním zásadou tak dlouho, dokud je pH titrovaného vína neutrální. Další část celkové acidity je alkalita popela, která odpovídá množství kyseliny, které nebyly disociovány při titraci (Margalit 2012; Michlovský 2014).

Příliš nízký nebo příliš vysoký obsah kyselin ve víně způsobují chuťovou nerovnováhu. Jejich obsah ve vínech není stálý, jelikož se mění během skladování a během zrání vín. Nejvíce viditelné jsou změny, které nastávají vysrážením kyseliny vinné ve formě vinného kamene. V nepříznivých ročních má velký význam biologické nebo bakteriální odbourávání kyselin, kdy je zejména kyselina jablečná odbourávána bakteriemi mléčného kvašení. V mimořádně špatných ročních je nutné použít ke snížení obsahu kyselin chemické látky pro vyrovnaní poměru cukrů a kyselin, protože se u nich nepředpokládá, že by se kyselost vín mohla snížit biologickým odbouráváním (Průša & Smejkal 1983).

Kyseliny jsou jednou z nejvýznamnějších skupin chemických látek ve vínech. Jejich koncentrace a složení v bobulích jsou závislé na odrůdě a podmínkách vnějšího prostředí. Významným aspektem majícím vliv na koncentraci a složení kyselin je oslunění hroznů, které způsobuje snížení obsahu kyseliny jablečné.

Kyseliny mají významný vliv na sensorický projev vína a zároveň fungují jako konzervant. Jejich obsah v bílých vínech je o něco větší než v modrých odrůdách vín. U bílých vín je tato skutečnost žádoucí, protože ovlivňuje jejich svěžest a zvýrazňuje jejich aromaticnost, zatímco u modrých odrůd vína je žádoucí nižší obsah kyseliny jablečné (Pavloušek 2006).

Požadované množství organických kyselin ve vínech závisí na typu vín a na zbytkovém cukru. Mnoho druhů bílých vín by mělo obsahovat vyšší obsah organických kyselin než běžná stolní červená vína. Ve zpracování vín dělíme organické kyseliny na těkavé a fixované kyseliny. Těkavé kyseliny mohou být odstraněny parní destilací, zatímco fixované kyseliny nikoliv (Bakker a Clarke 2011).

Mezi nejvíce zastoupené kyseliny, které můžeme najít ve vínech, patří kyselina šťavelová, vinná, mravenčí, jablečná, octová, fumarová, jantarová a gallová. Převážnou část však ze všech organických kyselin (kolem 90 %) tvoří kyselina vinná a jablečná, které pochází přímo z hroznů (Robles et al. 2019).

Nejsilnější kyselinou je kyselina vinná, která je ve vínech a v hroznech zodpovědná za kyselou chuť. Je stabilnější a její obsah se ve vínech mění jen málo. Změna obsahu je například ovlivňována výživou révy vinné draslíkem, kdy se následně tvoří draselné soli, nebo v době zrání při intenzivních srážkách naředěním obsahu bobulí vodou (Pavloušek 2010).

Další kyselinou je kyselina jablečná. Má vliv na tzv. „zelenou chuť“ s hrubými, ostrými a nezralými tóny hroznů a vín. Kyselina jablečná je substrátem pro bakterie mléčného kvašení, tudíž se její obsah před dokončením výroby vín může velmi změnit. Dále je její obsah možné ovlivnit vhodným odlistěním révy vinné. Ve vínech se odbourává využitím jablečno-mléčné fermentace (Pavloušek 2010; Margalit 2012).

Kyselina mléčná je produktem jablečno-mléčné fermentace, kde je kyselina L-jablečná přeměněna na kyselinu L-mléčnou a oxid uhličitý působením bakterií rodu *Leuconostoc*, *Lactobacillus* nebo *Pediococcus*. Tyto rody bakterií mohou růst ve vysoké koncentraci ethanolu

a nízkém pH vína. Velká výhoda dekarboxylace kyseliny jablečné je zajištění stability vín, která mohou být bezpečně plněna do lahví beze strachu průběhu další fermentace v lahvích. Další změna vín po jablečno-mléčné fermentaci souvisí s chutí vín. Po fermentaci je zvýšení kyselosti zřejmá změna chuti. Odehrává se spíše v červených, než v bílých vínech obvykle několik měsíců po ethanolové fermentaci (Kunkee 1984).

Nejvýznamnější těkavou kyselinou ve vínech je kyselina octová. Kyselina octová je produktem kvasinkové fermentace jako postranní reakce acetaldehydové fermentace. Dále vzniká činností bakterie rodu *Acetobacter* v aerobních podmínkách (Margalit 2012). Kyselina octová je v suchých vínech nežádoucí v koncentraci přesahující 0,4–0,5 g/l, zatímco ve sladkých vínech jako je ledové nebo botrytizované víno, se stává nežádoucí až v koncentraci 1,0–1,5 g/l. Kyselina octová je ve vínech senzorycky rozpoznávána jako látka dodávající kyselou chuť, při vysoké koncentraci hořkou chuť a kyselou chuť s octovou vůní (Bartowsky & Henschke 2008).

3.3.6 Fenolové sloučeniny

Fenolové sloučeniny jsou velmi významnou složkou vín. Kdyby byly všechny přírodní fenolové sloučeniny a jejich deriváty z vína odstraněny, víno by postrádalo ty rozdíly, které ho dělají tak zajímavým a rozdílným v barvě, svíravosti, hořkosti, úrovni oxidace a dalších souvisejících charakteristikách. Ve vínech se fenolové sloučeniny podílejí na vzhledu a chuti vína a jsou ukazatelem stupně macerace bobulí během výroby. Dále jsou substráty pro enzymatické hnědnutí moštů a jsou hlavním substrátem pro neenzymatickou autooxidaci ve vínech (Singleton 1988).

Fenolové sloučeniny mají zdravotní benefity pro lidské zdraví, které jsou spojené s mírnou konzumací červeného vína. Jejich hlavními vlastnostmi jsou antioxidační a radikálové aktivity, které mohou přispívat k prevenci aterosklerózy, zánětlivých onemocnění a některých druhů nádorových onemocnění. Množství fenolů se u různých druhů vín výrazně liší v závislosti na odrůdě révy vinné, podmínkách prostředí na vinici, technikách zpracování vína, půdních a atmosférických podmínkách během zrání, procesu zrání bobulí a stárnutí vína. Proto také každý typ hroznů představuje odlišné chemické složení, senzoryckou přitažlivost a biologickou aktivitu (Minuti et al. 2006; Granato et al. 2011).

Fenolové sloučeniny přítomné v červeném víně můžeme rozdělit na dvě velké skupiny na základě jejich uhlíkatých struktur: flavonoidy a neflavonoidy. Flavonoidy obsahují anthokyany, flavonoly, flavanoly, flavony, flavanony a taniny. Neflavonoidy obsahují kyseliny hydroxyskořicové, hydroxybenzoové, stilbeny a těkavé fenolové sloučeniny (Granato et al. 2011).

Anthokyany jsou červené pigmenty hroznů, které můžeme najít i v dalších druzích ovoce a v listech rostlin. V červených mladých vínech se obvykle vyskytuje v rozmezí 200–500 mg/l anthokyanů ve volném stavu, zatímco v bílých vínech se vyskytuje jen stopové množství. Z hlediska názvosloví anthokyany dělíme na anthokyanidiny a anthokyaniny. Anthokyanidy jsou centrální struktury bez navázaných cukerných jednotek, zatímco anthokyaniny jsou sloučeniny s různým počtem cukerných jednotek. Anthokyanidiny vyskytující se ve vínech jsou kyanidin, peonidin, delfinidin, malvidin a petunidin. Zdrojem

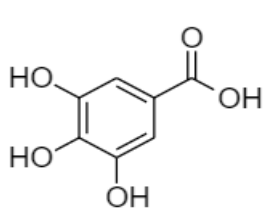
jejich molekul jsou hrozny, kde vznikají od zaměknání bobulí. Maximální množství anthokyanů se v hroznech nachází ještě před dosažením ideálního dozrání hroznů (Michlovský 2014).

Flavonoly mají velký vliv na kvalitu barvy červených vín, protože fungují jako dobré ko-pigmenty. Červená vína obsahují 45 mg/l flavonolů. Jsou dobře známy díky svému pozitivnímu vlivu na lidské zdraví. Působí jako antioxidanty, snižují riziko vzniku nádorových a chronických onemocnění (Ferrer-Gallego et al. 2016). Mezi flavonoly vyskytující se v červených vínech patří quercetin, rutin, myricetin a kaempferol (Granato et al. 2011).

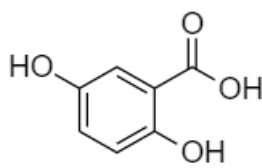
Mezi flavanoly vyskytující se v červených vínech patří katechin, epikatechin, epikatechin-3-gallát, a gallokatechin. Mezi flavony, které se vyskytují v červených vínech, patří luteolin a apigenin. Mezi flavanony vyskytující se v červených vínech patří naringenin (Granato et al. 2011).

Taniny (také třísloviny) najdeme v červených vínech nejvíce ve formě kondenzovaných taninů. Zdrojem taninů ve vínech jsou hroznové slupky, stonky a semena. Jejich extrakce je závislá na daném vinařském procesu. Zdrojem některých taninů jsou převážně nové sudy, ve kterých víno stárne. Bylo prokázáno, že taniny ve formě proanthokyanidinů, mají pozitivní vliv na zdraví cév (Ashok & Upadhyaya 2012). Díky své schopnosti srážet proteiny obsažené ve slinách, jsou taniny zodpovědné za svíravost vín (Marangon et al. 2010).

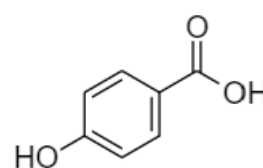
Kyseliny hydroxybenzoové jsou odvozeny od kyseliny benzoové a jsou charakterizovány C6-C1 strukturou. Nejčastějšími deriváty ve vínech jsou kyselina gallová, kyselina gentisová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina protokatechová, kyselina injekční, kyselina salicylová a kyselinu vanilová (viz Obrázek 1). Kyselina gallová je jednou z hydroxybenzoových kyselin s nejvyšší koncentrací ve vínech. Pochází se samotného hroznů a je formována hydrolýzou hydrolyzovatelných a kondenzovaných taninů, neboli esterů kyseliny gallové (Rentzsch et al. 2009). Kyselina gallová má také bakteriostatické, antimelanogenní a antioxidační účinky. Tato kyselina by mohla být kandidátem na léčbu mozkových nádorů, protože potlačuje růst, proliferaci, invazi a angiogenezi rakovinných buněk v lidských gliomových buňkách (Gonçalves et al. 2013).



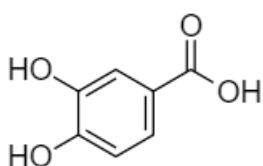
Kyselina gallová



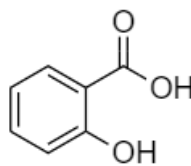
Kyselina gentisová



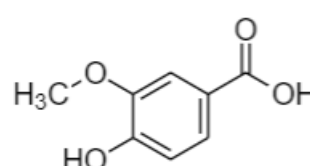
Kyselina p-hydroxybenzoová



Kyselina protokatechová



Kyselina salicylová



Kyselina vanilová

Obrázek 1: Deriváty hydroxybenzových kyselin

Kyseliny hydroxyskořicové mají C6-C3 strukturu a oficiálně patří ke skupině fenylpropanoidů. Rozdílné sloučeniny, které jsou přítomné ve vínech, jsou odvozeny od kyseliny kávové, kyseliny *p*-kumarové, kyselina ferulové a kyseliny sinapové. Tyto deriváty můžeme ve vínech najít v *cis* a *trans* konfigurovaných formách, ale množství *trans* forem převládá, protože jsou stabilnější. Kyseliny skořicové silně ovlivňují barvu červeného vína. Mezi hydroxyskořicovými kyselinami převládá kyselina kaftarová. Dalšími důležitými sloučeninami jsou estery vinného kmene kyseliny *p*-kumarové, kyseliny ferulové a *trans p*-kumarové glykosidy. Úroveň koncentrace derivátu kyseliny hydroxyskořicové závisí na velkém množství faktorů, zejména na odrůdě hroznů, podmínkách pěstování a podnebí (Rentsch et al. 2009).

Stilbeny jsou považovány za fytoalexiny a jejich tvorba v hroznových listech koreluje s odolností vůči chorobám jako je plíseň *B. cinerea*. Fytoalexiny inhibují mikroorganismy a jejich akumulace v rostlinách je iniciována interakcí rostlin s mikroorganismy. Červená vína patří mezi hlavní zdroje stilbenů. Nicméně, jejich koncentrace v hroznech a ve vínech je o dost menší ve srovnání s jinými fenolovými sloučeninami. Stilbeny se ve vínech vyskytují jako *cis* a *trans* izomery. Hlavním stilbenem je resveratrol. Resveratrol se ve vínech vyskytuje hlavně v *trans*-isomer formě (Baoshan & Spranger 2005). Resveratrol je známý kvůli jeho předpokládaným pozitivním účinkům na lidské zdraví. Má pozitivní vliv na snížení rizika ischemické srdeční choroby a může mít antikancerogenní účinek (Gu et al. 2000).

3.4 Těkavé látky ve víně a jejich vliv na chuťové vlastnosti

Aroma vín je důležitým faktorem kvality vín (Ilc et al. 2016). Je složeno ze 600–800 aromatických sloučenin. Obsah všech aromatických sloučenin ve vínech je v rozmezí hodnot 0,8–1,2 g/l. (Vilanova et al. 2010). Celkový aromatický profil vína je určován vzájemným působením velkého množství těkavých látek, které se liší svým původem a vývojem během procesu výroby vína. Některé z odrůd potřebují k vytvoření typického odrůdového aroma velké množství aromatických látek. Těkavé látky se vyskytují u dané odrůdy v určitém poměru. Naopak existuje celá řada odrůd révy vinné, které mají málo aromatických látek tvořících tzv. „impact aroma“ (Pavloušek 2006). Víno můžeme rozdělit do čtyř skupin (Vilanova et al. 2010):

- odrůdové aroma – typické pro odrůdu,
- předfermentativní aroma – vzniká při zpracování hroznů,
- fermentační aroma – produkováno bakteriemi a kvasinkami během jablečno-mléčné a ethanolové fermentace,
- post-fermentační aroma – je výsledkem transformací, ke kterým došlo během konzervace a stárnutí vína.

3.4.1 Původ těkavých látek

Primární těkavé látky jsou tvořeny v hroznech vinné révy. Jsou to látky, které tvoří odrůdový charakter vín. Do této skupiny jsou řazeny prefermentační látky. Tyto látky vznikají v době mezi sběrem hroznů a začátkem ethanolové fermentace.

Sekundární neboli fermentační látky jsou tvořeny jak kvasinkami v průběhu ethanolové fermentace, tak mléčnými bakteriemi během mléčného kvašení. Kvasinky jsou velmi významné pro tvorbu ethanolu. Aromatické látky, které pocházejí z ethanolové fermentace, jsou ve vínech zastoupené v největší míře a mají velký podíl na společném charakteru všech vín.

Terciární neboli postfermentační látky jsou látky, které vznikají během zrání vína a mohou vydržet až desítky let. Změny v profilu aromatických látek se mohou týkat jednak volných těkavých látek, ale i prekurzorů, které jsou specifické pro jednotlivé odrůdy. Prekurzory se dále transformují na těkavé látky (Peřka & Farkaš 2001).

3.4.2 Kompozice těkavých látek ve víně

Těkavé složení vín je komplexní, protože k chuti přispívá mnoho organických struktur. Množství těkavých látek se ve vínech pohybuje od několika nanogramů po mikrogramy. Kromě toho mají tyto sloučeniny odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti, které se týkají například polarit, těkavosti a vlivu zápachu v důsledku v molekulách přítomných funkčních skupin (Boschfute et al. 2007).

Těkavé látky vína můžou být rozděleny do tří kategorií. Kategorie 1 popisuje látky, které jsou z analytického hlediska snadno dostupné, ve vínech přítomné v koncentraci vyšší než 0,1 mg/l. Typickými příklady jsou acetaldehyd, vyšší alkoholy, mastné kyseliny a jejich estery. Kategorie 2 popisuje látky střední analytické dostupnosti a ve vínech jsou přítomné v koncentracích mezi 0,1 µg/l a 0,1 mg/l. Analýza těchto látek je možná po úpravě vzorku odstraněním matrice nebo zakoncentrováním a metodou GC-MS. Mezi tyto látky patří těkavé fenolové sloučeniny, některé laktony, deriváty vanilinu, některé menší estery a některé norisoprenoidy (např. β -damascenon, β -ionon, trimethylcyklohexan a vitispiran). Kategorie 3 popisuje látky velmi obtížné analytické dostupnosti. Jejich analýza je obtížná z důvodu špatného chromatografického chování, špatné chemické stability, extrémně nízké koncentrace nebo špatných analytických vlastností. Mezi tyto látky patří těkavé sirné sloučeniny, aldehydy, alkymethoxy-pyraziny, furaneol a některé aromatické thioly (López et al. 2002; Silva Ferreira & Guedes de Pinho 2004).

Acetaldehyd je těkavá látka, kterou řadíme mezi nejdůležitější smyslové karbonylové látky. Tvoří se během vinifikace a pochází z metabolismu kvasinek během ethanolové fermentace. Acetaldehyd je velmi reaktivní sloučenina a ve vínech se kombinuje s polyfenoly a dalšími sloučeninami. Čerstvě vyrobená vína mají obvyklou koncentraci acetaldehydu pod 75 mg/l. V přebytku dodává vínům nežádoucí zelenou barvu, travnatou vůni podobnou jablku, která bývá obvykle maskována přidáním oxidu siřičitého (Osborne et al. 2000; Regodón Mateos et al. 2006). Acetaldehyd dodává také některým běžnějším bílým jemným vínům (Neuburské a Ryzlink vlašský) v kombinaci s alkoholem a některými kyselinami ořechové aroma, dále může dodat vínům nežádoucí sherry aroma (Michlovský 2015).

Ethylestery jsou důležité vonné látky ve vinném aromatu díky své svěží a ovocné vůni. Většina ethylesterů je produktem esterifikace mastných kyselin produkovaných kvasinkami během ethanolové fermentace. Dále mohou vznikat chemickou esterifikací během dlouhodobého zrání. Tyto ethylestery zahrnují ethylestery lineárních a

rozvětvených mastných kyselin a také některých hydroxykyselin. Vína obsahují více než 300 různých esterů. Pouze u některých z nich (ethylisobutyrát, ethyl-2-methylbutyrát, ethyl-3-methylbutyrát, ethylbutyrát, ethylhexanoát a ethyl-2-hydroxy-4-methylpropanoát) byly zjištěny koncentrace lehce nad nebo blízko jejich smyslových prahů vnímání. Vína obsahující více než průměrnou hladinu lineárních esterů by měla vykazovat charakter červeno-bobulovitého původu, zatímco vína, která obsahují větší hladinu rozvětvených esterů (například 2-hydroxy-4-methylpentanoát) by měla mít charakter ostružin (Sedláčková et al. 2018; de-la-Fuente-Blanco et al. 2020).

Ethylisobutyrát je víněch zodpovědný za ovocné, jahodové a citronové aroma. Souhrn nejběžnějších ethylesterů ve víněch zahrnuje následující sloučeniny. Ethyl-2-methylbutanoát dává vínům jablečné, jahodové, sladké a anýzové aroma. Ethylisovalerát je ve víněch zodpovědný za ananasové, citronové, anýzové aroma a aroma sladkého ovoce. Ethyl-3-hydroxybutanoát dává vínům ovocné, zelené a ibiškové aroma, zatímco ethyl-4-hydroxybutanoát dává vínům karamelové aroma. Diethylsukcinát je zodpovědný za ovocné, fermentované a květinové aroma. Diethylmalát dává vínům sladkou chuť a aroma hnědého cukru. Ethylbutanoát dává vínům květinové, ovocné, jahodové aroma, zatímco ethylhexanoát dává vínům ovocné, jahodové, anýzové aroma a aroma zeleného jablka. Ethyldekanoát je ve víněch zodpovědný za olejové, květinové aroma a aroma hroznů. Ethylvanilát dává vínům květinové, ovocné, vanilkové aroma a sladkou chuť, zatímco ethyleinamát dává vínům medové a skořicové aroma (Sumbly et al. 2010).

Ethylacetát je nejhojněji zastoupeným esterem ve víněch a je zodpovědný za změněné senzorycké vlastnosti, typické pro acescenci (ostrý, sladkokyselý nádech) (Plata et al. 2003). Vzniká enzymatickou esterifikací ethanolu a kyseliny octové. Pokud je zabráněno přístupu vzduchu během fermentace moštu, jeho obvyklá koncentrace ve víněch se pohybuje v rozmezí 30–50 mg/l, za přístupu vzduchu se zvyšuje na 60–110 mg/l. Koncentrace ethylacetátu pod 70 mg/l je považována za pozitivní pro vinné aroma, zatímco koncentrace vyšší než 150 mg/l je považována za negativní (Regodón Mateos et al. 2006). Ethylacetát dodává některým vínům v kombinaci s jinými látkami hruškové, jahodové, jablečkové nebo malinové aroma (Michlovský 2015). Dalšími běžnými acetáty ve víněch jsou isobutylacetát, isoamylacetát, ethyl-2-fenylacetát, 2-fenylethylacetát a hexylacetát. Isobutylacetát dává vínům ovocné a jablečné aroma, zatímco isoamylacetát dává vínům ovocné a banánové aroma. Ethyl-2-fenylacetát a 2-fenylethylacetát jsou ve víněch zodpovědní za květinové aroma nebo aroma po růžích. Hexylacetát dává vínům zelené, bylinkové, ovocné a hroznové aroma (Sumbly et al. 2010).

Mastné kyseliny ve víněch mohou pocházet z anabolismu lipidů, oxidační dekarboxylací α -ketokyselin nebo oxidací aldehydů. Mastné kyseliny ve víněch způsobují nepříjemné tóny aromatu, ale jen několik z nich dosahuje svého prahu vnímání. Jejich přítomnost je však nezbytná pro aromatickou rovnováhu vín. Kyselina 3-methylmásečná má práh vnímání v koncentraci kolem 33 $\mu\text{g/l}$ a způsobuje mastné a žluklé aroma, zatímco kyselina 2-methylmásečná má práh vnímání v koncentraci kolem 3300 $\mu\text{g/l}$ a způsobuje upoceně a sýrové aroma vín. Kyselina hexanová má práh vnímání v koncentraci kolem 420 $\mu\text{g/l}$ a způsobuje také upoceně aroma a aroma po sýru, zatímco kyselina oktanová má práh vnímání v koncentraci kolem 500 $\mu\text{g/l}$ a způsobuje mastné a nežádoucí aroma vín (Vilanova & Oliveira 2012).

Těkavé fenolové sloučeniny jsou ve vínech produkovány kvasinkami rodu *Brettanomyces* nebo *Dekkera* přeměnou hydroxyskořicových kyselin. Těkavé fenolové sloučeniny jsou přítomny v bílých i modrých vínech s velkými rozdíly podle odrůdy, oblasti, počasí, způsobu zpracování a dle agrotechniky na vinici. Ve vínech se vyskytují v různých koncentracích od stopového množství po 4500 µg/l. Těkavé fenolové sloučeniny jsou u vín spojovány s kořeněným a hořkým aromatem. Ethylfenol může způsobit ve vyšších koncentracích sensorické defekty vína - nežádoucí lékárnické nebo plastové aroma (Chassagne et al. 2005; Pavloušek 2010)

Monoterpeny a jejich deriváty hrají významnou roli zejména u „muškátových“ a jim příbuzných odrůd. Jsou zdrojem muškátového nebo květinového aromatu. Najdeme je například u odrůd Muškát moravský, Ottonel a Tramín. Dále jsou sensoricky významné u odrůd Muller Thurgau a Ryzlink rýnský (Pavloušek 2006). Terpenové alkoholy podílející se na aromatu vína jsou linalool, geraniol, nerol a α -terpineol (Michlovský 2014).

Norisoprenoidy vznikají při procesu odbourávání karotenoidů. Karotenoidy při dozrávání u některých odrůd silně ubývají, zatímco se obsah norisoprenoidů souběžně zvyšuje. β -damascenon je jedním z norisoprenoidů, které se typicky vyskytují v hroznech odrůdy Chardonnay, a je původcem aromatu po tropických květech a plodech (Pavloušek 2010). β -ionon dodává vínům aroma fialek (Gómez-Míguez et al. 2007).

Hlavním představitelem methoxypyrazinů u révy vinné je 2-isobutyl-3-methoxypyrazin, který je původcem travnatého a bylinného aromatu. Obsah methoxypyrazinů je charakteristický zejména pro kvalitní vína, jejichž buket a chuť se odlišuje právě pestrostí obsahu těchto látek. Jsou typické pro odrůdy Sauvignon a Cabernet Sauvignon a dále se postupně snižuje během zrání hroznů (Patočka 2008, Pavloušek 2010).

Těkavé thioly se vyznačují velmi nízkou prahovou hodnotou vnímání (v řádu několika nanogramů na litr vína), a přispívají k aromatické složitosti a výraznému charakteru vín. Těkavé thioly mohou být rozděleny do dvou hlavních skupin podle jejich formy vzniku. První skupina obsahuje těkavé thioly, které jsou uvolňovány z cysteinylovaných konjugátů. Ty jsou známy jako prekurzory aromatu vín. Těkavé thioly přispívají k odrůdovému aromatu vína například 3-sulfanylhexan-1-ol vykazuje aroma grapefruitu a maracuji, stejně jako jeho acetát, který je produkován kvasinkovou acetolýzou. Tato skupina těkavých thiolů je typická u vín odrůdy Sauvignon blanc. Druhá skupina těkavých thiolů obsahuje látky vytvořené během ethanolové fermentace nebo stárnutím vína v dubových sudech. Látky jako 2-furanmethanthiol a 2-mehtyl-3-furanthiol přispívají k empyreumatickému aromatu vín (spojené s vůní shořelé organické hmoty). 2-furanmethanthiol má vůni pražené kávy. Tato látka byla identifikována v červených a bílých vínech zrajících v dubových sudech, dezertních vínech Petit-Manseng a šampaňském (Nikolantonaki et al. 2010).

Laktony, zejména γ -laktony, δ -laktony a whiskey laktony, hrají důležitou roli v aromatu vín a jsou nejhojnějšími laktony ve vínech. Vznikají cyklizací odpovídajících hydroxykarboxylových kyselin. Je důležité, že jsou schopné migrovat do vína ze dřeva, zůstávají v lahvích až do konce zrání a ovlivňují organoleptické vlastnosti vín. Whiskey lakton ve formě *cis*-izomeru je silnějším odorantem než jeho *trans*-izomer. Zbytek laktonů může ovlivňovat aroma vín odrůd jako Zifandel, Pinot Noir, Merlot a Cabernet Sauvignon. γ -Hexalakton ve vínech způsobuje ovocné nebo kokosové aroma stejně jako γ -oktalakton.

γ -Dekalaton způsobuje ve vínech broskvové a mléčné aroma, zatímco γ -dodekalakton způsobuje ve vínech ovocné, sladké a květinové aroma (Pérez-Olivero et al. 2014).

Sotolon, maltol a furaneol jsou látky různého chemického původu, ale mají určitou podobnost ve svých chemických strukturách. Tato podobnost je zřejmá ve fyzikálně-chemických i čichových vlastnostech, proto je žádoucí stanovit jejich množství ve vínech jako celek. Tyto látky mají velmi sladké aroma a jsou klasifikovány ve skupině aromat s tóny „spáleného cukru“, karamelu nebo javoru. Je možné, že vysoká koncentrace sotolonu je zodpovědná za charakteristické příchutě vín zpracovaných z botrytických hroznů, vín připravených pomocí oxidačního stárnutí a také ořechově žluklé tony některých sladkých fortifikovaných vín. Furaneol můžeme nalézt v koncentraci nad 1 mg/l ve vínech zpracovaných z hybridních hroznů a hroznů révy *Vitis labrusca*. Předpokládá se, že maltol může hrát důležitou roli v aromatu vín odrůdy Chardonnay (Ferreira et al. 2003; Prudêncio Dutra et al. 2018).

3.5 GC-MS

3.5.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) patří mezi významné analytické techniky a je obecně využívána k separaci a stanovení aromatických látek a dalších analýzách vín. Ty jsou důležité pro testování nových technologických postupů a dále pro sledování jakosti finálních výrobků. Vína obsahují nejen sloučeniny přírodního původu, ale také syntetické sloučeniny, které zvyšují výtěžek a zlepšují kvalitu konečných produktů. I tyto analyty umí GC identifikovat (Cserháti a Szögyi 2013; Horák et al. 2013). Je nutné věnovat pozornost správnému nastavení všech podmínek chromatografické separace kvůli získání přesných a použitelných dat (Horák et al. 2013).

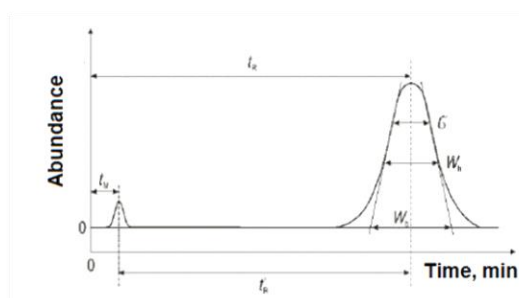
Separace látek v GC začíná v koloně se stacionární fází. Jako nosný plyn (mobilní fáze) je používáno helium nebo vodík, který prochází z plynového zásobníku skrze zařízení na ovládání průtoku nebo tlaku k injektoru s nastříknutým vzorkem na vstupu kolony. Vzorek se v injektoru odpaří a ve formě par je nesen nosným plynem do kolony (Krofta et al. 1997; Bartle a Myers 2002).

Kolona je hlavní součástí plynového chromatografu a je tvořena jemnou trubicí s kapalinou aplikovanou na vnitřní stěnu kolony (Bartle a Myers 2002). Složky ze vzorku jsou absorbovány na začátku kolony ve stacionární fázi a pak desorbovány čerstvým nosným plynem. Nosný plyn unáší složky vzorku postupně až na konec kolony. Dělicí proces je neustále opakován. V závislosti na distribuční konstantě postupuje každá složka vzorku kolonou vlastní rychlostí. Látky vycházejí z kolony postupně v pořadí rostoucích hodnot distribučních konstant a poté vstupují do detektoru (Krofta et al. 1997). Dále jsou detekovány měřením některých fyzikálních a chemických vlastností. Velmi důležitým faktorem, který ovlivňuje separační schopnost kolony je její teplota. U velkého množství směsí je důležité pracovat při vyšších teplotách a vždy je dobré teplotu kontrolovat. Teplota je aktuálně dosahována v horkovzdušné peci. Používá se také odporové ohřívání kovových kolon, které umožňuje extrémně rychlé zahřívání nebo chlazení. V současné době se používají výhradně kapilární kolony. V kapilárních kolonách je stacionární fáze aplikována na vnitřní stěnu (jako tenký film) nebo je stacionární fáze impregnována do porézní vrstvy vnitřní stěny. Kapilární kolony, kde

rozpuštěná látka prochází svazkem kapilár, fungují při nižších teplotách a poskytují lepší separaci. Výsledky jsou generovány až 10x rychleji než v plněných kolonách. V kapilárních kolonách je aplikace stacionární fáze omezena na menší množství, tudíž je potřeba citlivějších detektorů a speciálních metod zavádění vzorků (Bartle a Myers 2002).

Ionizační detektory jsou nejpoužívanějšími v plynové chromatografii. Nosné plyny a kolona fungují jako téměř dokonalé izolátory, tudíž je usnadněna detekce minutového počtu nosičů nábojů a použití ionizačních mechanismů s nízkou účinností, což značí vysokou citlivost. Dále mezi nejvíce používané detektory patří plamenový ionizační detektor s principem spalování v difuzním plamenu vodíku, termionický ionizační detektor založený na povrchové ionizaci v plasmě, fotoionizační detektor a detektor ionizace pulzním výbojem helia založené na fotonové ionizaci, detektor elektronového záchytu s principem připojení tepelných elektronů, ionizační detektor helia založený na ionizaci způsobenou srážkou s metastabilními druhy helia a detektor pro hmotnostní spektrometrickou detekci (Poole 2015).

Výsledkem analýzy je grafický záznam, který se nazývá chromatogram (viz Obrázek 2). Chromatogram je generován elučními složkami kolony. Tyto složky představují intenzitu signálu indukovaného detektorem v čase, tudíž chromatogram ukazuje závislost signálu detektoru na čase. Pokud dojde v koloně k separaci všech složek analyzovaného vzorku, obsahuje chromatogram eluční křivky-peaky těchto složek. Podle umístění peaků je možné stanovit identitu látky. Peak má tvar Gaussovy křivky a je popsán parametry jako retenční čas, výškou a šířkou peaku. Retenční čas (RT) je doba průchodu látky kolonou (stacionární fází). Retenční vzdálenost (R_D) je vzdálenost vrcholu peaku od počátku chromatogramu. Retenční objem (V_r) je objem nosného plynu, který prošel kolonou za dobu RT při objemovém průtoku nosného plynu (Krofta et al. 1997; Tamasi & Zsoldos 2017).



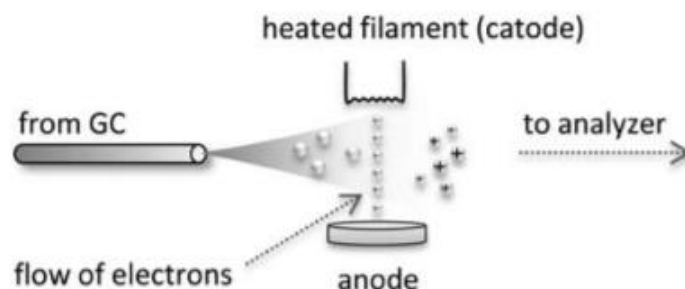
Obrázek 2: Schéma ideálního chromatogramu s peaky (převzato z Tamasi & Zsoldos 2017)

3.5.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je svojí podstatou separační technikou. Jejím principem je interakce nabitých částic s elektrickým nebo magnetickým polem ve vakuu. Hmotnostní spektrometr je analytický přístroj používaný k detekci nabitých iontů. Všechny hmotnostní spektrometry obsahují tři základní části – iontový zdroj, analyzátor a detektor částic (Friedecký & Lemr 2012; Medhe 2018).

V iontovém zdroji vznikají ionty v plynné fázi ionizací elektricky neutrálních molekul, které se mohou po svém vzniku rozpadat (viz Obrázek 3). Z analytů, které vstupují do iontového zdroje společně s matricí (např. doprovodné složky vzorku), vznikají záporně

nebo kladně nabitě molekulární a aduktové ionty. Dále mohou vznikat z některých méně stabilních látek i fragmenty ionizované molekuly (Friedecký & Lemr 2012).



Obrázek 3: Elektronová ionizace (převzato z Friedecký & Lemr 2012)

Analyzátoři v hmotnostní spektrometrii se dají obecně dělit na iontové nebo průletové pasti. Detekce iontů probíhá měřením indukovaných proudů. Tyto proudy vznikly v důsledku obíhajícího náboje. Změřená kmitání jsou Fourierovou transformací přeměněna z domény časové na doménu frekvenční. Přesně naměřené frekvence jsou použity k určení mass-to-charge ratia (m/z ; poměr hmotnosti a náboje iontů). K tomuto určení lze dojít měřením stabilní dráhy v lineárních kvadrupólech a kvadrupólových iontových pastech (Paul trap), v kvadrupólové iontové pasti (taktéž Paul trap), orbitrapu (Kingdon trap), orbitalové frekvence v iontové cyklotronové rezonanci (Penning trap) a doby průletu v time-of-flight (TOF) spektrometrech (Volný 2011).

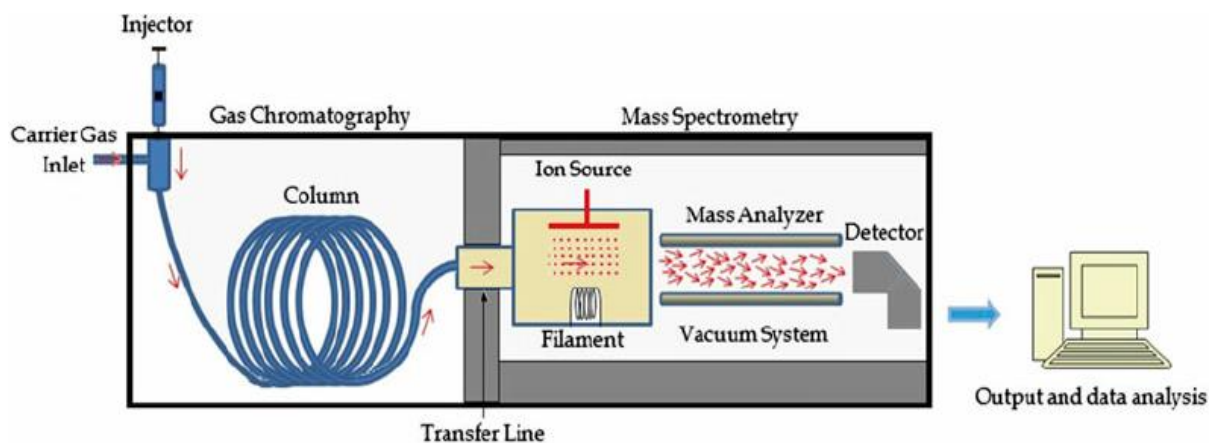
Detektory hrají velmi důležitou roli v hmotnostních spektrometrech pro separované nabitě ionty. Výsledky jsou zobrazeny jako spektra relativního množství detekovaných iontů jako poměr hmotnosti k náboji (m/z). Hmotnostní detektor detekuje aktuální generovaný signál z procházejících nebo detekovaných iontů, které jsou absolutní nebo relativní koncentrací každého analytu. Výstup detektoru je po zesílení zaznamenán. Detektor určený pro MS by měl mít vysoké zesílení, rychlou časovou odezvu, nízkou hlučnost, vysokou účinnost sběru, nízké provozní náklady, stejnou odpověď pro všechnu analyzovanou hmotu, velký dynamický rozsah, dlouhodobou stabilitu, dlouhou životnost a možnost čištění bez nutnosti vypnout vakuum, pokud je to možné (Medhe 2018).

3.5.3 Plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií

Plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) je jednou z nejrozšířenějších metod pro stanovení těkavých látek. Pro GC-MS se využívá spojení tří přístrojů: plynového chromatografu, hmotnostního spektrometru a počítače (viz Obrázek 4). Mezi velké výhody této metody patří vysoký výkon, vysoká přesnost a opakovatelnost, vysoká citlivost a selektivita. Jedná se o velmi užitečnou a efektivní metodu, která je založena na principu analýzy fragmentačního vzorce látek získaných po ionizaci vhodným zdrojem. Přes všechny tyto výhody nedokáže metoda GC-MS provádět ultrastopové stanovení úrovně všech analytů. Je nutné provést před instrumentálním měřením úpravu vzorku odstraněním matrice nebo zakoncentrováním pro zvýšení signálu určovaných analytů (Özcan et al. 2021).

Ve všech typech GC-MS jsou ionty produkovány elektronovou nebo chemickou ionizací. Ionty jsou tříděny dle molekulové hmotnosti, poměru hmotnosti k náboji (m/z). Výsledné hmotnostní spektrum souvisí se strukturou analytu a molekulovou hmotností, které umožňuje identifikaci apriorní interpretací nebo porovnáním s knihovnou (Bartle a Myers 2002).

Detektor MS lze provozovat ve skenovacím režimu nebo s monitorováním vybraných iontů. Rozsah hodnot m/z (například 50–500) může být tedy naskenován obvykle několikrát za 1 s v závislosti na rychlosti přístroje. Poté je použit počítač k vykreslení celkového iontového proudu (analogicky k odezvě univerzálního TC detektoru) nebo jednotlivých iontových proudů (hromadné chromatogramy), které mohou být specifické pro dané typy látek. Mnohem větší citlivost přístroje nám umožňuje sledovat pouze jeden iont nebo několik iontů. Velké výhody jsou v možnostech přesného měření hmotnosti iontu, které umožňují určení molekulárních vzorců iontů. Velká rychlost akumulace spekter (až 500 Hz) umožňuje identifikovat GC peaky s velmi úzkým rozpětím (Bartle & Myers 2002).



Obrázek 4: Schéma hlavních přístrojů GC-MS (převzato z Emwas et al. 2015)

3.5.4 Využití GC-MS v analýze vína, zejména jeho chuťových vlastností

GC-MS metoda je nejvíce používána k odhadnutí identity aromatických látek ve vínech. Je vysoce účinnou separační technikou pro charakterizaci vinného buketu a analýzu těkavých látek i ve velmi malých koncentracích (Ivanova et al. 2013).

Identifikace konkrétních chemických látek, které vínům dodávají žádoucí sensorické vlastnosti, vyžaduje důkladnou znalost sensorických vlastností, chemického složení nebo příslušných látek ve vínech. V současné době lze těkavé látky analyzovat v podmínkách, které velmi napodobují podmínky, při nichž lidé vnímají aroma. Kombinace GC-MS poskytuje velmi efektivní nástroj pro charakterizaci aromatu vín (González Álvarez et al. 2011).

V minulosti byla GC-MS metoda používána vinaři k detekci pesticidů ve vínech, v dnešní době je používána k doplnění kontroly kvality chuti vína. Bez GC-MS se vinaři musí spoléhat k určení kvality vína např. na odborné hodnocení enologů. Identifikací molekul běžně zodpovědných za vady chuti a stopových prvků zrání GC-MS rozšiřuje posudky odborníků o kvantitativní a objektivní informace. Metoda GC-MS má další výhody jako použití velmi malého vzorku a minimální přípravy k jeho analýze a rychlou analýzu cílových molekul (Yelmame et al. 2017). Výsledky analýz bývají porovnávány s citlivostí chuťového vnímání

lidské veřejnosti a someliérů. GC-MS metoda umožňuje vinařům získat přesné hodnoty organoleptických parametrů, které rozhodují o čistotě vín na místě. Je to jednodušší způsob než posílat vzorky na nákladnou externí analýzu (Gauriat-Desroy et al. 2011).

GC-MS analýza v kombinaci s necílenou metabolomikou je zpracovávána v XCMS Online softwaru. V kombinaci s metodou částečné regrese nejmenších čtverců (Partial least squares regression, PLSR) bývá používána k charakterizaci těkavých organických sloučenin ve vínech. Tato metoda je dobrým nástrojem pro rychlou charakterizaci těkavých metabolomických signálů. Metabolomika se zaměřuje na analyzovaný objekt jako celek a poskytuje jeho biochemickou analýzu. V současné době metabolomika vín v kombinaci s vícerozměrnou analýzou podporuje široké uplatnění metabolomiky v charakterizaci různých vín jako Portské víno nebo Pinot noir. XCMS Online software funguje jako online platforma poskytující řešení pro úplný necílený metabolomický workflow, který zahrnuje detekci, korekci RT, zarovnání, anotaci, vícerozměrnou analýzu, identifikaci metabolitů a vizualizaci dat. Běžně je používán (nejen v GC-MS analýze) pro zpracování dat, analýzu necílené metabolomiky a další analýzy. XCMS Online software využívá Metabolite and Tandem MS Database (METLIN) (Wang et al. 2020).

GC-MS metoda se také používá pro zjištění, zda dané víno bylo falšováno nebo nikoliv (Čížková et al. 2012). K doslazení vín a zlepšení viskozity je používán glycerol. Glycerol se ve vínech vyskytuje přirozeně. Přídavek syntetického glycerolu však může být odhalen identifikací 3-methoxy-1,2-propandiolu a dicyklických glycerolů právě metodou GC-MS (Čížková 2019). Dále se metodou GC-MS dá stanovit přídavek γ -laktonů pro zlepšení aromatu vín (Vyhláška č. 129/2019). Tato metoda je založena na detekci γ -dekalaktonu, γ -undekalaktonu a γ -dodekalaktonu a následnou analýzou jednotlivých enantiomerů těchto látek (Hansen et al. 2016).

GC-MS metoda má velmi široké spektrum využití, zejména v analýze vín. Nejen pro tuto bakalářskou práci, ale i pro mnoho dalších studií, bylo důležité hledat korelaci mezi těkavými látkami a sensorickými vlastnostmi vín. Velkou výhodou GC-MS je, že umí analyzovat těkavé a polotěkavé látky při velmi malých koncentracích. Avšak k porovnání dat a hledání korelace je nezbytná také sensorická analýza panelem trénovaných expertů, kteří ve vínech identifikují kvalitativní a kvantitativní sensorické složky aromatu (Vilanova et al. 2010).

4. Metodika

4.1 Vzorčky

Bylo získáno 72 vzorků bílých vín různých odrůd, které pocházely z Národní soutěže vín a degustační expozice – SALONU VÍN České republiky 2019, vybraných na základě senzorické analýzy panelu trénovaných odborníků a bodového hodnocení. Následně došlo k rozdělení získané sady, v níž každé z vín dosáhlo hodnocení 100 b, do kategorií A–C dle aromatických profilů:

- kategorie A – vína bílá suchá a polosuchá s 0–12 vč. g/l zbytkového cukru (56 vzorků),
- kategorie B – vína bílá polosladká s 12–45 vč. g/l zbytkového cukru (11 vzorků),
- kategorie C – vína sladká s více než 45 g/l zbytkového cukru (5 vzorků).

Každý odebraný vzorek vín se lišil buď odrůdou, a když ne odrůdou, tak výrobcem. Z každého vína bylo odebráno 5 ml do plastové stříkačky, převezeno v chladícím boxu a poté skladováno při teplotě – 20 °C.

4.2 Chemikálie

K experimentu byly použity tyto chemikálie:

- citrátový pufr připravený z kyseliny citronové o koncentraci 20,1 g/l a hydroxidu sodného o koncentraci 8,0 g/l ze Sigma-Aldrich Corporation (St. Louis, MO, USA),
- dále chlorid sodný a
- methylišobutylketon o koncentraci 33,4 µg/l ze Sigma-Aldrich Corporation (St. Louis, MO, USA).

4.3 Hodnocení senzoričky vzorků v Salonu vín

Každý vzorek byl hodnocen komisí, jejíž členové měli platné degustační zkoušky dle platných norem DIN, ISO a dalších. Komise hodnotila 50 vín v prosvětlené místnosti přes hodnotící systém ELWIS (Electronic wine system). Hodnotilo se ze skleniček Stolze Experience o objemech 450 ml. K dispozici měli degustátoři bílé pečivo a čistou vodu v potřebném množství k neutralizaci chuti. V polovině degustace proběhla přestávka o délce 15 minut.

Degustátoři provedli hodnocení ve dvou senzorických profilech – aromatický profil vína (AP) a profil struktury a mohutnosti vína (PM). Každému parametru hodnocení degustátor přidělil body 0–10, přičemž výsledné hodnocení se stalo průměrem 5 evaluací.

Jsou to:

- PM – intenzita vůně (vyjadřuje, jak intenzivní je aroma daného vína, přičemž vůně má být pozitivní),
- PM – chuťová intenzita (vyjadřuje, jak je intenzivní chuť daného vína, přičemž chuť má být pozitivní),

- PM – tělo (znamená senzoričnou plnost vína, která by měla korespondovat s bezcukerným extraktem a zbytkovým cukrem),
- PM – komplexnost (vyjadřuje, jak je víno komplexní po všech stránkách),
- PM – rovnováha (říká, jaká je vyváženost vína mezi kyselinou, cukrem a alkoholem),
- AP typ (říká, jakou metodou aroma profilů byl vzorek hodnocen; B – bílá vína, R – růžová, S – sekty a C – červená) a
- AP 1–13 (jednotlivé příchutě aromatických profilů vín, kde hodnota je průměr všech, viz Tabulka 1).

Tabulka 1: specifikace příchutí AP parametrů a jejich související složky příchutí

Skupina	Typ příchuti	Související složky příchuti
AP 1	květinová	květ lípy, pomerančovníku, bezu, luční květy, růže
AP 2	tropické ovoce	liči, maracuja, žlutý meloun, mango, banán, ananas
AP 3	citrusové ovoce	limeta, grapefruit, pomeranč, mandarinka
AP 4	jádrové ovoce	jablko, kdoule, hruška
AP 5	peckoviny	broskev, meruňka, ryngle
AP 6	drobné ovoce	angrešt, moruše, bílý rybíz
AP 7	sušené a kandované ovoce	rozinky, kompot, datle, fíky
AP 8	karamelizovaná	med, pražené oříšky, karamel, chlebová kůrka, slad
AP 9	bylinná	listy rybízu, kopřiva, zelené rajče, máta, sušené byliny
AP 10	kořenitá	bílý pepř, zázvor, koření, kari
AP 11	barrique	dřevitá, pryskyřičná, cedr, vanilka, kokos, toast, káva, kouř
AP 12	autolyzátoá a laktátová	máslo, brioška, biskvit, droždí, smetana
AP 13	minerální	petrolej, vosk, mořská tráva

4.4 Příprava vzorků pro těkavé aromatické látky

Na počátku proběhla příprava vzorků vín pro mikroextrakci tuhou fází (SPME) spočívající ve smíchání reprezentativního vzorku vína v množství 0,5 ml s 4,5 ml citrátového pufru (pH = 5,0) a 1,5 ± 0,004 g chloridu sodného v lahvičkách o objemu 20 ml, přičemž methylisobutylketon posloužil jako vnitřní standard v množství 50 µL o koncentraci 33,4 g/l na vzorek.

Viálky byly uzavřeny s pomocí šroubovacích víček, se silikon/PTFE septy, a následně byly umístěny do autosampleru.

4.5 Kvalitativní analýza těkavých látek pomocí SPME

Stanovení těkavých sloučenin ze vzorků vín provedla GC na přístroji Agilent 7200B (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) vybaveného spektrometrem typu quadrupole-time of flight (GC-QTOF).

Přístroj nejprve vzorky stabilizoval 5 minut v autosampleru při 40 °C, těkavé látky ve víně pak extrahoval 10 minut z headspace viálky s pomocí SPME vlákna (DVB – Divinylbenzen/CAR – Carboxen/PDMS – Polydimethylsiloxan) během extrakce v 450 rpm.

Poté došlo k desorbaci vzorku v nástřiku v módu splitless nastaveném na teplotu 250 °C. Pro separaci látek byla použita kolona HP-5 MS fused silica column (2 x 15 m x 0,25mm, 0,25µm), s nosným plynem v podobě ultračistého helia (He) při průtoku 1 ml/min.

Teplotní gradient ohřívače obsluha naprogramovala na počáteční teplotu 40 °C trvající 5 minut a následně zvýšen na teplotu 180 °C v růstu 5 °C/min, s konstantním zachováním hodnoty po dobu 1 minuty. Dále teplota směřovala na 280 °C rychlostí 30 °C/min, s nastavením hold teploty při maximu pro odstranění vysokovroucích sloučenin z kolony. Persistence teploty interface přístroj udržoval v hodnotě 285 °C a kalibraci hmot prováděl automaticky v každých 5 vzorcích.

Extrakce těkavých látek ze vzorků se opakovala 3x.

4.6 Identifikace sloučenin

MassHunter Software B.10.00 extrahoval hmoty a integroval peaky. Následovala konverze souborů získaných dat pro každý individuální vzorek do sure mass souborů. Peaky byly předběžně anotovány bez použití standardu na základě srovnání spekter s databází spektrálního porovnání (match factor více než 70 %, rozdíl v hmotě ne vyšší než 5 ppm teoretické hodnoty, alespoň jeden konfirmační fragment, přítomnost izotopové obálky a podobný retenční index – RI). Použité databáze zahrnovaly interní databázi aromatických látek a externí databáze, zejména databázi NIST 14 (National Institute of Standards and Technology, USA) a porovnání Kovatsových RI v jeho databázi.

4.7 GC QTOF-MS Data Pre-Processing

Získané datové soubory od každého jednotlivého vzorku převedl MassHunter Qualitative Analysis Software B.10.00 na mzdata.XML. Konvertované datové soubory nahrané do XCMS Online softwaru (based informatic platform) byly podrobeny extrakci features (features rozumíme intenzitu signálu m/z na určitém čase), tedy integrálů peaků extrahovaných na různých hmotách.

Tabulka features získaná z XCMS Online softwaru se stala základem i pro další statistickou analýzu, jako je korelační analýza.

Features s RT delším než 30 min byly z analýzy vyloučeny, neboť se pravděpodobně jednalo o artefakty.

4.8 Korelace sloučeniny a senzoričké vlastnosti

Senzoričké vlastnosti bílých vín dle jejich příchutí lze rozčlenit do 13 skupin, viz Tabulka 1.

Získané features sloučenin z XCMS Online software byly identifikovány jako m/z na konkrétním RT a dále korelovány se senzoričkými daty bílých vín, získanými ze senzoričké analýzy panelu trénovaných expertů, v programu Microsoft Excel Professional Plus 2019, prostřednictvím Pearsonova korelačního koeficientu (r).

Za významné korelace lze obvykle považovat ty, jejichž hodnota $r \geq 0,4$.

Závěrem nezbývalo než sloučeniny vykazující významný korelační vztah k aromatu jednotlivě identifikovat.

5. Výsledky a diskuze

5.1.1 Korelace instrumentálních a senzorických dat

GC-MS analýza identifikovala celkem 53 sloučenin, z nichž významné korelace je možno potvrdit u 4 aromatických profilů se 6 těkavými látkami, z nichž jsou 4 estery (pentylacetát, butylacetát, ethyllaktát, ethylvalerát), jedna kyselina (kyselina nonanová), a v 1 případě se jedná o neidentifikovanou sloučeninu (pojmenována Unknown 1) (viz Obrázek 5).

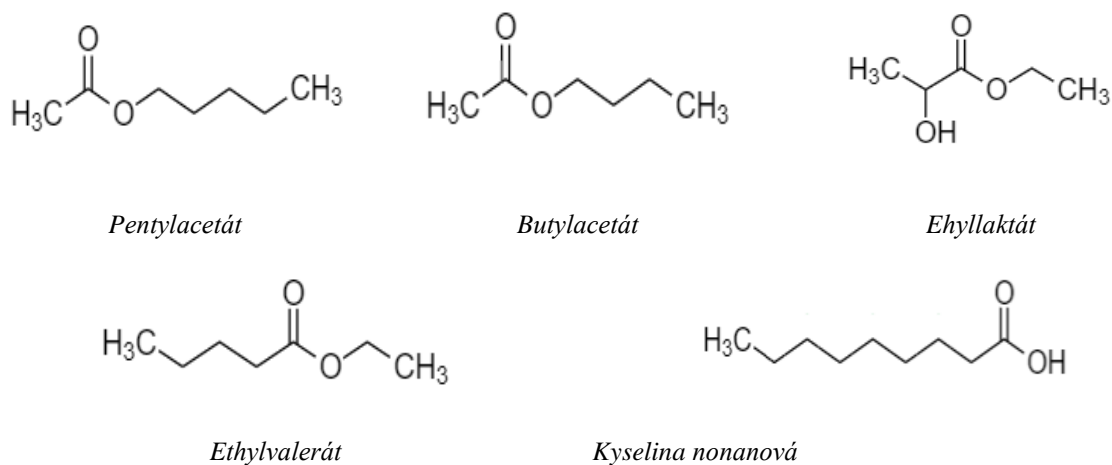
Jejich vlastnosti a vypočtenou vzájemnou korelaci ilustruje Tabulka 2.

Tabulka 2: Identifikované těkavé sloučeniny s nejvýznamnějšími korelacemi a jejich hodnotami

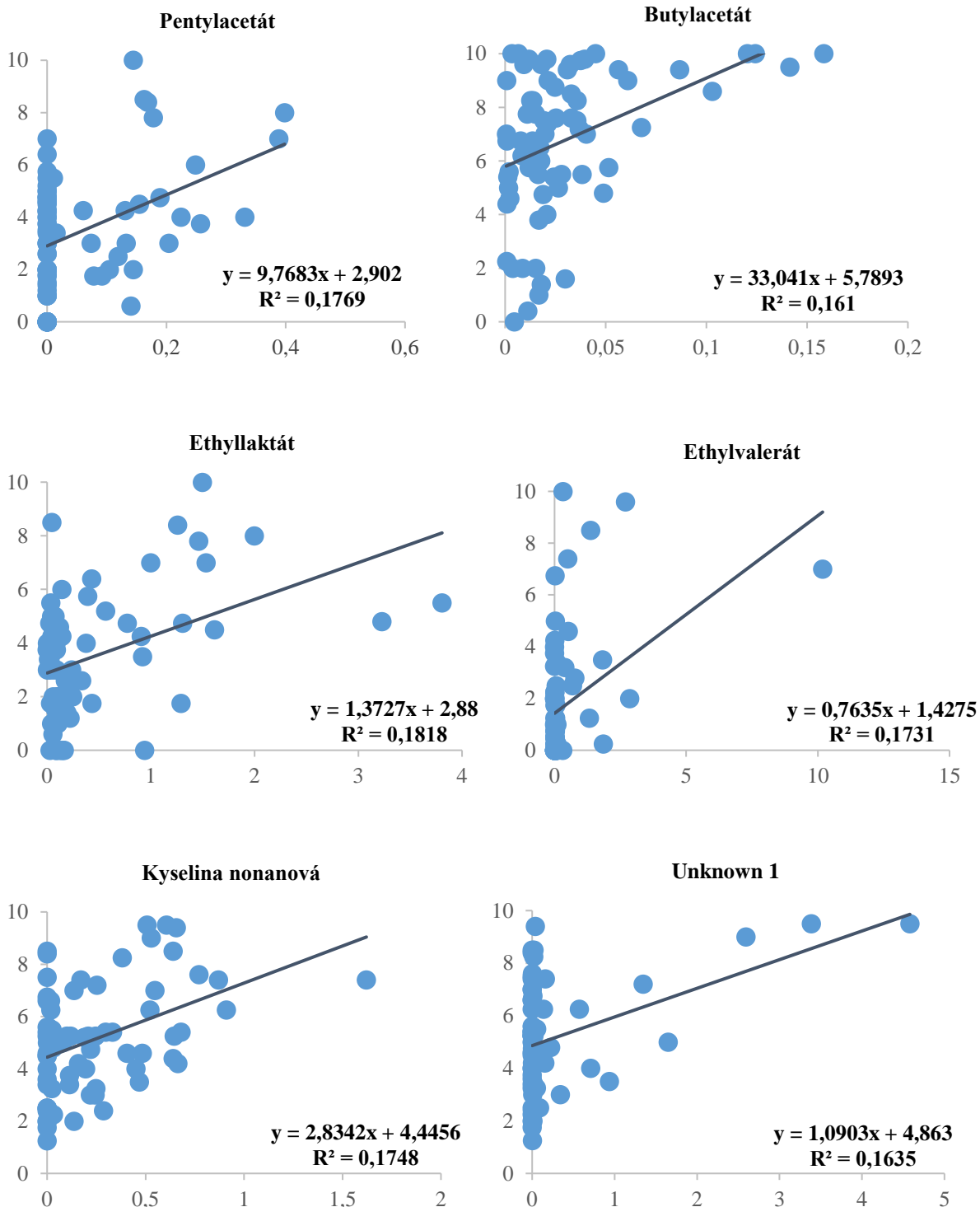
Sloučenina	Senzorická skupina	Typ příchuti	Hodnota korelace (r)	P – hodnota
Pentylacetát	AP-12	autolyzátová a laktátová	0,42	0,00023
Butylacetát	AP-8	karamelizovaná	0,40	0,00048
Ethyllaktát	AP-12	autolyzátová a laktátová	0,43	0,00019
Ethylvalerát	AP-11	barrique	0,42	0,00028
Kyselina nonanová	AP-13	minerální	0,42	0,00026
Unknown 1	AP-13	minerální	0,40	0,00043

Aromatický profil 8, odpovídající karamelizované příchuti, je spojen významně s přítomností butylacetátu. Aromatický profil 11, který odpovídá barrique příchuti, pak přítomností ethylvalerátu. Dále výsledky ukazují významnou podmíněnost aromatického profilu 12, autolyzátová a laktátová příchut', přítomností dvou sloučenin – pentylacetátu a ethyllaktátu. Konečně analýza prokázala u aromatického profilu 13, minerální příchuti, významně sepijetí s kyselinou nonanovou a Unknown 1.

Grafy korelace přítomnosti konkrétních sloučeniny a odpovídajícího aromatického profilu naznačují, že tyto vlastnosti nejsou závislé na odrůdách vín (viz Obrázek 6).



Obrázek 5: Strukturní vzorce všech identifikovaných látek s pozitivní korelací s určitým aromatickým profilem



Obrázek 6: Grafy korelace přítomnosti konkrétních sloučenin a odpovídajícího aromatického profilu

5.1.2 Těkavé látky ve vínech

Pentylacetát ve vínech vykazuje sladké aroma a aroma po kešu oříscích (Garruti et al. 2006). Vzniká jako jeden z několika acetátových esterů reakcí acetyl-CoA s vyššími alkoholy, které jsou produktem degradace sacharidů nebo aminokyselin (Lakatošová et al. 2016). Koncentrace pentylacetátu a dalších acetátových esterů je řízena podmínkami fermentace

(teplota, dostupnost živin, pH, hladiny nenasycených mastných kyselin nebo sterolů a hladinou kyslíku) a přítomností kvasinek (Berna et al. 2009). Z této informace se dá usuzovat, že pentylacetát je jedním z vedlejších produktů metabolismu kvasinek, tudíž jeho přítomnost koreluje s aromatickým profilem charakterizovaným autolyzátovou příchutí.

Butylacetát je ve vínech zodpovědný za květinově-ovocné aroma. Dále se může podílet na banánovém aromatu vín, které je významné v bílých vínech z chladného regulovaného kvašení nebo v některých červených Svatomartinských vínech. Butylacetát se může podílet na negativním aromatu po laku na nehty (zápach rozpouštědla), které je zaznamenatelné u razantně odkalených mladých bílých vín (Michlovský 2015). Pozitivní korelace přítomnosti butylacetátu s aromatickým profilem karamelizované příchuti je však z těchto informací těžko odůvodnitelná.

Ethyllaktát je produktem jablečno-mléčné fermentace, který vínům dává širší a plnější chuť. Aroma vín způsobené ethyllaktátem je popisováno jako sladké, ovocné, připomínající ananas s niancí hnědého cukru. Přítomnost ethyllaktátu může ve vínech naznačovat aktivita kmenů kvasinek např. *S. cerevisiae*, protože je jejich vedlejším produktem (Lloret et al. 2002). Tato skutečnost může vysvětlovat pozitivní korelaci přítomnosti ethyllaktátu s aromatickým profilem charakterizovaným autolyzátovou příchutí.

Ethylvalerát je ve vínech zodpovědný za jahodové, ananasové a sýrové aroma a vykazuje antimikrobiální aktivitu (Antalick et al. 2010; Patel et al. 2020). Dále je ethylvalerátu připisováno aroma hrušek, které je typické pro odrůdu vín Pinot blanc (Philipp et al. 2018). Pozitivní korelace přítomnosti ethylvalerátu s aromatickým profilem barrique příchuti je však z těchto informací těžko odůvodnitelná.

Kyselina nonanová může vzniknout β -oxidací vyšších mastných kyselin. Koncentrace kyseliny nonanové ve vínech klesá macerací díky vzniku esterů nebo během výroby vína. Během výroby vína může být zkonzumována kvasinkami (Barbará et al. 2019). Kyselina nonanová dává vínům kokosové aroma nebo mírné aroma tuku, které se může jevit jako nežádoucí (Pickering et al. 2001; Barbará et al. 2019). Je zde tedy šance, že přítomnost této kyseliny s aromatickým profilem charakterizovaným voskovou příchutí a aromatem tuku pozitivně koreluje.

Další sloučeninou s významnou pozitivní korelací s aromatickým profilem byla sloučenina Unknown 1. Její hodnota m/z byla 93,2 a hodnota RI 22 minut.

5.1.3 Chemické složení a senzorické vlastnosti vín

V minulosti bylo provedeno a vydáno několik podobných vědeckých studií, které se zabývaly korelací senzorických vlastností a těkavých látek obsažených ve vínech.

Španělský tým odborníků pod vedením Mar Vilanova (Vilanova et al. 2010) se zabýval korelací senzorických vlastností a přítomností těkavých látek španělských Albariño vín. Analyzovali 35 vzorků vín pomocí plynové chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem (Gas chromatography with flame ionization detector, GC-FID), které pocházely z pěti geografických oblastí. Výsledky výzkumu výzkumníci interpretovali pomocí metod vícerozměrného modelování jako jsou PLSR a analýzy hlavních komponent (Principal Component Analysis, PCA). Sloučeniny, které nejvíce přispěly k analýze k chuti a aromatu vín, studie spojila s ovocným (ethylestery a acetáty) a květinovým aroma (monoterpeny). Celková

skladba těkavých sloučenin spojených s charakteristickým aromatem Albariño vín byla složena z ethylbutyrátu, ethyl-3-methylbutyrátu, 3-methylbutylacetátu, ethylhexanoátu, ethyloktanoátu, linaloolu, kyseliny butanové, ethyldekanoátu, 2,3-methylbutanové kyseliny, β -damascenonu, kyseliny hexanové, kyseliny oktanové, 4-vinylguaiacolu a kyseliny dekanové. Při sensorické analýze výzkumníci našli podobné výsledky. Tato studie ukázala existenci určitých vztahů mezi těkavými látkami a sensorickými vlastnostmi Albariño vín.

Později ve Španělském království vznikla další studie, zkoumající těkavé látky a sensorické vlastnosti bílých vín z oblasti severozápadního Španělska (Vilanova et al. 2013). Zkoumala vztah aromat a těkavých látek bílých vín vyrobených z pěti hroznových kultivarů Loureira, Blanco lexítimo, Torrontés, Treixadura a Albariño tří po sobě jdoucích ročníků (2007-2009) pomocí GC-MS a Quantitative descriptive analysis (QDA). Vztah mezi instrumentálními (těkavými) a sensorickými vlastnostmi vědci analyzovali pomocí PLSR. Výsledky ukázaly 20 těkavých sloučenin relevantních k aroma a 10 sensorických deskriptorů. Zaznamenali přítomnost těchto 20 těkavých sloučenin v některých vzorcích v koncentracích vyšších než hodnoty jejich prahového vnímání, což přispělo ke konečné vůni vín. Nejvyšší koncentrace terpenů (ovocné aroma) pak identifikovali ve vínech z kultivarů Blanco lexítimo a Loureira. Při sensorické analýze degustátoři nejlépe ohodnotili vína z kultivaru Albariño. PLSR byla aplikována na data aromaticky aktivních sloučenin a sensorických deskriptorů a výsledkem bylo, že čtyři sensorické deskriptory – intenzita aroma, vůně zralého ovoce, květinové a bylinné aroma lze dobře korelovat s chemickými profily. Tato studie přispěla k poznání sensorických profilů a jejich vztahu k těkavým látkám obsaženým v galicijských vínech.

V roce 2011 vydaná studie pod vedením Ciarana G. Forde se zabývala vztahem mezi sensorickými vlastnostmi a těkavými sloučeninami vín odrůdy Cabernet Sauvignon a obsahem těkavých látek hroznů použitých k výrobě těchto vín (Forde et al. 2011). Výzkumníci získali z 9 vinic 20 vzorků hroznů ve třech ročnících. Hrozny z těchto vinic byly zpracovány a byla z nich vyrobena vína. Těkavé látky obsažené v hroznech analyzovala vědecká skupina pomocí SPME-GC-MS. Proběhlo porovnání získaných datasetů s datasety získanými ze sensorické analýzy vín. Statisticky zpracovaná data o ročnících a regionálních vlivech umožnily vidět základní vztahy mezi smyslovými deskriptory vína a těkavými látkami ve vínech nebo v hroznech. Identifikované sloučeniny v hroznech korelující s danou sensorickou vlastností byly například 2-heptanol (sladká chuť), hexanal (aroma pepře) a oktanal (aroma hroznů). Identifikované sloučeniny ve vínech korelující s danou sensorickou vlastností vín byly například β -damascenon a kyselina nonanová (aroma pepře), 1-heptanol (sladká chuť) a hexylacetát (aroma hroznů). Identifikované vztahy mezi těkavými sloučeninami hroznů nebo vín a sensorickými vlastnostmi odhalily sloučeniny, které mohou biochemicky ovlivňovat složení hroznů. Identifikované sloučeniny v této studii studie shledala jako užitečné markery hroznů nebo vín pro potenciální konečné sensorické vlastnosti vín.

6. Závěr

Tato bakalářská práce se zaměřila na vzájemný vztah sensorických profilů k obsahu těkavých látek vybraných vzorků bílých vín, stanovených pomocí GC-MS metody. Vzorky bílých vín pocházely z Národní soutěže vín a degustační expozice – SALONU VÍN České republiky 2019, kam byly vybrány na základě hodnocení v soutěži Národního vinařského centra, o. p. s.

Analýzou prošlo celkem 72 vzorků, se snahou zjistit, zda jejich chromatogramy souvisí s jejich sensorickými profily. Analýza ukázala na 6 sloučenin z 53, jejichž korelace s daným aromatickým profilem se rovnala nebo dosáhla hodnoty vyšší, než 0,4. Těmito sloučeninami jsou:

- pentyl acetát (korelace $r = 0,42$),
- butylacetát (korelace $r = 0,40$),
- ethyllaktát (korelace $r = 0,43$),
- ethylvalerát (korelace $r = 0,42$),
- kyselina nonanová (korelace $r = 0,42$) a
- Unknown 1 (neznámá sloučenina, korelace $r = 0,40$).

Je potřeba zopakovat skutečnost, podle které i přes pozitivní vztah korelace vyjmenovaných sloučenin k daným aromatickým profilům, se jedná o její relativně nízké hodnoty. Možnost predikce korelace některých chuťových vlastností s několika vybranými analyty GC-MS profilu se však víceméně potvrdila. Existuje tak pravděpodobná souvislost některých rozpoznávaných látek (pentylacetát, ethyllaktát, kyselina nonanová) s daným aromatickým profilem, a to na základě dostupných informací o jejich chemických a sensorických vlastnostech. Každopádně k jasnějšímu potvrzení této hypotézy je zapotřebí analýzy mnohem více vzorků, než měla k dispozici tato práce.

I tak však může tento příspěvek sloužit jako malý střípek v mozaice vícero podkladů pro tvorbu modelů schopných s předstihem predikovat sensorické a chuťové vlastnosti vín. Práce je, samozřejmě ve své skromnosti, využitelná i ke zkoumání možností, jak ovlivnit chuť vín cílenou intervencí do obsahu těkavých chemických látek vín.

Takovéto analýzy a rozpoznání široké palety obsahových sloučenin, korelujících se sensorickými vlastnostmi, mohou být dobré kroky na cestě k naplnění poptávky spotřebitelů po vínech se stanovenými sensorickými parametry a zvýšení obliby konzumace vín jakožto ekonomicky žádoucího důsledku.

7. Literatura

Antalick G, Perello MC, de Revel G. 2010. Development, validation and application of a specific method for the quantitative determination of wine esters by headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry* **121**(4):1236–1245.

Ashok PK, Upadhyaya K. 2012. Tannins are astringent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* **1**(3):45–50.

Bakker J, Clarke RJ. 2011. *Wine Flavour Chemistry*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford.

Baoshan S, Spranger M. 2005. Quantitative extraction and analysis of grape and wine proanthocyanidins and stilbenes: review. *Ciência e Técnica Vitivinícola* **20**(2):59–90.

Barbará J, Silva É, Biasoto A, Gomes A, Correa L, Leão P, Zini C. 2019. Maturation and maceration effects on tropical red wines assessed by chromatography and analysis of variance–Principal component analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **30**(7):1357–1377.

Bartle KD, Myers P. 2002. History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **21**(9–10):547–557.

Bartowsky EJ. 2009. Bacterial spoilage of wine and approaches to minimize it. *Letters in Applied Microbiology* **48**(2):149–156.

Bartowsky EJ, Henschke PA. 2008. Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine–A review. *International Journal of Food Microbiology* **125**(1):60–70.

Berna AZ, Trowell S, Clifford D, Cynkar W, Cozzolino D. 2009. Geographical origin of Sauvignon Blanc wines predicted by mass spectrometry and metal oxide based electronic nose. *Analytica Chimica Acta* **648**(2):146–152.

Boschfute J, Riuamatell M, Guadayol J, Caixach J, Lopez Tamames E, Buxaderas S. 2007. Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) analysis. *Food Chemistry* **105**(1):428–435.

Chassagne D, Guilloux-Benatier M, Alexandre H, Voilley A. 2005. Sorption of wine volatile phenols by yeast lees. *Food Chemistry* **91**(1):39–44.

Cormier F, Do CB. (1993). *Vitis vinifera L. (Grapevine): In Vitro Production of Anthocyanins*. In: Bajaj YPS (eds) *Medicinal and Aromatic Plants V*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Crépin L, Nidelet T, Sanchez I, Dequin S, Camarasa C. 2012. Sequential Use of Nitrogen Compounds by *Saccharomyces cerevisiae* during Wine Fermentation: a Model Based on Kinetic and Regulation Characteristics of Nitrogen Permeases. *Applied and Environmental Microbiology* **78**(22):8102–8111.

Cserhádi T, Szőgyi M. 2013. Chromatography of wine. *European Chemical Bulletin* **2**(2): 78–83.

Čížková H. 2019. Falšování vína. *PotravinyInfo.cz*. Available from

<https://www.potravinyinfo.cz/33/falsovani-vina-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EtI668NLI3Lv-FTgOpjxDaFPpA5B5rrwHw/> (accessed February 2021).

Čížková H, Ševčík R, Rajchl A, Pivoňka J, Voldřich M. 2012. Trendy v autenticitě potravin a v přístupech k detekci falšování. *Chemické Listy* **106**(10):903–910.

Daeschel MA, Jung DS, Watson BT. 1991. Controlling wine malolactic fermentation with nisin and nisin-resistant strains of *Leuconostoc oenos*. *Applied and Environmental Microbiology* **57**(2):601–603.

De-la-Fuente-Blanco A, Sáenz-Navajas MP, Ferreira V. 2016. On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry* **210**:107–114.

De-la-Fuente-Blanco A, Sáenz-Navajas MP, Ferreira V. 2020. Fourteen ethyl esters of wine can be replaced by simpler ester vectors without compromising quality but at the expense of increasing aroma concentration. *Food Chemistry* **307** (125553) DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125553.

Desportes C, Charpentier M, Duteurtre B, Maujean A, Duchiron F. 2000. Liquid chromatographic fractionation of small peptides from wine. *Journal of Chromatography A* **893**(2):281–291.

Emwas AHM, Al-Talla ZA, Yang Y, Kharbatia NM. 2015. Gas Chromatography–Mass Spectrometry of Biofluids and Extracts. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.) **1277**: 91–112.

Ferreira RB, Piçarra-Pereira MA, Monteiro S, Loureiro VB, Teixeira AR. 2001. The wine proteins. *Trends in Food Science & Technology* **12**(7):230–239.

Ferreira V, Jarauta I, López R, Cacho J. 2003. Quantitative determination of sotolon, maltol and free furaneol in wine by solid-phase extraction and gas chromatography–ion-trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1010**(1):95–103.

Ferrer-Gallego R, Brás NF, García-Estévez I, Mateus N, Rivas-Gonzalo JC, de Freitas V, Escribano-Bailón MT. 2016. Effect of flavonols on wine astringency and their interaction with human saliva. *Food Chemistry* **209**:358–364.

Forde CG, Cox A, Williams ER, Boss PK. 2011. Associations between the Sensory Attributes and Volatile Composition of Cabernet Sauvignon Wines and the Volatile Composition of the Grapes Used for Their Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**(6):2573–2583.

Friedecký D, Lemr K. 2012. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klin. Biochem. Metab.* **20**(41):152–157.

Garruti DS, de Abreu FAP, Franco MRB, da Silva MAAP. 2006. The influence of fermentation temperature and sulfur dioxide on the volatile composition and flavour profile of cashew wine. *Developments in Food Science* **43**:109–112.

Gauriat-Desroy B, Phillips E, Crain S, Robarge T. 2011. Identification and Quantification of

Impurities in Wines by GC / MS (Application Note No. 52242). Thermo Fisher SCIENTIFIC http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/AN52242_E_1011M_Wines_H.pdf.

Gómez-Míguez MJ, Cacho JF, Ferreira V, Vicario IM, Heredia FJ. 2007. Volatile components of Zalema white wines. *Food Chemistry* **100**(4):1464–1473.

Gonçalves J, Silva CL, Castilho PC, Câmara JS. 2013. An attractive, sensitive and high-throughput strategy based on microextraction by packed sorbent followed by UHPLC-PDA analysis for quantification of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids in wines. *Microchemical Journal* **106**:129–138.

González Álvarez M, González-Barreiro C, Cancho-Grande B, Simal-Gándara J. 2011. Relationships between Godello white wine sensory properties and its aromatic fingerprinting obtained by GC–MS. *Food Chemistry* **129**(3):890–898.

Granato D, Katayama FChU, de Castro IA. 2011. Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. *Food Chemistry* **129**(2):366–373.

Gu X, Chu Q, O'Dwyer M, Zeece M. 2000. Analysis of resveratrol in wine by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A* **881**(1–2):471–481.

Hansen AMS, Frandsen HL, Fromberg A. 2016. Authenticity of raspberry flavor in food products using SPME-chiral-GC-MS. *Food Science and Nutrition* **4**(3):348–354.

Horák T, Čulík J, Štěrbá K, Olšovská J. 2013. Advantages and Disadvantages of Substitution of Helium as Carrier Gas in Gas Chromatography by Hydrogen. Part I. - Technical and Safety Aspects. *Kvasný Průmysl* **59**(6):162–166.

Ilc T, Werck-Reichhart D, Navrot N. 2016. Meta-Analysis of the Core Aroma Components of Grape and Wine Aroma. *Frontiers in Plant Science* **7** (1472) DOI: 10.3389/fpls.2016.01472.

Ivanova V, Stefova M, Vojnoski B, Stafilov T, Bíró I, Bufa A, Felinger A, Kilár F. 2013. Volatile Composition of Macedonian and Hungarian Wines Assessed by GC/MS. *Food and Bioprocess Technology* **6**(6):1609–1617.

Kritzinger EC, Bauer FF, du Toit WJ. 2013. Role of glutathione in winemaking: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**(2):269–277.

Krofta J, Podehradská J, Vozňáková Z. 1997. Plynová chromatografie. In: *Návody pro laboratorní cvičení z Analytické chemie II*. VŠCHT, Praha.

Kunkee RE. 1984. Selection and modification of yeasts and lactic acid bacteria for wine fermentation. *Food Microbiology* **1**(4):315–332.

Lakatošová J, Priesolová L, Dokupilová I, Yoncheva T, Šmogrovičová D, Kaňuchová Pátková J. 2016. Classical oenological parameters and concentration of selected higher alcohols and esters in traditional fermented slovakian and bulgarian wines. *Journal of Food and Nutrition Research* **55**(1):1–10.

- Lloret A, Boido E, Lorenzo D, Medina K, Carrau F, Dellacassa E, Versini G. 2002. Aroma variation in tannat wines: Effect of malolactic fermentation on ethyl lactate level and its enantiomeric distribution. *Italian Journal of Food Science* **14**(2):175–180.
- Long D, Wilkinson K, Taylor D, Jiránek V. 2018. Novel Wine Yeast for Improved Utilisation of Proline during Fermentation. *Fermentation* **4**(1):10.
- Lonvaud-Funel A. 2001. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* **199**(1):9–13.
- López R, Aznar M, Cacho J, Ferreira V. 2002. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* **966**(1–2):167–177.
- Marangon M, Vincenzi S, Lucchetta M, Curioni A. 2010. Heating and reduction affect the reaction with tannins of wine protein fractions differing in hydrophobicity. *Analytica Chimica Acta* **660**(1–2):110–118.
- Margalit Y. 2012. Concepts in wine chemistry. Wine Appreciation Guild, San Francisco.
- Marques AP, Leitão MC, San Romão MV. 2008. Biogenic amines in wines: Influence of oenological factors. *Food Chemistry* **107**(2):853–860.
- Martínez-Rodríguez AJ, Polo MC. 2000. Characterization of the Nitrogen Compounds Released during Yeast Autolysis in a Model Wine System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**(4):1081–1085.
- Medhe S. 2018. Mass Spectrometry: Detectors Review. *Chemical and Biomolecular Engineering* **3**(4):51–58.
- Michlovský M. 2014. Lexikon chemického složení. Vinselekt Michlovský a.s., Rakvice.
- Michlovský M. 2015. Encyklopedie degustace vína. Vinselekt Michlovský a.s., Rakvice.
- Minuti L, Pellegrino RM, Tesei I. 2006. Simple extraction method and gas chromatography–mass spectrometry in the selective ion monitoring mode for the determination of phenols in wine. *Journal of Chromatography A* **1114**(2):263–268.
- Moreno-Arribas MV, Polo MC. 2009. Amino Acids and Biogenic Amines. In: Moreno-Arribas MV, Polo MC (eds) *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer. New York, NY.
- Nikolantonaki M, Chichuc I, Teissedre PL, Darriet P. 2010. Reactivity of volatile thiols with polyphenols in a wine-model medium: Impact of oxygen, iron, and sulfur dioxide. *Analytica Chimica Acta* **660**(1–2):102–109.
- Nouadje G, Siméon N, Dedieu F, Nertz M, Puig Ph, Couderc F. 1997. Determination of twenty eight biogenic amines and amino acids during wine aging by micellar electrokinetic chromatography and laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography A* **765**(2):337–343.

Osborne JP, de Orduña RM, Pilone GJ, Liu SQ. 2000. Acetaldehyde metabolism by wine lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* **191**(1):51–55.

Özcan R, Cesur B, Tezgit E, Unutkan Gösterişli T, Bakirdere S. 2021. Determination of pyridaphenthion in soybean sprout samples by gas chromatography mass spectrometry with matrix matching calibration strategy after metal sieve linked double syringe based liquid-phase microextraction. *Food Chemistry* **342** (128294) DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128294.

Patel V, Tripathi AD, Adhikari KS, Srivastava A. 2020. Screening of physicochemical and functional attributes of fermented beverage (wine) produced from local mango (*Mangifera indica*) varieties of Uttar Pradesh using novel *saccharomyces* strain. *Journal of Food Science and Technology* **1-10** DOI: 10.1007/s13197-020-04731-9.

Pavloušek P. 2006. *Výroba vína u malovinařů*. Grada Publishing a.s., Praha.

Pavloušek P. 2010. *Výroba vína u malovinařů*. Grada Publishing a.s., Praha.

Pérez-Olivero SJ, Pérez-Pont ML, Conde JE, Pérez-Trujillo JP. 2014. Determination of Lactones in Wines by Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* **2014**:1–10.

Perrot L, Charpentier M, Charpentier C, Feuillat M, Chassagne D. 2002. Yeast adapted to wine: Nitrogen compounds released during induced autolysis in a model wine. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **29**(3):134–139.

Peťka J, Farkaš P. 2001. Prchavé látky vo víne – zloženie a ich vplyv na arómu. *Bulletin potravinárskeho výskumu* **40**(2):91–100.

Philipp Ch, Eder P, Brandes W, Patzl-Fischerleitner E, Eder R. 2018. The Pear Aroma in the Austrian Pinot Blanc Wine Variety: Evaluation by Means of Sensorial-Analytical-Typograms with regard to Vintage, Wine Styles, and Origin of Wines. *Journal of Food Quality* **2018**(3): 1–12.

Pickering GJ, Heatherbell DA, Barnes MF. 2001. GC-MS Analysis of Reduced-alcohol Müller-Thurgau Wine Produced using Glucose Oxidase-treated Juice. *LWT – Food Science and Technology* **34**(2):89–94.

Plata C, Millán C, Mauricio JC, Ortega JM. 2003. Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts. *Food Microbiology* **20**(2):217–224.

Poole CF. 2015. Ionization-based detectors for gas chromatography. *Journal of Chromatography A* **1421**:137–153.

Prudêncio Dutra MC, de Souza JF, Viana AC, de Oliveira D, Pereira GE, Dos Santos Lima M. 2018. Rapid determination of the aromatic compounds methyl-anthranilate, 2'-aminoacetophenone and furaneol by GC-MS: Method validation and characterization of grape derivatives. *Food Research International* **107**:613–618.

Průša K, Smejkal O. 1983. A charge of acid content in wine. *Kvasný Průmysl* **29**(7):161–163.

- Regodón Mateos J.A, Pérez-Navado F, Ramírez Fernández M. 2006. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain on the major volatile compounds of wine. *Enzyme and Microbial Technology* **40**(1):151–157.
- Rentzsch M, Wilkens A, Winterhalter P. 2009. Non-flavonoid Phenolic Compounds. In: Moreno-Arribas MV, Polo MC (eds) *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer. New York, NY.
- Robles A, Fabjanowicz M, Chmiel T, Płotka-Wasyłka J. 2019. Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **120** (115630) DOI: 10.1016/j.trac.2019.115630.
- Samphao A, Butmee P, Saejueng P, Pukahuta Ch, Švorc L, Kalcher K. 2018. Monitoring of glucose and ethanol during wine fermentation by bienzymatic biosensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **816** DOI: 10.1016/j.jelechem.2018.03.052.
- Sanz Luz M, Martínez-Castro I. 2009. Carbohydrates. In: Moreno-Arribas MV, Polo MC (eds) *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer. New York, NY.
- Scanes, KT, Hohmann S, Prior BA. 1998. Glycerol production by the yeast *Saccharomyces* and its relevance to wine: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture* **19**(1): 17–24.
- Sedláčková E, Valášek P, Mlček J, Adámková A, Adánek M, Pummerová M. 2018. The importance of higher alcohols and esters for sensory evaluation of rheinriesling and chardonnay wine varieties. *Potravinárstvo* **12**(1):615-621.
- Silva Ferreira AC, Guedes de Pinho P. 2004. Nor-isoprenoids profile during port wine ageing— influence of some technological parameters. *Analytica Chimica Acta* **513**(1):169–176.
- Singleton VL. 1988. Wine Phenols. In: Linskens HF, Jackson JF (eds) *Wine Analysis. Modern Methods of Plant Analysis*. Springer, Berlin, Heidelberg,
- Sumby KM, Grbin PR, Jiránek V. 2010. Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects *Food Chemistry* **121**(1):1–16.
- Tamasi K, Zsoldos G. 2017. Examination of essential oils used in PLA with GC-MS method. *International Journal of Engineering Research and Science* **3**(9):58–63.
- Terral JF, Tabard E, Bouby L, Ivorra S, Pastor T, Figueiral I, Picq S, Chevance JB, Jung C, Fabre L, Tardy Ch, Compan M, Bacilieri R, Lacombe T, This P. 2010. Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Annals of Botany* **105**(3):443–455.
- Vilanova M, Escudero A, Graña M, Cacho J. 2013. Volatile composition and sensory properties of North West Spain white wines. *Food Research International* **54**(1):562–568.
- Vilanova M, Genisheva Z, Masa A, Oliveira JM. 2010. Correlation between volatile composition and sensory properties in Spanish Albariño wines. *Microchemical Journal* **95**(2):

240–246.

Vilanova M, Oliveira JM. 2012. Application of Gas Chromatography on the Evaluation of Grape and Wine Aroma in Atlantic Viticulture (NW Iberian Peninsula). In: Bekir S (eds) Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications. InTechOpen, Rijeka.

Volný M. 2011. Hmotnostní spektrometrie: Přehled zajímavých oblastí aktuálního vývoje. Chemické Listy **105**(4):230–236.

Wang N, Chen S, Zhou Z. 2020. Age-dependent characterization of volatile organic compounds and age discrimination in Chinese rice wine using an untargeted GC/MS-based metabolomic approach. Food Chemistry **325** (126900) DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126900.

Waterhouse AL, Sacks GL, Jeffery DW. 2016. Understanding Wine Chemistry. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.

Yelmame PA, Kalkotwar RS, Patil V, Yadav SP. 2017. Identification & Quantification of Impurities in Red & White Wine By GC-MS. International Journal for Research in Engineering Application & Management (IJREAM) **3**(9):77–82.

Evropský parlament a Rada (ES). 2002. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin.

Evropský parlament a Rada EU. 2013. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013 ze dne 17. prosince 2013, kterým se stanoví společná organizace trhů se zemědělskými produkty a zrušují nařízení Rady (EHS) č. 922/72, (EHS) č. 234/79, (ES) č. 1037/2001 a (ES) č. 1234/2007.

Ministerstvo zemědělství. 2019. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 132/2015 Sb., o sazebníku náhrad nákladů za rozborů prováděné laboratořemi Státní zemědělské a potravinářské inspekce pro účely kontroly, ve znění vyhlášky č. 396/2016 Sb. Page 1098 in Sbírka zákonů České republiky, 2019, částka 55. Česká republika.

8. Seznam použitých zkratk a symbolů

AP	Aromatický profil
CAR	Carboxen
DIN	Deutsche Industrie-Norm
DVB	Divinylbenzen
ELWIS	Electronic Wine System
GC	Gas chromatography, Plynová chromatografie
GC-FID	Gas chromatography with flame-ionization detector, Plynová chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem
GC-MS	Gas chromatography with mass spectrometry, Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
HP-5 MS	(5%-phenyl)-methylpolysiloxane
ISO	International Organization for Standardization, Mezinárodní organizace pro normalizaci
MS	Mass spectrometry, Hmotnostní spektrometrie
m/z	Mass-to-charge ratio, Poměr hmotnosti a náboje
NITS	National Institute of Standards and Technology, Národní institut standardů a technologie
PCA	Principal Component Analysis, Analýza hlavních komponent
PDMS	Polydimethylsiloxan
PLSR	Partial least squares regression, Částečná regrese nejmenších čtverců
PM	Profil struktury a mohutnosti vína
PTFE	Polytetrafluorethen
QTOF	Quadrupole Time-of-Flight
RI	Retention index, Retenční index
RT	Retention time, Retenční čas
rpm	Revolutions per minute, Otáčky za minutu
SPME	Solid Phase Micro Extraction, Mikroextrakce tuhou fází
QDA	Quantitative descriptive analysis

9. Seznam obrázků a tabulek

Obrázek 1: Deriváty hydroxybenzových kyselin	17
Obrázek 2: Schéma ideálního chromatogramu s peaky (převzato z Tamasi & Zsoldos 2017).....	23
Obrázek 3: Elektronová ionizace (převzato z Friedecký & Lemr 2012).....	24
Obrázek 4: Schéma hlavních přístroje GC-MS (převzato z Emwas et al. 2015)	25
Obrázek 5: Strukturní vzorce všech identifikovaných látek s pozitivní korelací s určitým aromatickým profilem	31
Obrázek 6: Grafy korelace přítomnosti konkrétních sloučenin a odpovídajícího aromatického profilu	32
Tabulka 1: Specifikace příchutí AP parametrů a jejich související složky příchutí.....	28
Tabulka 2: Identifikované těkavé sloučeniny s nejvýznamnějšími korelacemi a jejich hodnotami.....	31