

Mendelova univerzita v Brně

Zahradnická fakulta v Lednici

Ústav Vinohradnictví a vinařství



Zahradnická
fakulta

Hydroxyskořicové kyseliny v moštových odrůdách révy vinné

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Michal Kumšta

Vypracovala:

Bc. Anna Brzobohatá

Lednice 2017



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Anna Brzobohatá**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Řízení zahradnických technologií
Název tématu: **Hydroxyskořicové kyseliny v moštových odrůdách révy vinné**
Rozsah práce: 60 stran textu, grafy, tabulky a chromatogramy

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu týkající se zadaného problému. Zaměřte se na formy a strukturu hydroxyskořicových kyselin v bobulích révy vinné.
2. Vyberte významné moštové odrůdy révy vinné. V hroznech o různém stupni zralosti stanovte základní analytické parametry a proveďte extrakci moštu z bobulí za reduktivních podmínek. V moštu stanovte profil hydroxyskořicových kyselin.
3. Získané výsledky zpracujte vhodnou statistickou metodou a vyhodnoťte.



Seznam odborné literatury:

1. *Wine chemistry and biochemistry*. 1. vyd. New York: Springer, 2008. 735 s. ISBN 978-0-387-74116-1.
2. BRANCO, J M. – RIBÉREAU-GAYON, P. Handbook of enology. : The chemistry of wine stabilization and treatments. volume 2. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103962, 97804700103722. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010398>.
3. KUMŠTA, M. Hydroxyskořicové kyseliny-Část1.: Obecné a antioxidační vlastnosti. *Vinařský obzor*. 2007. sv. 100, č. 6, s. 293–295. ISSN 1212-7884.

Datum zadání diplomové práce: leden 2015

Termín odevzdání diplomové práce: květen 2017

L. S.



Bc. Anna Brzobohatá
Autorka práce



Ing. Michal Kumšta
Vedoucí práce



doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.
Vedoucí ústavu



prof. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem práci „Hydroxyskořicové kyseliny v moštových odrůdách révy vinné“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury.

Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b Zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí, o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje Zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 Autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici, dne:

.....
Podpis

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce panu Ing. Michalu Kumštovi za jeho čas, který věnoval našim konzultacím, a rady poskytované během tvorby práce. Dále chci poděkovat své rodině a přátelům, kteří mi byli oporou a povzbuzením po celou dobu studia.

Obsah

1	Úvod	11
2	Cíl práce	13
3	Literární část	14
3.1	Fenolické látky v bobulích révy vinné	14
3.1.1	Flavonoidní fenolické látky	15
3.1.2	Neflavonoidní fenolické látky.....	17
3.2	Hydroxyskořicové kyseliny	21
3.2.1	Kyselina kávová	22
3.2.2	Kyselina ferulová	23
3.2.3	Kyselina para-kumarová	24
3.2.4	Kyselina kaftarová	25
3.2.5	Kyselina koutarová	28
3.2.6	Kyselina fětarová	29
3.2.7	Těkavé fenoly.....	30
3.3	Charakteristika vybraných odrůd révy vinné	35
3.3.1	Veltlínské zelené	35
3.3.2	Ryzlink rýnský	35
3.3.3	Chardonnay	36
3.3.4	Sauvignon blanc	37
3.3.5	Tramín červený	38
3.3.6	Hibernal.....	38
3.3.7	Rulandské modré.....	39
3.3.8	Frankovka.....	39
3.3.9	Cabernet Franc	40
3.3.10	Laurot.....	40
4	Experimentální část	42
4.1	Použitý materiál.....	42
4.2	Použité metody měření.....	42

4.2.1	Stanovení cukernatosti	43
4.2.2	Stanovení pH.....	43
4.2.3	Stanovení veškerých titrovatelných kyselin.....	44
4.2.4	Stanovení asimilovatelného dusíku.....	45
4.2.5	Stanovení antirádikálové aktivity.....	46
4.2.6	Stanovení celkových fenolů	47
4.2.7	Stanovení celkových flavanolů	47
4.2.8	Stanovení jednotlivých hydroxykyselin	47
4.3	Použité statistické metody.....	49
4.4	Výsledky.....	51
4.5	Diskuze	74
5	Závěr	77
6	Souhrn.....	79
7	Summary.....	80
8	Seznam použité literatury	81

Seznam obrázků, grafů a tabulek

Obr. 1: Kyselina kávová (POLO et al., 2009).....	23
Obr. 2: Kyselina ferulová (POLO et al., 2009).....	23
Obr. 3: Kyselina para-kumarová (SINGLETON et al., 1986).....	24
Obr. 4: Kyselina kaffarová (KUMŠTA, 2007).....	28
Obr. 5: Kyselina koutarová (SINGLETON et al., 1986).....	29
Obr. 6: Kyselina fertarová (SINGLETON et al., 1986).....	29
Obr. 7: Přeměna hydroxyskořicových kyselin na ethylfenoly (SUÁREZ et al., 2007).....	34
Graf 1: Obsah jednotlivých hydroxyskořicových kyselin dne 14. 9. 2016 (mg.l ⁻¹).....	54
Graf 2: Obsah jednotlivých hydroxyskořicových kyselin při finálním sběru (mg.l ⁻¹)...55	
Graf 3: Vývoj jednotlivých hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání u odrůdy Ryzlink rýnský.....	56
Graf 4: Vývoj jednotlivých hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání u odrůdy Chardonnay.....	57
Graf 5: Vývoj jednotlivých hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání u odrůdy Hibernál.....	57
Graf 6: Vývoj jednotlivých hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání u odrůdy Frankovka.....	58
Graf 7: Závislost obsahu jednotlivých hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti u odrůdy Ryzlink rýnský.....	59
Graf 8: Závislost obsahu jednotlivých hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti u odrůdy Chardonnay.....	59

Graf 9: Závislost obsahu jednotlivých hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti u odrůdy Hibernál.....	60
Graf 10: Závislost obsahu jednotlivých hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti u odrůdy Frankovka.....	60
Graf 11: Závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin na antiradikálové aktivitě u odrůdy Ryzlink rýnský.....	61
Graf 12: Závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin na antiradikálové aktivitě u odrůdy Chardonnay.....	62
Graf 13: Závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin na antiradikálové aktivitě u odrůdy Hibernál.....	62
Graf 14: Závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin na antiradikálové aktivitě u odrůdy Frankovka.....	63
Graf 15: Obsah celkových fenolů v hroznech při finálním sběru v mg.l ⁻¹ kyseliny gallové.....	64
Graf 16: Závislost celkového obsahu hydroxyskořicových kyselin (mg.l ⁻¹) na obsahu celkových fenolů (mg.l ⁻¹) u odrůdy Ryzlink rýnský.....	65
Graf 17: Závislost celkového obsahu hydroxyskořicových kyselin (mg.l ⁻¹) na obsahu celkových fenolů (mg.l ⁻¹) u odrůdy Chardonnay.....	65
Graf 18: Závislost celkového obsahu hydroxyskořicových kyselin (mg.l ⁻¹) na obsahu celkových fenolů (mg.l ⁻¹) u odrůdy Hibernál.....	66
Graf 19: Závislost celkového obsahu hydroxyskořicových kyselin (mg.l ⁻¹) na obsahu celkových fenolů (mg.l ⁻¹) u odrůdy Frankovka.....	66
Graf 20: Chromatogram odrůdy Ryzlink rýnský.....	67
Graf 21: Chromatogram odrůdy Chardonnay.....	68
Graf 22: Chromatogram odrůdy Hibernál.....	69
Graf 23: Chromatogram odrůdy Frankovka.....	70

Graf 24: Bodový graf vyjadřující celkové množství hydroxyskořicových kyselin vs. celkové množství fenolických látek.....	72
Graf 25: Bodový graf vyjadřující celkové množství hydroxyskořicových kyselin vs. obsah asimilovatelného dusíku.....	73
Tab. 1: Základní analytické parametry moštu z odebíraných hroznů.....	51
Tab. 2: Koncentrace jednotlivých hydroxyskořicových kyselin.....	52
Tab. 3: Procentuální zastoupení jednotlivých hydroxyskořicových kyselin.....	53
Tab. 4: Vzájemná korelace mezi proměnnými.....	71

1 Úvod

Víno je v současné době velmi oblíbeným a vyhledávaným nápojem ve většině zemí vyspělého světa. Velké množství klinických studií prokázalo jeho nesporné zdraví prospěšné účinky. Statistiky jasně ukazují, že obyvatelé zemí s vyšší spotřebou vína a dlouhou tradicí vinařství se dožívají vyššího věku. U této skupiny obyvatel byl rovněž zjištěn výrazně nižší výskyt kardiovaskulárních chorob a některých druhů onkologických onemocnění.

V České Republice je průměrná roční spotřeba vína na jednu osobu přibližně 18 litrů. Tato spotřeba v dlouhodobém časovém horizontu stále narůstá a s ní i požadavky a očekávání spotřebitelů týkající se kvality. Kvalita vína je ovlivněna mnoha faktory a závisí na celém procesu výroby vína, počínaje zvolením vhodných agrotechnických zásahů ve vinici, zdravotním stavem výchozí suroviny, způsobem zpracování hroznů, až po stabilizaci, školení a zrání vína.

Zásadním faktorem, určujícím sensorické a chemické vlastnosti vína, je jeho složení a poměr jednotlivých obsažených látek. Složení červených, růžových a bílých vín je odlišné. Hlavní rozdíl spočívá v množství fenolických látek, kdy modré odrůdy a červená vína jsou na ně velmi bohaté, zatímco bílé odrůdy s bílými víny velký obsah těchto sloučenin neobsahují.

Za hlavní fenolické látky bílých vín jsou považovány hydroxyskořicové kyseliny, patřící mezi neflavonoidní fenolické látky. Jsou to sensoricky neutrální, bezbarvé látky, které však velmi snadno podléhají oxidaci a následně způsobují žluté až hnědé zbarvení vína. V červených vínech jsou důležité pro kopigmentaci, kde zesilují jejich barevnou intenzitu. V bobulích révy vinné se kromě slupky vyskytují v nejvyšší míře v dužnině, čímž se zcela odlišují od ostatních fenolických látek, proto jejich obsah ve víně není možné významně ovlivnit výrobní technologií. Hydroxyskořicové kyseliny fungují jako prekurzory vinylfenolů a ethylfenolů, které ve víně způsobují lékárenské a animální aroma. K vyšší akumulaci hydroxyskořicových kyselin a následně těkavých fenolů dochází v případě nadměrně odlistěné a osluněné zóny hroznů. V těchto hroznech se brzy objevují hořké a připálené tóny. Tato fakta poukazují na důležitost pečlivého a uvážlivého provedení agrotechnických zásahů během dozrávání hroznů.

Vyšší obsah hydroxyskořicových kyselin se objevuje i v případech, kdy hrozny dozrávají za nižších teplot a při vyšších srážkových úhrnech.

Z uvedených poznatků je patrné, že hydroxyskořicové kyseliny hrají významnou roli při sensorickém posuzování kvality vína. Proto je důležitá znalost jejich působení a možnosti ovlivňování obsahu těchto látek ve vínech.

2 Cíl práce

Diplomová práce má za cíl přiblížit téma hydroxyskořicových kyselin, jakožto hlavních fenolických látek bílých moštových odrůd révy vinné, které významně ovlivňují kvalitu výsledného vína.

Úkolem bylo charakterizovat jednotlivé formy hydroxyskořicových kyselin a v bobulích několika vybraných moštových odrůd révy vinné, bílých i modrých, stanovit jejich profil, základní analytické parametry a sledovat vývoj obsahu těchto fenolických sloučenin v průběhu dozrávání a jejich závislost na vybraných analytických parametrech.

3 Literární část

3.1 Fenolické látky v bobulích révy vinné

Fenolické látky hrají významnou roli ve vinařství a v procesu výroby vína. Jsou zodpovědné za zásadní rozdíly mezi bílými a červenými víny, a to zejména v případě barvy a chuti červených vín. Rovněž mají prokazatelné zdraví prospěšné účinky (MILLER-JONES, 2010), a to především díky jejich vysoké antioxidační aktivitě, která chrání konzumenty vína před náhlými srdečními příhodami nebo chronickými kardiovaskulárními problémy (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006). V posledních letech se provádí četné klinické studie prokazující vliv konzumace vína na zvýšení HDL cholesterolu (DA LUZ *et al.*, 2014) a naopak snížení LDL cholesterolu (DROSTE *et al.*, 2013), snížení hladiny glukózy v krvi u diabetiků (DA LUZ *et al.*, 2014; KARADENIZ *et al.*, 2014) i jako ochrana před rozvojem hypertenze (DILLENBURG *et al.*, 2013).

Jde o velmi rozsáhlou skupinu pevných látek s rozdílnou strukturou lišící se biologickou dostupností. Existují výrazné rozdíly v jejich složení a zastoupení ve víně a bobulích mezi bílými a modrými odrůdami i v rámci jednotlivých odrůd mezi sebou. Rovněž velké rozdíly lze vidět ve věnech mladších a starších ročníků. Během vzniku a zrání podléhají značnému množství reakcí. Jsou rozpustné ve vodě a částečně pronikají lipidovými dvojvrstvami. U hroznů révy vinné se nacházejí ve slupce, v dužnině, v semenech a v třapině (MORENO, 2012).

Fenolické látky obsahují minimálně jednu hydroxylovou skupinu (OH) navázanou na aromatické jádro C₆. Fenolové sloučeniny, které jsou výchozí z jednoduché vazby na benzenový cyklus, vycházejí z kondenzace erytrózo-4-fosfátu, meziprojektu pentózového cyklu s kyselinou fosfoenolpyrohroznovou (MICHLOVSKÝ, 2014; PAVLOUŠEK, 2010).

Základní dělení fenolických látek v bobulích je na flavonoidy a neflavonoidy.

3.1.1 Flavonoidní fenolické látky

Nejširší skupina fenolických látek v hroznech a víně (PAVLOUŠEK, 2011). Jedná se o sloučeniny, obsahující centrální skelet se sumárním vzorcem C₆-C₃-C₆. Základní strukturou je tedy flavan. Flavonoidy bývají velmi často vázány s jednou nebo více molekulami glukózy a vytváří tak sloučeniny zvané glykosidy. Přítomnost těchto jednotek glukózy zajišťuje ve víně, a jakémkoli jiném vodně-alkoholickém prostředí, vyšší rozpustnost flavonoidů. Flavonoidy jsou příčinou hořké a svíravé chuti ve víně a zároveň vínům dodávají jejich charakteristickou barvu (MICHLOVSKÝ, 2014).

Antokyany

Jedná se o nejrozšířenější a početně velmi rozsáhlou skupinu rostlinných barviv. Dosud bylo v přírodních zdrojích identifikováno asi 300 různých antokyanů (VELÍŠEK, 2002). V enologii jsou důležité především pro své početné zastoupení v červených vínech, a to jako antokyanová barviva. V mladých červených vínech se vyskytují v množství od 200 do 500 mg.l⁻¹, u bílých vín je jejich zastoupení pouze stopové. U modrých odrůd se nejčastěji nacházejí ve slupce, v případě odrůd barvířek je zbarvená i dužnina. Jejich rozpadem vznikají hydroxybenzoové kyseliny. V hroznech bývají antokyany nestabilní a vyskytují se ve vázané formě na glukózu, ta je stabilizuje. V bobulích se vytváří v průběhu zrání a jejich obsah bývá ovlivněn pěstitelskými a klimatologickými podmínkami. Množství antokyanů ve víně závisí na technologii výroby a délce macerace na slupkách. Během zrání vína, zejména v dřevěných sudech, se postupně molekuly antokyanů hydrolyzují a ztrácejí molekuly glukózy, za současného vzniku nestálých antokyanidinů. Vlivem těchto reakcí se mění barevný odstín červeného vína a přibývá hnědavých tónů (KRAUS *et al.*, 2008). Jsou stabilní pouze v kyselém prostředí a velmi omezeně vstřebávány v trávicím traktu. Za hlavní antokyanové barvivo je považovaný malvidin-3-glukosid. U modrých odrůd je základ barviv tvořen antokyany malvidinem, cyanidinem, delfinidinem, peonidinem a petunidinem. Tyto látky patří mezi monoglukosidy. U divokých odrůd révy vinné se vyskytují i diglukosidická barviva. Vyskytují se i jako estery s kyselinou kumarovou, kávovou a octovou. Profil antokyanů ve slupkách bobulí se liší u jednotlivých odrůd a tyto odlišnosti se využívají pro klasifikaci odrůd (PAVLOUŠEK, 2010; PAVLOUŠEK, 2011). Z hlediska názvosloví se termínem antokyany označují

antokyanidiny, tj. struktury bez navázaných cukerných jednotek, nebo antokyaniny, což jsou sloučeniny antokyanidinů s různým počtem cukerných jednotek (MICHLOVSKÝ, 2014).

Flavonoly

Jedná se o žluté pigmenty vyskytující se ve slupkách bobulí modrých i bílých hroznů. Veškeré významnější flavonoly nacházející se v potravinách mají v poloze C-3, C-5 a C-7 hydroxyskupinu (VELÍŠEK, 2002). Vyskytují se výhradně ve formě glykosidů, to znamená jako sloučeniny kaemferolu, quercetinu, myricetinu a isorhamnetinu s cukernými jednotkami. Glykosidy myricetinu ve slupkách bílých hroznů však nebyly dosud potvrzeny. Glykosidy jsou v průběhu vinifikace hydrolyzovány na cukerné jednotky a centrální strukturu (MICHLOVSKÝ, 2014). Významná je koncentrace glykosidů flavonolů. Flavonoly působí jako ochrana před UV zářením a v hroznech se vyskytují ve formě glukosidů, glukuronidů a galaktosidů. Hlavními flavonoly jsou quercetin, na něhož se v současnosti zaměřuje pozornost z důvodu jeho antioxidační, protivirové a fungicidní aktivity, a myricetin. Méně zastoupené jsou kaemferol a isorhamnetin (BOYDENS *et al.*, 2015; PAVLOUŠEK, 2011). Flavonoly se nepodílejí na barvě bílých vín. Původ jejich barvy je třeba hledat v reakcích, kdy dochází ke slučování železa s fenolovými sloučeninami, jako jsou například třísloviny, nebo v některých případech dokonce i s organickými kyselinami (MICHLOVSKÝ, 2014).

Flavan-3-oly

Flavan-3-oly, označované také jako katechiny, mají velký význam pro chuťové vlastnosti vína, jejich polymerizací vznikají taniny (třísloviny). Pro své příznivé působení je nejdůležitější nízkomolekulární katechin a epikatechin (PAVLOUŠEK, 2011). Jejich příjem má blahodárné účinky na zdravotní stav, především díky schopnosti katechinů snižovat hladinu cholesterolu v krvi a rozšiřovat cévy, čímž lze předcházet mnohým kardiovaskulárním chorobám (MICHLOVSKÝ, 2014). Katechin a epikatechin jsou hojně obsaženy i v zeleném čaji. Mají poměrně nízkou biologickou dostupnost a ve víně je cítíme jako hořkou nebo tříslovitou chuť podle stupně polymerizace. Taniny se vyskytují ve slupkách a semenech bobulí a v třápině hroznů, ty mají jen malý význam, neboť obvykle se většina hroznů odstopkovává

před lisováním. Chut'ové vlastnosti vína výrazně ovlivňují taniny ze slupek a semen, proto je velmi důležitá jejich správná vyzrálost. Jejich struktura a obsah se v průběhu zrání hroznů rychle mění. Koncentrace těchto látek v semenech klesá po začátku vybarvování hroznů až do doby úplné zralosti. Taniny ve slupce jsou stálejší a mají malou proměnlivost v průběhu dozrávání ve stupni polymerizace. Do vína se taniny mohou dostat i v průběhu zrání z dřevěných sudů (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006). Za předpokladu, že se nazrávání průběžně kontroluje, mají tyto třísloviny dodané vínu dřevem sudu ve většině případů spíše sladkou, příjemnou a jen lehce svíravou chuť (MICHLOVSKÝ, 2014). U odrůd s vysokým obsahem antokyanů ve slupce je obvyklá i vysoká koncentrace taninů (PAVLOUŠEK, 2010; PAVLOUŠEK, 2011).

3.1.2 Neflavonoidní fenolické látky

Základní neflavonoidní fenolické látky ve víně se dělí na hydroxyskořicové kyseliny, hydroxybenzoové kyseliny a stilbeny. Dále do této skupiny patří i těkavé fenoly, které vznikají působením mikroorganismů s hydroxyskořicovými kyselinami.

Ačkoli se jedná o látky bezbarvé, mohou vést ke stabilizaci barvy červených vín. Zároveň mohou přispívat k dalšímu vývoji sensorických vlastností vína a některé z nich, jako například resveratrol, vykazují i důležitou biologickou aktivitu (POLO *et al.*, 2009).

Stilbeny

Svojí strukturou a biochemickým původem jsou deriváty uhlovodíku stilbenu příbuzné flavonoidům. Přírodně se vyskytující jsou substituované sloučeniny s dvěma benzenovými kruhy spojenými alifatickým dvouuhlíkatým řetězcem. Jako flavonoidy se i deriváty stilbenu vyskytují jako volné sloučeniny nebo jako glykosidy (VELÍŠEK, 2002). Zařazením patří mezi fytoalexiny, nízkomolekulární látky, které vznikají na základě vzájemného působení mezi mikroorganismem a rostlinou a mají antimikrobiální vlastnosti. Ve zvýšené míře se tedy začínají tvořit jako reakce rostliny na stresové faktory nebo po napadení patogenem. Jsou sledované především pro své pozitivní zdravotní účinky (MORENO, 2012; PAVLOUŠEK, 2010).

Resveratrol

Trans-resveratrol je protifungická látka, kterou vylučuje réva jako ochranu proti útokům mikroorganismů a především na obranu proti houbám způsobujícím hnilobu hroznů (MICHLOVSKÝ, 2014). Ve víně se vyskytuje pouze v malém množství a z důvodu jeho nízké biologické dostupnosti je obtížné plně využít jeho významné příznivé vlivy na lidský organismus. Účinkem UV záření z něho vzniká *cis*-resveratrol, který je méně stabilní a ve víně obsažený ve vyšší koncentraci, ale není známo jeho přesné působení. Resveratrol se vyskytuje i ve formě glukosidů. Jde o důležitý antioxidant, chránící somatické buňky před volnými kyslíkovými radikály a snižující oxidační stres. Rovněž byly u resveratrolu pozorovány proti rakovinotvorné účinky a to v působení proti vzniku rakovinných nádorů i v potlačení jejich růstu a dalšího šíření u onkologicky nemocných pacientů. Ve větším množství je obsažen u modrých odrůd a v červených vínech s delší dobou macerace (koncentrace od 1 do 10 mg.l⁻¹), protože se koncentruje ve slupkách bobulí. Nepatrný výskyt může být také v semenech. Byl prokázán vyšší výskyt resveratrolu v hroznech pocházejících ze severních klimatických podmínek a zároveň nejvyššího množství dosahovaly hrozny odrůdy Rulandské modré a následně mladé víno z nich vyrobené. Jak se ukázalo, stárnutím vín se obsah resveratrolu a ostatních fenolických látek snižoval, nejzřetelněji v případech, kdy vína zrála v dřevěných sudech (DAVIDOV-PARDO *et al.*, 2014; KRAUS *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2015; SELVARAJU *et al.*, 2013; ZHAO *et al.*, 2015).

Piceatannol

Piceatannol je metabolit resveratrolu, o něco účinnější než samotný resveratrol, nalezený v červeném víně, bobulích révy vinné, plodech mučenky a v bílém čaji. V červeném víně byl rovněž objevený jeho glukosid astringin. Proběhla řada klinických studií, které ukázaly, že piceatannol i přes svoji nízkou biologickou dostupnost a pouze nepatrnou koncentraci ve víně a hroznech, prokazatelně snižoval aktivitu proteinových enzymů způsobujících leukémii a několik dalších onkologických onemocnění (KWON *et al.*, 2012; LAI *et al.*, 2015).

Hydroxybenzoové kyseliny

Jsou to nejjednodušší fenolické látky ve víně a vyskytují se v něm ve velmi nízkých koncentracích. Jedná se o hydroxylové deriváty kyseliny benzoové. Jejich původ je třeba hledat v hroznech révy, kde obvykle bývají vázány v esterech kyseliny vinné. Méně často je lze najít i ve vazbách na třísloviny nebo dokonce cukry. V hroznech se tedy nacházejí především ve formě glykosidů a esterů jako gallové a elagické taniny. Červená vína obsahují desetinásobně větší množství než vína bílá. V průběhu nazrávání a archivace vína dochází k pozvolné hydrolyze, při které se odštěpují fenolové kyseliny a dále zůstávají ve volném stavu (MICHLOVSKÝ, 2014; PAVLOUŠEK, 2011; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Kyselina gallová

Je trihydroxybenzoová kyselina nacházející se v mnoha druzích rostlin a zároveň je nejvýznamnější a jedinou hydroxybenzoovou kyselinou obsaženou přímo v pevných částech bobulí. Vyskytuje se samostatně i jako součást hydrolyzovatelných gallických taninů. Po rozkladu hydrolyzou vznikají kyselina gallová a glukóza nebo kyselina ellagová a glukóza. Kyselina gallová je velmi významným antioxidantem a bývá často používána ve farmaceutickém průmyslu. Může být zneužita jako výchozí materiál při výrobě psychedelické drogy meskalinu (PAVLOUŠEK, 2011; TSAO, 1951).

Kyselina vanilová, kyselina syringová a kyselina protokatechuová

Jsou ve víně zastoupeny v podstatně menší koncentraci než kyselina gallová a jejich působení je nepatrné. Kyselina vanilová je derivát kyseliny dihydroxybenzoové a je zároveň meziproduktem při výrobě vanilinu z kyseliny ferulové. Kyselina syringová se v červeném víně uvolňuje rozpadem malvidinu, byla rovněž nalezena i ve vinném octu (LESAGE-MEESSEN, 1996; PAVLOUŠEK, 2011).

Hydroxyskořicové kyseliny

Hydroxyskořicové kyseliny představují nejširší skupinu fenolických látek obsaženou v bílých vínech (PAVLOUŠEK, 2011).

Podrobněji budou popsány v následující samostatné kapitole.

3.2 Hydroxyskořicové kyseliny

Hydroxyskořicové kyseliny jsou bezbarvé látky snadno podléhající oxidaci a následně měnící barvu do žlutých a hnědých odstínů. V červených vínech jsou důležité pro kopigmentaci, reagují s antokyany, kdy zesilují jejich barvu, která se stává intenzivnější díky přítomnosti vyššího obsahu fenolických látek (POLO *et al.*, 2009). V bobulích révy vinné se vyskytují ve formě esterů kyseliny vinné ve slupce a zejména v dužnině, na rozdíl od ostatních fenolických látek, a proto jejich obsah ve víně není závislý na použité výrobní technologii, ale pouze na konkrétní odrůdě, ročníku a pěstitelském stanovišti (PAVLOUŠEK, 2011; VALLVERDÚ-QUERALT *et al.*, 2015).

Estery tvořené s kyselinou vinnou se nazývají depsidy a nejvyšších obsahů dosahují depsidy odvozené od kyseliny kávové - kyselina kaftarová. V bílých vínech je koncentrace depsidů přibližně od 30 do 120 mg.l⁻¹, v červených vínech je to pak 100 až 300 mg.l⁻¹, a představují asi 75 % všech fenolických sloučenin v samotoku. Tento poměr se v průběhu nalezení snižuje vlivem vyluhování katechinů. V průběhu alkoholové fermentace se kyselina vinná v depsidech může nahradit ethylalkoholem za současného vzniku ethylesterů hydroxyskořicových kyselin. Jejich přesný význam a biologická aktivita nebyly zatím dostatečně popsány (REBECCA, 2003; MICHLOVSKÝ, 2014).

Ve volné formě se v bobulích a víně vyskytují hydroxyskořicové kyseliny pouze ve stopovém množství.

Hydroxyskořicové kyseliny poskytují ochranu LDL-lipoproteinů před jejich oxidací. Spolu s katechiny vyvíjí nejvyšší antioxidační aktivitu. Struktura základních hydroxyskořicových kyselin, přirozeně se vyskytujících v bobulích révy, se navzájem liší substituentem v poloze 3. Obvykle bývají ve víně esterifikovány kyselinou vinnou, u starších vín to může být i ethanolem. Hydroxyskořicové kyseliny jsou z hlediska aroma a chuti neutrální, fungují ovšem jako prekurzory těkavých fenolů, které v nižších koncentracích mohou příznivě ovlivnit aroma vína, ve vyšších však ovlivňují chuť a vůni negativně. Způsobují ve vínech farmaceutické, plastové a živočišné tóny (MICHLOVSKÝ, 2014; MORENO, 2012).

Kromě základních hydroxyskořicových kyselin jako je kyselina kávová, kaftarová, koutarová, fěrulová, para-kumarová a fertarová, se ve víně, zrajícím v dubovém sudu, může objevit v malém množství i kyselina synapová, která přechází do vína právě ze dřeva, ale senzorycky a chemicky nemá velký význam (KUMŠTA, 2007; MICHLOVSKÝ, 2014; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Výzkumný projekt provedený na jižní Moravě doc. Ing. Milošem Michlovským, DrSc. (MICHLOVSKÝ, 2014), nepotvrdil výraznou závislost použité podnože na celkový obsah hydroxyskořicových kyselin u odrůdy Rínot.

Naopak k vyšší akumulaci hydroxyskořicových kyselin i ostatních fenolických látek může docházet při intenzivním odlistění zóny hroznů, které vedou k negativnímu ovlivnění kvality bílých vín z důvodu vzniku hořkých až připálených chuťových tónů a následně ke vzniku těkavých fenolů. Mezi odrůdy se zvýšenou citlivostí na vyšší obsah fenolů, kdy je projevem právě nahnědlá slupka bobule, patří Chardonnay, Veltlínské zelené, Muškát moravský a Ryzlink vlašský (PAVLOUŠEK, 2011; MICHLOVSKÝ, 2014).

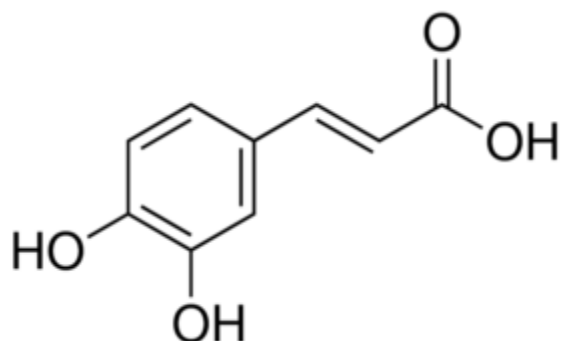
Vyšší obsah hydroxyskořicových kyselin bývá rovněž v hroznech, které dozrávají za nižších teplot a zároveň vyšších srážkových úhrnech a za zvýšeného tlaku patogenů. Z toho je patrné, že jejich koncentrace je ročníkově závislá (MICHLOVSKÝ, 2014).

3.2.1 Kyselina kávová

Hlavní a nejzastoupenější látka hydroxyskořicových kyselin, složená z fenolických i akrylových funkčních skupin. Spolu s kyselinou para-kumarovou vyvíjí nejvyšší antiradikálovou aktivitu. Hraje klíčovou roli v oxidačně redukčních procesech. Nachází se ve všech rostlinách, protože jde o klíčový meziprodukt při biosyntéze ligninu, jedné z hlavních složek rostlinné biomasy. V malé koncentraci se nachází i v kávě a je to jeden z hlavních přirozených fenolů arganového oleje. Její velké množství je možné pozorovat v několika druzích bylin a koření (REBECCA, 2003).

Kyselina kávová má díky své vysoké antioxidační a protizánětlivé aktivitě široké potenciální uplatnění ve farmakologii. Byl pozorován i inhibiční účinek na růst rakovinných buněk. Je velmi náchylná k autooxidaci. Glutathion, thiolové sloučeniny

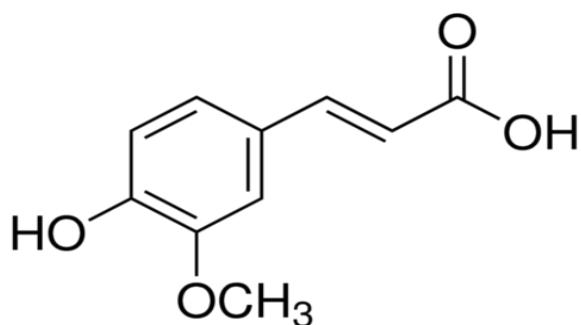
a kyselina askorbová mají protektivní účinky proti hnědnutí vína vlivem kyseliny kávové a následně souvisí s jejím vymizením (CILLIERS *et al.*, 1990; CHARROUF *et al.*, 2007; KRAUS *et al.*, 2008; KUMŠTA, 2007).



Obr. 1 Kyselina kávová (POLO *et al.*, 2009)

3.2.2 Kyselina ferulová

Divoké kvasinky jsou schopny tuto kyselinu dekarboxylovat na vinylguajakol, který ve víně, při jeho vyšších koncentracích, způsobuje nežádoucí lékárenské tóny. Jeho práh vnímání začíná na hodnotě 0,45 mg.l⁻¹ a v těchto nízkých koncentracích způsobuje vůni po hřebíčku.



Obr. 2 Kyselina ferulová (POLO *et al.*, 2009)

3.2.4 Kyselina kaftarová

Tvoří až polovinu obsahu všech fenolických látek v moštu bílých vín. Jedná se o nejvýznamnější sloučeninu hydroxyskořicových kyselin, ester kyseliny vinné a kyseliny kávové. Účastní se velké většiny oxidačně redukčních procesů ve víně a moštu bílých a rosé vín. V červených vínech je její působení zastíněné výrazným nadbytkem tříslovin s podobnými chemickými vlastnostmi. Mimo to, omezená míra oxidace je při produkci kvalitních červených vín žádoucí (POLO *et al.*, 2009).

Její působení je nezanedbatelné ve všech stádiích výroby a školení vína. Z chemického hlediska se jedná o *ortho*-difenol (neboli katechol), který se dokáže snadno oxidovat na příslušný chinon. Ostatní hydroxyskořicové kyseliny vyskytující se v bobulích tuto schopnost nemají. Podle několika výzkumů neprobíhá v kyselém prostředí moštu a vína přímá reakce mezi fenoly a kyslíkem. Pro oxidaci fenolů je nezbytná přítomnost katalyzátorů. Pro zprostředkování reakce mezi kyslíkem a kyselinou kaftarovou je nutná činnost enzymů ze skupiny oxidáz a iontů přechodových kovů. Oba typy katalyzátorů se liší samotným mechanismem působení a také následujícími reakcemi ovlivňujícími sensorické vlastnosti vín. V moderním vinařství je zásadní oxidace moštu a vína způsobená enzymy, oxidace indukovaná ionty kovů je podstatně méně významná, ale ne zcela zanedbatelná (POLO *et al.*, 2009; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Révová polyfenoloxidáza uskutečňuje jednoduchou reakci, kdy přenáší vodíkové atomy ze struktury katecholu na kyslík za vzniku příslušného *o*-chinonu a vody. Aktivitu tohoto enzymu je možné ovlivnit teplotou a přítomností látek s inhibičním účinkem. Prudký pokles aktivity nastává při takzvané denaturační teplotě. U tohoto enzymu je denaturační teplota 70 °C po dobu 10 minut, čehož se dá využít při technologii výroby červeného vína za použití „thermoflash“. Snížení aktivity polyfenoloxidázy lze dosáhnout i zpracováním chladných hroznů. Nejúčinnějším inhibítorem oxidačních enzymů je použití vhodné dávky oxidu siřičitého. Optimální pH pro působení polyfenoloxidázy je kolem hodnoty 5, v kyselejších moštech je tedy jeho aktivita nižší (REBECCA, 2003).

Dalším oxidačním enzymem působícím v moštech je enzym lakáza, který v bobulích produkuje plíseň šedá, a který je vůči oxidu siřičitému odolnější. Proto

bývají mošty a vína vyrobená z hroznů napadených tímto patogenem na oxidaci citlivější.

Působení iontů kovů je složitější, pozvolnější a pro bílé víno více destruktivní z důvodu vzniku silně reaktivních volných radikálů. V průběhu procesu se tvoří nestabilní sloučeniny nazývané jako reaktivní formy kyslíku (ROS). Nejvíce je zmapováno chování iontů železa. Jedná se o proud reakcí, které vedou k vytvoření superoxidového radikálu, peroxidu vodíku a chinonů. Peroxid vodíku tvoří hydroxylový radikál, který jako velmi agresivní forma kyslíku napadá všechny organické molekuly ve své blízkosti. Což bývá u bílých vín, vykvašených do sucha, ve většině případech ethanol. V následujícím sledu reakcí znovu působí kyslík a vzniká zde acetaldehyd a další superoxidový radikál. U suchých bílých vín dochází i k reakcím s glycerolem a organickými kyselinami, u vín s vyšším zbytkovým cukrem reaguje i ten. Při těchto reakcích vznikají rozmanité karbonylové sloučeniny. Oxidované ionty železa se díky působení fenolických látek zpětně redukují, a proto je velká část železa obsaženého ve víně ve formě železnatého iontu (POLO *et al.*, 2009; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Zásadní je rovněž chování vzniklých oxidačních produktů. Acetaldehyd a jiné karbonylové sloučeniny mohou do jisté míry dopomáhat ke stabilizaci barvy a harmonizaci chuti červených vín. Ve vínech bílých je však jejich působení převážně negativní a způsobuje jejich oxidativní charakter. Pro tuto problematiku je klíčové zejména chování o-chinonu kyseliny kaftarové. *Ortho*-chinony jsou hnědo-červeně zbarvené, mnoha reakcím podléhající látky. Z enologického hlediska jsou důležité reakce s fenolickými látkami, redukčními činidly a thioley. Právě reakce chinonů s látkami, které mají dvě fenolové skupiny v poloze 1,3 (např. katechiny) vede ke vzniku hnědých kondenzačních produktů - znaků naoxidovaného vína.

Reakce s thioley bývá typická pro proces fermentace, kdy oxidovaná kyselina kaftarová kondenzuje s glutathionem, produktem kvasinek, za vzniku kyseliny 2-S-glutathionylkaftarové, označované jako GRP („*grape reaction product*“). U spousty bílých vín je její koncentrace vyšší než koncentrace samotné kyseliny kaftarové. V důsledku tohoto procesu dochází k regeneraci fenolických skupin ovlivněných působením polyfenoloxidázy v moštu a GRP, které není enzymaticky oxidovatelné, zvyšuje odolnost mladých bílých vín před hnědnutím. Na tomto principu je založena

metoda hyperoxidace moštu, při které se z hnědého zoxidovaného moštu vyrobí stabilní bílé víno, ovšem za současné destrukce primárních aromatických látek. Metoda je proto vhodná pouze pro vína, která nejsou založena na primární aromaticitě (KUMŠTA, 2007).

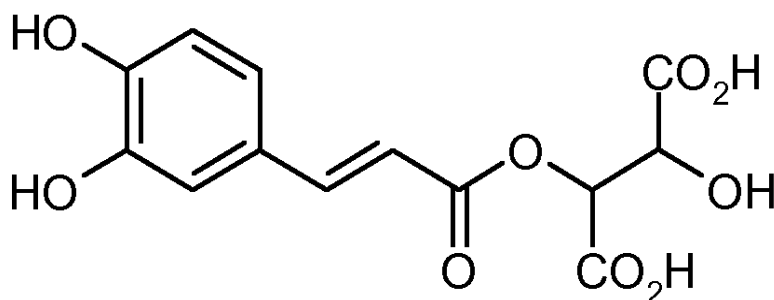
Po dokončení fermentace je reakce oxidované kyseliny kaftarové s thioley zodpovědná za ztrátu buketních látek, zejména citrusových a rybízových tónů vzniklých právě působením vonných thiolů a charakteristických pro vína odrůd Sauvignon blanc, cabernetů i některých ryzlinků. Tímto mechanismem však dochází při provzdušnění vína i k potlačení reduktivních tónů jako jsou sirka nebo zadušenost.

Jako poslední možnost mohou chinony reagovat s redukčními činidly. Ve vinařství jsou to zejména reakce s oxidem siřičitým a kyselinou askorbovou. Ve víně je přímá reakce kyslíku s oxidem siřičitým zanedbatelná. Oxid siřičitý nedokáže z vína odstranit rozpuštěný kyslík, který v reakci s železnatými ionty vytváří reaktivní volné radikály. Oxid siřičitý jako antioxidant účinně odstraňuje peroxid vodíku, čímž snižuje riziko vzniku hydroxylových radikálů a zároveň napomáhá regeneraci chinonu kyseliny kaftarové do původní fenolické formy. Účinky a použití kyseliny askorbové jsou výrazně složitější. Je rovněž významným redukčním činidlem a působí na oxidovanou kyselinu kaftarovou stejně jako oxid siřičitý, ale při tomto procesu vzniká kyselina dehydroaskorbová, která se ve vyšších koncentracích stává katalyzátorem pro vznik reaktivních forem kyslíku (POLO *et al.*, 2009; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Použití pektolytických enzymů zvyšuje hydrolyzu kyseliny kaftarové na kyselinu kávovou a kyselinu vinnou. Po rozdrcení bobulí se kyselina kaftarová a s ní související o-difenoly okysličují v přítomnosti polyfenol oxidázy z bobulí a kyslíku. Tyto sloučeniny a produkty jejich oxidace mohou reagovat s tripeptid glutathionem za současného vzniku bezbarvých S-glutationových komplexů. Bílkovina glutathion se v bobulích hromadí od počátku zaměkání a má významné antioxidační účinky. Může ve víně ovlivňovat chuť a aroma, způsobovat tóny po grapefruitu a mučence. Vytvořené komplexy se pak obvykle spojují s dalšími sloučeninami a vypadávají jako sediment. Za podmínek kdy nedochází k dalšímu okysličení, jako v případě lakázy vzniklé u nahnilých hroznů, se bezbarvé komplexy kyseliny kaftarové a glutathionu nepolymerizují a nevytváří nahnědlé pigmenty. Obsah glutathionu se v bobulích v průběhu dozrávání zvyšuje. U odrůd s vyšším obsahem hydroxyskořicových kyselin,

ale nižší koncentrací glutathionu hrozí vyšší riziko hnědého zbarvení moštu a vína (MICHLOVSKÝ, 2014; SINGLETON *et al.*, 1986).

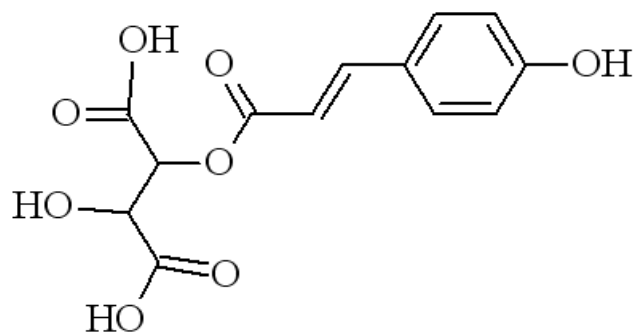
Kyselina kaftarová tlumí radikálové reakce deaktivací superoxidového radikálu i radikály vzniklé z organických látek. Obzvláště náchylné na radikálové reakce bývají látky vybavené delším uhlovodíkovým řetězcem, například některé hlavní buketní látky vína jako estery vyšších alkoholů a mastných kyselin nebo terpeny (KUMŠTA, 2007; PAVLOUŠEK, 2011; POLO *et al.*, 2009; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).



Obr. 4 Kyselina kaftarová (KUMŠTA, 2007)

3.2.5 Kyselina koutarová

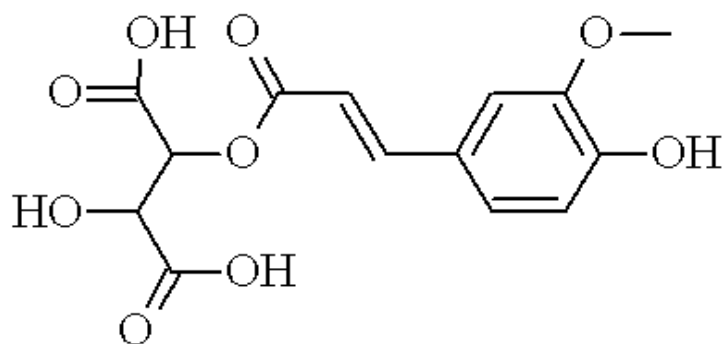
Tato hydroxyskořicová kyselina je obsažena ve víně, hroznech a hroznových výliscích. Jedná se o ester vzniklý z kyseliny p-kumarové a kyseliny vinné. Vyskytuje se ve dvojí možné formě, jako *cis* a *trans*-koutarová kyselina. *Trans*-koutarová kyselina je významným nosičem pro antokyany (SINGLETON *et al.*, 1986). Důležitý je poměr kyseliny kaftarové a koutarové v moštu, který je odrůdovým znakem a určuje náchylnost moštu k hnědnutí a oxidaci (VALLVERDÚ-QUERALT *et al.*, 2015).



Obr. 5 Kyselina koutarová (SINGLETON *et al.*, 1986)

3.2.6 Kyselina fětarová

Kyselina fětarová vzniká jako ester kyseliny fěrulové a kyseliny vinné. Její koncentrace ve víně nebývá vysoká, výsledné hodnoty se obvykle pohybují do 16 mg v jednom litru (POLO *et al.*, 2009; SINGLETON *et al.*, 1986).



Obr. 6 Kyselina fětarová (SINGLETON *et al.*, 1986)

3.2.7 Těkavé fenoly

Jako těkavé fenoly lze označit chemické sloučeniny, patřící mezi fenolické látky, s významným, ve většině případech nežádoucím, vlivem na aroma a chuť vína. Vznikají z hydroxyskořicových kyselin. Těkavé fenoly jsou přítomny v bílých i modrých odrůdách révy a následně v bílých, červených a rosé vínech, lišících se podle odrůdy, klimatických podmínek, oblasti, použité agrotechniky ve vinici a způsobu zpracování. U bílých odrůd bývají patrné již ve vinici a to v případě hnědě zbarvených bobulí, které mají zastřené květinové a ovocné aroma a zároveň výrazně hořké až připálené tóny v chuti (CLARKE, 2008; PAVLOUŠEK, 2010).

Projevují se jako farmaceutické nebo též medicínální aroma v bílých a *rosé* vínech a jako živočišné aroma v červených vínech, které se rovněž označuje jako aroma po „kůži“, „koňském sedle“, „selském dvorku“, „stáji“ apod. (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Výchozími látkami ke vzniku těchto nežádoucích sloučenin jsou, jak již bylo uvedeno, hydroxyskořicové kyseliny. Konkrétně kyselina p-kumarová a ferulová. Kyselina kávová, která je nejzastoupenější hydroxyskořicovou kyselinou a zároveň významným antioxidantem, se na tvorbě těkavých fenolů podílí pouze velmi omezeně (WATERMAN, 1994).

Pro vznik těkavých fenolů je nezbytné, aby došlo k uvolnění esterově vázaných kyselin. Tento proces je katalyzován několika hydrolytickými enzymy a probíhá rovněž spontánně v kyselém prostředí vína, bobulí a moštu. Klíčovým enzymem schopným uvolňovat vázané hydroxyskořicové kyseliny je cinnamáteterasa, kterou tvoří jen malé množství mikroorganismů. V enologii je zásadním producentem plíseň *Aspergillus niger*, která se rovněž pěstuje pro produkci pektolytických enzymů, využívaných k vyšší výlísnosti hroznů. V současné době přední výrobci těchto preparátů své výrobky na přítomnost cinnamáteterasy testují a proto by kvalitní produkty, na rozdíl od levnějších variant, neměly způsobovat žádné nežádoucí efekty (POLO *et al.*, 2009).

Druhým pochodem, při kterém mohou těkavé fenoly vznikat, je kyselá hydrolyza esterů hydroxyskořicových kyselin. Tento proces bývá výrazně urychlen vyššími teplotami, které vznikají v intenzivně osluněných bobulích ve vinici.

Metabolismus hydroxyskořicových kyselin kvasinkami *Brettanomyces/Dekkera* by se dal shrnout jako proces probíhající v důsledku sekvenčního působení dvou enzymů: cinnamátdekarboxylázy, která štěpí fenolové kyseliny (konkrétně ferulovou, kávovou a p-kumarovou) přímo na odpovídající vinylfenol, a vinylfenolreduktázu, která převádí vzniklý vinylfenol na odpovídající ethylfenol (CABRITA *et al.*, 2012).

Podle výskytu v červených a bílých vínech a stupně další přeměny hydroxyskořicových kyselin se těkavé fenoly dělí na ethylfenoly a vinylfenoly (KUMŠTA, 2007; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Vinylfenoly

V nízkých koncentracích jsou tyto sloučeniny obsaženy ve všech bílých vínech. V červených vínech je jejich množství naopak pouze stopové, a to z důvodu jejich snadné reakce s antokyany (POLO *et al.*, 2009).

Vznikají dekarboxylací volné kyseliny p-kumarové (4- vinylfenol) a kyseliny ferulové (4- vinylguajakol) enzymem cinnamátdekarboxyláza, který je součástí některých bakterií a kvasinek. Cinnamátdekarboxyláza je u vinných kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* umístěna uvnitř buněk a během kvašení vykazuje vysokou aktivitu. V červených vínech je však inhibována katechiny a z tohoto důvodu se v nich vinylfenoly nevyskytují.

Vinylfenoly mohou být v malém množství ve víně tvořeny i mléčnými bakteriemi rodu *Pediococcus* a v průběhu malolaktické fermentace v něm způsobovat nečisté tóny (CLARKE, 2008).

Při poměru vinylfenolu a vinylguajakolu 1:1 je mez jejich rozpoznání přibližně 700 mikro gramů na jeden litr. Aroma 4- vinylfenolu je charakterizováno jako lékárenské a 4- vinylguajakolu jako „příjemnější“ karafiátová vůně. Vliv těchto látek na sensorické hodnocení vína je velmi individuální a nemusí být nutně ve všech případech negativní. Více zřetelný a spíše negativní bude u lehkých jemně ovocitých vín a naopak u kořenitějších, nazrálejších typů může pozitivně podpořit celkové aroma. Obecně je vliv vinylfenolů znatelnější u mladých vín, neboť v průběhu dozrávání polymerizují a kondenzují na sensoricky neaktivní složky.

Vinylfenoly jsou konečným produktem při odbourávání hydroxyskořicových kyselin kvasinkami rodu *Saccharomyces*, v dalším odbourávání pokračují kvasinky *Brettanomyces* a rozkládají vinylfenoly na ethylfenoly (KUMŠTA, 2007; RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006).

Ethylfenoly

Ethylfenoly jsou sensoricky aktivnějšími látkami ve víně. Vznikají procesem, při kterém nehraje roli koncentrace tříslovin, a proto je jejich vznik možný i v červených vínech, zatímco ve vínech bílých nebyla jejich přítomnost dosud detekována (POLO *et al.*, 2009).

Senzorický vjem je u 4 - ethylfenolu silnější než u vinylfenolu. Mez jeho detekce lidskými smysly je v modelovém roztoku již při koncentraci 230 mikro gramů v jednom litru a tento vjem je charakterizovaný jako koňský pot, stáj, zpoceně sedlo, kůže, mokřý pes a podobně. U 4 - ethylguajakolu je aroma popisováno jako kouřové nebo po slanině a mez jeho rozpoznání je od 47 mikro gramů v litru roztoku. V červeném víně se tyto dvě látky vyskytují v poměru 8:1 a v celkovém množství ethylfenolů vyšším než 1 mg.l⁻¹ velmi výrazně ovlivňují celkový charakter výsledného vína a to převážně negativně. Práh jejich vnímání do jisté míry závisí i na obsahu ostatních složek vína, kdy hraje důležitou roli kupříkladu plnost vína, aromatické látky a struktura tříslovin (CLARKE *et al.*, 2008).

V nižších koncentracích a v závislosti na odrůdě mohou naopak pozitivně přispívat ke komplexní aromaticce a mohutnosti vyzrálých červených vín. Obzvláště u starších červených vín, která zrála v sudech *barrique*, bývá toto slabé aroma po „kůži“ mezi mnoha konzumenty velmi žádaným a ceněným. Část konzumentů i z řad odborníků považuje tento sensorický projev ve víně za znak zvláštní jakosti.

Na rozdíl od vinylfenolů, jež vznikají pouze v průběhu fermentace, se ethylfenoly vytváří v nejvyšší míře až v průběhu zrání červených vín, kdy dochází k optimálním podmínkám pro rozvoj jejich producentů. Těchto mikroorganismů, které jsou schopny ethylfenoly tvořit, je známo jen několik. V enologii jsou těmi klíčovými kvasinky rodu *Brettanomyces/Dekkera*, méně důležitými s touto schopností jsou některé kvasinky rodu *Candida* a *Pichia*. Největší problém představují kvasinky *Brettanomyces* z důvodu

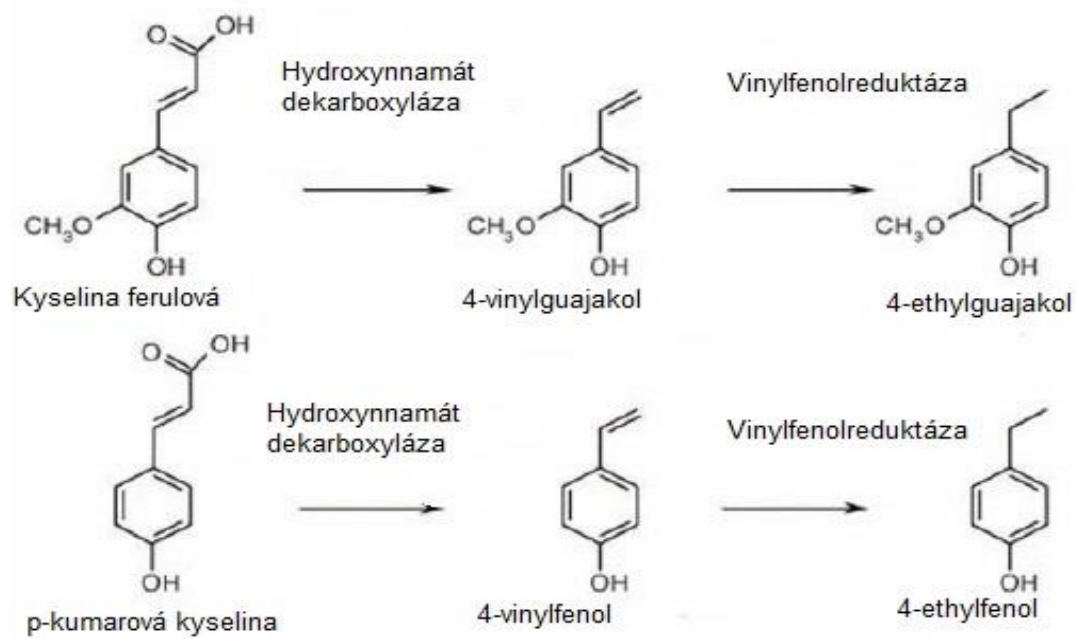
jejich vysoké odolnosti k vyšším koncentracím alkoholu a nízkým nárokům na výživu. Tyto kvasinky se vyskytují již na napadených hroznech, ale anaerobní prostředí fermentujícího rmutu blokuje jejich růst, z toho důvodu se ethylfenoly v mladých červených vínech ve vyšší míře nenachází. Proto je nezbytné zajistit rychlý počátek fermentace rmutu (RIBÉREAU-GAYON *et al.*, 2006; SUÁREZ *et al.*, 2007).

Kvasinky *Dekkera bruxellensis* převádí kyselinu p-kumarovou na 4- ethylfenol, kyselinu ferulovou na 4- ethylguajakol a kyselinu kávou na 4- ethylcatechol. V průběhu této přeměny byl sledován patrný úbytek odpovídajících hydroxyskořicových kyselin za současného nárůstu těchto těkavých fenolů. Míra konverze kyseliny kávové je výrazně nižší než u dalších dvou zmíněných, a z tohoto důvodu je i koncentrace vzniklého 4 - ethylcatecholu pouze nepatrná (CABRITA *et al.*, 2012).

Jak již bylo uvedeno, optimální podmínky pro kontaminaci vína nacházejí kvasinky v pórech dřevěných sudů typu *barrigue* během zrání vína kdy probíhá pro kvasinky velmi příznivá mikrooxidace. Pro výživu využívají sacharidy uvolňované ze dřeva a alkohol jako zdroj uhlíku.

V současné praxi představují kvasinky *Brettanomyces* nejvyšší hrozbu vzniku chorob červených vín a nejdiskutovanější téma většiny vinařských technologů, právě pro jejich vysokou rezistenci, nízké požadavky na výživu a široký výskyt ve vinařském provozu. Jako prevence se doporučuje dobrá sanitace starších dřevěných sudů a přiměřené zasíření plynným oxidem siřičitým, stejně jako udržovat optimální hodnotu pH vína a volné síry. Klíčovým faktorem je i teplota místa, kde víno zraje, která by neměla překročit 15 °C. Ukázalo se, že významný vliv na snížení počtu kontaminujících kvasinek má také použití bílkovinných čiridel, některá mají dokonce schopnost nepatrně snížit koncentraci již vytvořených ethylfenolů.

Jiná opatření ke snížení ethylfenolů se ukázala neúčinná, vzhledem k jejich chemické stabilitě. Jejich množství je možné redukovat pouze drastickým zásahem za použití aktivního uhlí, kdy dojde k celkovému narušení vinného buketu a znehodnocení vína (KRAUS *et al.*, 2008; KUMŠTA, 2007; WATERMAN, 1994).



Obr. 7 Přeměna hydroxyskořicových kyselin na ethylfenoly (SUÁREZ *et al.*, 2007)

3.3 Charakteristika vybraných odrůd révy vinné

3.3.1 Veltlínské zelené

Jedná se o starou rakouskou odrůdu, kde je také nejvíce rozšířena. Tvoří 30 % plochy rakouských vinic. Dále je pěstována v západním Slovensku, Maďarsku a na Moravě. Celková plocha na světě osázená Veltlínským zeleným se pohybuje kolem 18 tisíc hektarů. V současnosti jde o nejpěstovanější odrůdu u nás s průměrným stářím vinic 29 let. V největším měřítku je zastoupena ve vinicích velkopavlovické a znojenské podoblasti. Do Státní odrůdové knihy byla zapsána roku 1941 (SEDLO, 2014).

Mezi odrůdové znaky patří malý až středně velký pětilaločnatý list s kruhovitým tvarem čepele. Vrchní strana listové čepele je slabě až středně puchýřkovitá. Malý až středně velký hrozen s malými žlutozelenými bobulemi. Sklizňová zralost začíná v polovině října.

Odrůda je náchylná k napadení padlím révovým a plísní révy a středně odolná před poškozením zimními mrazy.

Kvalitní víno produkuje jen ve velmi dobrých polohách s hlinitými a sprašovými půdami s dostatečným zásobením vodou. Na takovýchto půdách poskytuje středně vysoké výnosy a příjemné víno jemné vůně lipového květu, bílého pepře nebo broskví v chuti s vyváženou kyselinou. Tvoří téměř třetinu veškerých ledových a slámových vín uváděných do oběhu v České Republice. Hrozny z odrůdy Veltlínské zelené bývají často používány pro výrobu směsí (PAVLOUŠEK, 2007).

3.3.2 Ryzlink rýnský

Předpokládá se, že odrůda vznikla v okolí řeky Rýn jako kříženec odrůd ‚Heunisch‘ x ‚Tramín‘ x autochtonní odrůda z Porýní. Rozšířila se z Německa, kde momentálně tvoří 22 % plochy veškerých vinic. Ve větší míře se rovněž pěstuje v Rakousku a na Slovensku a jedná se o 18. nejrozšířenější odrůdu na světě. V ČR tvoří 7,2 % osázených vinic s průměrným stářím 18 let. Největší podíl zaujímá ve vinařské

oblasti Čechy a ve slovácké podoblasti. Do Státní odrůdové knihy byl zapsán v roce 1941 (SEDLO, 2014).

Má pětilaločnatý malý list a kruhovitou čepel. Hrozen je malý, hustý s malými bobulemi, které mají žlutozelené zbarvení. Sklizňová zralost začíná od poloviny října.

Proti napadení houbovými chorobami je ‚Ryzlink rýnský‘ méně až středně odolný a odolný proti poškození mrazy.

Odrůda vyžaduje nejlepší polohy na jižních svazích. Na půdní podmínky nemá vysoké nároky, výjimku tvoří půdy převápněné, které jí nesvědčí.

‚Ryzlink rýnský‘ bývá považován za nejkvalitnější odrůdu severnějších vinohradnických oblastí. Poskytuje víno výborné jakosti za předpokladu, že sklizeň probíhá v období od konce října do začátku listopadu, kdy se vlivem střídání nízkých nočních teplot se slunečnými dny vyvíjí aromatické látky. Ve vůni je typické ovocné aroma s tóny broskví, meruněk, tropického ovoce a také lipového květu. Dává přívlastková vína především kabinet a pozdní sběr, výběr z hroznů pouze v nejlepších letech (WINKLER, 1974).

3.3.3 Chardonnay

‚Chardonnay‘ je tradiční francouzská odrůda s celosvětovým rozšířením, která se řadí do skupiny ‚burgundských‘ odrůd. Z největší pravděpodobností vznikla volným křížením odrůd ‚Rulandské šedé‘ a ‚Heunisch‘. V České republice je pěstovaná na celkové ploše 727,1 ha a zaujímá tak 7. místo mezi pěstovanými bílými moštovými odrůdami. Největší plochy této odrůdy se nacházejí v Mikulovské a Slovácké vinařské podoblasti. Do Státní odrůdové knihy byla zapsána v roce 1987.

Typický list této odrůdy je středně velký, trojlaločnatý. Hrozny jsou válcovitého tvaru malé až střední velikosti. Uspořádání bobulí v hroznu bývá obvykle velmi husté. Bobule je malá a kulatá s tenkou slupkou žlutozelené barvy v době zralosti. Odrůda dozrává koncem září až v první polovině října (WINKLER, 1974).

‚Chardonnay‘ bývá často náchylné k poškození jarními mrazy. Rovněž je citlivé k napadení padlím révy, středně odolné k plísní révy a šedé hnilobě.

Odrůda je určená pro výrobu vysoce kvalitních přívlastkových vín. Velmi dobré kvality se dosahuje v kategorii pozdního sběru. ‚Chardonnay‘ bývá často používáno jako důležitá složka cuvée a k výrobě šumivých vín. Odrůdová vína mají příjemné ovocné aroma po jablkách, hruškách a broskvích s plnou chutí a svěží kyselinou. Ve vyšších zralostních stupních lze ve víně nalézat tóny tropického ovoce. Vína z této odrůdy je možné vyrábět kvašením v sudech *barrique* a technologií *sur-lie*. (CALLEC, 2003; SEDLO, 2014).

3.3.4 Sauvignon blanc

Odrůda nemá známý přesný původ, rozšířila se z Francie, kde o ní byly dochované zmínky již ze 17. století. Pravděpodobně se jedná o kříženec odrůd ‚Chenin blanc‘ a ‚Tramín‘. V České Republice zaujímá ‚Sauvignon‘ přibližně 849 ha z celkové plochy vinic, z toho téměř výhradně v Moravské vinařské oblasti. Tam jsou největší výsadby v Mikulovské a Znojenské podoblasti.

‚Sauvignon‘ je určený převážně pro vinohradnictví chladného podnebí, kde vyžaduje svahovité, dobře osluněné stanoviště s chladnějšími periodami během dne v sušších lokalitách. Jako vhodné se ukázaly písčité a písčito - hlinité půdy.

Odrůda má nižší odolnost k zimním mrazům i houbovým chorobám. Obzvláště citlivá je na napadení padlím révy, o něco odolnější pak je k plísni révy. ‚Sauvignon‘ může v některých letech trpět sprcháváním květenství (WINKLER, 1974).

Mezi odrůdové znaky patří menší, pětilaločný list a malý, hustý hrozen s krátkou stopkou. Bobule v hroznu jsou malé, žlutozelené s výrazně aromatickou dužninou. Odrůda mívá krátká internodia, která způsobují velmi zahuštěný keř, tomuto faktu je třeba přizpůsobit agrotechnické zásahy.

Odrůda je ideální pro produkci kvalitních přívlastkových vín, která mohou oplývat širokým aromatickým spektrem od výrazně ‚kopřivových‘ až po silně ovocné projevy. Vína bývají intenzivně kořenitá, s aroma po broskvích, kopřivách a černém rybízu (CALLEC, 2003; PAVLOUŠEK, 2007).

3.3.5 Tramín červený

Původ této staré odrůdy není přesně známý, do zbytku Evropy se rozšířila z Tyrolska, tam se údajně dostala z Řecka, Itálie nebo Maďarska. V České Republice se pěstuje na ploše 561 ha. Největší výsadby se nacházejí v Mikulovské a Znojenské vinařské podoblasti. Do Státní odrůdové knihy byl ‚Tramín červený‘ zapsán v roce 1941.

‚Tramín‘ má středně velký, okrouhlý list, malý až středně velký, hustý hrozen s malou, kulatou bobulí, která má růžovou barvu slupky a aromatickou chuť dužniny. Velký význam mají kvalitně provedené zelené práce, protože ‚Tramín červený‘ je odrůda s hustým olistěním keřů. Sklizňová zralost začíná v první polovině října.

Odrůda je méně odolná proti houbovým chorobám a středně odolná proti poškození mrazy. Vyžaduje úrodné, záhřevné, méně vápenité půdy a jen ty nejteplejší stanoviště.

Tramín ve vhodných polohách poskytuje každoročně hrozny pro výrobu vín s přívlastkem, která jsou plná a kořenitá s aroma po růžích, fialkách až medu nebo lze ve vůni objevit tóny tropického ovoce (SEDLO, 2014).

3.3.6 Hibernál

‚Hibernál‘ patří mezi interspecifické odrůdy, které vykazují zvýšenou odolnost vůči houbovým chorobám. Byla vyšlechtěna v německém Výzkumném ústavu v Geisenheimu křížením odrůd ‚Seibel 7053‘ a ‚Ryzlink rýnský‘ F2 generace. Ve větší míře se pěstuje pouze v Německu, na menší ploše ve Švýcarsku. Na celkové ploše českých vinic se podílí 0,8 %. Ve Státní odrůdové knize je zapsán od roku 2004 (SEDLO, 2014).

Odrůda má velký list se srdcovitou čepelí, bez vyznačených laloků. Hrozen je malý až středně velký s poměrně hustým uspořádáním bobulí. Bobule jsou drobné až středně velké, kulaté s červenošedou barvou slupky. Optimální zralost nastává v 2. – 3. dekádě října.

„Hiberna“ je vhodný do všech vinařských podoblastí České republiky. Ideální k pěstování jsou písčité a hlinitopísčité svahovité lokality s dobrou expozicí ke slunečnímu záření.

Vína z této odrůdy jsou výborné kvality a každoročně lze vyrobit přívlastkové víno jemně aromatické vůně po broskvích a lipovém květu s typickou kořenitostí. Pro svoji vyšší odolnost vůči napadení houbovými chorobami je odrůda vhodná pro produkci biovína (PAVLOUŠEK, 2016).

3.3.7 Rulandské modré

Jedná se o velmi starou modrou moštovou odrůdu původem z Francie, odkud se rozšířila do zbytku Evropy. Ve Francii je nejvíce pěstována v oblastech Burgundska a Champagne. V České republice se pěstuje na ploše 717 ha a to ve všech podoblastech. Rok zápisu do Státní odrůdové knihy je 1941.

„Rulandské modré“ má malý až středně velký list a rovněž malý až středně velký hrozen s hustým uspořádáním bobulí, které jsou malé, kulaté s tmavomodrou slupkou. Sklizňová zralost začíná obvykle na přelomu měsíce září a října (WINKLER, 1974).

Odrůda vyžaduje ty nejlepší polohy s dobrým osluněním a teplými, štěrkovitými nebo hlinitopísčitými půdami. Je náchylná k napadení plísní réвовou a padlím réвовým, středně odolná proti plísni šedé a poškození mrazy.

Vína z této odrůdy bývají vysoké jakosti, plné, v mládí je patrná chuť a vůně po čerstvém bobulovém ovoci, ve zralosti pak získává sametovou, kořenitou chuť. Nejvyšších kvalit dosahuje po delším zrání v láhvi, kdy se často objevuje cihlově červená barva (CALLEC, 2003).

3.3.8 Frankovka

„Frankovka“ je tradiční pozdní modrá moštová odrůda pěstovaná ve střední Evropě. Původem je pravděpodobně z Rakouska, kde je i nyní hojně pěstovaná, stejně jako v České republice, Maďarsku a několika oblastech Německa. V České republice

se pěstuje na celkové ploše 1 307,5 ha a je tak druhá nejrozšířenější modrá moštová odrůda. Největší výsadby se nachází ve Velkopavlovické a Slovácké podoblasti.

Odrůda má velký list s celistvou listovou čepelí, středně velký a středně hustý hrozen s krátkou stopkou. Bobule jsou kulaté, malé s modročernou barvou slupky. Sklizňová zralost nastává v polovině října a mnohdy trvá až do začátku listopadu.

Pro pěstování jsou nejlepší mírně svahovité pozemky s jižní expozicí, kde vyžaduje ideálně celodenní oslunění listové plochy i hroznů. ‚Frankovka‘ potřebuje lehčí půdy dostatečně zásobené živinami. Je středně odolná proti napadení plísní šedou a méně odolná proti plísní révové a padlí révy.

Z odrůdy se v našich vinařských podmínkách produkují vysoce jakostní i přívlastková vína ovocného charakteru v chuti a vůni, dominují tóny višňi a ostružin. Barva vína bývá obvykle nižší, často se objevuje cihlový odstín (PAVLOUŠEK, 2007).

3.3.9 Cabernet Franc

Velmi stará modrá moštová odrůda původem z Francie, kde se i v současnosti nachází velká část světové výsadby. Dále se pěstuje ve Španělsku, Maďarsku, Itálii, Kalifornii a některých státech Jižní Ameriky. V České republice není odrůda zapsaná ve Státní odrůdové knize.

V oblasti Bordeaux se používá k přípravě cuvée v kombinaci s odrůdami ‚Cabernet Sauvignon‘ a ‚Merlot‘, nebo jako jejich doplněk. Vysoké kvality dosahují vína této odrůdy dozrávající v oblasti Loiry. Jsou typická nižším obsahem tříslovin a harmonickým poměrem kyselin, tato kombinace dává vzniknout lehkým, ale zároveň plným ovocným vínům s vůní nakrájené papriky, malin nebo fialek (CALLEC, 2003).

3.3.10 Laurot

‚Laurot‘ je modrá interspecifická odrůda révy vinné vyšlechtěná na Moravě, která vznikla křížením odrůd ‚Merlan‘ a ‚Fratava‘. Do Státní odrůdové knihy byla zapsána v roce 2004. Největší výsadby této odrůdy se nachází ve Slovácké podoblasti.

„Laurot“ má středně velký, troj- až pětilaločnatý list, středně velký až velký hrozen s řidším uspořádáním modročerných drobnějších bobulí. Sklizňová zralost začíná v první polovině října.

Odrůda má vyšší požadavky na stanoviště, které by mělo mít jižní nebo jihozápadní expozici, nacházet se na svahovitých pozemcích a záhřevných půdách. „Laurot“ je dobře odolný proti poškození zimními mrazy a patří mezi odrůdy se zvýšenou odolností proti napadení houbovými chorobami. Proto je velmi vhodný pro pěstování v režimu ekologického vinohradnictví.

„Laurot“ je vhodný pro produkci bio vín, odrůdových nebo cuvée, i pro výrobu rosé. Vína bývají tmavší, rubínové barvy, v chuti s patrnými projevy bobulového ovoce, zejména třešňí, višňí a při vyšší vyzrálosti i lesního ovoce (PAVLOUŠEK, 2016)

4 Experimentální část

4.1 Použitý materiál

K provedení experimentu bylo vybráno 8 výše charakterizovaných odrůd révy vinné a 2 odrůdy interspecifické. Šest odrůd bílých (,Veltlínské zelené‘, ,Ryzlink rýnský‘, ,Chardonnay‘, ,Sauvignon blanc‘, ,Tramín červený‘ a interspecifická odrůda ,Hibernal‘) a čtyři odrůdy modré (,Rulandské modré‘, ,Frankovka‘, ,Cabernet Franc‘ a rovněž jedna mezidruhová odrůda ,Laurot‘). Odběr vzorků probíhal v období od 8. září 2016 až do finálního sběru při sklizňové zralosti.

U odrůd: ,Ryzlink rýnský‘, ,Chardonnay‘, ,Hibernal‘ a ,Frankovka‘ probíhal sběr přibližně každých 5-7 dní od 8. 9. 2016 až do finálního sběru v období sklizňové zralosti. U zbylých odrůd byly provedeny sběry dva: 14. 9. 2016 a individuální koncový sběr dle sklizňové zralosti daných odrůd.

Veškerý vybraný materiál pocházel z vinice nacházející se v areálu Mendelea, patřící Zahradnické fakultě Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity, v Lednici v Mikulovské vinařské podoblasti.

Vinice leží ve výšce 176 metrů nad mořem v mírně svažitém terénu s jihozápadní orientací. Průměrná roční teplota zde dosahuje 9°C a průměrný roční úhrn srážek činí 516 mm. Půda je zde hlinitopísčité s přibližně 22 % jílovitých částic.

4.2 Použité metody měření

Čerstvé bobule všech odebíraných vzorků byly šetrně odděleny od třapiny a odváženy do uzavíratelného PE sáčku (cca 100 g). Následně byl přidán čerstvě připravený roztok 1M $K_2S_2O_5$ v 0,1M DETAPAC a to v poměru 1 μ l roztoku na 1g bobulí. Sáček byl uzavřen a bobule důkladně ručně rozdrceny a ponechány 1 hodinu macerovat. Poté byl mošt scezen do 20 ml lahvičky a zamrazen do doby provádění měření, které probíhalo během měsíce března roku 2017.

Ve všech vzorcích byly stanoveny základní analytické parametry – cukernatost, hodnota pH, obsah titrovatelných kyselin a asimilovatelného dusíku. Dále byl stanovován obsah celkových fenolů, flavanolů, anthokyanů; zjišťována redukční síla a antiradikálová aktivita.

Pomocí HPLC byly zjišťovány koncentrace kyseliny kaftarové, koutarové a fětarové.

4.2.1 Stanovení cukernatosti

Za základní cukry obsažené v hroznech a víně je považována D-glukóza a D-fruktóza. Jejich poměr v hroznech se mění v průběhu dozrávání. Ve stopovém množství se v bobulích vyskytují L-arabinóza, D-xylóza, L-rhamnóza a D-ribóza, které však nejsou metabolizovány kvasinkami a nemají tak sensorický význam.

Po zaměkání bobulí má vyšší obsah glukóza nežli fruktóza, v období sklizně je však tento poměr téměř vyrovnaný (PAVLOUŠEK, 2011).

Ve sledovaných vzorcích byla cukernatost stanovena refraktometricky.

Refraktometrie je optická metoda používaná v analytické chemii, založená na měření indexu lomu světla. V případě, že paprsek záření prostupuje dvěma prostředími, která se liší hustotou, mění se na rozhraní těchto dvou prostředí jeho rychlost a směr šíření. Dle poměru hustot obou prostředí se paprsek láme (JANČÁŘOVÁ, 2012).

Cukernatost všech vzorků byla stanovena pomocí digitálního refraktometru ATAGO – PAL 1. Naměřené hodnoty byly ve stupních Brix (°Bx), které byly dále převedeny na stupně normalizovaného moštoměru (°NM).

4.2.2 Stanovení pH

Hodnota pH vyjadřuje záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů v roztocích.

Během zrání hroznů se v bobulích mění hodnota pH v rozpětí 2,8-3,8 a to vlivem odrůdy, ročníku a stavu počasí. Děje se tak v důsledku akumulace cukrů a snižování titrovatelných kyselin. Hodnotu pH výrazně ovlivňuje poměr mezi obsahem kyseliny vinné a kyseliny jablečné.

Hodnota pH významně ovlivňuje kvalitu výsledného vína. Mošty s hodnotou pH vyšší než 3,4 mají větší sklon k oxidaci a nejsou mikrobiálně stabilní. Naopak nízké hodnoty (pH pod 3,0) působí negativně na barevnost červených vín a plnost vín. Optimální pH, pro výrobu kvalitních vín, je v rozsahu 3,1-3,3 (PAVLOUŠEK, 2011).

U sledovaných vzorků byla tato hodnota stanovena na základě měření potenciálu skleněné elektrody, která závisí od aktivity vodíkových kationtů, vzhledem k referenční kalomelové elektrodě vhodným pH-metrem, ten je kalibrovaný tlumivými roztoky o známém pH (BALÍK, 2006).

4.2.3 Stanovení veškerých titrovatelných kyselin

Kyseliny v hroznech vznikají asimilací listů z oxidu uhličitého a vody. Jejich celkový obsah je závislý na dané odrůdě, viniční trati, zralosti hroznů a v neposlední řadě i ročníku. V průběhu dozrávání vzniká nejprve kyselina jablečná, následně kyselina vinná. Tyto dvě představují většinové množství celkových kyselin. V menších koncentracích se objevuje kyselina citronová, glukonová, jantarová a jiné (STEIDL, 2002).

Na chuťové vlastnosti bobulí má nejvyšší vliv kyselina vinná. Je to nejsilnější kyselina v hroznech a je odpovědná za kyselou až ostrou chuť ve víně a hroznech. Naproti tomu kyselina jablečná poskytuje hroznům a vínu chuť projevující se hrubými, nezralými tóny (PAVLOUŠEK, 2011).

Veškeré titrovatelné kyseliny představují veškerou kyselost vína. Jde o sumu sloučenin titrovatelných odměrným alkalickým roztokem do pH 7. Kyselina uhličitá se do veškeré kyselosti nezahrnuje (BALÍK, 2006).

Celkový obsah veškerých titrovatelných kyselin byl stanoven spektroskopicky na FTIR analyzátoru BrukerAlpha.

FT-IR spektroskopie se používá pro identifikaci a kvantifikaci anorganických a organických materiálů. Tato analýza je založena na principu využívání vlastností světelného záření v infračervené oblasti. Toto záření absorbuje chemické vazby vzorku.

Vyhodnocení výsledků probíhá na základě odražené světelné energie a kalibračních rovnic, ty jsou uloženy v přístrojové paměti.

Analyzátor využívá vzorkovací techniku ATR (zeslabeného úplného odrazu). Princip spočívá ve vedení paprsku infračerveného světla do průhledného diamantového krystalu, kde dochází k jeho úplnému odrazu. Povrch vzorku při kontaktu s paprskem absorbuje část záření, která v sobě nese charakteristické znaky pro určité parametry analýzy (ELLIS, 2006).

Postup analýzy: Před začátkem měření byl přístroj důkladně propláchnutý deionizovanou vodou a slepým vzorkem změřeno pozadí. Pro analýzu byl odebrán stříkačkou 1 ml čirého vzorku, přičemž 0,5 ml posloužil k proplachu systému a z druhého 0,5 ml vzorku bylo provedeno měření. Pomocí softwaru následně došlo v závislosti na kalibraci k automatickému vyhodnocení dat a jejich převedení do tabulky.

4.2.4 Stanovení asimilovatelného dusíku

Obsah asimilovatelného dusíku v bobulích je klíčovým faktorem určujícím kvalitu vína. Skládá se z amonných iontů a volných aminokyselin. Jeho minimální hodnota k dosažení úspěšného kvašení moštu činí 150 mg.l⁻¹.

Primární aminokyseliny v moštu představují zdroj dusíku pro kvasinky a mléčné bakterie, rovněž často podporují tvorbu aromatických látek (STEIDL, 2002). Tyto asimilovatelné volné aminokyseliny tvoří v okamžiku sklizně 51-92 % celkového asimilovatelného dusíku v bobulích.

Obsah minerálního dusíku, který je zastoupený zejména amonnou formou (NH₄) se během zrání hroznů postupně snižuje a v okamžiku sklizně činí 5-10 %. Amonné ionty tvoří významnou součást asimilovatelného dusíku a to z důvodu jejich upřednostňování kvasinkami jako zdroje výživy před volnými aminokyselinami (PAVLOUŠEK, 2011).

Ve sledovaných vzorcích byl obsah asimilovatelného dusíku stanoven pomocí automatického titrátoru TitroLine Easy. Každý ze vzorků byl upraven pomocí NaOH na hodnotu pH 8, poté bylo do vzorků přidáno 5 ml formaldehydu. Následně došlo k poklesu pH a opět začala titrace 0,1 mol.l⁻¹ roztokem NaOH. Titrace byla automaticky ukončena při dosažení pH 8.

Obsah asimilovatelného dusíku byl vypočten podle následující rovnice:

$$x = a \cdot f \cdot 140$$

x - množství asimilovatelného dusíku mg.l⁻¹

a - ml spotřebovaného 0,1 mol.l⁻¹ roztoku NaOH

f - faktor 0,1 mol.l⁻¹ roztoku NaOH

(BALÍK, 2011)

Úprava vzorku

Mošt byl před stanovením jednotlivých parametrů odstředěn (3000 x g; 6 min) a pro spektrofotometrická stanovení jednotlivých parametrů použit neředěný.

Jednotlivá spektrofotometrická stanovení byla provedena na automatickém biochemickém analyzátoru MIURA ONE (I.S.E. S.r.l.; Guidonia (RM) – Itálie). Každá z metod byla uzpůsobena použitému analyzátoru, kdy inkubace probíhala při 37 °C a inkubační doby bylo třeba přizpůsobit pracovním cyklům přístroje.

4.2.5 Stanovení antiradikálové aktivity

Metoda stanovení antiradikálové aktivity je založena na deaktivaci komerčně dostupného 2,2-difenyl-β-pikrylhydrazylvého radikálu (DPPH), který se projevuje úbytkem absorbance při 520 nm. K 268 μl roztoku DPPH v methanolu (300 μM) bylo přidáno 12 μl vzorku, absorbance při 520 nm byla změřena po 360 sekundách a odečtena od absorbance měřené v čase 0. Antiradikálová aktivita byla stanovena na základě kalibrační křivky, za použití Troloxu jako standardu (0,1 - 3 mM). Výsledky jsou vyjádřeny ve formě mmol.l⁻¹ ekvivalentů Troloxu (ARNOUS, 2001).

4.2.6 Stanovení celkových fenolů

Celkový obsah fenolů v moštu byl stanoven modifikovanou Folin-Ciocalteuovou metodou. K množství 198 μl vody bylo přidáno 12 μl vzorku a 10 μl Folin-Ciocalteuova činidla. Po uplynutí 36 sekund bylo přidáno 30 μl roztoku dekahydrátu uhličitanu sodného (20 %). Po uplynutí 600 sekund byla měřena absorbance při 700 nm. Koncentrace celkových fenolů byla zjištěna na základě kalibrační křivky za použití kyseliny gallové jako standardu (25 - 1000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Výsledky jsou vyjádřeny ve formě $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ekvivalentů kyseliny gallové (WATERMAN, 1994).

4.2.7 Stanovení celkových flavanolů

Koncentrace celkových flavanolů byla stanovena pomocí metody založené na reakci s p-dimethylaminocinnamaldehydem (DMACA). Při této metodě, na rozdíl od často používané reakce s vanilinem, nedochází k interferenci s anthokyaniny. Navíc poskytuje vyšší citlivost a selektivnost. K 240 μl činidla (0,1 % DMACA a 300 mM HCl v MeOH) bylo přidáno 10 μl vzorku, doba reakce byla 600 sekund. Poté byla změřena absorbance při 620 nm. Koncentrace celkových flavanolů byla stanovena na základě kalibrační křivky za použití epikatechinu jako standardu (10 - 200 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Výsledky jsou vyjádřeny ve formě $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ekvivalentů katechinu (LI *et. al.*, 1966).

4.2.8 Stanovení jednotlivých hydroxyskořicových kyselin

Přítomnost jednotlivých hydroxyskořicových kyselin ve vzorcích – kyseliny kaftarové, kyseliny koutarové a kyseliny fětarové, byla stanovena na HPLC.

HPLC je vysokotlaká, vysokoúčinná, kapalinová chromatografie, patřící mezi separační metody analytické chemie. Tato metoda slouží k separaci a identifikování obsahu sledovaných látek a to na základě povahy sledovaných látek. Díky přítomnosti vysokotlakého čerpadla je umožněn průtok mobilní fáze kolonou menších rozměrů, ve kterých je stacionární fáze vázaná na částice o velikosti jen několik mikrometrů.

To způsobuje dosažení vyšší účinnosti separace látek a za kratší čas (GOLDMANN, 1999).

Koncentrace kyseliny kaftarové, koutarové a fětarové byly stanoveny dosud nepublikovanou metodou s přímým nástřikem vzorku. Mošt byl odstředěn (3000 x g; 6 min), 2x zředěn 100 mM HClO₄ (1:1) a přímo použit k HPLC analýze.

Instrumentace:

- Binární vysokotlaký systém Shimadzu LC-10A
- Systém controler: SCL-10Avp
- 2 pumpy: LC-10ADvp
- Kolonový termostat s manuálním nástřikovým ventilem Rheodyne: CTO-10ACvp
- DAD detektor: SPD-M10Avp
- Software: LCsolution

Podmínky separace:

- Kolona: Alltech Alltima C18 3 μm; 3 x 150mm + předkolona 3 x 7.5mm
- Teplota separace: 60 °C
- Objem nástřiku vzorku: 20 μl
- Průtok mobilní fáze: 0.9 ml/min
- Mobilní fáze A: 15 mM HClO₄
- Mobilní fáze B: 15 mM HClO₄, 80% ACN

Gradientový program:

0,00 min 2% B

4,00 min	16% B
8,00 min	32% B
10,00 min	64% B
10,01 min	0% B
11,99 min	0% B
12,00 min	2% B

Celková doba analýzy byla 12 minut. Regenerace systému trvala 3 minuty. Data byla zaznamenávána v 313 nm.

Jelikož pro deriváty hydroxyskořicových kyselin nebyly k dispozici odpovídající standardy, byly jednotlivé sloučeniny kalibrovány na základě molárních koncentrací volných hydroxyskořicových kyselin.

313 nm: kys. p-koutarová; kalibrace na kys. p-kumarovou

327 nm: kys. kaftarová; kalibrace na kys. kávovou

327 nm: kys. fertarová; kalibrace na kys. ferulovou

4.3 Použité statistické metody

Ke zpracování výsledků byly použity programy Excel 2013 (MS OFFICE 2013) a STATISTICA 12 (StatSoft CR s.r.o), pomocí které byly provedeny statistické analýzy.

Pro zjištění vzájemné korelace byly použity korelační matice.

Korelace je statistická metoda, která číselně vyjadřuje míru závislosti dvou veličin. Korelační koeficient nabývá hodnot (-1,1). Červeně označené korelace, pozitivní nebo negativní, jsou na hladině $p < 0,05$ statisticky významné. Kladný korelační koeficient vyjadřuje pozitivní korelaci mezi veličinami. To znamená, že v případě stoupaní jedné veličiny, bude růst i ta druhá. Záporný korelační koeficient

vyjadřuje negativní korelaci obou veličin. Pokud bude jedna veličina stoupat, bude druhá veličina klesat.

V diplomové práci byly použity korelační matice pro zjištění závislosti analytických parametrů moštu na obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin.

4.4 Výsledky

Ve všech odebraných vzorcích byly v moštu zručně drcených bobulí stanoveny základní analytické parametry – cukernatost, hodnota pH, obsah titrovatelných kyselin a asimilovatelného dusíku. Tyto hodnoty uvádí tabulka 1.

Odrůda	Datum sběru	Cukernatost (°NM)	Titř. kys. (g/l)	pH	Asimil. dusík (mg/l)
„Ryzlink rýnský“	8.9.2016	11,57	14,07	2,92	202,9
	14.9.2016	16,57	12,01	3,16	318,8
	21.9.2016	15,03	8,42	3,19	174,1
	27.9.2016	18,76	8,92	3,09	171,7
	6.10.2016	19,51	6,72	3,21	210,6
	11.10.2016	18,88	6,86	3,13	245,7
„Chardonnay“	8.9.2016	19,12	10,73	3,06	191,7
	14.9.2016	17,69	7,54	3,15	200,4
	21.9.2016	19,25	9,31	3,12	67,6
	27.9.2016	21,24	5,71	3,25	223,9
	11.10.2016	21,22	6,43	3,26	192,7
	19.10.2016	19,94	4,61	3,32	233,7
„Hibernal“	8.9.2016	16,10	10,88	3,06	250,7
	14.9.2016	19,22	7,79	3,17	338
	21.9.2016	20,49	7,31	3,12	278,8
	27.9.2016	23,59	5,56	3,33	323,3
	6.10.2016	24,06	4,69	3,25	282,5
	11.10.2016	23,73	5,18	3,33	289,8
„Frankovka“	19.10.2016	23,36	4,83	3,38	387,8
	8.9.2016	15,18	9,04	2,90	55
	14.9.2016	13,74	9,49	3,00	216,8
	21.9.2016	15,50	7,56	3,12	243,6
	27.9.2016	15,36	6,25	3,05	189,2
	6.10.2016	14,18	10,24	3,05	282,5
„Veltlínské zelené“	11.10.2016	21,08	5,32	3,17	290,7
	19.10.2016	19,94	5,35	3,16	246,2
	25.10.2016	19,46	4,72	3,11	200,3
	27.10.2016	21,13	5,49	3,11	240,4
	14.9.2016	15,61	8,03	3,00	195,6
	27.9.2016	16,13	7,62	3,02	238,4
„Tramín červený“	14.9.2016	17,77	7,77	3,22	286
	27.9.2016	20,93	5,96	3,25	302,9
„Sauvignon blanc“	14.9.2016	19,51	10,16	2,99	300
	11.10.2016	23,10	7,16	3,12	385
„Rulandské modré“	14.9.2016	18,48	7,33	3,06	134
	27.9.2016	16,74	18,62	2,78	412,2
„Laurot“	14.9.2016	16,17	10,64	2,76	56,1
	25.10.2016	20,28	8,61	3,05	118,5
„Cabernet Franc“	14.9.2016	19,32	8,57	2,93	15,7
	11.10.2016	23,53	7,04	3,05	70,3

Tab. 1: Základní analytické parametry moštu z odebíraných hroznů

Pomocí HPLC metody byly v těchto vzorcích stanoveny jednotlivé hydroxyskořicové kyseliny – kyselina kaftarová, kyselina koutarová a kyselina fětarová. Jejich výsledné koncentrace uvádí tabulka 2.

Odrůda	Datum sběru	Kys. kaftarová (mg/l)	Kys. koutarová (mg/l)	Kys. fětarová (mg/l)
,Ryzlink rýnský‘	8.9.2016	133,0	6,8	9,1
	14.9.2016	112,7	6,4	6,0
	21.9.2016	115,7	6,3	10,7
	27.9.2016	109,6	5,6	10,3
	6.10.2016	129,0	6,6	9,3
	11.10.2016	96,9	4,3	10,0
,Chardonnay‘	8.9.2016	80,6	5,4	2,1
	14.9.2016	53,0	3,2	1,7
	21.9.2016	53,4	3,7	2,0
	27.9.2016	57,3	3,7	1,8
	11.10.2016	63,5	4,4	1,8
	19.10.2016	66,6	5,3	1,9
,Hibernal‘	8.9.2016	62,8	6,1	4,6
	14.9.2016	62,4	7,0	4,5
	21.9.2016	60,4	6,2	3,7
	27.9.2016	52,5	7,7	5,4
	6.10.2016	62,7	7,1	4,4
	11.10.2016	64,3	9,2	5,9
,Frankovka‘	19.10.2016	67,0	8,8	4,7
	8.9.2016	156,9	4,0	4,0
	14.9.2016	148,2	4,3	4,3
	21.9.2016	97,4	3,0	3,1
	27.9.2016	140,4	4,2	4,0
	6.10.2016	95,2	2,1	3,6
,Veltlínské zelené‘	11.10.2016	137,0	5,1	3,5
	14.9.2016	54,1	2,6	1,6
	27.9.2016	57,9	2,5	1,4
	14.9.2016	46,0	2,1	2,0
	27.9.2016	54,1	2,1	1,7
	14.9.2016	53,6	3,7	1,1
,Sauvignon blanc‘	11.10.2016	48,6	2,7	0,9
	14.9.2016	76,0	6,0	2,0
,Rulandské modré‘	27.9.2016	111,9	4,6	1,7
	14.9.2016	121,6	8,1	2,6
,Laurot‘	25.10.2016	117,7	8,7	2,8
	14.9.2016	132,3	9,7	3,0
,Cabernet Franc‘	11.10.2016	185,5	16,0	4,1

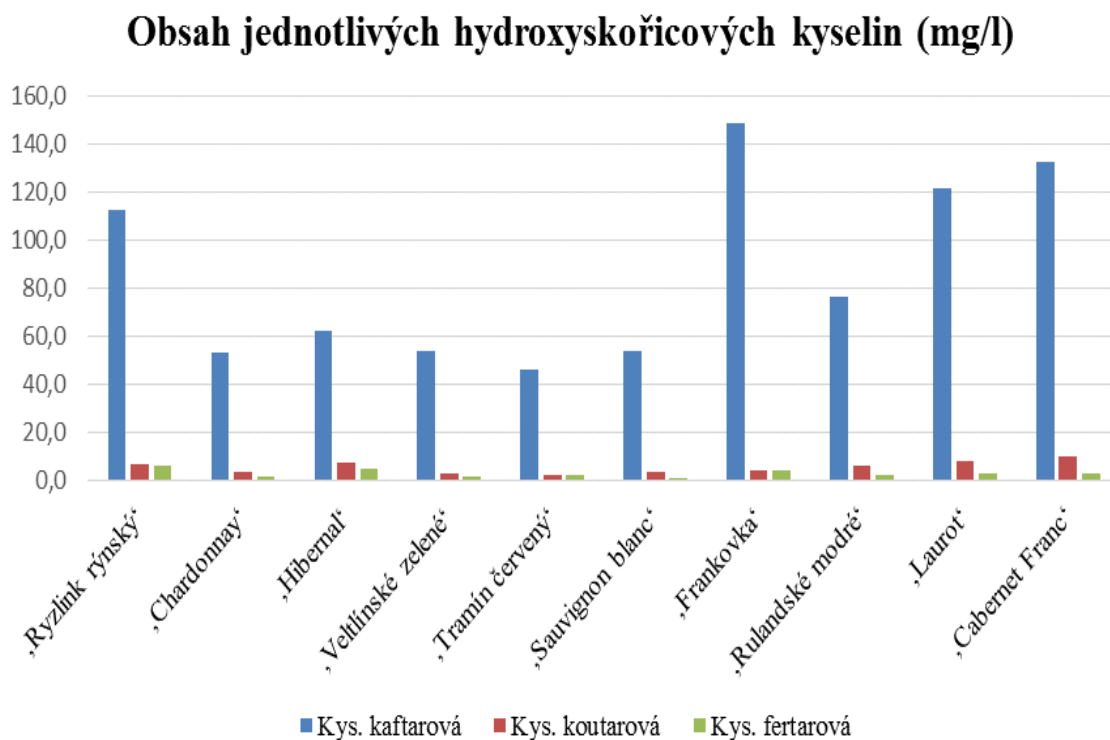
Tab. 2: Koncentrace jednotlivých hydroxyskořicových kyselin

Tabulka 3 uvádí procentuální zastoupení tří hydroxyskořicových kyselin u všech odebraných vzorků.

Odrůda	Datum sběru	Kys. kaftarová (%)	Kys. koutarová (%)	Kys. fertarová (%)
,Ryzlink rýnský‘	8.9.2016	89,3	4,6	6,1
	14.9.2016	90,1	5,1	4,8
	21.9.2016	87,2	4,8	8,1
	27.9.2016	87,3	4,5	8,2
	6.10.2016	89,0	4,6	6,4
,Chardonnay‘	11.10.2016	87,1	3,9	9,0
	8.9.2016	91,6	6,1	2,3
	14.9.2016	91,5	5,5	3,0
	21.9.2016	90,5	6,2	3,3
	27.9.2016	91,2	5,9	2,9
,Hibernal‘	11.10.2016	91,1	6,3	2,5
	19.10.2016	90,1	7,2	2,6
	8.9.2016	85,4	8,3	6,3
	14.9.2016	84,4	9,5	6,0
	21.9.2016	85,9	8,8	5,3
,Frankovka‘	27.9.2016	80,1	11,7	8,2
	6.10.2016	84,5	9,6	5,9
	11.10.2016	80,9	11,6	7,5
	19.10.2016	83,2	11,0	5,9
	8.9.2016	95,2	2,4	2,4
,Veltlínské zelené‘	14.9.2016	94,6	2,7	2,7
	21.9.2016	94,1	2,9	3,0
	27.9.2016	94,5	2,8	2,7
	6.10.2016	94,3	2,1	3,6
	11.10.2016	94,1	3,5	2,4
,Tramín červený‘	19.10.2016	94,0	3,1	2,8
	25.10.2016	96,8	0,4	2,8
	27.10.2016	93,6	3,4	3,0
,Sauvignon blanc‘	14.9.2016	92,8	4,5	2,7
	27.9.2016	93,7	4,0	2,3
,Rulandské modré‘	14.9.2016	91,6	4,3	4,1
	27.9.2016	93,5	3,7	2,9
,Laurot‘	14.9.2016	91,7	6,3	1,9
	11.10.2016	93,1	5,2	1,7
,Cabernet Franc‘	14.9.2016	90,5	7,2	2,3
	27.9.2016	94,6	3,9	1,5
,Cabernet Franc‘	14.9.2016	91,9	6,1	1,9
	25.10.2016	91,1	6,8	2,2
,Cabernet Franc‘	14.9.2016	91,3	6,7	2,1
	11.10.2016	90,3	7,8	2,0

Tab. 3: Procentuální zastoupení jednotlivých hydroxyskořicových kyselin

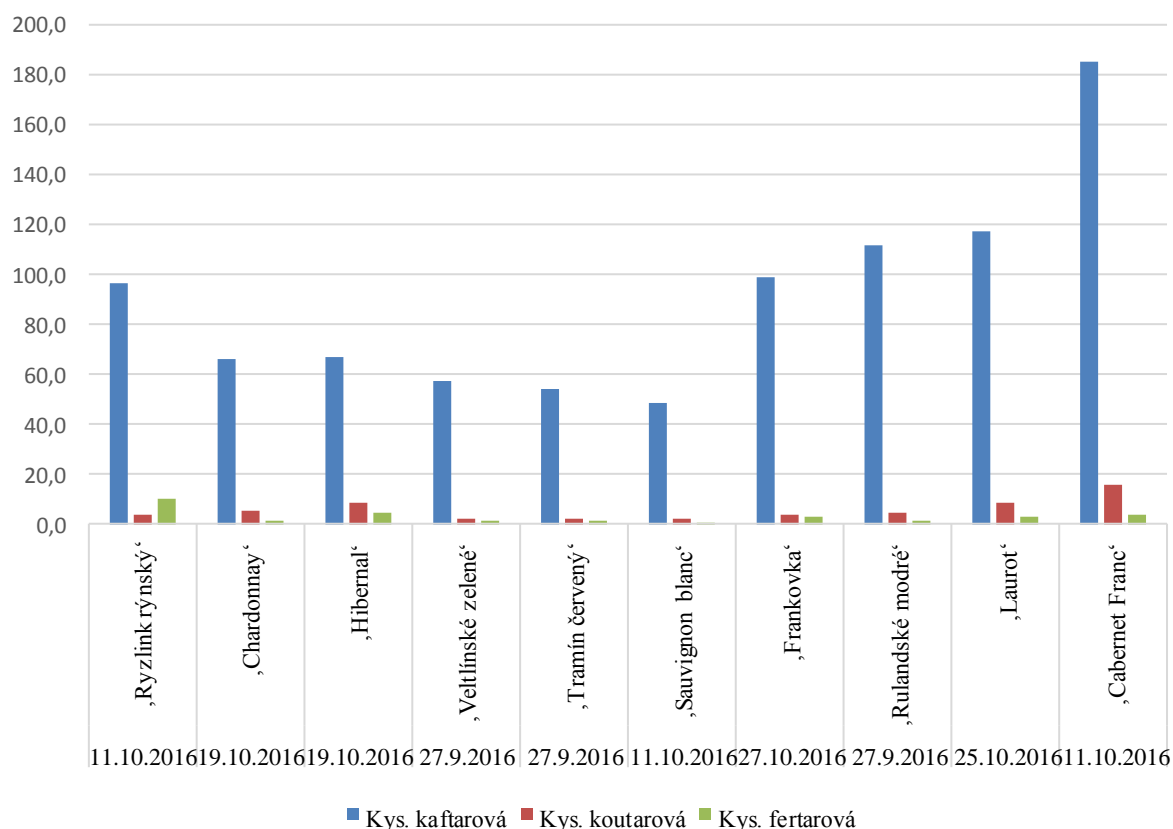
Graf 1 zobrazuje hodnoty kyseliny kaftarové, kyseliny koutarové a kyseliny fětarové (mg.l^{-1}) v moštu sledovaných odrůd při sběru dne 14. 9. 2016. Nejvyššího obsahu dosahovala kyselina kaftarová a to u všech sledovaných odrůd. Její nejvyšší koncentrace byla u odrůd ‚Frankovka‘ ($148,2 \text{ mg.l}^{-1}$), ‚Laurot‘ ($121,6 \text{ mg.l}^{-1}$) a ‚Cabernet Franc‘ ($132,3 \text{ mg.l}^{-1}$), což nebylo překvapující, protože se jedná o modré moštové odrůdy. Naopak překvapením byla velmi vysoká koncentrace kyseliny kaftarové u odrůdy ‚Ryzlink rýnský‘ ($112,7 \text{ mg.l}^{-1}$). Nejnižší koncentrace kyseliny kaftarové byla u odrůd ‚Tramín červený‘ (46 mg.l^{-1}), ‚Chardonnay‘ (53 mg.l^{-1}) a ‚Sauvignon blanc‘ ($53,6 \text{ mg.l}^{-1}$), ve kterých byla zjištěna zároveň i nejnižší koncentrace kyseliny koutarové a fětarové. Naopak nejvyšší obsah kyseliny koutarové a fětarové vykazovaly odrůdy ‚Cabernet Franc‘, ‚Hibernál‘, ‚Laurot‘ a velmi vyrovnaný obsah těchto dvou sloučenin obsahoval ‚Ryzlink rýnský‘.



Graf 1: Obsah jednotlivých hydroxyskořicových kyselin dne 14. 9. 2016 (mg.l^{-1})

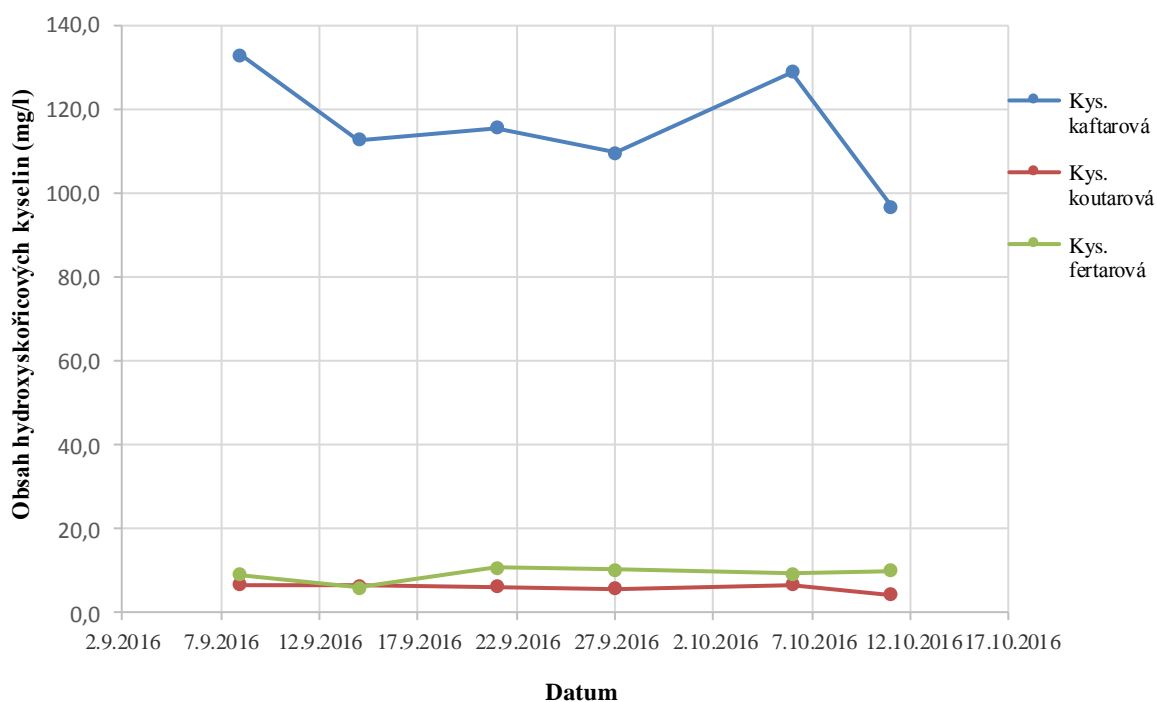
Graf 2 znázorňuje hodnoty kyseliny kaftarové, koutarové a fertarové (mg.l⁻¹) v moštu vybraných odrůd při jejich finálním sběru v době sklizňové zralosti. Je patrné, že znovu výrazně nejvyšších hodnot u všech odrůd dosahovala koncentrace kyseliny kaftarové, její nejvyšší obsah byl zjištěn u odrůdy ‚Cabernet Franc‘ (185,5 mg.l⁻¹), následovaly odrůdy ‚Laurot‘ (117,7 mg.l⁻¹) a ‚Rulandské modré‘ (111,9 mg.l⁻¹). Nejnižších hodnot dosahovala kyselina kaftarová u odrůd ‚Sauvignon blanc‘ (48,6 mg.l⁻¹), ‚Tramín červený‘ (54,1 mg.l⁻¹) a ‚Veltlínské zelené‘ (57,9 mg.l⁻¹). ‚Cabernet Franc‘ obsahoval zároveň i nejvyšší koncentraci kyseliny koutarové (16 mg.l⁻¹), naopak nejvyšší koncentrace kyseliny fertarové byla zjištěna v odrůdě ‚Ryzlink rýnský‘ (10 mg.l⁻¹).

Obsah jednotlivých hydroxyskořicových kyselin (mg/l)

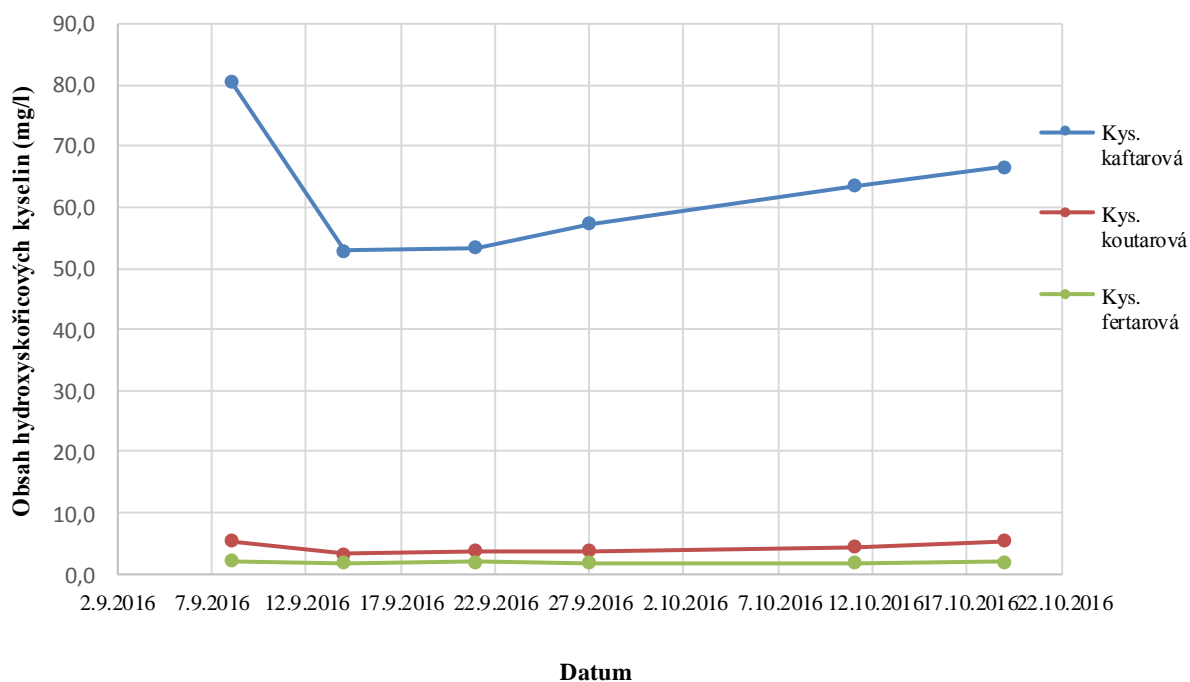


Graf 2: Obsah jednotlivých hydroxyskořicových kyselin při finálním sběru (mg.l⁻¹)

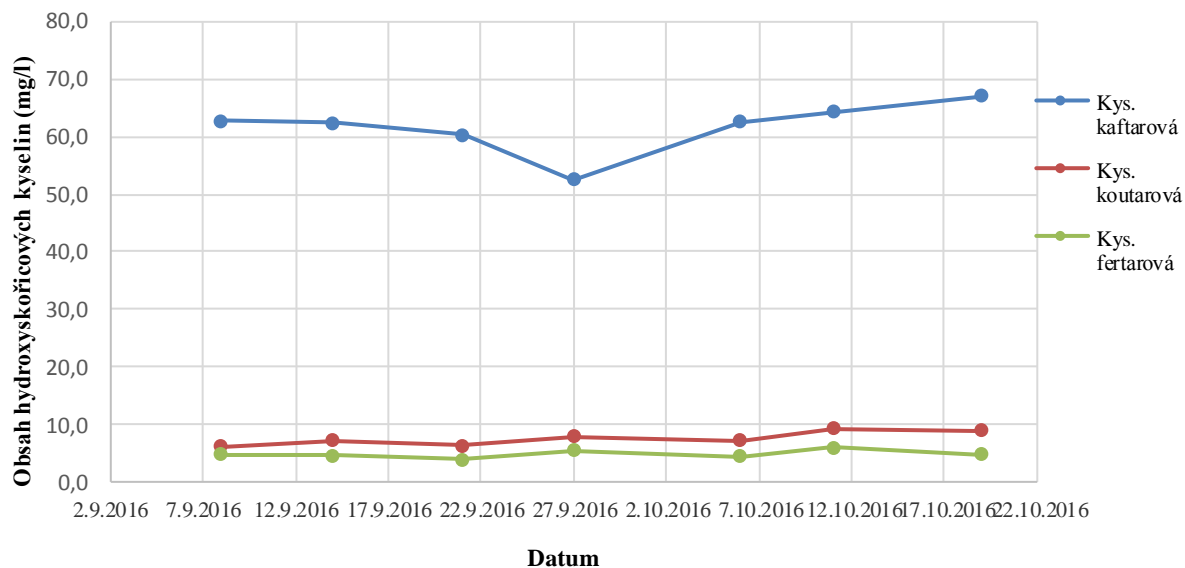
Grafy 3, 4, 5 a 6 znázorňují vývoj jednotlivých hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání u čtyř odrůd (Ryzlink rýnský, Chardonnay, Hibernál, Frankovka). Ze všech čtyř grafů je patrné, že nejdynamičtěji se měnící kyselinou byla kyselina kaftarová. Ačkoli obsah kyseliny kaftarové, koutarové a fertarové byl velmi proměnlivý, obecně lze z grafů vyvodit závěr, že v průběhu dozrávání byla spíše klesající tendence obsahu zejména kyseliny kaftarové, obsah kyseliny koutarové a fertarové byl stabilnější. Pouze u odrůdy Hibernál došlo k nárůstu těchto tří hydroxyskořicových kyselin, kdy jejich obsah byl při prvním sběru nižší než při sběru finálním. K nejvýraznějšímu poklesu došlo u odrůdy Frankovka, ve které se obsah kyseliny kaftarové snížil od prvního do posledního sběru o téměř 60 mg.l⁻¹.



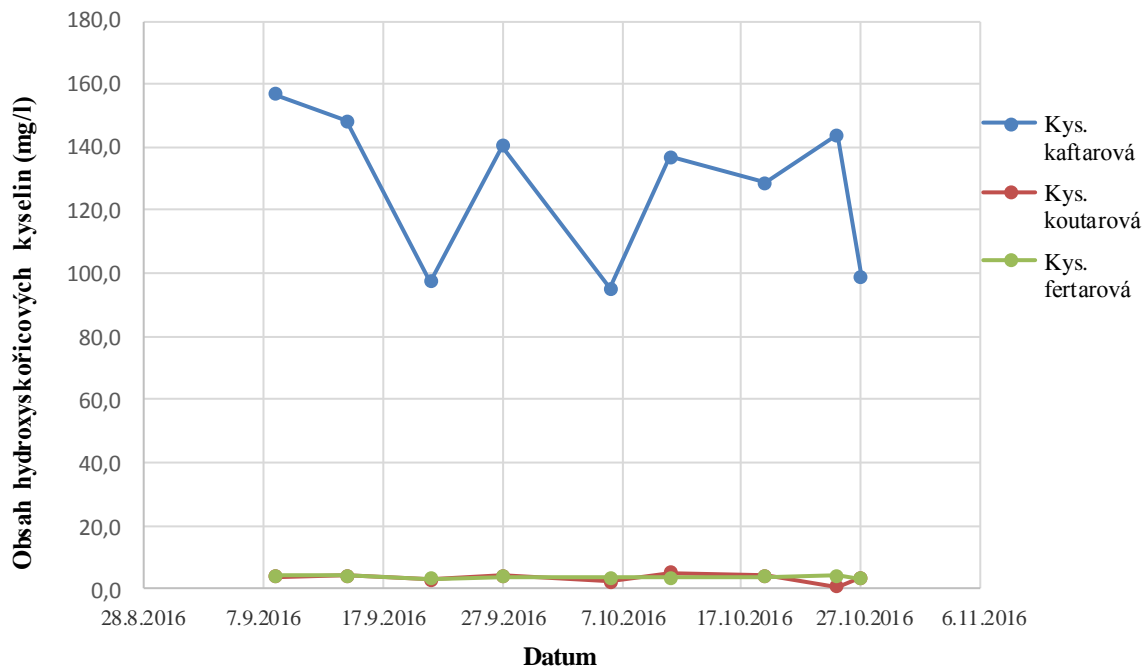
Graf 3: Vývoj jednotlivých hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání u odrůdy Ryzlink rýnský



Graf 4: Vývoj jednotlivých hydroxykyselin v průběhu dozrání u odrůdy Chardonnay

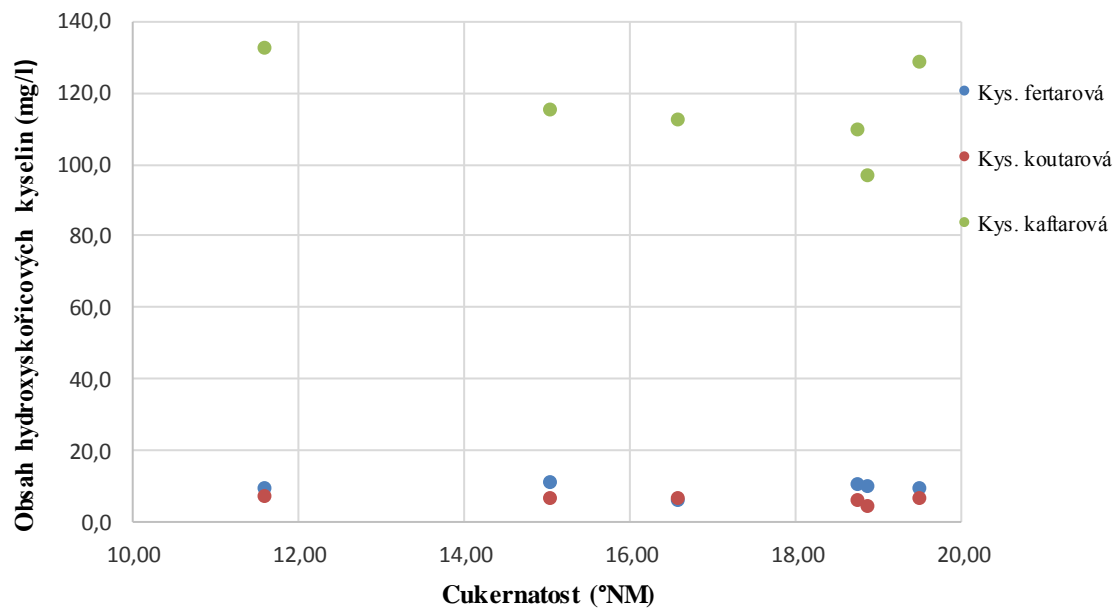


Graf 5: Vývoj jednotlivých hydroxykyselin v průběhu dozrání u odrůdy Hibernal

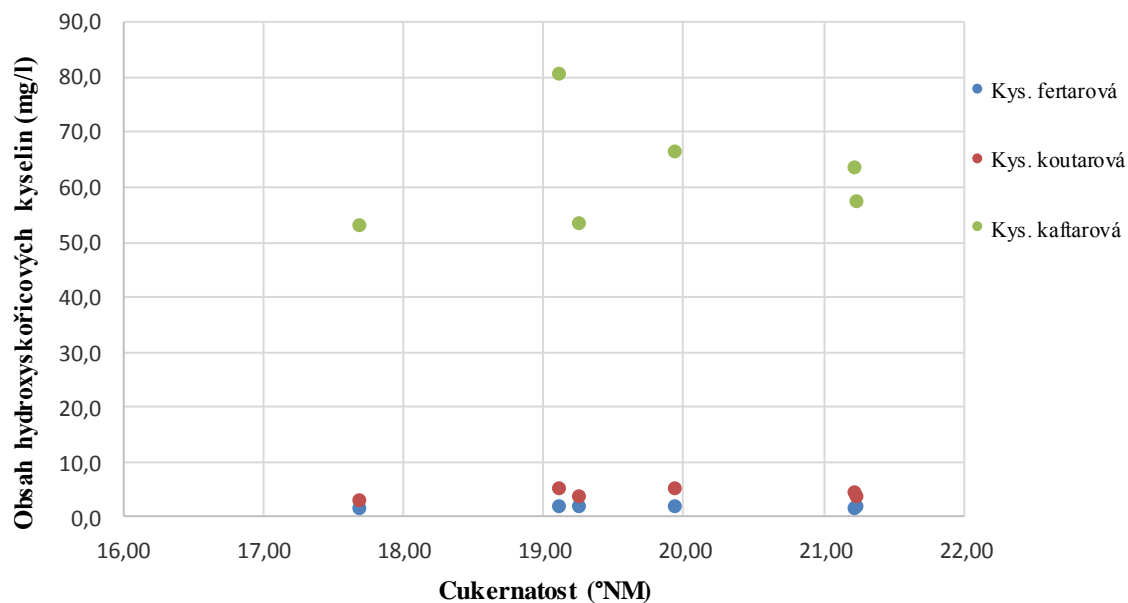


Graf 6: Vývoj jednotlivých hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání u odrůdy Frankovka

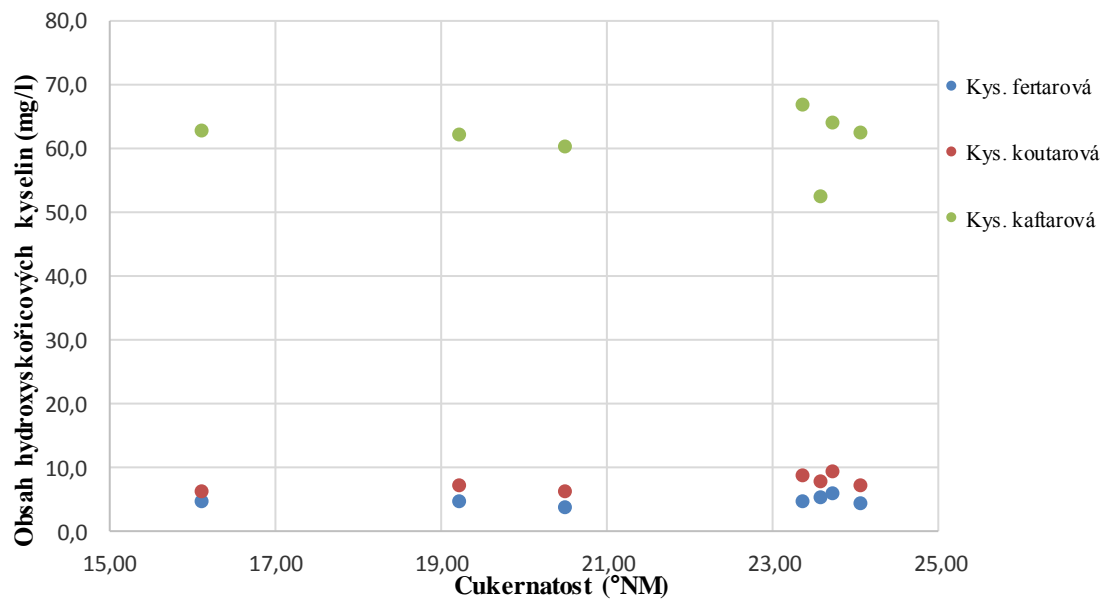
Následující grafy zobrazují závislost obsahu kyseliny kaftarové, koutarové a fertarové na hodnotách cukernatosti moštu v průběhu dozrávání u odrůd ‚Ryzlink rýnský‘, ‚Chardonnay‘, ‚Hibernal‘ a ‚Frankovka‘. Jak je z grafů patrné, ve sledovaných vzorcích není zřejmá závislost obsahu ani jedné z hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti. Tyto hodnoty spolu podle zjištěných výsledků nijak výrazně nekorelují.



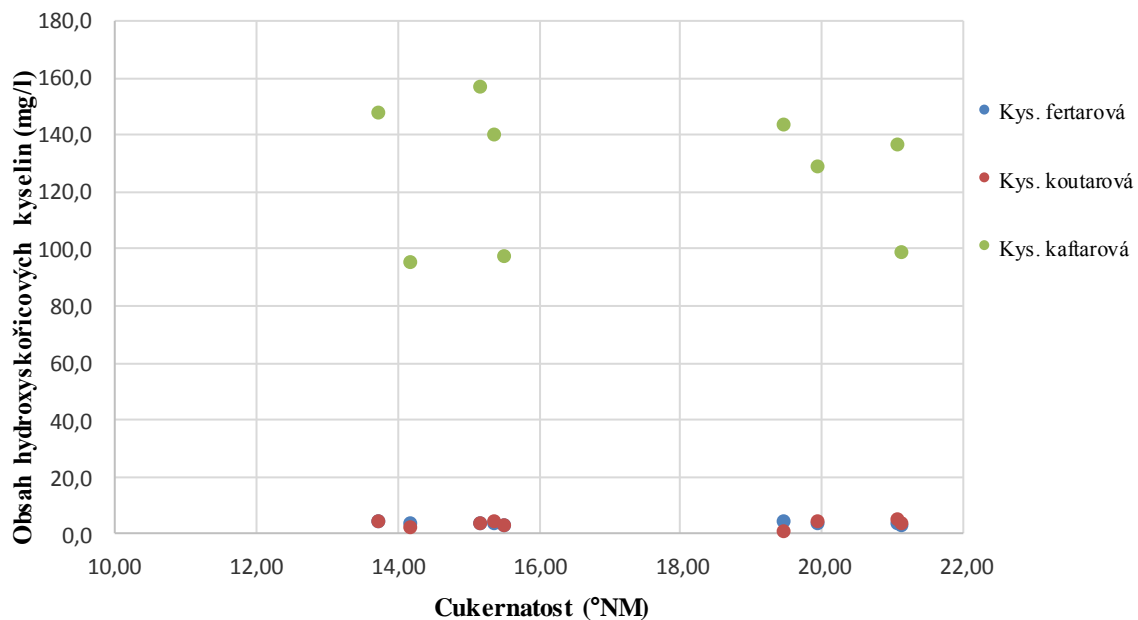
Graf 7: Závislost obsahu jednotlivých hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti u odrůdy Ryzlink rýnský



Graf 8: Závislost obsahu jednotlivých hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti u odrůdy Chardonnay

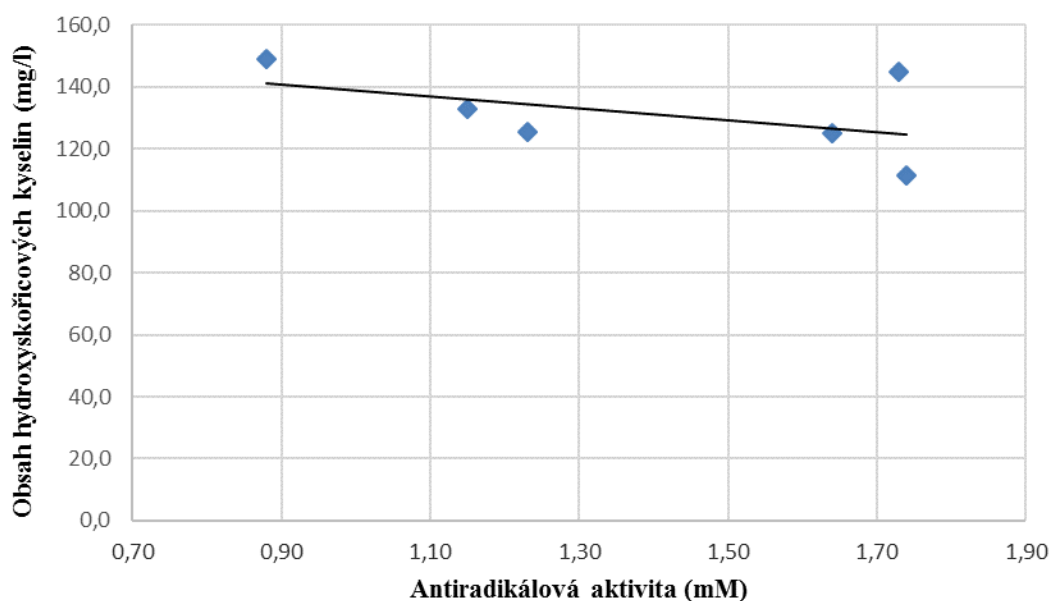


Graf 9: Závislost obsahu jednotlivých hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti u odrůdy Hibernál

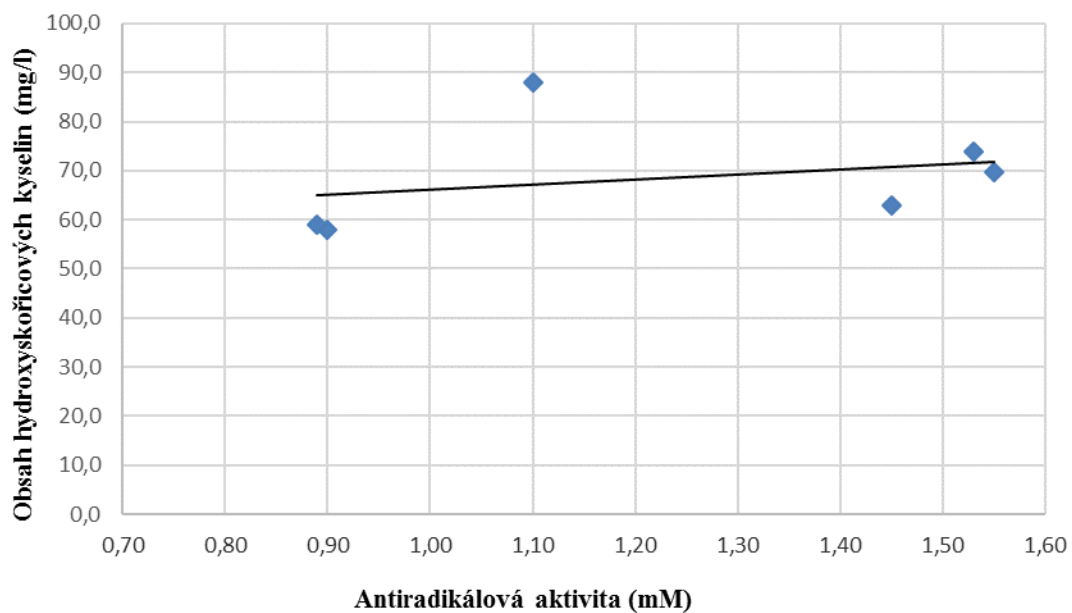


Graf 10: Závislost obsahu jednotlivých hydroxyskořicových kyselin na hodnotách cukernatosti u odrůdy Frankovka

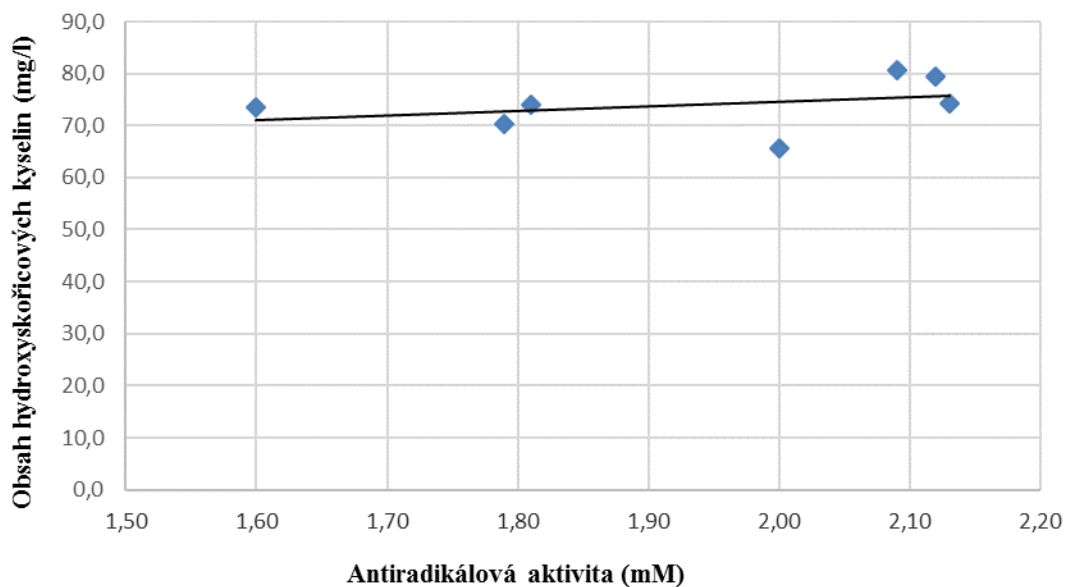
Grafy 11, 12, 13 a 14 znázorňují závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) na hodnotách antiradikálové aktivity (ve formě $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ekvivalentů Troloxu) u odrůd ‚Ryzlink rýnský‘, ‚Chardonnay‘, ‚Hibernal‘ a ‚Frankovka‘. Ani v tomto případě se u žádné ze čtyř odrůd neprokázal vztah mezi koncentrací hydroxyskořicových kyselin a antiradikálovou aktivitou. Spojnice trendu však naznačuje, že by se s rostoucím obsahem hydroxyskořicových kyselin u odrůd ‚Chardonnay‘, ‚Hibernal‘ a ‚Frankovka‘ měla zvyšovat i antiradikálová aktivita, naopak je tomu pouze u Ryzlinku rýnského.



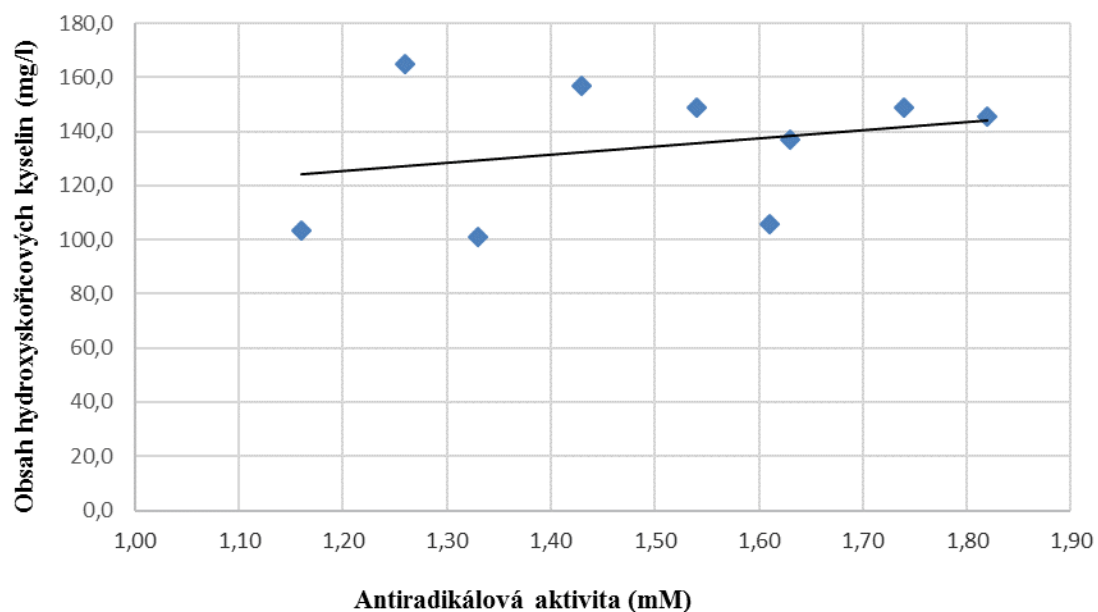
Graf 11: Závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin na antiradikálové aktivitě u odrůdy Ryzlink rýnský



Graf 12: Závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin na antiradikálové aktivitě u odrůdy Chardonnay



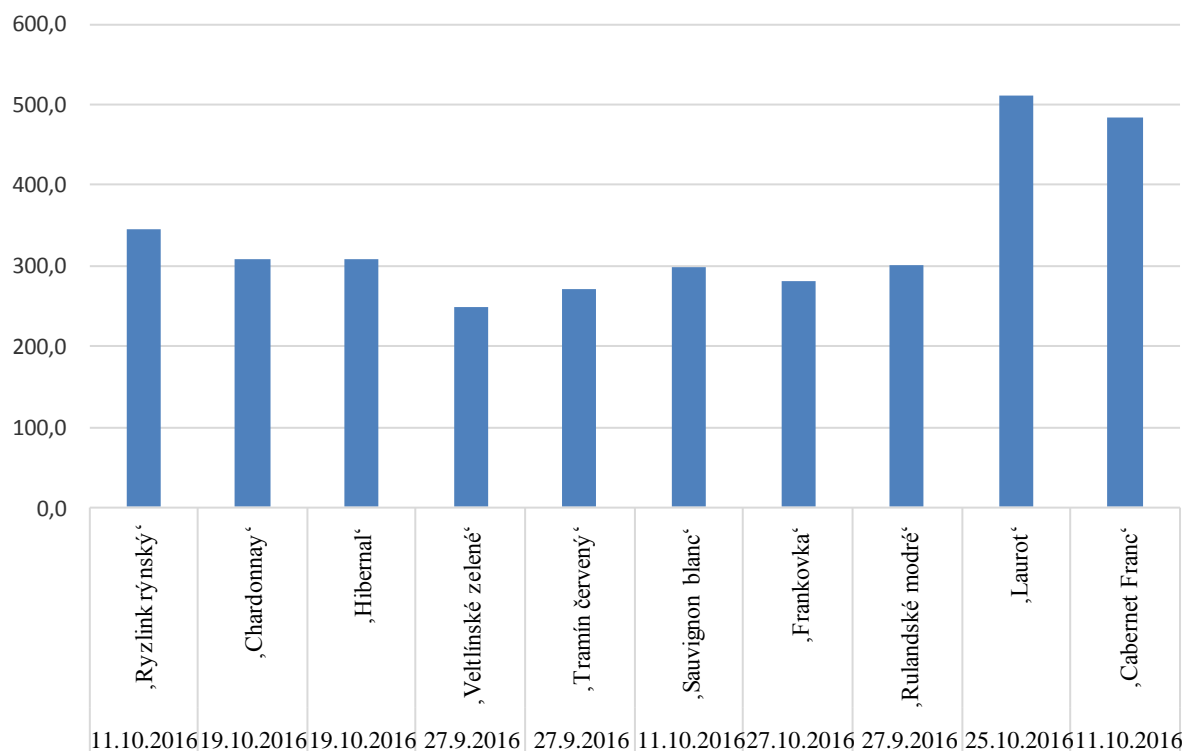
Graf 13: Závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin na antiradikálové aktivitě u odrůdy Hibernál



Graf 14: Závislost obsahu celkových hydroxykořicových kyselin na antiradikálové aktivitě u odrůdy Frankovka

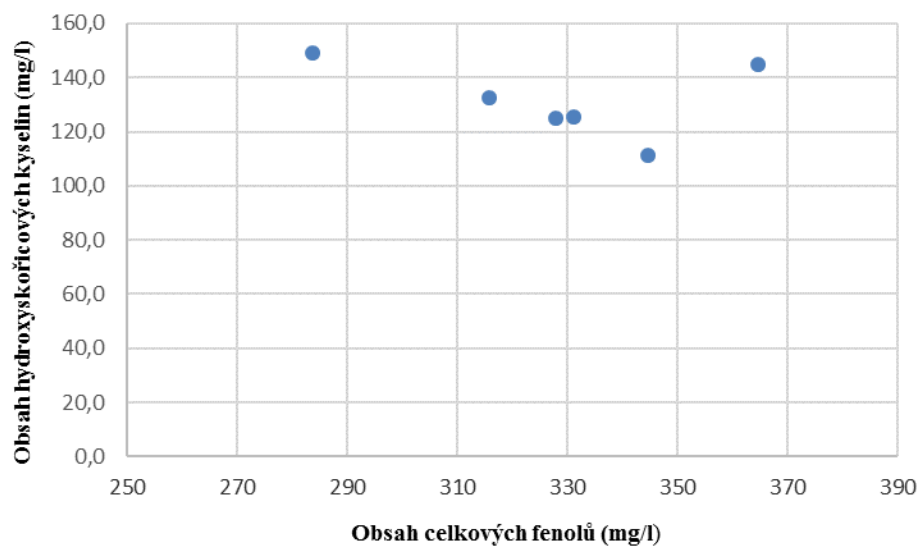
Na grafu 15 je zobrazeno celkové množství fenolických látek v moštu všech deseti sledovaných odrůd při jejich finálním sběru v období technologické zralosti. Výsledné hodnoty jsou vyjádřeny ve formě mg.l^{-1} ekvivalentů kyseliny gallové. Nejvyšších koncentrací dosáhly hrozny odrůd ‚Laurot‘ ($510,8 \text{ mg.l}^{-1}$) a ‚Cabernet Franc‘ ($483,7 \text{ mg.l}^{-1}$), nejméně fenolických látek měla odrůda ‚Veltlínské zelené‘ ($248,5 \text{ mg.l}^{-1}$). Je třeba vzít v potaz, že použití Folin-Ciocalteuovy metody stanoví v moštu veškeré redukující látky, nejen látky fenolické. Proto by skutečný obsah fenolických látek byl nižší, než je zde uvedeno.

Celkové množství fenolických látek (mg/l)

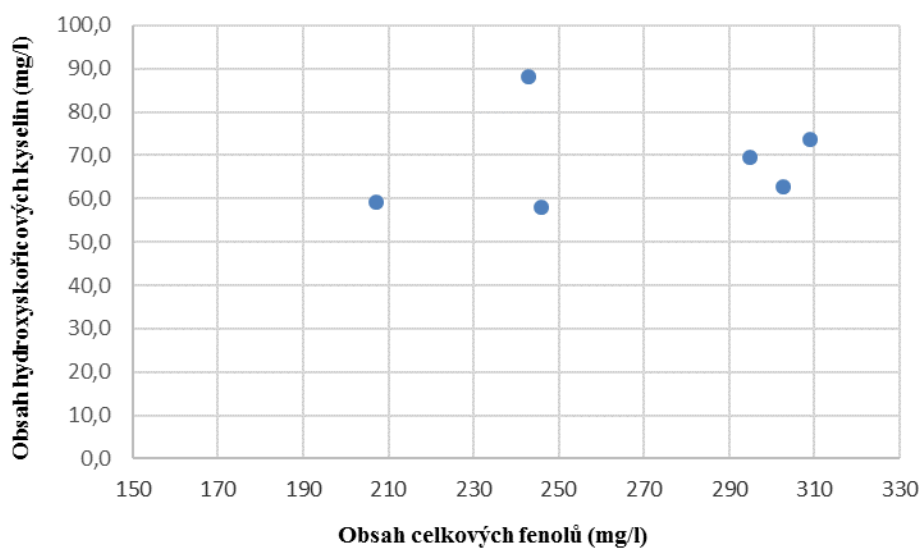


Graf 15: Obsah celkových fenolů v hroznech při finálním sběru v mg.l^{-1} kyseliny gallové

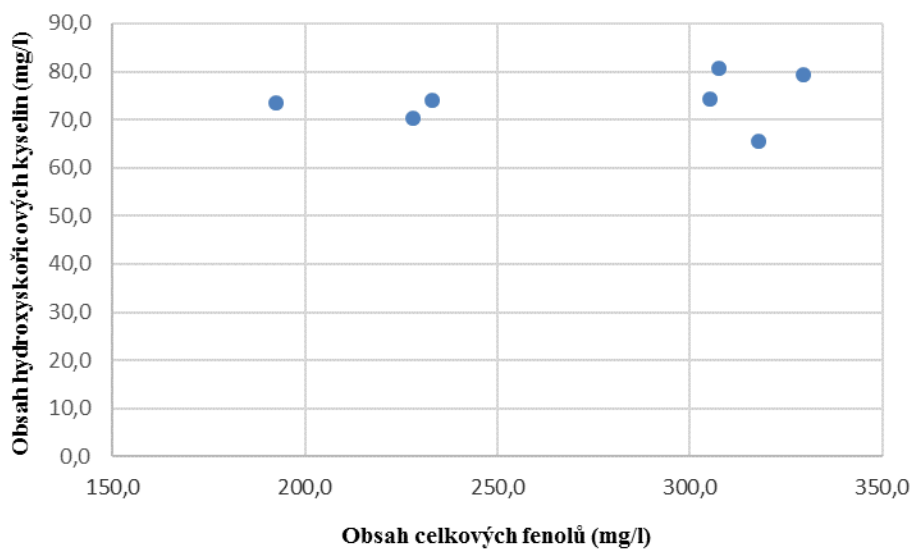
Následující grafy 16, 17, 18 a graf 19 znázorňují závislost obsahu celkových hydroxyskořicových kyselin (mg.l^{-1}) na obsahu celkových fenolů (vyjádřeno ve formě mg.l^{-1} ekvivalentů kyseliny gallové) v odrůdách „Ryzlink rýnský“, „Chardonnay“, „Hibernal“ a „Frankovka“. Ani v tomto případě se neukázala jednoznačná závislost ovlivňující obsah jedné nebo druhé proměnné. Ačkoli obsahy při jednotlivých sběrech kolísají, platí zde, že při prvním sběru byl obsah celkových fenolů nižší a obsah hydroxyskořicových kyselin vyšší než při finálním sběru, kdy tomu bylo naopak. Tento fakt je patrný u odrůd „Ryzlink rýnský“, „Chardonnay“, a „Frankovka“. Výjimku tvoří odrůda „Hibernal“, ve které u finálního sběru byl vyšší nejen obsah celkových fenolů, ale i obsah hydroxyskořicových kyselin ve srovnání s prvním sběrem.



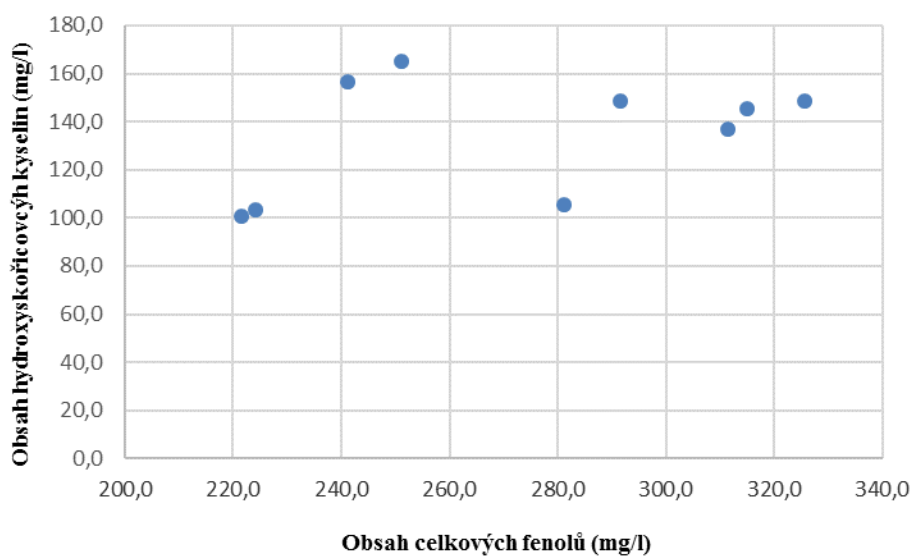
Graf 16: Závislost celkového obsahu hydroxybenzoičových kyselin ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) na obsahu celkových fenolů ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) u odrůdy Ryzlink rýnský



Graf 17: Závislost celkového obsahu hydroxybenzoičových kyselin ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) na obsahu celkových fenolů ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) u odrůdy Chardonnay



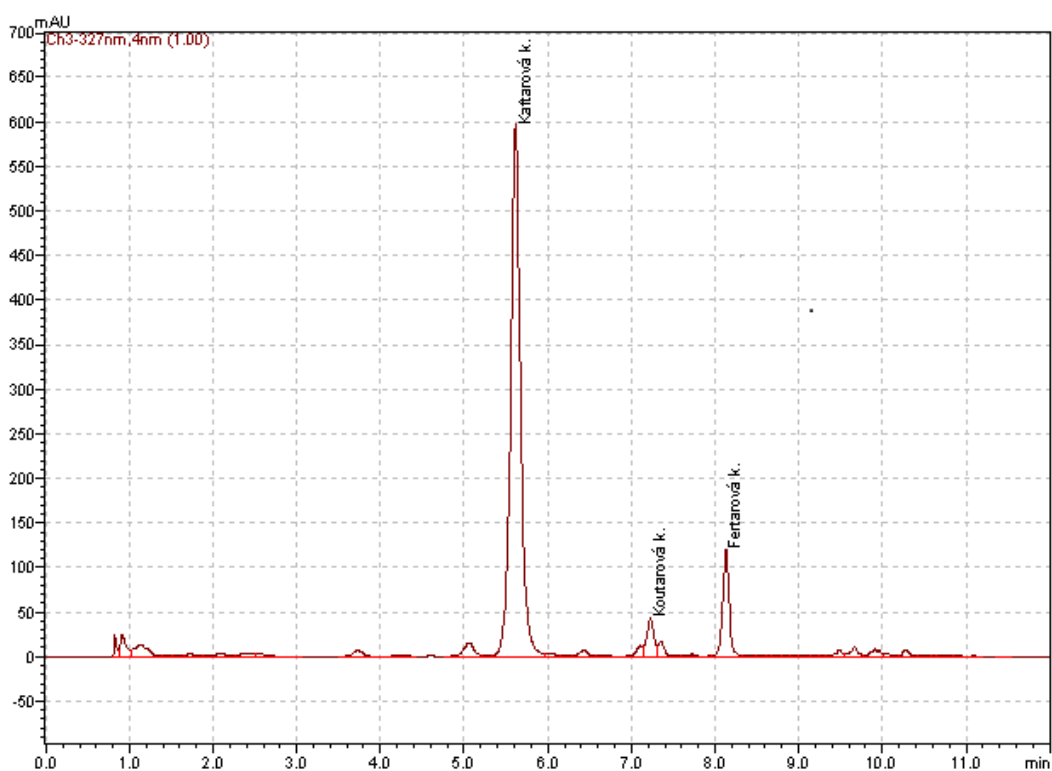
Graf 18: Závislost celkového obsahu hydroxykořicových kyselin (mg.l^{-1}) na obsahu celkových fenolů (mg.l^{-1}) u odrůdy Hiberna



Graf 19: Závislost celkového obsahu hydroxykořicových kyselin (mg.l^{-1}) na obsahu celkových fenolů (mg.l^{-1}) u odrůdy Frankovka

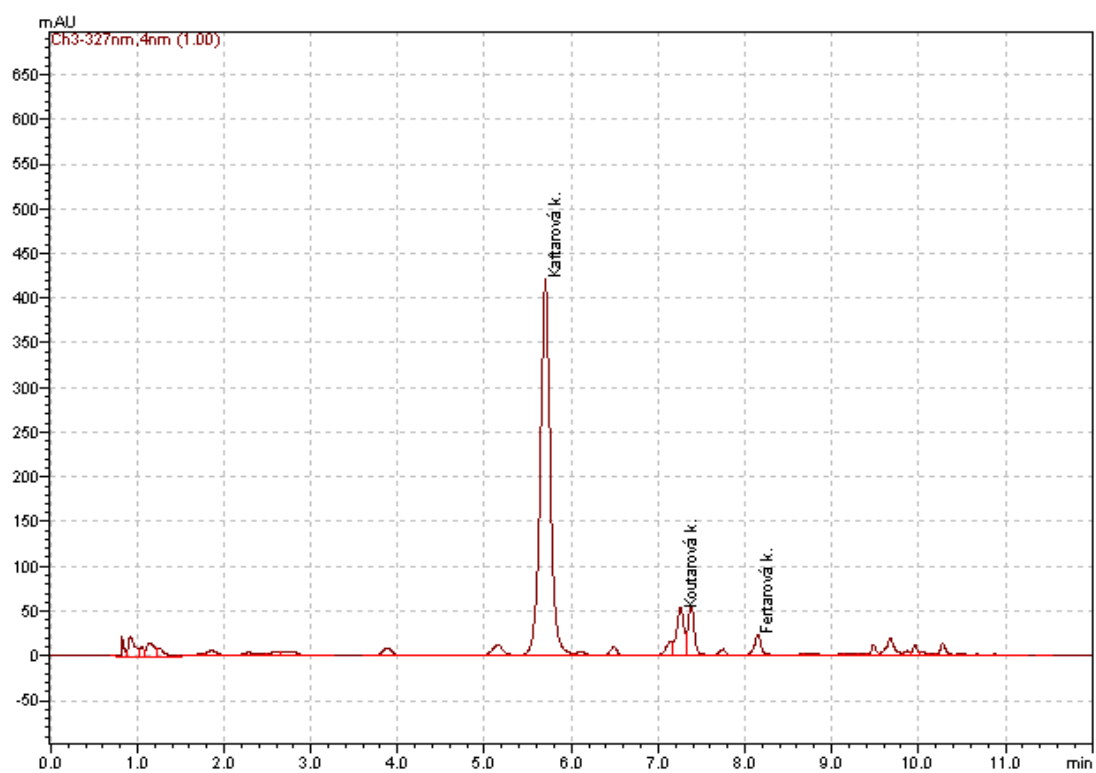
Graf 20 znázorňuje chromatogram odrůdy ‚Ryzlink rýnský‘, jsou zde uvedeny sledované hydroxyskořicové kyseliny: kaftarová, koutarová a fertarová. Jejich koncentrace je určena vzdáleností pod píkem. Levá vertikální osa chromatogramu udává absorbanci při 327 nm a horizontální dolní osa udává retenční čas v minutách. Grafy 21, 22 a 23 zobrazují chromatogramy odrůd ‚Chardonnay‘, ‚Hibernal‘ a ‚Frankovka‘. Na chromatogramech jsou patrné ve velmi nízkých koncentracích i další hydroxyskořicové kyseliny, které však nebylo možné stanovit.

Chromatogram odrůdy Ryzlink rýnský



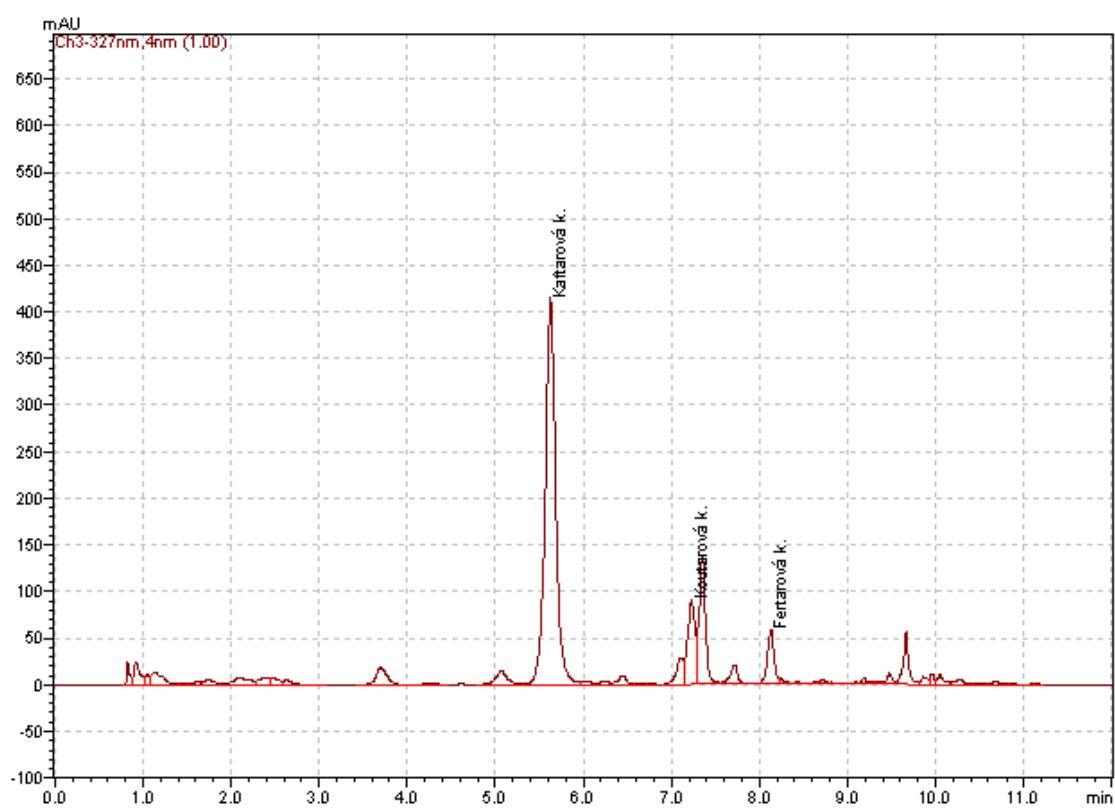
Graf 20: Chromatogram odrůdy Ryzlink rýnský

Chromatogram odrůdy Chardonnay



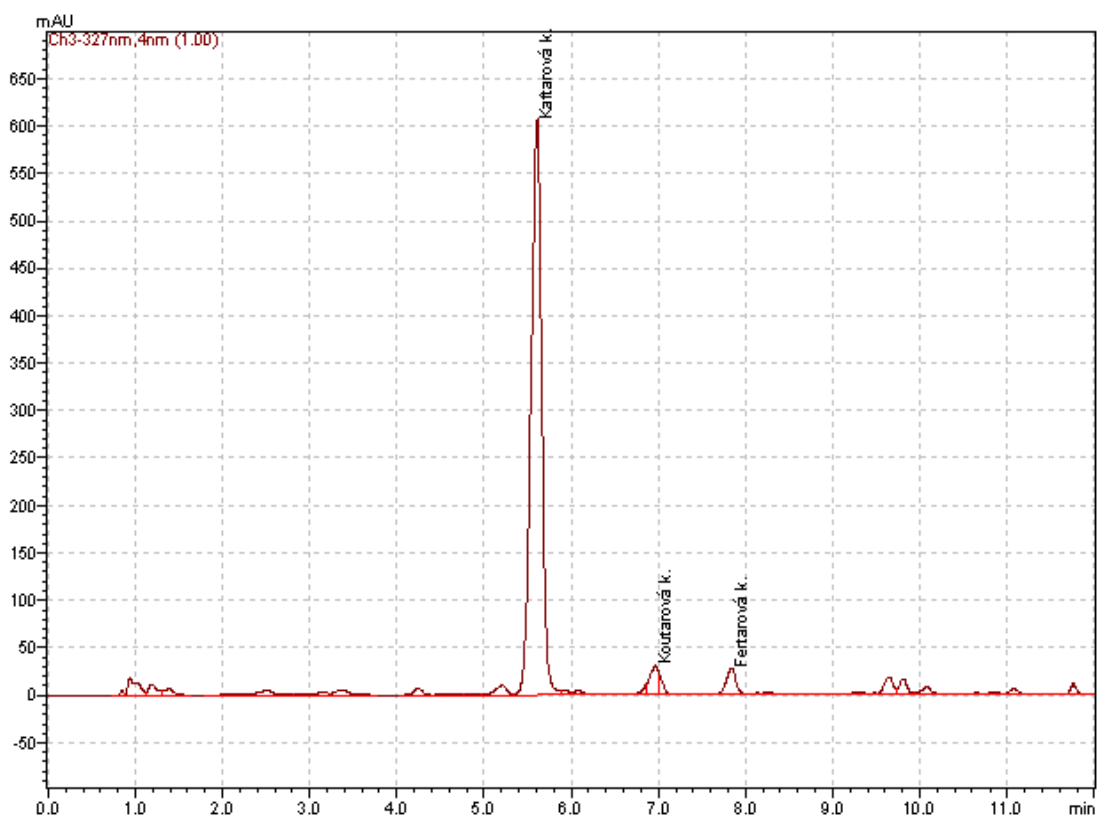
Graf 21: Chromatogram odrůdy Chardonnay

Chromatogram odrůdy Hibernál



Graf 22: Chromatogram odrůdy Hibernál

Chromatogram odrůdy Frankovka



Graf 23: Chromatogram odrůdy Frankovka

Tabulka 4 udává vzájemnou korelaci mezi cukernatostí moštu ($^{\circ}\text{NM}$), množstvím titrovatelných kyselin (g.l^{-1}), hodnotou pH, celkovým obsahem asimilovatelného dusíku (mg.l^{-1}), celkovým množstvím hydroxyskořicových kyselin (mg.l^{-1}), celkovým množstvím flavanolů (mg.l^{-1}), celkovým množstvím fenolických látek (mg.l^{-1}) a antiradikálovou aktivitou vyjádřenou ve formě mmol.l^{-1} ekvivalentů Troloxu.

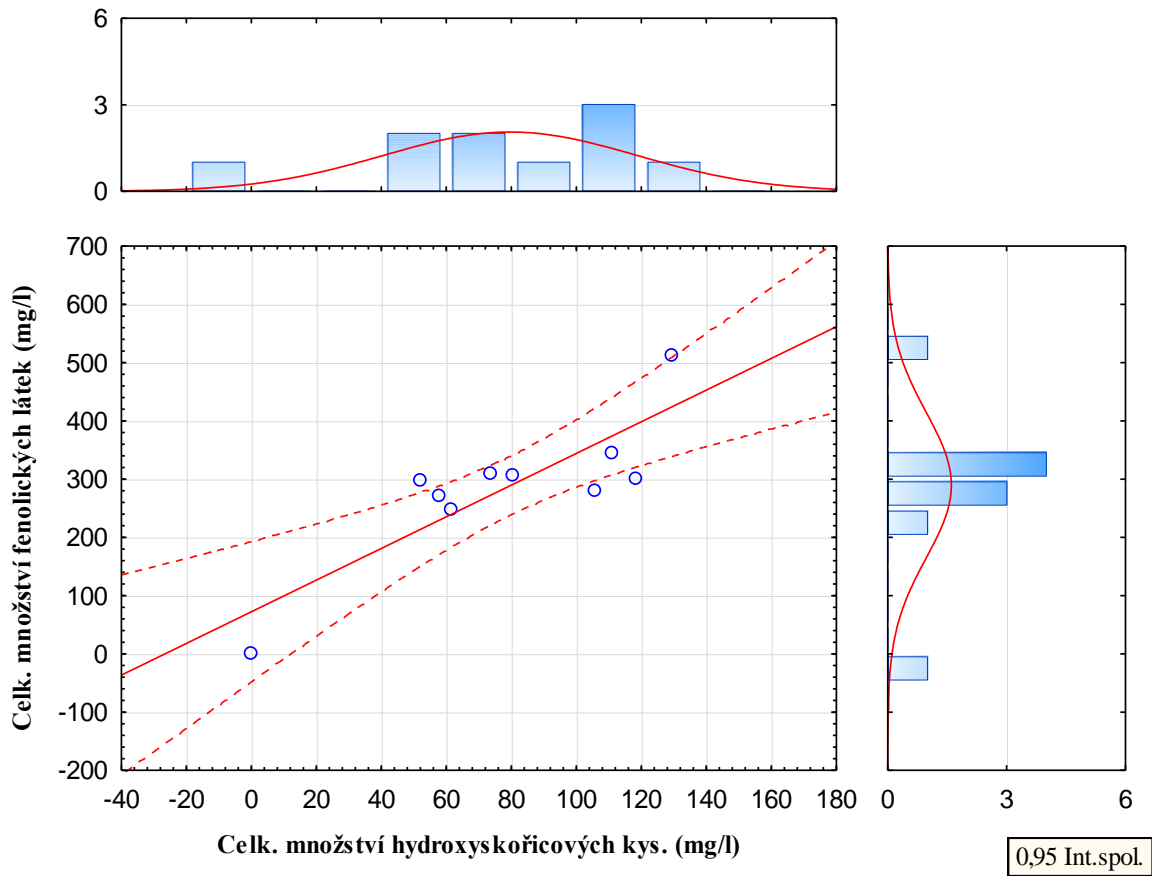
Červeně vyznačená čísla ukazují významnou korelaci. Z našeho pohledu je především významná záporná korelace mezi obsahem asimilovatelného dusíku a množstvím hydroxyskořicových kyselin, kdy se s jednou rostoucí veličinou snižuje druhá veličina. Druhou významnou korelací je pozitivní závislost mezi celkovým množstvím fenolických látek a celkovým množstvím hydroxyskořicových kyselin, tady jedna rostoucí veličina koreluje s druhou rostoucí veličinou.

Proměnná	Korelace (Data Stat. v Korelace) Označ. korelace jsou významné na hlad. $p < ,05000$ N=10 (Celé případy vynechány u ChD)									
	Průměry	Sm.odch.	Cukernatost (°NM)	Tit. kyseliny (g/l)	pH	Asimil. dusík (mg/l)	Celk. množství hydroxyskořicových kys. (mg/l)	Celk. množství flavanolů (mg/l)	Celk. množství fenolických látek (mg/l)	Antirad. aktivita (mM)
Cukernatost (°NM)	19,08	2,34	1,00	-0,60	0,71	0,38	-0,03	0,74	0,09	0,21
Tit. kyseliny (g/l)	7,55	1,92	-0,60	1,00	-0,79	-0,33	0,18	-0,40	0,16	0,25
pH	3,08	0,17	0,71	-0,79	1,00	0,67	-0,40	0,30	-0,32	-0,34
Asimil. dusík (mg/l)	188,08	96,18	0,38	-0,33	0,67	1,00	-0,66	-0,23	-0,43	-0,31
Celk. množství hydroxyskořicových kys. (mg/l)	79,08	38,79	-0,03	0,18	-0,40	-0,66	1,00	0,49	0,85	0,26
Celk. množství flavanolů (mg/l)	17,30	8,73	0,74	-0,40	0,30	-0,23	0,49	1,00	0,49	0,43
Celk. množství fenolických látek (mg/l)	287,29	124,19	0,09	0,16	-0,32	-0,43	0,85	0,49	1,00	0,21
Antirad. aktivita (mM)	1,80	0,24	0,21	0,25	-0,34	-0,31	0,26	0,43	0,21	1,00

Tab. 4: Vzájemná korelace mezi proměnnými

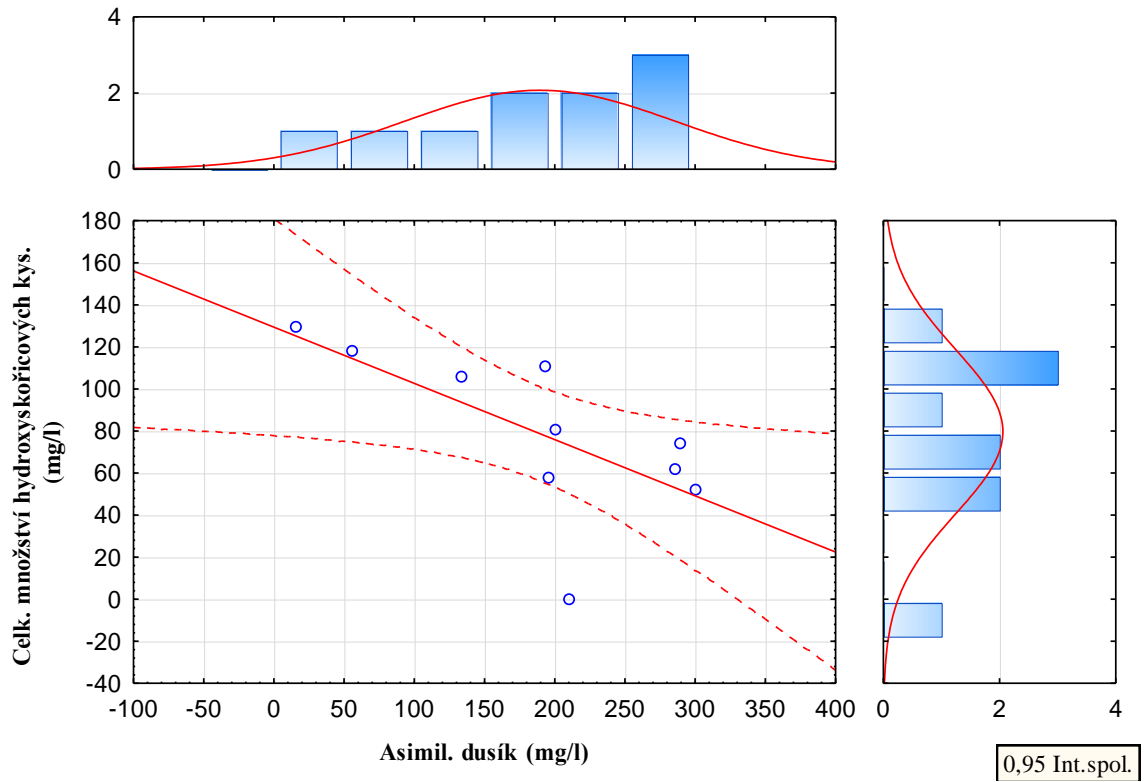
Celk. množství fenolických látek (mg/l) = 72,360 + 2,7179 * Celk. množství hydroxyskořicových kys. (mg/l)

Korelace : r = ,84904



Graf 24: Bodový graf vyjadřující celkové množství hydroxyskořicových kyselin vs. celkové množství fenolických látek

Celk. množství hydroxyskořicových kys. (mg/l) = 129,37 - ,2674 * Asimil. dusík (mg/l)
 Korelace : r = -,6629



Graf 25: Bodový graf vyjadřující celkové množství hydroxyskořicových kyselin vs. obsah asimilovatelného dusíku

4.5 Diskuze

Sledování vývoje hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání a stanovení jejich obsahu u deseti vybraných odrůd révy vinné potvrdilo závěry doc. Ing. Miloše Michlovského, DrSC. (MICHLOVSKÝ, 2014) o koncentraci hydroxyskořicových kyselin, která se u bílých odrůd pohybuje v rozmezí od 30 do 120 mg.l⁻¹ a ve výrazně vyšší koncentraci u modrých odrůd a to od 100 až do 300 mg.l⁻¹.

Byly stanovovány tři hydroxyskořicové kyseliny- kaftarová, koutarová a fětarová. Jedná se o estery kyseliny vinné s kyselinou kávovou, p-kumarovou a fěrulovou, které se však ve své volné formě v hroznovém moštu vyskytují pouze ve stopovém množství, jejich koncentrace mírně narůstá až v průběhu zrání vína vlivem hydrolyzy esterů (ANDRES-LACUEVA *et al.*, 1996).

V této práci byl nejvyšší obsah celkových hydroxyskořicových kyselin (vyjádřeno v mg.l⁻¹ jako součet obsahu kyseliny kaftarové, kyseliny koutarové a kyseliny fětarové) zjištěn při finálním sběru dne 11. 10. 2016 u odrůdy ‚Cabernet Franc‘ (205,5 mg.l⁻¹). Následovala odrůda ‚Laurot‘ (129,3 mg.l⁻¹ dne 25. 10. 2016), ‚Rulandské modré‘ (118,3 mg.l⁻¹, 27. 9. 2016) a překvapivě ‚Ryzlink rýnský‘, který s obsahem 111,2 mg.l⁻¹ ke dni 11. 10. 2016 zdaleka převyšoval ostatní bílé odrůdy. Nejnižší koncentrace byly zjištěny u odrůd ‚Sauvignon blanc‘ (52,3 mg.l⁻¹), ‚Tramín červený‘ (57,9 mg.l⁻¹) a ‚Veltlínské zelené‘ (61,8 mg.l⁻¹). U odrůdy ‚Veltlínské zelené‘ se nízký obsah hydroxyskořicových kyselin neshoduje s poznatky doc. Ing. Miloše Michlovského, DrSC. (MICHLOVSKÝ, 2014), podle kterého jde o odrůdu se zvýšenou citlivostí na jejich vyšší obsah. Z toho lze vyvodit závěr, že tyto hrozny při dozrávání nebyly nadměrně vystaveny slunci a nedozrávaly za nižších teplot a vyšších srážkových úhrnech. Mezi odrůdy se zvýšenou citlivostí na vyšší obsah hydroxyskořicových kyselin patří i ‚Chardonnay‘, které při sběru mělo jejich celkový obsah 73,8 mg.l⁻¹. Ani tady se nedá hovořit o nadměrně vysoké koncentraci.

Podle výsledků Somers a kolektivu (SOMERS *et al.*, 1987) mezi veškerými hydroxyskořicovými kyselinami obsaženými v hroznovém moštu ve značné míře převládá kyselina kaftarová (kolem 50% jejich celkového obsahu). Tuto hypotézu náš výzkum potvrzuje, její procentuální zastoupení ve všech vzorcích se pohybuje mezi 83 až 94,6 %, tedy je ještě vyšší než v případě výzkumu Somers a kolektivu (SOMERS

et al., 1987). Nejvyšší poměr této kyseliny byl zjištěn u odrůdy ‚Rulandské modré‘ (94,6 %) při finálním sběru dne 27. 9. 2016. Nejmenší podíl kyseliny kaftarové měla odrůda ‚Hibernal‘ (83,2 %) při sběru 19. 10. 2016 z důvodu vyššího zastoupení kyseliny koutarové (11 %). Polo *et al.* (POLO *et al.*, 2009) tvrdí, že kyselina kaftarová tvoří v moštu bílých vín až polovinu veškerých fenolických látek, což se v případě žádného ze sledovaných vzorků nepotvrdilo, zastoupení zde bylo ve všech vzorcích nižší. Stalo se tak patrně v důsledku zahrnutí i ostatních redukujících látek obsažených v moštu do výsledné koncentrace fenolických látek, která byla z tohoto důvodu vyšší než skutečný obsah fenolů.

Pro kyselinu koutarovou a fertarovou byly definovány koncentrace přibližně kolem 55 mg.l⁻¹ (OKAMURA, WATANABE, 1981) a 16 mg.l⁻¹ v tomto pořadí (ANDRES-LACUEVA *et al.*, 1996; BALDI *et al.*, 1993). Výsledné hodnoty zjištěné v této práci jsou výrazně nižší. Koncentrace pro kyselinu koutarovou se pohybovala v rozmezí 2,1 – 16 mg.l⁻¹ (2,1 mg.l⁻¹ u odrůdy ‚Tramín červený‘; 16 mg.l⁻¹ u odrůdy ‚Cabernet Franc‘) a pro kyselinu fertarovou to bylo od 0,9 do 10 mg.l⁻¹ (0,9 mg.l⁻¹ u odrůdy ‚Sauvignon blanc‘; 10 mg.l⁻¹ u odrůdy ‚Ryzlink rýnský‘). Tyto hodnoty byly zjištěny v moštu hroznů při finálním sběru v období technologické zralosti.

Okamura a Watanabe (OKAMURA, WATANABE, 1981) sledovali koncentrace kyseliny kaftarové a koutarové u několika bílých odrůd révy vinné. Jejich výsledky ukazují 29 mg.l⁻¹ kyseliny kaftarové a 10 mg.l⁻¹ kyseliny koutarové pro odrůdu ‚Chardonnay‘ sklizenou v Kalifornii. Pro ‚Ryzlink rýnský‘ z Německa to byly hodnoty 51 mg.l⁻¹ kyseliny kaftarové a 13 mg.l⁻¹ kyseliny koutarové. Koncentrace zjištěné pro ‚Chardonnay‘ v naší práci byly 66,6 mg.l⁻¹ kyseliny kaftarové a 5,3 mg.l⁻¹ kyseliny koutarové. ‚Ryzlink rýnský‘ měl obsah kyseliny kaftarové v moštu 96,9 mg.l⁻¹, hodnota kyseliny koutarové byla 4,3 mg.l⁻¹. Je patrné, že u obou odrůd byla v naší práci zjištěna vyšší koncentrace kyseliny kaftarové. Shodně však byla zjištěna vyšší koncentrace kyseliny kaftarové u obou ryzlinků, dá se tedy vyvodit závěr, že je pro tuto odrůdu její vyšší obsah typický. Vysoké koncentrace kyseliny kaftarové v hroznech pěstovaných v našich podmínkách lze podle Michlovského (MICHLOVSKÝ, 2014) přičíst nižším teplotám a vyšším srážkovým úhrnům během dozrávání hroznů ve srovnání s klimatickými podmínkami v Kalifornii. U námi sledovaných odrůd ‚Ryzlink rýnský‘

a ‚Chardonnay‘ byl zjištěn ve srovnání s poznatky Okamura a Watanabe (OKAMURA, WATANABE, 1981) nižší obsah kyseliny koutarové u obou odrůd.

Podle mnoha zveřejněných výsledků (ANDRES-LACUEVA *et al.*, 1996; BALDI *et al.*, 1993) koncentrace depsidů ve víně a moštu závisí na mnoha faktorech, jako jsou pěstitelské a klimatické podmínky a zejména daný typ odrůdy. Není proto překvapivé, že byly zjištěny různé koncentrace u různých odrůd révy a vína. Tato diplomová práce potvrdila, že obsah hydroxyskořicových kyselin (depsidů) je významným odrůdovým znakem.

5 Závěr

Fenolické látky jsou nedílnou složkou každého vína a primárně bobulí révy vinné. Jejich koncentrace z velké části spoluvytváří odrůdový charakter vín. Největší rozdíly v jejich obsahu lze nalézt u modrých a bílých odrůd révy vinné. Zatímco modré odrůdy a červená vína jsou bohatá zejména na flavonoidní fenolické látky jako jsou katechiny, anthokyaniny a flavonoly, v bobulích bílých odrůd a bílých vínech jsou za hlavní fenolické látky považovány kyslíkaté kyseliny patřící mezi neflavonoidy. Tyto bezbarvé sloučeniny velmi snadno podléhají oxidaci, čímž způsobují hnědé zabarvení moštu a vína u bílých odrůd. Dalším negativním projevem, ke kterému může v důsledku jejich vysoké přítomnosti dojít, je vznik těkavých fenolů, kdy jsou jejich prekurzorem.

Proto se tato práce zabývala sledováním vývoje hydroxyskořicových kyselin v průběhu dozrávání, charakteristikou a koncentracemi u deseti vybraných odrůd révy vinné. Rovněž zde byla sledována závislost jejich obsahu na několika analytických parametrech moštu – na cukernatosti, antiradikálové aktivitě a obsahu celkových fenolických látek. Dále zde byla sledována vzájemná korelace mezi veškerými zjištěnými parametry moštu.

V případě čtyř odrůd sledovaných v průběhu dozrávání bylo patrné kolísavé snižování obsahu hydroxyskořicových kyselin, zejména tedy kyseliny kaftarové, která ve všech vzorcích byla obsažena v nejvyšší míře a to z 80 – 95 %. Z tohoto faktu lze vyvodit závěr, že se obsah hydroxyskořicových kyselin v bobulích révy se zráním snižuje. Výsledky však nebyly zcela průkazné. Dále se ukázalo, že koncentrace hydroxyskořicových kyselin v moštu není závislá na hodnotě cukernatosti ani antiradikálové aktivitě. Zejména nejednoznačné korelování s hodnotou antiradikálové aktivity bylo překvapivé. Nepatrná závislost byla zjištěna u obsahu celkových fenolů, kdy se jejich obsah v průběhu dozrávání zvyšoval a obsah hydroxyskořicových kyselin snižoval. Statistické vyhodnocení prokázalo významné korelace mezi obsahem asimilovatelného dusíku a obsahem hydroxyskořicových kyselin, byla tu zjištěna negativní korelace. Pozitivní korelace byla zaznamenána mezi obsahem celkových fenolických látek a obsahem celkových hydroxyskořicových kyselin, kdy se s obsahem jedné proměnné zvyšuje i ta druhá. Nejvyšších koncentrací

hydroxyskořicových kyselin při finálním sběru dosahovaly modré odrůdy, překvapivě velmi vysoký obsah byl zjištěn i u odrůdy ‚Ryzlink rýnský‘.

Tyto závěry naznačují, že celkový obsah hydroxyskořicových kyselin v moštu je zejména odrůdově závislý.

6 Souhrn

Diplomová práce sleduje vývoj obsahu hydroxykořicových kyselin v bobulích révy vinné.

K experimentu, který probíhal v měsících září a říjen roku 2016, bylo vybráno 10 odrůd révy vinné, jež pocházely z Mikulovské vinařské podoblasti z obce Lednice. U čtyř z těchto vybraných odrůd byl sledován vývoj hydroxykořicových kyselin v průběhu dozrávání a závislost jejich obsahu na základních analytických parametrech moštu. U zbylých šesti odrůd byl porovnáván jejich obsah, jakožto odrůdový znak, ve dvou provedených odběrech.

Literární část se zabývá problematikou fenolických látek, se zaměřením na hydroxykořicové kyseliny - jejich strukturu a formy. Dále obsahuje krátkou charakteristiku deseti odrůd révy vybraných pro experiment.

Klíčová slova: hydroxykořicové kyseliny, réva vinná, kyselina kaftarová, fenolické látky, antiradikálová aktivita

7 Summary

In the thesis the author observes a progression of hydroxycinnamic acids' volume in grapes of a grapevine.

Ten brands of grapevine originating from Mikulov vine subregion village Lednice were selected for the experiment that proceeded in September and October 2016.

The development of hydroxycinnamic acids during a process of maturing was observed with four out of these brands as well as relation of their volume to basic analytic variables of a must. The remaining six vine brands were compared for hydroxycinnamic acids' volume as a brand's attribute in two takings.

Literary part of the thesis approaches matters of fenolic substances with focus on hydroxycinnamic acids – their structure and forms. This part also contains a brief characteristics of the ten types of grapevine selected for the experiment.

Keywords: hydroxycinnamic acids, vine, caftaric acid, fenolic substances, antiradical activity

8 Seznam použité literatury

ANDRES-LACUEVA, C., LAMUELA-RAVENT'OS, R.M., BUXADERA, S., TORRE-BONAT, M. C., 1996. Polyphenol content in sparkling wines (Cava) at different aging period. In J. Vercauteren, C. Ch`eze, M.C. Dumon, J.F. Weber (Eds.), *Polyphenols communications 96/XVIIIth International Conference on Polyphenols* (Vol. 2, pp. 305–306). Bordeaux: Secr'etariat du Groupe Polyph'enols.

ARNOUS, A.; MARKIS, D.P.; KEFALAS P. *Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines*. J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 5736-5742.

BALDI, A., ROMANI, A., MULINACCI, N., & VINCIERI, F. F., 1993. Compos'es phenoliques dans les c'epages de Toscane de *Vitis vinifera* L. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 27, 201–215.

BALÍK, J. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 3. vyd. /. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2006. ISBN 80-7157-933-5.

BOYDENS, C.; PAUWELS, B.; DECALUWE, K. et al. 2015. Relaxant and antioxidant capacity of the red wine polyphenols, resveratrol and quercetin, on isolated mice corpora cavernosa. *The journal of sexual medicine*, 2015, vol. 12, no. 2, p. 303-312. ISSN 1743-6109.

CABRITA, Maria João, Vera PALMA, Raquel PATÃO a Ana Maria Costa FREITAS. Conversion of hydroxycinnamic acids into volatile phenols in a synthetic medium and in red wine by *Dekkera bruxellensis*. *Food Science and Technology (Campinas)*. 2012, 32(1), 106-112. DOI: 10.1590/S0101-20612012005000024. ISSN 1678-457x.

CALLEC, CH. *Velká encyklopedie vína*. 2. rozš. vyd. Čestlice: Rebo Productions, 2003. ISBN 80-723-4311-4.

CILLIERS, Johannes J. L. a Vernon L. SINGLETON. Caffeic acid autoxidation and the effects of thiols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1990, 38(9), 1789-1796. DOI: 10.1021/jf00099a002. ISSN 0021-8561.

DA LUZ, P. L.; COIMBRA, S.; FAVARATO, D. et al. 2014. Coronary artery plaque burden and calcium scores in healthy men adhering to long-term wine drinking or alcohol abstinence. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2014, vol. 47, no. 8, p. 697-705. ISSN 0100-879X.

DAVIDOV-PARDO, G.; MCCLEMENTS, D. J. 2014. Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues. *Trends in Food Science & Technology*, 2014, vol. 38, no. 2, p. 88-103. ISSN 0924-2244.

DILLENBURG, D. R.; MOSTARDA, C.; MORAES-SILVA, I. C. et al. 2013. Resveratrol and grape juice differentially ameliorate cardiovascular autonomic modulation in L-NAME-treated rats. *Autonomic Neuroscience-Basic & Clinical*, 2013, vol. 179, no. 1-2, p. 9-13. ISSN 1566-0702.

DROSTE, D. W.; ILIESCU, C.; VAILLANT, M. et al. 2013. A daily glass of red wine associated with lifestyle changes independently improves blood lipids in patients with carotid arteriosclerosis: results from a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*, 2013, vol. 12. ISSN 1475-2891.

ELLIS, David I. a Royston GOODACRE. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: biomedical applications of infrared and Raman spectroscopy. *The Analyst*. 2006, **131**(8), 875-. DOI: 10.1039/b602376m. ISSN 0003-2654.

FERGUSON, Lynnette R., Shuo-tun ZHU a Philip J. HARRIS. Antioxidant and antigenotoxic effects of plant cell wall hydroxycinnamic acids in cultured HT-29 cells. *Molecular Nutrition*. 2005, **49**(6). DOI: 10.1002/mnfr.200500014. ISSN 1613-4125.

GOLDMANN I., Analýza látkových složek vína metodami HPLC, Diplomová práce, Mendelova univerzita v Brně, 1999.

CHARROUF, Z.; GUILLAUME, D. Phenols and Polyphenols from *Argania spinosa*. *American Journal of Food Technology*. 2007-7-1, **2**(7), 679-683. DOI: 10.3923/ajft.2007.679.683. ISSN 15574571.

JACKSON, Ron S. *Wine science: principles and applications*. 3rd ed. Burlington: Elsevier Acad. Press, 2008. ISBN 978-0-12-373646-8.

JANČÁŘOVÁ, Irena a Luděk JANČÁŘ. *Anorganická a analytická chemie: laboratorní cvičení*. V Brně: Mendelova univerzita, 2012. ISBN 978-807-3756-406.

KARADENIZ, M.; AKCAY, Y. D.; YILDIRIM, H. K. et al. 2014. Effect of Red Wine Consumption on Serum Oxidation and Adiponectin Levels in Overweight and Healthy Individuals. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2014, vol. 64, no. 3, p. 201-207. ISSN 1230-0322.

KRAUS, Vilém, Zuzana FOFFOVÁ a Bohumil WURM. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica, 2008. ISBN 80-867-6700-0.

KWON, J. Y., S. G. SEO, Y.-S. HEO, S. YUE, J.-X. CHENG, K. W. LEE a K.-H. KIM. Piceatannol, Natural Polyphenolic Stilbene, Inhibits Adipogenesis via Modulation of Mitotic Clonal Expansion and Insulin Receptor-dependent Insulin Signaling in Early Phase of Differentiation. *Journal of Biological Chemistry*. 2012, **287**(14), 11566-11578. DOI: 10.1074/jbc.M111.259721. ISSN 0021-9258.

LAI, T. N. H.; ANDRE, C.; ROGEZ, H. et al. 2015. Nutritional composition and antioxidant properties of the sim fruit (*Rhodomyrtus tomentosa*). *Food Chemistry*, 2015, vol. 168, p. 410-416. ISSN 0308-8146.

LESAGE-MEESSEN, Laurence, Michel DELATTRE, Mireille HAON, Jean-François THIBAUT, Benoit Colonna CECCALDI, Pascal BRUNERIE a Marcel ASTHER. A two-step bioconversion process for vanillin production from ferulic acid combining *Aspergillus niger* and *Pycnoporus cinnabarinus*. *Journal of Biotechnology*. 1996, **50**(2-3), 107-113. DOI: 10.1016/0168-1656(96)01552-0. ISSN 01681656.

LI, C.; XU, X. F.; TAB, Z. H. et al. 2015. Resveratrol dimers, nutritional components in grape wine, are selective ROS scavengers and weak Nrf2 activators. *Food Chemistry*, 2015, vol. 173, p. 218-223. ISSN 0308-8146.

LI, Y.-G.; TANNER, G.; LARKIN, P. The DMACA-HCl protocol and the threshold proanthocyanidin content for bloat safety in forage legumes. *J. Sci. Food Agric*. 1996, 70, 89-101.

MICHLOVSKÝ, Miloš. *Bobule*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-3-2.

MICHLOVSKÝ, Miloš. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. Vyd. 1. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-2-5.

MILLER-JONES, Edward R., ed. *Oenology and viticulture: taking wine making to honors and excellence*. Fastbook Publishing: Beau Bassin, 2010. ISBN 978-613-0-10978-3.

MORENO, Juan a Rafael PEINADO. *Enological chemistry*. Waltham: Academic Press, 2012. ISBN 978-0-12-388438-1.

OKAMURA, S., & WATANABE, M. Determination of phenolic cinnamates in white wine and their effect on wine quality. *Agric. Biol. Chem.* 1981, 45, 2063–2070

PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů* Praha: 2010. 120 p. ISBN 9788024734873.

PAVLOUŠEK, Pavel. *Pěstování révy vinné Moderní vinohradnictví* Praha: 2011. 336 p. ISBN 9788024733142.

PAVLOUŠEK, Pavel. *Encyklopedie révy vinné*. Brno: Computer Press, 2007. ISBN 978-80-251-1704-0.

PAVLOUŠEK, Pavel. *Bio odrůdy révy vinné*. Praha: Grada Publishing, 2016. ISBN 978-80-247-4330-1.

POLO, M. Carmen a María Victoria MORENO-ARRIBAS (eds.). *Wine chemistry and biochemistry*. New York: Springer, c2009. ISBN 978-0-387-74118-5.

QUINDE-AXTELL, Zory a Byung-Kee BAIK. Phenolic Compounds of Barley Grain and Their Implication in Food Product Discoloration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, 54(26), 9978-9984. DOI: 10.1021/jf060974w. ISSN 0021-8561.

REBECCA, J. R. *Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51, s. 2866-2887.

RIBÉREAU-GAYON, P., Y. GLORIES, A. MAUJEAN a D. DUBOURDIEU. *Handbook of enology Volume 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments*. 2nd ed. England: John Wiley & Sons, Ltd, 2006. *Traité d'oenologie*, v. 2. ISBN 978-0-470-01037-2.

RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU D., DONÈCHE B. *Handbook of enology: Volume 1, The mikrobiology of wine and vinifications*. 2nd Edition: John Wiley a nd sons, 2006, ISBN 0-470 01034-7.

CLARKE, R. J.; BAKKER, J. *Wine Flavour Chemistry*. Oxford: John Wiley, 2007. ISBN 978-140-5150-040.

SEDLO, J. *Přehled odrůd révy 2014*. Velké Bílovice: Svaz vinařů ČR ve spolupráci s ÚKZÚZ. ISBN 978-809-0353-473.

SINGLETON, Vernon L., John ZAYA a Eugene K. TROUSDALE. Caftaric and coutaric acids in fruit of *Vitis*. *Phytochemistry*. 1986, **25**(9), 2127-2133. DOI: 10.1016/0031-9422(86)80078-4. ISSN 00319422.

SOMERS, T.C.; EVANS, M.E. Spectral evaluation of young red wines: anthocyanin equilibria, total phenolics, free and molecular SO₂, “chemical age”. *J. Sci. Food Agric*. 1977, 28, 279-287.

SOMERS, T., V'ERETTE, E., & POCOCK, K. Hydroxycinnamate esters of *Vitis vinifera*: Changes during white vinification, and effects of exogenous enzymic hydrolysis. *J. Sci. Food Agric*. 1987, 40, 67–78.

STEIDL, Robert. *Sklepní hospodářství*. Valtice: Národní salon vín, 2002. ISBN 80-903201-0-4.

SUÁREZ, R., J.A. SUÁREZ-LEPE, A. MORATA a F. CALDERÓN. The production of ethylphenols in wine by yeasts of the genera *Brettanomyces* and *Dekkera*: A review. *Food Chemistry*. 2007, **102**(1), 10-21. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.03.030. ISSN 03088146.

TSAO, Makepeace U. A New Synthesis of Mescaline. *Journal of the American Chemical Society*. 1951, **73**(11), 5495-5496. DOI: 10.1021/ja01155a562. ISSN 0002-7863.

VALLVERDÚ-QUERALT, Anna, Arnaud VERBAERE, Emmanuelle MEUDEC, Veronique CHEYNIER a Nicolas SOMMERER. Straightforward Method To Quantify GSH, GSSG, GRP, and Hydroxycinnamic Acids in Wines by UPLC-MRM-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015, **63**(1), 142-149. DOI: 10.1021/jf504383g. ISSN 0021-8561.

VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866 5900-3.

WATERMAN, Peter G. a Simon. MOLE. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Boston: Blackwell Scientific, 1994. ISBN 06-320-2969-2.

WINKLER, A. J. *General viticulture*. Rev. and enl. ed. Berkeley: University of California Press, 1974. ISBN 978-0-520-02591-2.

ZHAO, Y.; SHI, M.; YE, J. H. et al. 2015. Photo-induced chemical reaction of trans-resveratrol. *Food Chemistry*, 2015, vol. 171, p. 137-143. ISSN 0308-8146.

ZOECKLEIN, B.W.; FUGELSANG, K.C.; Gump, B.H.; Nury, F.S. *Production Wine Analysis*; Van Nostrand Reinhold Publ.: New York, 1990; s. 129-168.