



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

# TĚKAVÉ LÁTKY VE VÍNECH MINORITNĚ ZASTOUPENÝCH ODRŮD

VOLATILE SUBSTANCES IN WINES OF MINOR VARIETIES

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Eliška Riedlová

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2024

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1968/2023 Akademický rok: 2023/24  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Eliška Riedlová**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Biochemická technologie  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Těkavé látky ve vínech minoritně zastoupených odrůd

### Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární rešerši dané problematiky – látkové složení vína se zaměřením na těkavé (aromatické) látky, charakteristika vybraných odrůd, možnosti stanovení odrůdově typických těkavých látek.
2. Analyzujte vzorky vín vyrobených z minoritně pěstovaných odrůd vinné révy.
3. Srovnajte aromatický profil vín, diskutujte rozdíly/podobnosti mezi vzorky.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

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

-----  
Eliška Riedlová  
studentka

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

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Bakalářská práce se zaměřuje na analýzu a porovnání aromatického profilu vybraných vzorků bílých vín minoritně zastoupených odrůd. Pro experimentální část byly vybrány a analyzovány odrůdy Neuburské a Kerner, pocházející ze čtyř vinařských oblastí: slovácké, znojenské, velkopavlovické a mikulovské. Pro identifikaci a kvantifikaci těkavých látek byla využita headspace mikroextrakce na pevnou fázi ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní detekcí. Pomocí 16 standardů byla ověřena linearita použité metody, tyto byly následně použity pro kvantifikaci; koeficienty spolehlivosti  $R^2$  se pohybovaly v rozmezí 0,9816 – 0,9995.

Ve vzorcích bylo celkem identifikováno 62 těkavých látek.

Ze všech identifikovaných sloučenin bylo vybráno 21 látek zastoupených ve většině vzorků a tvořících největší podíl na aroma obou odrůd. Ve všech vzorcích výrazně převažovaly estery, mírně se však lišilo složení vzorků z různých oblastí.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

víno, aromatické látky, SPME, GC-MS

## **ABSTRACT**

The thesis focuses on the analysis and comparison of the aromatic profile of selected samples of white wines of minority varieties. For the experimental part, the varieties Neuburger and Kerner, originating from four wine regions: Slovácko, Znojmo, Velké Pavlovice, and Mikulov, were selected and analyzed. For the identification and quantification of volatile compounds, headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography and mass spectrometry detection was used. The linearity of the applied method was verified using 16 standards, which were subsequently used for quantification; the reliability coefficients  $R^2$  ranged from 0,9816 to 0,9995.

A total of 62 volatile compounds were identified in the samples.

Of all the identified compounds, 21 substances were selected as being present in the majority of the samples and constituted the largest contribution to the aroma of both varieties. In all samples, esters were predominant, but the composition of samples from different areas varied slightly.

## **KEYWORDS**

wine, aroma compounds, SPME, GC-MS

RIEDLOVÁ, Eliška. *Těkavé látky ve vinech minoritně zastoupených odrůd* [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-05-18]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156697>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

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

## OBSAH

1	ÚVOD .....	8
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
2.1	Historie a současnost vinohradnictví a vinařství na našem území .....	9
2.2	Minoritně zastoupeny odrůdy révy vinné.....	9
2.2.1	Kerner.....	10
2.2.2	Neuburské.....	11
2.3	Chemické složení vína .....	12
2.3.1	Voda a minerální látky .....	12
2.3.2	Sacharidy .....	13
2.3.3	Alkoholy .....	13
2.3.4	Kyseliny .....	14
2.3.5	Fenoly .....	15
2.3.6	Estery .....	17
2.3.7	Terpeny.....	18
2.3.8	Norisoprenoidy.....	19
2.3.9	Methoxypyraziny .....	19
2.3.10	Dusíkaté látky.....	20
2.4	Instrumentální analytické metody .....	20
2.4.1	Plynová chromatografie .....	20
2.4.2	Hmotnostní spektrometrie .....	21
2.4.3	Mikroextrakce na tuhou fázi .....	22
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	23
3.1	Použité přístroje a laboratorní vybavení.....	23
3.2	Použité chemikálie .....	23
3.3	Analyzované vzorky.....	23
3.4	Použitá metoda HS-SPME-GC-MS .....	24
3.4.1	Příprava vzorků před analýzou.....	24
3.4.2	Podmínky analýzy .....	24

3.4.3	Příprava standardních roztoků.....	24
3.5	Zpracování dat.....	24
4	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	26
4.1	Ověření linearity použité metody.....	26
4.2	Charakterizace aromatických látek ve vzorcích.....	26
5	ZÁVĚR.....	31
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	32
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	36

# 1 ÚVOD

Víno má velmi dlouhou historii a je jedním z nejstarších nápojů lidstva. Pěstování vína má v České republice dlouhou a bohatou historii, která sahá až do dob starověku. Vinařství se zde vyvíjelo po staletí a stalo se nedílnou součástí kulturního a hospodářského dědictví. První zmínky o pěstování vinné révy na našem území pochází již z dob říše římské, ale skutečný rozmach vinohradnictví nastal až v době středověku. V průběhu staletí se vinohradnictví rozšířilo do různých regionů a vyvinulo se v umění, které ovlivňuje nejenom chuť a kvalitu vína, ale také společenský život a kulturu. Víno se stalo významným symbolem v různých kulturách a náboženstvích. V křesťanství je například považováno za symbol mládí a věčného života, zatímco červené víno symbolizuje krev a oběť.

V posledních letech stoupá zájem o výzkum a zkoumání aromatického potenciálu vín minoritně zastoupených odrůd. Oproti běžnějším odrůdám mají tyto menší a méně rozšířené odrůdy potenciál obohatit paletu českých vín o nové a neobvyklé aroma. Avšak v České republice se koncentrace těchto minoritních odrůd postupně snižuje, neboť jsou často vytlačovány komerčně úspěšnějšími a běžněji pěstovanými odrůdami. Tento trend představuje hrozbu pro rozmanitost a bohatství našich vinařských tradic. Analýzou a porovnáním aromatického profilu vybraných vzorků vín z těchto méně častých odrůd se tato bakalářská práce snaží přispět k lepšímu porozumění jejich významu a potenciálu v současném vinařství, a zároveň upozornit na důležitost jejich zachování a ochrany.



## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Historie a současnost vinohradnictví a vinařství na našem území

Počátky vinohradnictví v České republice jsou spojovány s Římany, kdy římský císař Probus nařídil vysazovat vinice v římských koloniích za Alpami. Ke značnému rozšíření vinic došlo v 9. a 10. století v období Velkomoravské říše. Podle pověsti byl kníže Bořivoj při narození jeho syna Spytihněva obdarován moravským vínem. Také svatý Václav byl údajně obeznámen s uměním výroby vína, a proto byl uctíván jako nejvyšší perkmistr vinic. Klášterní komunity sehrály významnou roli při rozšiřování vinic v raném období středověku, které zakládaly vinice, pěstovali vinnou révu a věnovaly se výrobě vína. Záznam o nejstarších českých vinicích se datuje do roku 1057, kdy kníže daroval vinice nedaleko Litoměřic místnímu kostelu. V průběhu 13. století docházelo k masivnímu zakládání rozsáhlých vinic kláštery. V raném středověku rostla obliba vína, a vinná réva se začala vyskytovat také v blízkosti šlechtických sídel, zejména pak ve městech. Význačný podíl na rozmachu našeho vinařství měl v období jeho vlády Karel IV., který nechal do Čech dovést révu z Burgundska a Porýní. Karel IV. také nařídil zakládání vinic na různých vhodných místech. Roku 1907 byl vydán první vinařský zákon obsahující přesnou definici vína a dovolené a nedovolené postupy při jeho výrobě. Na přelomu tisíciletí bylo klíčovým krokem směrem ke zvýšení kvality pěstování révy vinné a výroby vína přijetí vinařského zákona v roce 1995 a jeho úprava při vstupu do Evropské unie v roce 2004 [1, 2].

Česká republika se v současné době dělí na dvě hlavní vinařské oblasti – Morava a Čechy, a na 6 podoblastí – Mikulovskou, Velkopavlovickou, Slováckou, Znojenskou, Mělnickou a Litoměřickou. Celková plocha vinic je 18 512 ha. Klimatické podmínky Moravy jsou podobné jako v nejlepších vinařských oblastech Německa či Francie, proto se až 96 % vinic nachází zde. Spotřeba vína činila v roce 2010 11 % objemu konzumovaných alkoholických nápojů v České republice, přičemž průměrná spotřeba činila 19,4 litrů vína na osobu ročně. Tato čísla postupně rostou, pravděpodobně díky rozšiřujícím se znalostem o vínech a poklesu cen způsobenému mezinárodní konkurencí. Česká republika je čistým dovozcem vína, kdy dováží více než polovinu své spotřeby, ačkoli spotřeba místních vín s časem roste [3, 4, 7].

### 2.2 Minoritně zastoupeny odrůdy révy vinné

Pěstování vinné révy pro výrobu vína tvoří podstatnou část z oblasti českého zemědělství, která se v posledních letech výrazně zlepšila. Většina variant vinné révy patří do 14 rodů čeledi *Vitaceae*. Převážná část těchto druhů má svůj původ v Severní Americe a Asii, přičemž jen málo z nich je vhodných pro pěstování jak v chladnějších, tak i tropických oblastech. Pro výrobu vína má významný vliv pouze rod *Vitis*, zejména jeho podrod *Vinifera*. Z Evropy pochází pouze jediný druh vinné révy, kterým je réva evropská, známá také jako réva ušlechtilá, označovaná *Vitis vinifera* [2, 5].

Právě tento druh révy je jednou z nejstarších plodin na světě a její pěstování se odráží v regionální identitě lidí z různých geografických oblastí. V rámci druhu *Vitis vinifera* je velká biodiverzita a odhaduje se, že celosvětově se pěstuje více než 9600 odrůd. Koncem 19. století byly evropské vinice postiženy nejvýznamnějšími houbovými chorobami a škůdci révy vinné, což vedlo k iniciaci šlechtění nových mezidruhových odrůd s větší odolností proti těmto chorobám. Hrozny se pěstují především v oblastech s příznivými klimatickými podmínkami,

kdy nejdůležitějšími jsou teploty během vegetačního období a úroveň slunečního záření. Tyto parametry mají zásadní vliv na obsah účinných látek v ovoci, který určuje jejich chuť a vhodnost pro proces výroby vína. Vinice po staletí formovaly charakter kulturní krajiny v oblastech s příznivým klimatem. Z celkové produkce vína v Česku tvoří dvě třetiny bílé víno a jednu třetinu víno červené. Tyto poměry odpovídají poměru vinic osázených bílými a modrými odrůdami. Půdní poměry jsou různorodé s převažujícími kamenitými, skeletovými, písčítými a také jílovitými půdami [5–8].

### **2.2.1 Kerner**

Kerner je poměrně mladá odrůda vyšlechtěná v roce 1929 v Německu křížením odrůd Trolínské a Ryzlink rýnský. V roce 1969 bylo povoleno pěstování odrůdy Kerner ve všech německých vinařských oblastech a udělena mu byla ochranná autorská práva. V současné době je čtvrtou nejzastoupenější odrůdou v Německu, kde zaujímá celkovou plochu až 6500 hektarů. Jeho podíl v České republice na celkovou plochu vinic je pouze 0,14 % [2, 6].

Vyznačuje se středně velkými, tmavozelenými listy s hrubým povrchem, jeho hrozny jsou středně velké, křídlaté se žlutozelenými bobulemi, s hnědým líčkem a tuhou slupkou (viz Obrázek 1). Bobule vykazují příjemnou a hutnou sladkou chuť. Odrůda dává vznik zelenožlutým vínům se svěžími aromatickými látkami a ovocnou, kořenitou chutí [2, 7].

Odolnost odrůdy vůči mrazu a napadení plísní révy je dobrá, avšak její odolnost vůči plísní šedé a proti napadení padlím révy klesá. Kerner je optimální pro pěstování na hlinitých půdách s vysokým obsahem vápníku. Preferuje vyvýšené terény s lepším prouděním vzduchu. Na půdách s vysokým obsahem vápníku nedochází ke známkám žloutnutí listů, což je způsobeno nedostatkem železa. Tato odrůda není vhodná pro příliš suché klimatické podmínky. Vzhledem k výše uvedeným charakteristikám by bylo vhodné pěstovat tuto odrůdu v severnějších částech českých vinařských oblastí [2, 7].



*Obrázek 1: Vzhled hroznů a listů odrůdy Kerner [11]*

### **2.2.2 Neuburské**

Odrůda Neuburské pochází z Rakouska, kde je známa pod názvem Neuburger. Na základě aktuálních poznatků se jedná o křížence odrůd Veltlínské červené a Sylvánské zelené. Neuburské se v minulosti na Moravě výrazně rozšířilo a do značné míry vytlačilo dříve dominantní odrůdu Sylvánské zelené. Růst popularity této odrůdy byl způsoben schopností prosperovat v suchých a prudce svažitéch polohách. Historicky bylo Neuburské nejvíce pěstováno na Mutěnicku a Velkopavlovicku. Její podíl v České republice činí 1,6 % z celkové plochy vinic. Nicméně dochází k trvalému poklesu jejího pěstování zejména kvůli rostoucí poptávce po jiných odrůdách a obtížnostem spojenými s jejím pěstováním, včetně náchylnosti k nemocem, zejména viru révového listu, který ohrožuje přežití révy [2, 12, 13, 14].

Jedná se o středně ranou moštovou bílou odrůdu se středně velkými, třílaločnými listy, pětiúhelníkového tvaru (viz Obrázek 2). Hrozny se vyznačují malou až střední velikostí se žlutozelenými, kulatými bobulemi nesoucími na tlusté slupce tmavé tečkování. Odrůda je středně odolná proti napadení plísní šedou nebo plísní révy a její schopnost odolat mrazu je nízká [2, 13, 14].

Neuburské dává vznik jemně aromatickým vínům zlatožluté barvy. V chuti vykazují vína střední až plné tělo, harmonickou strukturu a hebkou texturu s nižším obsahem kyselin. Jsou charakterizována květinově-ovocným profilem se skořicovou chutí. Ve aromatickém profilu a chuti vína převládají tóny ořechů, malin a smetany [2, 12, 13].



Obrázek 2: Vzhled hroznů a listů odrůdy Neuburské [15]

## 2.3 Chemické složení vína

### 2.3.1 Voda a minerální látky

Voda jako převládající chemická složka hroznů a vína hraje klíčovou roli při stanovování základních charakteristik vína. Díky své chemické struktuře a chemickým vlastnostem slouží jako vynikající rozpouštědlo pro polární i málo polární látky. Je výborným rozpouštědlem i pro řadu polárních látek ve spojení s ethanolem. Mimo to má také voda vysokou měrnou tepelnou kapacitu, čímž zpomaluje ohřívání sklenice vína. Voda je nezbytnou složkou mnoha chemických reakcí, které se účastní růstu hroznů, fermentace a stárnutí vína. U běžných vín může obsah vody dosahovat 80–92 % [16, 17].

Minerální látky ve vinné révě se podílejí zejména na senzoričkových vlastnostech vína. Důležitý vliv na obsah minerálních látek ve víně má například počasí, půda, její geologický původ, odrůda, hnojení apod. Obsah všech minerálních látek ve víně se vyskytuje v rozmezí od 1,5 do 4 g·l<sup>-1</sup>, kdy v suchém období je nižší a ve vlhkém vyšší. Nejvíce zastoupenou minerální látkou ve víně je draslík, který neutralizuje organické kyseliny. Jeho koncentrace se zvyšuje v průběhu dozrávání. Draslík má také značný vliv na pH hodnotu a koncentraci kyselin ve víně. Dalšími prvky, vyskytujícími se ve formě kationtů, jsou například vápník, hořčík, sodík, měď a železo. Nejdůležitějšími skupinami aniontů ve víně jsou fosforečnany, chloridy, sírany a uhličitany, z nichž nejčastějším ve víně je aniont fosforu. Ve víně jsou také přítomny další prvky jako je brom, fluor, jod, bor, křemík, mangan, zinek, olovo, arsen a hliník [17–19].

### 2.3.2 Sacharidy

Hlavní sacharidy obsažené ve vinné révě jsou monosacharidy glukosa a fruktosa. Jejich obsah je zásadní pro určování potenciálního obsahu alkoholu ve víně. Obsah hroznového cukru se liší v závislosti na odrůdě, zralosti a zdravotním stavu plodů. Zvýšená cukernatost zvyšuje obsah alkoholu a tím často negativně ovlivňuje kvalitu vín. V době zralosti se vyskytují často v poměru 1:1, kdežto přezrálé hrozny obvykle obsahují vyšší podíl fruktosy. Tyto hexosy jsou metabolizovány kvasinkami rodu *Saccharomyces* za vzniku ethanolu a oxidu uhličitého jako vedlejšího produktu. Kvasinky rodu *Saccharomyces* přednostně zpracovávají glukosu, díky čemuž dochází k rychlejšímu snižování koncentrace glukosy než fruktosy. Ostatní cukry, jako jsou rafinosa, maltosa, galaktosa, arabinosa a xylosa, se vyskytují pouze v nepatrném množství [16, 19].

V hroznech se může zřídka vyskytovat oligosacharid sacharosa, která se během kvašení enzymaticky štěpí na glukosu a fruktosu. Dalším oligosacharidem, vyskytujícím se ve víně pouze ve stopovém množství, je maltosa. Maltosa nebo též sladový cukr je disacharid tvořený dvěma molekulami glukosy. Její vyšší koncentrace ve víně může poukazovat na podvodné dodání sladidla k dosažení lepších sensorických vlastností vína [16, 18, 19].

Polysacharidy jsou hlavní skupinou komplexních makromolekul a ve víně se vyskytují v množství 2 až 4 g·l<sup>-1</sup>. Tvoří zde značnou část koloidních látek, díky čemuž jsou ve víně nežádoucí a způsobují komplikace například při filtraci. Jejich obsah závisí na řadě faktorů jako je odrůda, vyžralost hroznů, způsobu vinifikace a uchování vína. Strukturální polysacharidy hroznů jsou především pektiny bohaté na arabinosu a galaktosu [19, 20].

Čistý pektin je tvořen lineárním řetězcem polygalakturových jader, které jsou esterifikovány methanolem. Obsah methanolu i pektinu kolísá podle charakteru odrůdy, zralosti a způsobu vinifikace. Pektin se nachází zejména v mladých vínech. Po fermentaci lze nalézt ve víně až 500 mg·l<sup>-1</sup> pektinu. Alkoholovou fermentací dochází k hydrolýze pektinu, kdy se jeho obsah ve víně velice rychle snižuje a dává vznik, společně s hydrolýzou polysacharidů, především kyselinám galakturonovým, methanolu, arabinose, galaktose a xylose [19].

Beta-glukan je polysacharid vylučovaný plísní *Botrytis cinerea*. Nachází se pouze ve vínech vyrobených z poškozených hroznů. Jeho obsah může bez ohledu na typ hniloby dosáhnout až 300 mg·l<sup>-1</sup>. Beta-glukan má i při nízké koncentraci důležité vlastnosti. Vykazuje vlastnosti ochranného koloidu a zabraňuje slučování volných částic a tím i čiření vín [19].

### 2.3.3 Alkoholy

Nejdůležitějším alkoholem ve víně je ethanol, jehož primárním zdrojem je fermentace, kdy se pomocí kvasinek přeměňuje glukosa a fruktosa na ethanol a oxid uhličitý. Hlavními faktory ovlivňujícími produkci ethanolu jsou obsah cukru, teplota a kmen kvasinek. Dobrým producentem alkoholu jsou kvasinky rodu *Saccharomyces*. Obsah ethanolu ve víně se pohybuje v rozmezí 9 až 13 % obj. Kromě významných fyziologických účinků na člověka je ethanol zásadní pro stabilitu, stárnutí a sensorické vlastnosti vína. Rostoucí obsah alkoholu postupně omezuje růst mikroorganismů. Ethanol má pozitivní účinky na chuť vína, kdy zvyšuje sladkost prostřednictvím vlastní sladké chuti [16, 19–21].

Přítomnost methanolu ve víně je způsobena hydrolýzou pektinů během fermentace. Jeho podíl ve víně přímo závisí na délce macerace zejména slupek hroznů, z čehož vyplývá, že podíl

methanolu v bílých vínech je nižší než u vín červených. Ve víně je ale zastoupen ve stopovém množství, které je zdravotně neškodné pro člověka [19, 21].

Vyšší alkoholy, známé také jako fuselové alkoholy, představují další skupinu látek obsažených ve víně. Termín "fusel" označuje frakci získanou během destilace fermentovaných produktů, které mají velmi silný a nepříjemný zápach. Koncentrace a charakter vyšších alkoholů ve víně, vytvořených v procesu alkoholového kvašení, se značně liší v závislosti na odrůdě révy. Jejich celkový podíl ve víně je pouze v rozmezí od 200 do 600 mg·l<sup>-1</sup>. Navzdory tomu ale vyšší alkoholy mají podstatnou funkci, co se týče vinného aroma. Nejzastoupenější jsou 3-methylbutanol, který se objevuje v koncentracích od 55 do 420 mg·l<sup>-1</sup>, 2-methylpropanol a 2-methylbutanol. Vyšší alkoholy se nevyskytují v bobulích révy vinné, ale jsou produktem spojeným s metabolismem kvasinek nebo Ehrlichovy reakce, kdy se jedná o dekarboxylaci a následnou deaminaci aminokyselin [19, 22, 24].

Celkový obsah vícesytných alkoholů se liší podle toho, zda pocházejí ze zdravých a zralých hroznů či z hroznů napadených plísní nebo hnilobou. Přítomnost diolů ve víně charakterizují butan-2,3-diol a propan-1,3-diol. Butan-2,3-diol vzniká při alkoholovém kvašení redukcí acetoinu (3-hydroxybutanon). Dále také rozkladem kyseliny citrónové, glukosy a fruktosy působením mléčných bakterií. Nachází se v rozmezí od 0,3 do 1,35 g·l<sup>-1</sup>, ale může dosahovat až koncentrace 2 g·l<sup>-1</sup> u likérových vín. Ve velice malém množství se ve víně vyskytuje propan-1,3-diol, který je produktem rozkladu glycerolu mléčnými bakteriemi, čímž dochází k zvyšování hořkosti vína [19].

Zástupcem vícesytných alkoholů je také glycerol, který tvoří, po vodě a ethanolu, třetí nejzastoupenější složku vína. Jeho koncentrace ve víně se pohybuje v intervalu 6 až 10 g·l<sup>-1</sup>. Produkce je závislá na počátečním obsahu cukrů, stavu hroznů, druhu kvasinek a fermentačních podmínkách. Glycerol vzniká během alkoholové fermentace, u hroznů infikovaných plísní *Botrytis cinerea* a také vysokým pH moštu. Kvasinky hrají důležitou roli v této produkci, a spolu s glycerolem se vytváří i další složky jako aromatické látky. Byl tradičně spojován s různými atributy v chuti vína jako je olejovitost, jemnost a plnost. Oxidací se přeměňuje na glyceraldehyd, pokud je oxidována jedna primární skupina. Dále oxidací sekundární skupiny se transformuje na dihydroxyaceton a plnou oxidací jedné primární skupiny tvoří kyselinu glycerovou nebo kyselinu pyrohroznovou [19, 23].

#### 2.3.4 Kyseliny

Ve víně se vyskytují zejména organické kyseliny, které mají dvě zásadní klíčové role. Významně ovlivňují pH vína, což má dopad na vzhled, mikrobiální a chemickou stabilitu vína. Mají také přímý vliv na chuť, zejména kyselost. Hmotnostní podíl organických kyselin je ale poměrně nízký a proměnný. Ve vinařské praxi se jejich množství ve víně vyjadřuje jako podíl kyseliny vinné [16, 19, 25].

Kyseliny ve víně se většinou řadí do dvou skupin, těkavé a stálé. Těkavá kyselost označuje kyseliny, které lze odstranit destilací vodní parou. Celková kyselost může být vyjádřena v ekvivalentech kyseliny vinné, jablečné, citrónové, mléčné nebo octové. Většina těchto organických kyselin a jejich soli mají pozitivní účinky na lidský organismus, jako je například podpora vstřebávání železa, antioxidační a antibiotické vlastnosti. Aciditu vína tvoří také minerální kyseliny a rovněž oxid uhličitý a oxid siřičitý v rovnováze se svými kyselinami. [16, 26].

Kyselina jablečná může tvořit až polovinu celkové kyselosti vína a hroznů. Její koncentrace s dozráváním hroznů klesá, zejména v horkých obdobích na konci sezóny. To může vést ke tvorbě vína, které je více náchylné na mikrobiální kažení. V chladných podmínkách naopak koncentrace kyseliny zůstává vysoká a víno dostává potřebnou kyselou chuť. Proto je kyselina jablečná jedním z hlavních ukazatelů používaných pro určení správného termínu sběru hroznů. Její koncentrace ve víně se pohybuje v rozmezí 0–5 g·l<sup>-1</sup>. Kyselina jablečná je zkvasitelná, kdy ji mohou rozkládat například druhy kvasinek *Saccharomyces*. Jedná se o malo-laktické kvašení, které účinně snižuje kyselou chuť vína, zlepšuje mikrobiální stabilitu a modifikuje organoleptický charakter vína [16, 19, 26].

Kyselina vinná společně s kyselinou jablečnou hrají klíčovou roli v procesu výroby, včetně organoleptické kvality a fyzikální, biochemické a mikrobiální stability vína. Koncentrace kyseliny vinné neklesá v průběhu zrání hroznů. V příznivých ročnících je nejčastěji se vyskytující kyselinou v mošttech i vínech. Ve víně se nachází v 2 až 5 g·l<sup>-1</sup>, kde vykazuje agresivní kovovou příchut'. Kyselina vinná je odolná vůči kvasinkám a většině bakterií. Je syntetizována v mnoha rostlinách, ale ve významném množství se vyskytuje pouze v určitých rodech. Běžně se shromažďuje v hroznech ve formě draselné soli [16, 19, 26].

Nepatrné množství kyseliny mléčné produkují buňky kvasinek v procesu fermentace. Její podíl ve víně se pohybuje v rozmezí od 0,05 do 3 g·l<sup>-1</sup>. Pokud je kyselina mléčná hlavní složkou vína, pochází z metabolické aktivity bakterií mléčného kvašení. Tyto bakterie produkují enzym, který dekarboxyluje kyselinu jablečnou na kyselinu mléčnou procesem zvaným malo-laktická fermentace. Hlavním přínosem této fermentace je přeměna kyseliny jablečné s drsnější chutí na kyselinu mléčnou s chutí jemnější. Tato fermentace se nejčastěji vyhledává u červených vín. V jiných případech není toto kvašení žádoucí a tento proces musí být zastaven, jakmile začne [16, 19, 29].

Další kyseliny vyskytující se ve vínech jsou citrónová, šťavelová, mravenčí, fumarová, jantarová a kyselina octová, která se projevuje octovým zápachem vína [27].

Těkavé kyseliny jsou tvořeny nižšími mastnými kyselinami, především kyselinou octovou, která tvoří až 95 % všech těkavých kyselin vína. Zbytek tvoří zejména propionová, máselná, kapronová a valerová kyselina. Tyto organické kyseliny mohou dramaticky ovlivnit hodnoty pH a mají také vliv na biologickou stabilitu, sensorické vlastnosti a barvu. Ve víně se nacházejí v koncentracích od 500 do 1000 mg·l<sup>-1</sup>. Je-li jejich hodnota vyšší, jedná se o vadu či nemoc vína [19, 21, 29].

Kyselina octová je produkována kvasinkami mléčného kvašení při alkoholovém nebo jablečno-mléčném kvašení. Je hlavní složkou těkavé kyselosti a je klíčová pro kvalitu vína. Její koncentrace ve víně je přibližně 0,5 g·l<sup>-1</sup> a musí zůstat pod 1,1 g·l<sup>-1</sup> v souladu s platnou legislativou. Ve vyšších koncentracích vzniká oxidací ethanolu za přístupu kyslíku a způsobuje nežádoucí aroma i chuť vína připomínající ocet [19, 28, 30].

### 2.3.5 Fenoly

Fenoly jsou velkou a komplexní skupinou polyfenolických sloučenin, které jsou přímo spojeny s organoleptickými a zdraví prospěšnými vlastnostmi červeného vína. V mnohem nižších koncentracích se vyskytují také ve vínech bílých. Při opatrném zpracování révy vinné se obsah fenolových sloučenin pohybuje v množství do 0,25 g·l<sup>-1</sup>, kdežto u vín červených je jejich obsah až 4,5 g·l<sup>-1</sup>. Fenoly mohou výrazně ovlivnit chuť, vzhled, vůni a antimikrobiální vlastnosti. Jsou

klíčovým konzervantem vína a základem jeho dlouhodobého stárnutí. V hroznech a vínech se vyskytují dvě skupiny fenolových látek, flavonoidy a neflavonoidy [16, 31, 32, 34].

Flavonoidy charakterizují více červená vína než bílá. V červených vínech tvoří více než 85 % obsahu fenolu, v bílých vínech tvoří flavonoidy méně než 20 % celkového obsahu fenolu. Vázány jsou zejména s jednou a více molekulami glukosy do sloučenin zvaných glykosidy. Flavonoidy mají několik důležitých funkcí ve víně, ovlivňují chuť hořkosti a těsnosti, zejména u červených vín. Mezi hlavní flavonoidní sloučeniny, přítomné v červeném víně, patří několik tříd, jako jsou flavanoly, flavonoly a anthokyaniny [16, 19, 32, 34].

Jednou ze skupin flavonoidů jsou anthokyaniny neboli anthokyaninová barviva, což jsou červené pigmenty hroznů. Červené a modré barvy nacházené v mnoha rostlinách jsou připisovány anthokyaninům, zejména v květech a ovoci. V bílých vínech jich najdeme pouze stopové množství [19, 25].

Třísloviny hroznů a vína, zvané také jako oenotanniny, většinou vznikají kondenzací katechinu, který snižuje hladinu cholesterolu v krvi, ale také může nejspíše způsobovat vznik migrény. Ve spojení s histaminem způsobují třísloviny bolest hlavy. Ve všech částech hroznů, jako je třepina, slupka a semena, se vyskytují kondenzované třísloviny. Jejich obsah ve víně se liší podle toho, jak dlouhou dobu byl mošt ve styku s třepinami a slupkami hroznů, kde se taniny převážně objevují. Důsledkem toho mají vína červená, vzniklá nakvácením na rmutech nebo vína vyrobená z lisovaných moštů bez odzrnění, vždy více tříslovin než vína bílá, která byla vyrobena s odzrněním hroznů. Namísto katechinů jsou ve víně obsaženy i leukoanthokyanidiny, které jsou minoritní formou kondenzovaných tříslovin. Mladé víno může obsahovat až  $5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  kondenzovaných tříslovin, jejichž koncentrace je závislá například na odrůdě, podmínkách pěstování a zdravotním stavu hroznů. Množství a kvalita je závislá také na teplotě fermentace, na koncentraci ethanolu a na dalších způsobech a metodách používaných během vinifikace. Zvýšením obsahu těchto látek se zvýší stabilita barvy, která je způsobena slučováním tříslovin s anthokyaniny. Třísloviny se mohou slučovat také s bílkovinami za možného vyvolání vyčerení vína. Velmi důležitou vlastností tříslovin je antioxidační a ochranná činnost v červených vínech. Třísloviny mohou pocházet ze dřevitých částí sudů, kde je víno uchováváno. Dodávají vínu především příjemnou sladkou chuť [19, 31].

Neflavonoidy jsou strukturálně jednodušší, ale jejich původ ve víně je rozmanitější. Neflavonoidní sloučeniny přítomné ve víně zahrnují fenolové kyseliny, fenoly a stilbeny. Ve vínech, které nezrají v dubu, jsou primárními neflavonoidy deriváty hydroxyskořicové a hydroxybenzoové kyseliny. Uloženy jsou především ve vakuolách buněk hroznů a jsou snadno extrahovány drcením. Deriváty hydroxyskořicové kyseliny jsou zastoupeny především ve víně bílém, kde podléhají oxidaci a způsobují hnědnutí moštu a vína. Naopak hydroxybenzoové deriváty jsou přítomny ve víně ve formě glykosidů a esterů [16, 32].



### 2.3.6 Estery

Estery jsou organické sloučeniny vznikající v průběhu zrání vína při reakci alkoholu s kyselinami a obohacují víno o aroma a celkový odrůdový charakter. Reakcí stejných alkoholů s vícesytnými kyselinami vede ke vzniku jak neutrálních, tak kyselých esterů. Vyšší alkoholy jsou substráty pro produkci acetátových esterů, které jsou spojeny s ovocnými a květinovými vůněmi vína. Jaký typ esteru se při fermentaci vytvoří ovlivňuje typ kvasinek. Tato různorodost je ovlivňována také podmínkami fermentace, například teplotou, sířením, složením hroznů a zralostí odrůdy. Enzymatická tvorba esterů byla identifikována jako počáteční aktivace kyseliny spojením s koenzymem A (CoA) před reakcí s alkoholem k vytvoření esteru. Donorem koenzymu může být buď acetyl-CoA, vzniklý z pyruvátu, nebo některá z acyl-CoA sloučenin vytvořených enzymem acyl-CoA syntetázou. Biologicky je tvořen pouze malý podíl esterů ve víně, kdy ve většině případů se jedná o neutrální estery, nejčastěji ethylestery [16, 19, 32, 33].

Tabulka 1: Souhrn hlavních esterů ve víně a jejich aromatické projevy [18, 36].

<b>Těkavé sloučeniny</b>	<b>Popis aromatického projevu</b>
Ethyl-2-methylbutanoát	jablko, jahoda, sladký
Ethyl-2-methylpropanoát	ovocný, jahoda, citron
Ethylbutanoát	kyselé ovoce
Ethyl-3-methylbutanoát	bobuloviny, ananas
Ethyl-3-hydroxybutanoát	ovocný
Ethyl-4-hydroxybutanoát	karamel
Ethyl-3-fenylpropanoát	květinový
Diethyl sukcinát	ovocný, květinový
Diethyl malát	třtinový cukr, sladký
Ethylhexanoát	zelené jablko, jahoda
Ethyllaktát	jahoda, mléko, mýdlo
Ethyl-oktanoát	sladké mýdlo, ovocný
Ethyldekanoát	příjemné, mýdlovité
Ethylacetát	ovocný, odlakovač (ve vysoké koncentraci)
2-methylpropylacetát	jablko, ovocný
2-methylbutylacetát	banán, ovocný
3-methylbutylacetát	banán
Hexylacetát	sladký, parfém, bylinný
2-fenylethylacetát	růže, květinový

Ethylacetát je hlavní sensoricky aktivní složkou alkoholických nápojů fermentovaných kvasinkami. Díky své rychlé tvorbě z převládajícího ethanolu a kyseliny octové je kvalitativně nejběžnějším esterem ve víně. Vyskytuje se ve značném množství a někdy i větším, než je 100 až 150 mg·l<sup>-1</sup> za vzniku zápachu po rozpouštědle či laku na nehty [17; 19, 36].

Jablečno-mléčné kvašení zapříčiňuje vznik ethyllaktátu ve vínech v rozmezí od 40 do 60  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Ethyllaktát se využívá jako zjemňovač aroma s máselnou vůní až vůní kyselého mléka. Jeho přítomnost se může navýšit během procesu skladování vína [19].

Mezi ethylestery mastných kyselin se řadí například ethylhexanoát, který má čichový práh vnímání  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a projevuje se banánovou a jablečnou vůní. Dalším zástupcem je ethyloktanoát s prahem vnímání  $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a jeho aroma je nejbližší hruškové nebo ananasové vůni. Jejich nízká koncentrace ve víně může i přesto dodávat vínu intenzivní ovocné aroma a občas až voskovou a medovou příchuť. Tyto ethylestery vznikají ethanolýzou acyl-CoA, který je meziproduktem metabolismu mastných kyselin [19, 33].

Druhá skupina esterů, acetatové estery jsou výsledkem reakce acetyl-CoA s alkoholy vytvořenými z degradace aminokyselin, sacharidů a lipidů. Nejvíce vyskytujícím se esterem vyšších alkoholů je isoamylacetát, který se objevuje zejména v mladých vínech. Jeho koncentrace se pohybuje v rozmezí  $0,5$  až  $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a práh vnímání isoamylacetátu je  $1,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , kdy se vyznačuje banánovou vůní. Dalšími zástupci této skupiny jsou propylacetát, hexylacetát a fenylethylacetát [19, 33].

### 2.3.7 Terpeny

Terpeny představují rozsáhlou skupinu aromatických látek, které jsou produkovány vyššími rostlinami, řasami a houbami. Vyskytují se v hroznech většiny odrůd, kdy existuje přes 400 přirozeně se vyskytujících terpenových sloučenin. V hroznových bobulích jsou vázány glykosidickou vazbou na glukosu nebo některé disacharidy a tvoří sloučeniny bez aromatického charakteru. Během procesu kvašení se terpenoidy uvolňují pomocí glukosidáz, které jsou produkovány hroznými kvasinkami a bakteriemi. Jejich podíl se liší u muškátových odrůd, kde je jejich koncentrace v řádech miligramů na litr. U nemuškátových odrůd jejich podíl klesá 10 až 100krát. Na aroma vína se nejvíce podílí pouze malá část monoterpenů, které se vyskytují v dostatečně vysoké koncentraci ve víně. Ostatní monoterpenické látky ve víně nejsou v dostatečném množství, aby ovlivňovaly aromatické vlastnosti vína. Mezi nejvíce aromatické monoterpeny patří zejména linalool,  $\alpha$ -terpineol, geraniol, nerol, citronellol a hotrienol [17, 19, 33].

Linalool je látka přirozeně se nacházející v různých květinách a v kořeni. U většiny odrůd je jeho podíl ve víně od  $1,7$  do  $10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , který se příliš nemění ani procesem alkoholového kvašení při standardních teplotách. Díky nízkému čichovému prahu dodává vínu květinové aroma připomínající růži [17, 19].

Oxidací a následným zacyklením je linalool přeměněn na  $\alpha$ -terpineol. Vyskytuje se v  $\alpha$ ,  $\beta$  a  $\gamma$  izomerních formách. Ve vínech se ale nejvíce objevuje právě jeho  $\alpha$  forma, která se ve vínech pohybuje v koncentraci  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Kvůli jeho nízkému čichovému prahu vnímání nepatrně působí na celkové aroma vína. Koncentrace linaloolu a  $\alpha$ -terpineolu mohou zpočátku stoupat během skladování v lahvi, ale následně klesají v důsledku přeměny na terpin hydrát [19, 37].

Dalším monoterpenoidním alkoholem vyskytujícím se ve víně je geraniol, jehož hlavní využití je zejména ve farmaceutickém odvětví při výrobě parfémů a také je zásadní složkou růžového oleje. Obsah geraniolu se snižuje během alkoholové fermentace. Čichový práh se pohybuje kolem  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , stejně jako je tomu u linaloolu, tudíž se také podílí na květinovém aroma vín. Geraniol a linalool jsou považovány za nejdůležitější z monoterpenických alkoholů, protože jsou přítomny ve vyšších koncentracích a mají nižší prahové hodnoty chuti než ostatní

hlavní monoterpenní látky ve víně. V průběhu vyžrávání vína se pozvolna transformuje na  $\alpha$ -terpineol [19, 35, 37].

Nerol je acyklický alkohol, který je cis izomerem geraniolu. V důsledku toho mají nerol s geraniolem podobné aromatické vlastnosti, kterými jsou zejména květinové vůně po růžích. Podobnosti lze také najít při snižování jeho koncentrace ve víně během alkoholového kvašení a uchovávání. Když jsou přítomny v mladých vínech, koncentrace geraniolu a nerolu klesá s prodlužujícím se stářím vína, a běžně jsou po dvou až tech letech v lahvi přítomny pouze ve stopovém množství [19, 37].

### 2.3.8 Norisoprenoidy

Produktem odbourávání různých karotenoidů, jako je například lutein a  $\beta$ -karoten, jsou norisoprenoidy. Koncentrace karotenoidů v procesu dozrávání výrazně klesá, zatímco se současně zvyšuje obsah norisoprenoidů. Norisoprenoidy tvoří velmi důležitou aromatickou složku, nacházející se v mnoha odrůdách vína a přispívají k jejich aromatickému charakteru. Mají velmi nízké prahy čichového vnímání, a tak mají vysoký sensorický dopad na aroma vína. Především se uvolňují ve víně a z malé části už v bobulích. Nejvýznamnějšími norisoprenoidy jsou  $\beta$ -ionon, jehož aromatický profil je bohatý na tóny fialky a maliny,  $\beta$ -damascenon charakterizovaný vůní po jablkách či květinách, a vitispiran. Ve víně lze najít také některé vonné norisoprenoidové deriváty, které nepatří mezi megastigmany. Mezi významné norisoprenoidové deriváty patří například 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen, známý také jako TDN, jehož charakteristickou vlastností je petrolejová vůně. TDN je převážně obsažen ve vínech z teplých oblastí nebo z hroznů, které byly nadměrně vystaveny slunci [17, 38].

### 2.3.9 Methoxypyraziny

Důsledkem metabolismu aminokyselin vznikají dusíkaté heterocyklické sloučeniny zvané methoxypyraziny. Jsou to sloučeniny s vysokou aromatickou aktivitou nalezené v několika druzích ovoce, zeleniny a koření jako je paprika, řepa, chřest, arašídý a černý a bílý pepř. Nejzákladnějším ze skupiny methoxypyrazinů v révě vinné je isobutylpyrazin, který způsobuje aroma po bylinách či trávě. Koncentrace těchto sloučenin je nejvíce zastoupena v zelených bobulích hroznu, kdy s jejich zráním postupně klesá. Typickými odrůdami s methoxypyraziny jsou odrůdy Sauvignon, Cabernet Sauvignon, Merlot či Cabernet Moravia. Jejich koncentrace v hroznech a vínech závisí na mnoha vinařských a klimatických faktorech, včetně odstraňování listů, slunečnímu záření, zrání hroznů, klimatu nebo délky macerace. Vliv na jejich obsah ve víně mají půdní vlastnosti, kdy hrozny vypěstované v odvodňovaných a kamenitých půdách zahrnují nižší obsah methoxypyrazinů než u půd vápenatých a jílovitých. V případě hotových vín může také volba typu korku a obalu ovlivnit jejich koncentraci. Vína s vyšší koncentrací methoxypyrazinů často vyčnívají výrazným a nepříjemným bylinným aroma [17, 39].

### 2.3.10 Dusíkaté látky

V bobulích se dusík může vyskytovat v anorganické i organické formě. V průběhu kvašení dochází ke spotřebování desítek různých sloučenin, které pocházejí z hroznů. Koncentrace těchto sloučenin ve víně vykazují výrazné rozdíly, které jsou závislé na původu vína a použité technologii výroby. Dusíkaté sloučeniny jsou začleněny do celkového extraktu vína, a jejich senzorické vlastnosti, stejně jako potenciální zdravotní účinky, nejsou jednoznačně definovány. Hlavními dusíkatými látkami jsou bílkoviny, aminokyseliny a sloučeniny obsahující dusík v amonné formě. Vysoké koncentrace především bílkovin jsou nežádoucí kvůli jejich nízké stabilitě a možnému riziku tvorby zákalů ve víně. Z tohoto důvodu jsou termolabilní bílkoviny v bílých vínech eliminovány procesem čiření s využitím bentonitu [17, 21].

## 2.4 Instrumentální analytické metody

Chemická analýza vína je klíčová pro zajištění bezpečnosti výrobku a dodržování regulačních zákonů upravujících mezinárodní trh, stejně jako porozumění základním aspektům produkce hroznů a vína s cílem zlepšit výrobní procesy. V posledních letech jsou využívány stále více pokročilé instrumentální analytické metody. Používané metody se pohybují od relativně jednoduchých mikrochemických metod po vysoce komplexní a nákladné instrumentální metody schopné podrobného zkoumání jednotlivých chemických složek [40].

### 2.4.1 Plynová chromatografie

Nejvyužívanější metodou pro studium těkavých látek ve víně je plynová chromatografie (GC), která se začala využívat v druhé polovině 20. století. Na konci tohoto století přineslo zavedení kapilárních kolon s vysokými rozlišovacími schopnostmi vzestup při identifikaci stovek nových těkavých složek [41, 42].

Plynová chromatografie je analytická metoda, která provádí separaci na základě rovnovážného rozdělení analyzovaných složek mezi mobilní (pohyblivou) fázi tvořící tzv. nosný plyn a stacionární (nepohyblivou) fázi, které se vzájemně nemísí. Používá se při analýze plynů, kapalin nebo pevných látek jejichž bod varu je nižší než 400 °C [43].

Plynový chromatograf se skládá z následujících součástí: zdroj nosného plynu, regulátor tlaku, vstupní port pro vzorky (injektor), termostat, kolonu a detektor.

Tlaková láhev funguje jako zdroj nosného plynu. Nejčastěji se jako nosný plyn používá helium, vodík, dusík, argon, přičemž volba plynu závisí na druhu použité kolony a typu detektoru [44, 45].

Regulátory tlaku a průtoku jsou elektronická zařízení sloužící k ovládnutí průtoku a tlaku nosného plynu. Bez ohledu na typ nosného plynu, teplotu a rozměry kolony zajišťuje regulátor průtoku konstantní proudění plynu skrze kolonu a detektor. Proměnná veličina, kterou je tlak, se automaticky upravuje tak, aby byl průtok kolonou konstantní [44, 46].

Úkolem injektoru je zavést vzorek na začátek chromatografické kolony do proudu nosného plynu, umožnit jeho vypaření a případné zředění a rozdělení. Vzorky směsí plynů nebo kapalin se dávkuje injekčními stříkačkami přes pryžové septum manuálně, nebo častěji pomocí automatizovaného mechanismu tzv. autosampleru [44, 47, 48, 50].

Chromatografická kolona je důležitou součástí chromatografu, kde se nachází stacionární fáze, a právě v této části probíhá oddělování jednotlivých komponent přítomných ve vzorku [47, 50].

V současné době jsou nejvíce používány kapilární kolony vyrobené z taveného křemenného skla o délce 5–100 m, nejčastěji však 15, 30 nebo 60 m, a vnitřním průměrem pouze 0,2–0,32 mm. Stacionární fáze je nanášena přímo na vnitřní stěny kapiláry, vnější stěny jsou potaženy polyamidovým materiálem [47, 50].

Termostat zajišťuje, že dávkovač, kolona i detektor jsou zahřáty na dostatečně vysokou teplotu, aby vzorek zůstal v plynném stavu [49, 50].

Plynová chromatografie nabízí celou řadu detektorů, z nichž každý má své specifické výhody, ať jde o citlivost nebo selektivitu. Jejich použití je založeno na různých fyzikálních a chemických vlastnostech eluovaných látek nebo produktů vzniklých jejich reakcí uvnitř detektoru. Složky se pohybují spolu s nosným plynem skrz kolonu a následně vstupují do detektoru, kde vytvářejí signál. Intenzita tohoto signálu je úměrná koncentraci dané složky. Zaznamenáním průběhu signálu v čase získáme chromatogram, který umožňuje identifikaci jednotlivých složek. Mezi nejčastěji používané detektory se řadí plamenově-ionizační detektor (FID), tepelně-vodivostní detektor (TCD), detektor elektronového záchytu (ECD) a hmotnostní spektrometr (MS) [47, 50, 51].

#### 2.4.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je analytická metoda, která využívá interakci mezi nabitými částicemi a elektrickým nebo magnetickým polem ve vakuu. Základním principem této metody je převedení vzorku na ionty v plynné fázi v procesu zvaném ionizace. Takto vzniklé ionty se následně separují podle poměru hmotnosti ku náboji ( $m/z$ ) [47, 52].

Hmotnostní spektrometry se skládají ze tří hlavních částí: iontový zdroj, analyzátor a detektor částic [52].

Funkcí iontového zdroje je ionizace procházejících částic, tedy jejich přeměna na ionty. Podle množství použité energie při ionizaci lze rozdělit iontové zdroje na tvrdé a měkké. Elektronová ionizace (EI) je klasickým příkladem zdroje s tvrdou ionizací. Tato metoda, která využívá ionizaci v plynné fázi, je často používána pro spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). V GC-MS lze využít i měkkou ionizační techniku, například chemickou ionizaci [52, 53].

Na hmotnostním analyzátoru dochází k separaci vzniklých iontů na základě poměru hmotnosti ku náboji za vakua. Všechny analyzátory využívají buď elektrická nebo magnetická pole, případně jejich kombinaci. V dnešní době nejvíce používanými analyzátory jsou kvadrupól, analyzátor doby letu (TOF) a iontové pasti. Spojením dvou nebo více hmotnostních analyzátorů vzniká tandemová hmotnostní spektrometrie [52, 54].

Úkolem detektoru je zaznamenávat ionty, které byly vybrány hmotnostním analyzátozem. Hmotnostní detektor detekuje proudový signál generovaný procházejícími nebo dopadajícími ionty. Podle záznamu iontů dělíme detektory na dvě skupiny. První skupinou jsou detektory zaznamenávající všechny ionty bez ohledu na velikost hmotnosti ku náboji. Z této skupiny se nejvíce používají elektronové násobiče a fotonásobiče. Druhou skupinou jsou detektory zaznamenávající ionty i ve vztahu k poměru hmotnosti ku náboji. Do této skupiny spadá například detektor orbitrap. Signály z detektorů se převádějí do digitální podoby a zpracovávají pomocí softwaru. Výsledkem je hmotnostní spektrum, které se zobrazuje jako graf závislosti množství iontů na jejich poměru hmotnosti ku náboji ( $m/z$ ) a poskytuje tak kvalitativní informace využitelné pro identifikaci složek [47, 52, 55, 56].

### 2.4.3 Mikroextrakce na tuhou fázi

Mikroextrakce na pevnou fázi (SPME), nejčastěji používaná v režimu headspace (HS-SPME) byla prokázána jako rychlá, jednoduchá a reprodukovatelná metoda vhodná pro extrakci a zakoncentrování vysokého počtu těkavých látek z vodných roztoků. Cílem SPME je zajistit co nejrychlejší dosažení rovnováhy mezi sorpční vrstvou a analytem. Jedná se o proces bez rozpouštědla, který kombinuje odběr vzorku, extrakci, koncentraci a zavedení do přístroje do jednoho kroku [57, 58].

SPME extrahuje sloučeniny a koncentruje je na tenké vlákno z taveného křemíku potažené stacionární fází. Existují tři různé režimy extrakce: přímý, headspace a membránový. V přímém režimu se vlákno umístí přímo do vzorku a analyt se sorbuje přímo na povlak vlákna z matrice vzorku. V režimu headspace se vlákno umístí nad vzorek a analyty se přenesou ze vzorku přes headspace prostor na povlak vlákna. Třetí režim využívá membránu k ochraně vlákna SPME před silně kontaminovanými vzorky, které by mohly vlákno poškodit. Jakmile je extrakce dokončena, SPME umožňuje rychlý přenos do zvoleného analytického přístroje, kde je analyt obvykle tepelně desorbován, například v injekčním portu systému GC [57–59].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část se zabývala stanovením těkavých sloučenin ve vybraných vzorcích vín pomocí headspace mikroextrakce na tuhé fázi ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostně spektrometrickou detekcí (HS-SPME-GC-MS).

#### 3.1 Použité přístroje a laboratorní vybavení

Plynový chromatograf Trace<sup>TM</sup> 1310 se split/splitless injektorem (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA), Hmotnostní spektrometr ISQ<sup>TM</sup> LT Single Quadrupole (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA), Xcalibur 2.2 (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA), Knihovna hmotnostních spekter NIST/EPA/NIH (Gaithersburg, MA, USA), Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA), Statistica 13 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA), SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30  $\mu\text{m}$  (Supelco, Bellefonte, PA, USA), Kapilární kolona TG-WAXMS (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,5  $\mu\text{m}$ ) (Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA), pH metr HI 981032 (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), Předvážky EK-1200i a analytické digitální váhy GR-202 (A&D Instrument Ltd, Abingdon, Spojené království), vialky (10 ml) se závitovým magnetickým uzávěrem, běžné laboratorní sklo a náčiní

#### 3.2 Použité chemikálie

Helium 4,8 (SIAD Czech s.r.o., Rajhradice, Česko), Ethanol 96%, p.a. (Penta Chemicals, Chrudim, Česko), Chlorid sodný, p.a. (Lach-ner, s.r.o., Neratovice, Česko), Eugenol 99% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo), Linalool oxid (GC) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), Citronellol 96% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo), Linalool 97% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo), Terpeneol (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), Geraniol 97% (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Německo), Trans-2-hexen-1-ol 96% (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), Rose oxid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), Trans-3-hexen-1-ol (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), 1-hexanol (Merck, Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Německo), Ethyl oktanoát (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), Ethyl dekanoát 99% (Merck, Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Německo), Kyselina kapronová (Merck, Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Německo), Ethyl hexanoát (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), Cis-3-hexen-ol (Merck, Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Německo), 2-methyl-1-butanol 99% (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA), Vnitřní standard 2-heptanolu (Merck, Německo)

#### 3.3 Analyzované vzorky

Tato bakalářská práce byla zaměřena na analýzu celkem 18 vzorků vín pocházejících ze čtyř vinařských oblastí: slovácké, znojenské, velkopavlovické a mikulovské. Z toho bylo 10 vzorků vína odrůdy Neubuské a 8 vzorků vína odrůdy Kerner (viz Tabulka 2).

### 3.4 Použitá metoda HS-SPME-GC-MS

#### 3.4.1 Příprava vzorků před analýzou

Do každé vialky (objem 10 ml) byl navážen 1,0 g chloridu sodného. Ihned po otevření lahví byly do vialek pipetovány 3 ml vzorku vína a 90  $\mu$ l vnitřního standardu (2-heptanolu). Po uzavření vialek závitovým magnetickým uzávěrem se septem byly podrobeny analýze.

#### 3.4.2 Podmínky analýzy

- HS-SPME: DVB/CAR/PDMS vlákno, 3ml vzorku vína v 10 ml vialce
- Inkubace: 10 min, teplota 70 °C
- Doba extrakce: 30 min, teplota 70 °C
- Doba desorpce: 7 min, míchání
- Teplota injektoru: 250 °C, splitless nástřik po dobu 7 min
- Průtok nosného plynu: 1 ml/min He 4.8
- Teplotní program: po dobu 1 min teplota 40 °C, 5 °C/min do 100 °C po dobu 3 min, po dobu 5 min 5 °C/min do 130 °C, po dobu 14 min ř po dobu 5 min/min do 200 po dobu 5 min
- MS detekce
- Teplota transfer line: 220 °C
- Teplota iontového zdroje: 220 °C
- Iontový zdroj: elektronová ionizace při 70 eV
- Skenovací rozsah 30–300 m/z

#### 3.4.3 Příprava standardních roztoků

K přípravě zásobních roztoků standardů byl použit „simulátor vína“, což je 12% vodný roztok ethanolu, který obsahuje: 1,5 g·l<sup>-1</sup> kyseliny vinné, 1,5 g·l<sup>-1</sup> kyseliny jablečné, 1,5 g·l<sup>-1</sup> kyseliny mléčné, 6,0 g·l<sup>-1</sup> glycerinu, 1,0 g·l<sup>-1</sup> 2,3-butandiolu a nasycený vodný roztok hydroxidu draselného do pH 3,5.

Byly připraveny 2 zásobní roztoky směsí standardů o koncentraci 1 g·l<sup>-1</sup>, ze kterých byly následným ředěním připraveny kalibrační body o koncentracích 5, 10, 20, 50, 100, 250, 500, 1000, 1500 a 2000  $\mu$ g·l<sup>-1</sup>. První zásobní roztok obsahoval tyto standardy: eugenol, linalool oxid, citronellol, linalool, terpineol, geraniol, rose oxid, trans-2-hexen-1-ol a trans-3-hexen-1-ol a 1-hexanol. Do druhého zásobního roztoku byly přidány tyto standardy: ethyloktanoát, ethyldekanoát, kyselina hexanová, ethylhexanoát, 2-methyl-1-butanol a ethylbutyrát. Do každé vialky bylo před analýzou přidáno 20  $\mu$ l vnitřního standardu.

### 3.5 Zpracování dat

Těkavé látky byly identifikovány podle retenčních časů standardů a srovnáním hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou spekter.

Koncentrace daných těkavých látek byly vypočteny porovnáním plochy píků daného analytu s plochy píků vnitřního standardu. A následným přepočtem pomocí kalibračních křivek standardů v programu Excel.



Tabulka 2: Seznam analyzovaných vzorků vín

<b>Č. vzorku</b>	<b>Odrůda</b>	<b>Ročník</b>	<b>Podoblast</b>	<b>Vinařství</b>
1	Neuburské	2016	slovácká	sv. Florian
2	Neuburské	2021	velkopavlovická	Ludwig
3	Neuburské	2018	velkopavlovická	Bukovský
4	Neuburské	2021	mikulovská	ZD Sedlec
5	Neuburské	2018	velkopavlovická	Herzánovi
6	Neuburské	2021	znojemská	Thaya
7	Neuburské	2020	znojemská	Ampelos
8	Neuburské	2021	slovácká	B\V
9	Neuburské	2021	znojemská	Znovín Znojmo
10	Neuburské	2022	mikulovská	Château Valtice
11	Kerner	2022	mikulovská	Mikrosvín Mikulov
12	Kerner	2021	znojemská	Ampelos
13	Kerner	2020	znojemská	Waldberg
14	Kerner	2019	znojemská	Ampelos
15	Kerner	2018	znojemská	Vinselekt Michlovský
16	Kerner	2022	mikulovská	Rauš
17	Kerner	2022	velkopavlovická	Michna
18	Kerner	2022	znojemská	Davinus

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Hlavním záměrem práce bylo identifikovat a kvantifikovat těkavé (aromatické) látky ve dvou vybraných odrůdách (v ČR minoritně zastoupených) vín (Neuburské a Kerner) a posoudit případné rozdíly v aromatickém profilu vín z různých podoblastí (slovácká, znojenská, velkopavlovická a mikulovská). Pro stanovení byla použita metoda HS-SPME-GC-MS.

### 4.1 Ověření linearity použité metody

Linearita je vlastnost analytické metody, která popisuje schopnost metody poskytnout výsledky přímo úměrné koncentraci analytu v měřeném vzorku [60]. Ověření linearity probíhalo výběrem vhodných zástupců ze skupin terpenoidů, alkoholů, ethylesterů a mastných kyselin (viz Tabulka 3); roztoky standardních látek (celkem 16 sloučenin) byly připraveny podle kapitoly 3.4.3.

Linearita byla ověřena v rozsahu 5–2000  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , koeficienty spolehlivosti  $R^2$  se pohybovaly v rozmezí 0,9816 (ethyldekanoát) až 0,9995 (linalool). Metoda tedy vykazuje dobrou linearitu a lze ji použít pro kvantifikaci těkavých látek v analyzovaných vzorcích vín.

Tabulka 3: Ověření linearity metody

Standard	$R^2$	Rozsah [ $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]
Eugenol	0,9848	5-500
Linalool	0,9995	5-500
Linalool oxid	0,9956	5-500
Citronellol	0,9978	5-500
Terpineol	0,9965	5-500
Geraniol	0,9915	5-500
Rose oxid	0,9989	5-500
Trans-2-hexen-1-ol	0,9865	5-500
Trans-3-hexen-1-ol	0,9964	50-2000
1-hexanol	0,9992	50-2000
Ethylbutyrát	0,9879	50-2000
Ethylhexanoát	0,9972	50-2000
Ethyl oktanoát	0,9941	50-2000
Ethyldekanoát	0,9816	50-2000
2-methyl-1-butanol	0,9972	50-2000
Kyselina hexanová	0,9895	50-2000

$R^2$  – koeficient spolehlivosti

### 4.2 Charakterizace aromatických látek ve vzorcích

Celkově bylo analyzováno 18 vzorků bílých vín dvou odrůd. Z toho bylo 10 vzorků odrůdy Neuburské a 8 vzorků odrůdy Kerner (viz Tabulka 2).

Byla provedena kvalitativní analýza složek ovlivňujících aromatický charakter vzorků vín. Identifikováno bylo celkem 62 těkavých sloučenin, z nichž převažovaly estery, kterých bylo nalezeno 28 (viz Tabulka 4).

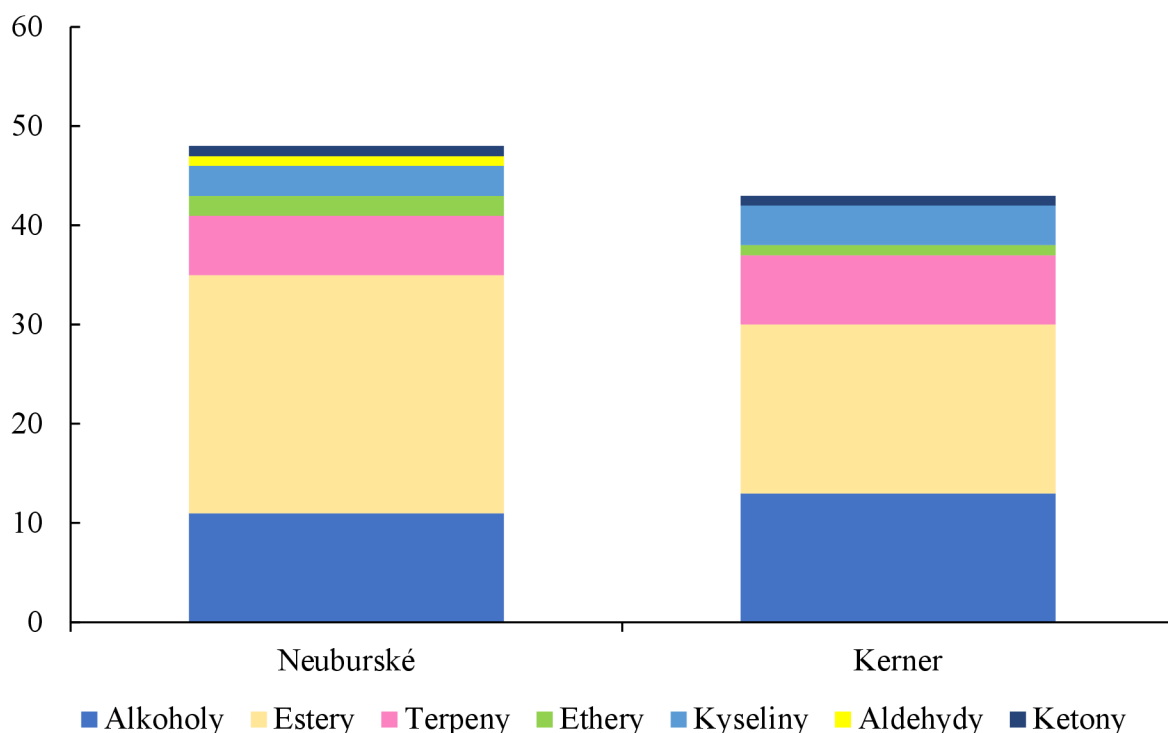
Na Obrázku 3 je uvedeno srovnání počtu identifikovaných látek v obou odrůdách. Jak je vidět u obou odrůd převažovaly estery, a složení dle ostatních skupin je téměř totožné.

Ze všech identifikovaných sloučenin bylo vybráno celkem 21 analytů zastoupených ve většině vzorků a tvořících největší podíl na aroma obou odrůd, které byly také kvantifikovány.

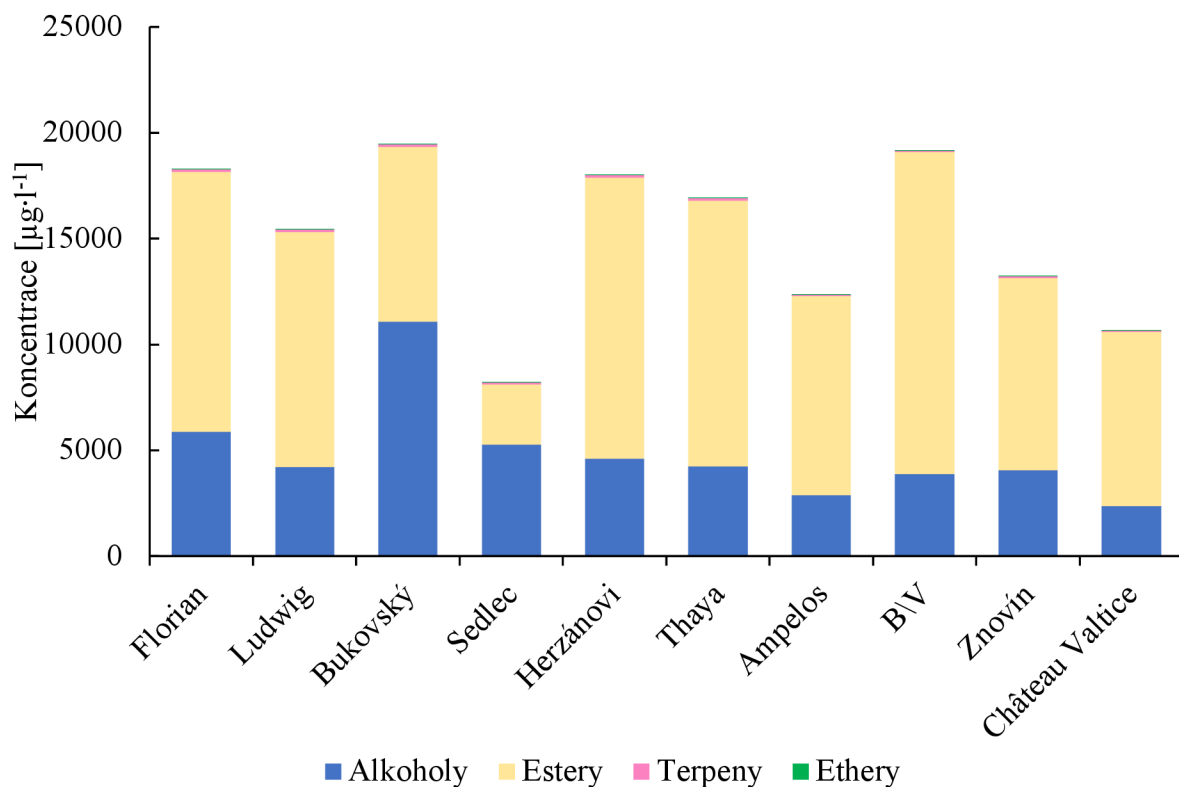
Koncentrace (v  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) vybraných těkavých látek byla vypočtena metodou vnějšího standardu na základě kalibračních křivek (viz Tabulka 5). Pro sestavení kalibračních závislostí byly použity standardy vybraných sloučenin (viz kapitola 3.4.3). Podle ethylbutyrátu byl stanoven: isobutanol, isoamylacetát, diethylsukcinát a diethylmalát; podle ethylhexanoátu byl stanoven: hexylacetát a ethyl-2-hexenoát; podle 1-hexanolu byl stanoven: 1-oktanol a 1-dekanol; podle  $\alpha$ -terpineolu byl stanoven: geranyl ethyl ether, terpinen-4-ol, hotrienol, TDN a citronellol; podle rose oxidu byl stanoven: nerol oxid.

Nejvíce zastoupeny byly 1-hexanol a estery: diethylsukcinát, ethylhexanoát, isoamylacetát a ethyldekanoát, které vínu dodávají především ovocné aroma. Koncentrace terpenoidů, jakožto nositelů aroma, byla naopak nejnižší v koncentracích pouze několik jednotek až desítek  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . I přesto tvoří terpenoidy značný podíl na květinovém a kořenitém aroma.

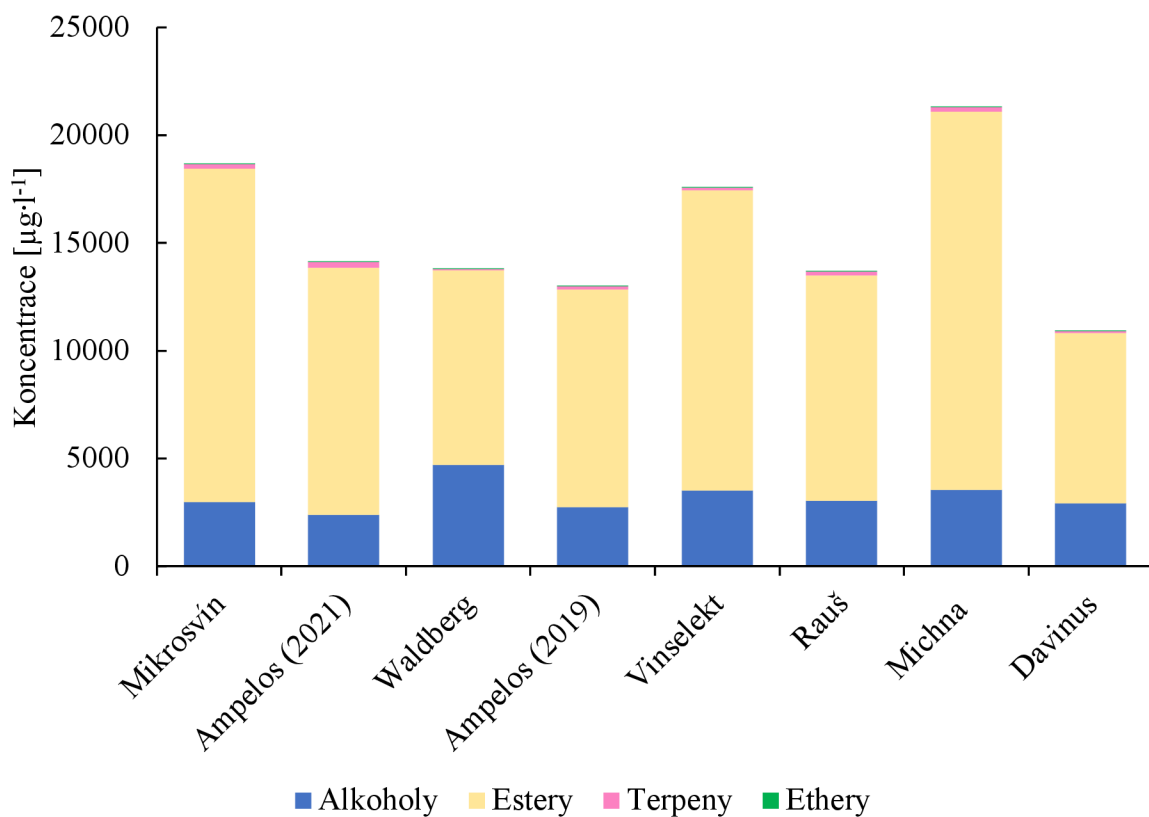
Pokud srovnáme koncentraci vybraných sloučenin ve všech vzorcích, (Obrázek 4 a 5), i z kvantitativního hlediska u obou odrůd výrazně převažují estery, složení vzorků z různých oblastí se ale liší. Z toho by se dalo usuzovat, že na počet sloučenin nemá původ vzorku výrazný vliv, výrazně ale ovlivňuje jejich obsah ve víně.



Obrázek 3: Srovnání počtu identifikovaných těkavých látek ve vzorcích vín odrůdy Neuburské a Kerner



Obrázek 4: Srovnání koncentrace vybraných těkavých látek ve vzorcích vín odrůdy Neuburské



Obrázek 5: Srovnání koncentrace vybraných těkavých látek ve vzorcích odrůdy Kerner

Tabulka 4: Přehled těkavých látek identifikovaných ve vzorcích vín

<b>RT [min]</b>	<b>Sloučenina</b>	<b>Funkční skupina</b>	<b>RT [min]</b>	<b>Sloučenina</b>	<b>Funkční skupina</b>
7,82	ethylbutanoát	ester	33,70	2-ethyl-1-hexanol	alkohol
8,25	1-propanol	alkohol	34,56	geranyl ethyl ether	ether
9,01	ethyl-3-methylbutanoát	ester	34,87	benzaldehyd	aldehyd
9,04	ethylisovalerát	ester	36,06	ethylpamitát	ester
10,42	isobutanol	alkohol	36,09	ethylnonanoát	ester
11,10	dimethylether	ether	36,76	ethyl-2-hydroxy-4-methylpentanoát	ester
11,45	isoamylacetát	ester	37,08	$\beta$ -linalool	terpen
13,02	1-butanol	alkohol	37,73	1-oktanol	alkohol
14,53	2-heptanon	keton	38,04	isopentyl methoxyacetát	ester
14,81	methylkapronát	ester	38,60	isomáselná kyselina	kyselina
16,04	8-hydroxylinalool	terpen	38,80	2,3-butandiol	alkohol
16,56	3-methyl-1-butanol	alkohol	38,93	methyldekanoát	ester
17,55	ethylhexanoát	ester	39,33	terpinen-4-ol	terpen
19,79	hexylacetát	ester	39,81	hotrienol	terpen
22,58	propylhexanoát	ester	40,68	ethyldekanoát	ester
23,18	2-heptanol	alkohol	41,16	butanová kys	kyselina
23,43	ethylheptanoát	ester	41,54	isoamyl oktanoát	ester
23,64	3-ethyl-1-butanol	alkohol	42,03	1-nonanol	alkohol
24,09	ethyl 2-hexenoát	ester	42,53	diethylsukcinát	ester
24,34	ethyl 2-hydroxypropanoát	ester	43,56	$\alpha$ -terpineol	terpen
24,38	ethylaktát	ester	45,36	TDN	terpen
25,23	1-hexanol	alkohol	47,03	1-dekanol	alkohol
25,82	trans-3-hexen-1-ol	alkohol	47,17	citronellol	terpen
26,61	3-ethoxy-1-propanol	alkohol	47,64	ethyl benzenacetát	ester
26,84	methyloktanoát	ester	48,85	2-fenethyl acetát	ester
29,91	ethyloktanoát	ester	50,61	hexanová kyselina	kyselina
30,96	ethylhexanoát	ester	52,23	benzenethanol	alkohol
31,06	isoamyl hexanoát	ester	53,85	1-dodekanol	alkohol
31,53	1-heptanol	alkohol	54,63	trans-2-hexenová kyselina	kyselina
31,71	nerol oxid	terpen	55,77	diethylmalát	ester
32,94	allyl 2-ethylbutyrát	ester	56,32	oktanová kys	kyselina

RT – retenční čas, TDN – 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen

Tabulka 5: Vypočtené koncentrace vybraných těkavých sloučenin v jednotlivých odrůdách

Analyt	Neuburské			Kerner		
	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]					
	Minimum	Maximum	Průměr	Minimum	Maximum	Průměr
isobutanol	739,4	8102,9	2028,9	494,3	864,5	689,2
isoamylacetát	459,9	5094,7	2205,4	657,6	10157,2	4325,0
ethylhexanoát	591,4	2708,9	1473,0	1270,0	2649,1	2084,3
hexylacetát	3,1	166,9	59,6	6,2	353,4	113,7
ethyl-2-hexenoát	2,4	15,6	8,4	4,1	36,5	10,0
1-hexanol	1397,8	2983,3	2303,0	1061,4	2608,3	1776,3
trans-3-hexen-1-ol	47,1	228,4	150,8	60,2	216,1	102,7
ethyloktanoát	335,7	3524,9	1526,6	974,8	2563,1	2096,8
nerol oxid	1,5	12,9	7,6	8,0	20,6	13,4
geranyl ethyl ether	2,7	11,1	6,5	4,5	46,5	18,8
$\beta$ -linalool	nd	25,6	18,1	6,1	89,6	44,9
1-oktanol	107,0	420,2	230,0	100,0	219,6	159,7
terpinen-4-ol	nd	4,6	2,6	2,2	4,7	3,4
hotrienol	6,6	32,9	16,6	13,5	51,7	33,7
ethyldekanoát	101,5	1649,6	783,8	388,2	1563,1	901,6
diethylsukcinát	1246,1	11318,8	4059,3	679,8	6417,7	2366,4
$\alpha$ -terpineol	10,3	40,6	25,2	22,4	91,6	58,8
1-dekanol	85,8	224,4	140,6	111,3	1057,1	499,2
citronellol	nd	2,5	1,4	nd	1,6	0,9
TDN	6,0	86,1	29,9	4,0	13,3	8,3
diethyl malát	29,7	166,1	95,7	30,8	206,2	87,3

nd – nebylo detekováno, TDN – 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen

## 5 ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývala studiem aromatických látek v minoritně zastoupených odrůdách bílých vín, Neuburské a Kerner. Celkem bylo pro experimentální část vybráno 10 vzorků vín odrůdy Neuburské a 8 vzorků vín odrůdy Kerner, pocházejících ze čtyř vinařských oblastí: slovácké, znojenské, velkopavlovické a mikulovské.

Experimentální část se zabývala stanovením těkavých látek s použitím metody HS-SPME-GC-MS. Nejprve byla ověřena linearita metody pomocí vybraných 16 standardů v koncentračním rozsahu 50–2000  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , jakožto hlavních zástupců těkavých sloučenin obsažených ve víně. Linearita byla prokázána proložením kalibračních křivek jednotlivých standardů a koeficienty spolehlivosti se pohybovaly v rozmezí 0,9816–0,9995.

Ve vzorcích bylo celkově identifikováno 62 těkavých sloučenin, z nich bylo vybráno 21 hlavních analytů vyskytujících se ve většině vzorcích obou odrůd. Jak z hlediska kvalitativního, tak kvantitativního ve vzorcích převažovaly estery, především ethylestery, důležité složky dodávající vínu především ovocné aroma.

Z výsledků práce vyplývá, že i minoritní odrůdy vína mají pestrý aromatický profil, bohatý na důležité aromatické látky a je žádoucí podporovat jejich pěstování v ČR.

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] KRAUS, Vilém, 1999. *Réva a víno v Čechách a na Moravě*. Praha: Radix. Tradice a současnost (Radix). ISBN 80-860-3123-3.
- [2] KRAUS, Vilém, Zuzana FOFFOVÁ a Bohumil WURM, c2005-c2008. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica. Tradice a současnost (Radix). ISBN 80-867-6700-0.
- [3] ANCHOR, John R. a Tereza LACINOVÁ, 2015. Czech wine consumers: maturing with age? *E M Ekonomie a Management* [online]. 2015-3-5, **18**(1), 169-182 [cit. 2024-01-04]. ISSN 12123609. Dostupné z: doi:10.15240/tul/001/2015-1-013
- [4] MASCELLANI, Anna, Gokce HOCA, Marek BABISZ, Pavel KRŠKA, Pavel KLOUCEK a Jaroslav HAVLIK, 2021. 1H NMR chemometric models for classification of Czech wine type and variety. *Food Chemistry* [online]. **339** [cit. 2024-01-04]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127852
- [5] PETRIASHVILI, Aleksandre, Jiří MACH, Michal ŠTĚBETÁK, et al., 2023. The impact of climate change on the sustainability of wine production and the structure of its consumption in Czechia. *Heliyon* [online]. **9**(7) [cit. 2024-03-21]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2023.e17882
- [6] TONIETTO, Jorge a Alain CARBONNEAU, 2004. A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology* [online]. **124**(1-2), 81-97 [cit. 2024-03-21]. ISSN 01681923. Dostupné z: doi:10.1016/j.agrformet.2003.06.001
- [7] MIKULÍKOVÁ, Renata, Sylvie BĚLÁKOVÁ, Karolína BENEŠOVÁ a Zdeněk SVOBODA, 2012. Study of ochratoxin A content in South Moravian and foreign wines by the UPLC method with fluorescence detection. *Food Chemistry* [online]. **133**(1), 55-59 [cit. 2024-03-21]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2011.12.061
- [8] LAMPÍŘ, Lubomír, 2013. Varietal differentiation of white wines on the basis of phenolic compounds profile. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2013-4-30, **31**(2), 172-179 [cit. 2024-03-21]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/270/2012-CJFS
- [9] Kerner. *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. [cit. 2024-01-04]. Dostupné z: <https://www.vinazmoravyvinazcech.cz/cs/o-vine/pruvodce-vinem/deleni-vina/deleni-podle-odrud/odrudy-bilych-vin/4581630-kerner>
- [10] *Přehled odrůd révy*, [2004]-. [Velké Bílovice]: Svaz vinařů České republiky. Odrůdy. ISBN 978-80-7401-182-5.
- [11] Kerner. In: *Vína z Moravy a vína z Čech* [online]. [cit. 2024-01-12]. Dostupné z: <https://www.vinazmoravyvinazcech.cz/cs/o-vine/pruvodce-vinem/deleni-vina/deleni-podle-odrud/odrudy-bilych-vin/4581630-kerner>
- [12] *Nejčastěji pěstované odrůdy révy vinné v České republice* [online], 2019. Valtice: Národní vinařské centrum [cit. 2024-01-04]. Dostupné z: <https://www.vinarskecentrum.cz/storage/files/odrudy-vune-brozura-CZ-2021-web.pdf>
- [13] LUDVÍKOVÁ, Ivana, 2020. *Přehled odrůd révy 2020* [online]. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský [cit. 2024-01-04]. ISBN 978-80-7401-182-5. Dostupné z: [https://eagri.cz/public/web/file/649003/Reva\\_2020.pdf](https://eagri.cz/public/web/file/649003/Reva_2020.pdf)
- [14] Neuburger, 2023. *Australian wine* [online]. [cit. 2024-01-04]. Dostupné z: <https://www.austrianwine.com/our-wine/grape-varieties/white-wine/neuburger>
- [15] Odrůda Neuburské. In: *Cesta za vínem* [online]. [cit. 2024-01-12]. Dostupné z: <https://www.cestazavinem.cz/neuburske/>



- [16] JACKSON, Ron S., 2000. Chemical Constituents of Grapes and Wine. *Wine Science* [online]. Elsevier, 232-280 [cit. 2024-01-12]. ISBN 9780123790620. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012379062-0/50007-X
- [17] FIC, Vlastimil, 2015. *Vino: analýza, technologie, gastronomie*. Český Těšín: 2 THETA. ISBN 978-80-86380-77-3.
- [18] PAVLOUŠEK, Pavel, 2010. *Výroba vína u malovinářů*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3487-3.
- [19] MICHLOVSKÝ, Miloš, 2014. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Rakvice: Vinselekt Michlovský. ISBN 978-80-905319-2-5.
- [20] JONES-MOORE, Hayden R., Rebecca E. JELLEY, Matteo MARANGON a Bruno FEDRIZZI, 2021. *The polysaccharides of winemaking: From grape to wine* [online]. **111**, 731-740 [cit. 2024-03-22]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.03.019
- [21] BALÍK, Josef a Jan STÁVEK, 2017. *Vinařská technologie: analýza, technologie, gastronomie*. Valtice: Národní vinařské centrum. ISBN 978-80-87498-77-4.
- [22] DE-LA-FUENTE-BLANCO, Arancha, María-Pilar SÁENZ-NAVAJAS a Vicente FERREIRA, 2016. On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry* [online]. **210**, 107-114 [cit. 2024-03-22]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2016.04.021
- [23] LUBBERS, Samuel, Caroline VERRET a Andrée VOILLEY, 2001. The Effect of Glycerol on the Perceived Aroma of a Model Wine and a White Wine. *LWT - Food Science and Technology* [online]. **34**(4), 262-265 [cit. 2024-03-22]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1006/fstl.2001.0766
- [24] CORDENTE, Antonio G., Damian ESPINASE NANDORFY, Mark SOLOMON, Alex SCHULKIN, Radka KOLOUCHOVA, Ian Leigh FRANCIS a Simon A. SCHMIDT, 2021. Aromatic Higher Alcohols in Wine: Implication on Aroma and Palate Attributes during Chardonnay Aging. *Molecules* [online]. **26**(16) [cit. 2024-03-22]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26164979
- [25] WATERHOUSE, Andrew L., Gavin L. SACKS a David W. JEFFERY. *Understanding Wine Chemistry* [online]. [cit. 2024-01-12]. Dostupné z: doi:10.1002/9781118730720
- [26] VOLSCHENK, H., H.J.J. VAN VUUREN a M. VILJOEN-BLOOM, 2017. *Malic Acid in Wine: Origin, Function and Metabolism during Vinification* [online]. **27**(2) [cit. 2024-03-28]. ISSN 22247904. Dostupné z: doi:10.21548/27-2-1613
- [27] ROBLES, Alicia, Magdalena FABJANOWICZ, Tomasz CHMIEL a Justyna PŁOTKA-WASYLKA, 2019. Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. **120** [cit. 2024-03-22]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2019.115630
- [28] *Vinařství, vady vín vzniklé v průběhu MLK* [online]. [cit. 2024-01-12]. Dostupné z: [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/print.php?page=1266&typ=html](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=1266&typ=html)
- [29] REGMI, U., M. PALMA a C.G. BARROSO, 2012. Direct determination of organic acids in wine and wine-derived products by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta* [online]. **732**, 137-144 [cit. 2024-03-22]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2011.11.009
- [30] VILELA-MOURA, A., D. SCHULLER, A. MENDES-FAIA a M. CÔRTE-REAL, 2008. Reduction of volatile acidity of wines by selected yeast strains. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. **80**(5) [cit. 2024-03-22]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-008-1616-x
- [31] KRAUS, Vilém, Zdeněk KUTTELVAŠER a Bohumil VURM, 1997. *Encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Melantrich. ISBN 80-702-3250-1.

- [32] FERNANDES, Iva, Rosa PÉREZ-GREGORIO, Susana SOARES, Nuno MATEUS a Victor DE FREITAS, 2017. Wine Flavonoids in Health and Disease Prevention. *Molecules* [online]. **22**(2) [cit. 2024-03-28]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22020292
- [33] STYGER, Gustav, Bernard PRIOR a Florian F. BAUER, 2011. *Wine flavor and aroma* [online]. **38**(9), 1145-1159 [cit. 2024-03-29]. ISSN 1367-5435. Dostupné z: doi:10.1007/s10295-011-1018-4
- [34] WATERHOUSE, ANDREW L., 2002. Wine Phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. **957**(1), 21-36 [cit. 2024-03-28]. ISSN 0077-8923. Dostupné z: doi:10.1111/j.1749-6632.2002.tb02903.x
- [35] DUCHÊNE, E., J.L. LEGRAS, F. KARST, D. MERDINOGLU, P. CLAUDEL, N. JAEGLI a F. PELSUY, 2009. Variation of linalool and geraniol content within two pairs of aromatic and non-aromatic grapevine clones. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. **15**(2), 120-130 [cit. 2024-03-29]. ISSN 13227130. Dostupné z: doi:10.1111/j.1755-0238.2008.00039.x
- [36] SUMBY, Krista M., Paul R. GRBIN a Vladimir JIRANEK, 2010. Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects. *Food Chemistry* [online]. **121**(1), 1-16 [cit. 2024-03-28]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2009.12.004
- [37] PEDERSEN, D. Sejer, Dimitra L. CAPONE, George K. SKOUROUMOUNIS, Alan P. POLLNITZ a Mark A. SEFTON, 2003. Quantitative analysis of geraniol, nerol, linalool, and  $\alpha$ -terpineol in wine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. **375**(4), 517-522 [cit. 2024-03-29]. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-002-1716-x
- [38] MENDES-PINTO, Maria Manuela, 2009. Carotenoid breakdown products the—norisoprenoids—in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics* [online]. **483**(2), 236-245 [cit. 2024-03-29]. ISSN 00039861. Dostupné z: doi:10.1016/j.abb.2009.01.008
- [39] BOTEZATU, Andreea, Yorgos KOTSERIDIS a Debbie INGLIS, 2016. A survey of methoxypyrazines in wine. *Journal of Food, Agriculture and Environment* [online]. (14), 24-29 [cit. 2024-04-11]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/profile/Gary-Pickering/publication/297046235\\_A\\_survey\\_of\\_methoxypyrazines\\_in\\_wine/links/6246c9135e2f8c7a034fb783/A-survey-of-methoxypyrazines-in-wine.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gary-Pickering/publication/297046235_A_survey_of_methoxypyrazines_in_wine/links/6246c9135e2f8c7a034fb783/A-survey-of-methoxypyrazines-in-wine.pdf)
- [40] DE VILLIERS, André, Phillipus ALBERTS, Andreas G.J. TREDoux a Hélène H. NIEUWOUDT, 2012. Analytical techniques for wine analysis: An African perspective; a review. *Analytica Chimica Acta* [online]. **730**, 2-23 [cit. 2024-04-08]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2011.11.064
- [41] BARTLE, Keith D. a Peter MYERS, 2002. History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. **21**(9-10), 547-557 [cit. 2024-03-05]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(02)00806-3
- [42] EBELER, Susan E., 2012. Gas Chromatographic Analysis of Wines. *Gas Chromatography* [online]. Elsevier, 689-710 [cit. 2024-03-05]. ISBN 9780123855404. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-385540-4.00030-4
- [43] SOMMER, Lumír, 2000. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM. ISBN 80-214-1742-0.
- [44] KHOPKAR, S.M., 2008. *Basic Concepts Of Analytical Chemistry* [online]. 2. vydání. New Age International Pvt Ltd Publishers [cit. 2024-04-26]. ISBN 978-8122411591.
- [45] PĚKNICOVÁ, Markéta a Dagmar KRUCINOVÁ, 1999. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu* [online]. Český Těšín: 2 THETA [cit. 2024-04-26]. ISBN 80-902432-9-0. Dostupné z: [https://web.natur.cuni.cz/~sevcik/plyn\\_chrom.pdf](https://web.natur.cuni.cz/~sevcik/plyn_chrom.pdf)

- [46] HOLEKSA, Miroslav, 2007. *Využití plynové chromatografie v kontrole léčiv I*. Hradec Králové. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
- [47] QIAN, Michael C., Devin G. PETERSON a Gary A. REINECCIUS, 2017. Gas chromatography. In: *Food analysis* [online]. Springer International Publishing, s. 227-253 [cit. 2024-04-26]. ISBN 978-3-319-45774-1.
- [48] RAHMAN, Musfiqu, Jae-Han SHIM a , 2015. Basic Overview on Gas Chromatography Injectors. In: *Analytical Separation Science* [online]. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., s. 807-822 [cit. 2024-04-26].
- [49] MAŠTOVSKÁ, Kateřina a Steven J. LEHOTAY, 2003. Practical approaches to fast gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. **1000**(1-2), 153-180 [cit. 2024-04-26]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(03)00448-5
- [50] BARTOVSKÝ, Tomáš, 2017. Provozní plynové chromatografy. In: *AUTOMA*. Děčín: Automa – časopis pro automatizační techniku, s. 24-29. ISSN 1210-9592.
- [51] ŠEVČÍK, Jiří Georg Kamil, 2011. *Detectors in gas chromatography* [online]. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company [cit. 2024-04-27]. Journal of chromatography library. ISBN 04-449-9857-8.
- [52] FRIEDECKÝ, D. a K. LEMR. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. Česká lékařská společnost j. E. Purkyně, **20 (41) 2012(3)**, 152-157 [cit. 2024-04-30]. ISSN 1210-792.
- [53] DE HOFFMANN, Edmond a Vincent STROOBANT, [2007]. *Mass spectrometry: principles and applications* [online]. Third edition. Chichester: John Wiley [cit. 2024-04-30]. ISBN 978-047-0033-104.
- [54] WARDENCKI, Waldemar a Z. WITKIEWICZ, 2021. Developments in Miniaturization of Gas Chromatography. *Current Advances in Chemistry and Biochemistry Vol. 4* [online]. Book Publisher International (a part of SCIENCEDOMAIN International), 2021-05-05, 24-42 [cit. 2024-04-30]. ISBN 9789390888009. Dostupné z: doi:10.9734/bpi/cacb/v4/7175D
- [55] MEDHE, Sharad, 2018. Mass Spectrometry: Detectors Review. *Chemical and Biomolecular Engineering*. [online]. Science publishing group, **3(4)**, 51-58 [cit. 2024-04-30]. Dostupné z: doi:10.11648/j.cbe.20180304.11
- [56] HARVEY, David, 2000. *Modern analytical chemistry* [online]. Boston: McGraw-Hill [cit. 2024-04-30]. ISBN 00-723-7547-7.
- [57] BALASUBRAMANIAN, Sundar a Suranjan PANIGRAHI, 2011. Solid-Phase Microextraction (SPME) Techniques for Quality Characterization of Food Products: A Review. *Food and Bioprocess Technology* [online]. **4(1)**, 1-26 [cit. 2024-05-10]. ISSN 1935-5130. Dostupné z: doi:10.1007/s11947-009-0299-3
- [58] HOOK, Gary L., Gregory L. KIMM, Tara HALL a Philip A. SMITH, 2002. Solid-phase microextraction (SPME) for rapid field sampling and analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. **21(8)**, 534-543 [cit. 2024-05-10]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(02)00708-2
- [59] PAWLISZYN, JANUSZ, BARBARA PAWLISZYN a MICHAEL PAWLISZYN, 1997. Solid Phase Microextraction (SPME). *The Chemical Educator* [online]. **2(4)**, 1-7 [cit. 2024-05-10]. ISSN 1430-4171. Dostupné z: doi:10.1007/s00897970137a
- [60] HSIEH, Eric a Jen-peí LIU, 2008. On Statistical Evaluation of the Linearity in Assay Validation. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* [online]. 2008-07-07, **18(4)**, 677-690 [cit. 2024-05-19]. ISSN 1054-3406. Dostupné z: doi:10.1080/10543400802071378

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

HS	Headspace
SPME	Mikroextrakce na pevnou fázi
GC	Plynová chromatografie
MS	Hmotnostní spektrometrie
FID	Plamenově-ionizační detektor
TCD	Tepelně-vodivostní detektor
ECD	Detektor elektronového záchytu
TOF	Analyzátor doby letu
EI	Elektronová ionizace
RT	Retenční čas