



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

CHEMICKÁ CHARAKTERIZACE VÍN Z VYBRANÝCH PIWI ODRŮD

CHEMICAL COMPOSITION OF WINE PRODUCED FROM PIWI CULTIVARS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Kateřina Michálková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1442/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Kateřina Michálková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Chemická charakterizace vín z vybraných PIWI odrůd

Zadání diplomové práce:

Chemická charakterizace vín vyrobených z moderních, rezistentních PIWI odrůd

1. Zajištění dostatečného množství vzorků vín z PIWI odrůd
2. Stanovení organických kyselin pomocí iontové chromatografie
3. Stanovení prvkového složení pomocí ICP–OES
4. Stanovení celkových i vybraných fenolických látek (HPLC)
5. Vyhodnocení výsledků a definice závěrů práce

Termín odevzdání diplomové práce: 29.5.2020:

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

Bc. Kateřina Michálková
student(ka)

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá chemickou charakterizací vín z vybraných PIWI odrůd. V teoretické části je popsán obecný původ a důvod šlechtění PIWI odrůd, bližší charakterizace vybraných tří PIWI odrůd, Johaniteru, Hibernalu a Solarisu. Další část je věnována popisu analytických metod, které byly použity pro stanovení chemických charakteristik.

Experimentální část je věnována stanovení chemických charakteristik vína z PIWI odrůd, a to obecným charakteristikám, jako jsou alkohol, zbytkový cukr a celkové kyseliny, dále pak organickým kyselinám, antioxidační aktivitě, celkovým fenolickým látkám, vybraným fenolickým látkám, těkavým látkám a prvkovému složení.

Z výsledků vyplývá, že mezi víny z vybraných PIWI odrůd jsou z hlediska chemického složení rozdíly. Největší rozdíly byly pozorovány v obsahu organických kyselin a fenolických látek. Nejvíce zastoupenou organickou kyselinou byla v rozmezí 735,1 – 1286,2 mg/l kyselina jablečná. Následovala kyselina octová v rozmezí 100 – 400 mg/l. Antioxidační aktivita byla stanovena v rozmezí 0,2988 – 0,9683 mmol/l Troloxu a obsah celkových fenolů 273,5 – 390,3 mg/l. Z fenolických látek byla nejvíce zastoupená kyselina galová, která se pohybovala v rozmezí 6,9 – 13,9 mg/l. Jako další, hojně zastoupená fenolická látka byl detekován katechin v rozmezí 1,6 – 6,0 mg/l. Ze stanovovaných prvků byl nejvíce zastoupen fosfor v rozmezí 165,4 – 450,5 mg/l. Jako nejzastoupenější těkavé látky byly detekovány zástupci esterů, a to ethylester kyseliny oktanové, ethylester kyseliny dekanové a ethylester kyseliny hexanové. Z naměřených dat bylo evidentní, že vína z PIWI odrůd se od standardních odrůd liší, zejména u profilu aromatických látek.

KLÍČOVÁ SLOVA: PIWI, HPLC, IC, ICP-OES, fenolické látky, organické kyseliny, antioxidační aktivita, těkavé látky, elementární analýza

ABSTRACT

This diploma thesis deals with the chemical characterization of wines from selected PIWI varieties.

The theoretical part describes the general origin and reason for breeding PIWI varieties, a closer characterization of selected three PIWI varieties, Johaniter, Hiberna and Solaris. The next part is devoted to the description of analytical methods that were used to determine the chemical characteristics.

The experimental part is devoted to the determination of chemical characteristics, namely general characteristics such as alcohol, residual sugar and total acids, as well as organic acids, antioxidant activity, total phenols, phenolic substances, volatile substances and elemental composition.

The results show that there are differences between wines from selected PIWI varieties in terms of chemical composition. The most represented organic acid was in the range of 735.1 - 1286.2 mg/l malic acid. This was followed by acetic acid in the range of 100 - 400 mg/l. The antioxidant activity was determined in the range of 0.2988 - 0.9683 mmol/l of Trolox and the content of total phenols 273.5 - 390.3 mg/l. Of the phenolic substances, gallic acid was the most represented, ranging from 6.9 to 13.9 mg/l. As another, abundant phenolic substance, catechin in the range of 1.6 - 6.0 mg/l was detected. Of the determined elements, phosphorus in the range of 165.4 - 450.5 mg/l was the most represented. Representatives of ethyl ester, ethyl acetate, decanoic acid ethyl acetate and hexanoic acid ethyl ester, were detected as the most abundant volatiles. From the measured data it was evident that wines from PIWI varieties differ from standard varieties, especially in the profile of aromatic substances.

KEY WORDS: PIWI, HPLC, IC, ICP-OES, phenolic compounds, organic acids, antioxidant activity, volatile compounds, elemental analyses

MICHÁLKOVÁ, Kateřina. *Chemická charakterizace vín z vybraných PIWI odrůd*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124032>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Jaromír Pořízka

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům pouze se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
Podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému vedoucímu diplomové práce Ing. Jaromíru Pořízkovi, PhD., za cenné rady, připomínky a za čas, který mi věnoval.

Dále bych chtěla poděkovat Vinařství Baláž, Vinařství Tichý, Vinařství Volařík, Vinařství Kadrnka, Vinařství Červinka a Vinařství Bařina za bezplatné poskytnutí vzorků pro realizaci této diplomové práce.

OBSAH

| | | |
|-------|---------------------------------------|----|
| 1 | Úvod..... | 9 |
| 2 | Teoretická část..... | 10 |
| 2.1 | Vinohradnictví v České republice..... | 10 |
| 2.2 | PIWI odrůdy..... | 11 |
| 2.2.1 | Hibernal | 12 |
| 2.2.2 | Solaris | 13 |
| 2.2.3 | Johaniter..... | 14 |
| 2.3 | Choroby révy..... | 15 |
| 2.3.1 | Padlí révové | 15 |
| 2.3.2 | Plíseň révy | 16 |
| 2.3.3 | Šedá hniloba..... | 17 |
| 2.4 | Sacharidy | 20 |
| 2.5 | Organické kyseliny..... | 20 |
| 2.5.1 | Kyselina vinná..... | 21 |
| 2.5.2 | Kyselina jablečná | 21 |
| 2.5.3 | Kyselina citronová..... | 22 |
| 2.5.4 | Kyselina mléčná | 23 |
| 2.5.5 | Kyselina octová..... | 23 |
| 2.6 | Fenolické látky | 23 |
| 2.6.1 | Fenolické kyseliny..... | 24 |
| 2.7 | Těkavé látky | 25 |
| 2.7.1 | Estery | 25 |
| 2.7.2 | Laktony | 25 |
| 2.7.3 | Terpeny..... | 26 |
| 2.7.4 | C ₁₃ -norisoprenoidy | 26 |
| 2.7.5 | Methoxypyraziny | 26 |
| 2.8 | Prvkové složení vína..... | 26 |
| 2.8.1 | Vápník | 26 |
| 2.8.2 | Draslík | 27 |
| 2.8.3 | Dusík..... | 27 |
| 2.8.4 | Hořčík..... | 27 |
| 2.8.5 | Sodík..... | 27 |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.8.6 | Železo | 27 |
| 2.8.7 | Měď | 28 |
| 2.8.8 | Kadmium | 28 |
| 2.8.9 | Olovo | 28 |
| 2.9 | Metody využívané pro stanovení chemického složení vína | 29 |
| 2.9.1 | Separační techniky | 29 |
| 2.9.2 | Metody prvkové analýzy | 34 |
| 2.10 | Statistická analýza dat | 38 |
| 3 | Experimentální část | 39 |
| 3.1 | Vzorky | 39 |
| 3.2 | Laboratorní vybavení | 39 |
| 3.2.1 | Chemikálie | 39 |
| 3.2.2 | Pomůcky | 40 |
| 3.2.3 | Přístroje | 40 |
| 3.3 | Příprava vzorků | 40 |
| 3.4 | Popis stanovení jednotlivých charakteristik | 40 |
| 3.4.1 | Obecná analýza vín z vybraných PIWI odrůd | 40 |
| 3.4.2 | Stanovení organických kyseliny ve vybraných PIWI odrůdách | 40 |
| 3.4.3 | Stanovení antioxidační aktivity a celkových fenolických látek | 41 |
| 3.4.4 | Stanovení fenolických látek ve vybraných PIWI odrůdách pomocí HPLC | 41 |
| 3.4.5 | Stanovení těkavých látek ve vínech z vybraných PIWI odrůd pomocí GC/MS | 42 |
| 3.4.6 | Prvková analýza vín z vybraných PIWI odrůd pomocí ICP-OES | 42 |
| 3.5 | Statistická analýza dat | 42 |
| 4 | Výsledky a diskuze | 44 |
| 4.1 | Obecné charakteristiky vybraných PIWI odrůd | 44 |
| 4.2 | Stanovení organických kyselin ve vybraných PIWI odrůdách | 45 |
| 4.3 | Stanovení antioxidační aktivity a celkových fenolických látek ve vybraných PIWI odrůdách | 50 |
| 4.4 | Stanovení vybraných fenolických látek ve vybraných PIWI odrůdách | 53 |
| 4.5 | Identifikace těkavých látek ve vybraných PIWI odrůdách | 59 |
| 4.5.1 | Estery | 60 |
| 4.5.2 | Alkoholy | 64 |
| 4.5.3 | Aldehydy | 66 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.5.4 | Terpeny..... | 67 |
| 4.5.5 | Ostatní..... | 68 |
| 4.6 | Prvková analýza vín z vybraných PIWI odrůd | 68 |
| 4.7 | Vícerozměrná analýza dat..... | 71 |
| 5 | ZÁVĚR | 73 |
| 6 | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 75 |
| 7 | SEZNAM ZKRATEK | 80 |
| 8 | SEZNAM OBRÁZKŮ..... | 81 |
| 9 | PŘÍLOHY | 82 |

1 ÚVOD

Víno se obecně vyrábí z více kultivarů révy vinné. Kultivary jsou charakteristické pro jednotlivé kontinenty. V 2. polovině 19. století se v Evropě pěstovala výhradně *Vitis vinifera*, což je evropský kultivar révy vinné. V této době však začaly vinohradnictví decimovat plíseň révová, padlí révy, což jsou houbové choroby napadající hrozny a mšička révokaz, která ničí kořenový systém. Proto se šlechtitelé začali zabývat vyšlechtěním odrůd, které by byly vůči těmto chorobám odolné, ale udržely si kvalitní produkci hroznů. Pro šlechtění byla vybrána divoká réva ze Severní Ameriky, jako nositel rezistence vůči houbovým chorobám a révokazu a asijská *Vitis amurensis*, jako nositel odolnosti vůči mrazům. Nově vyšlechtěné odolné odrůdy byly však zpočátku pěstiteli odmítány z důvodu údajného obsahu biostatik. Tato obava byla však vyvrácena a interspecifické odrůdy byly v 90. letech 20. století registrovány a zapsány do botanického druhu *Vitis vinifera*. Pro posílení skutečnosti, že se jedná o odolné odrůdy byly hybridy označeny jako „pilzwiderstandsfähige Rebsorten“ – PIWI, což ve volném překladu znamená odrůdy odolné vůči houbovým chorobám [1].

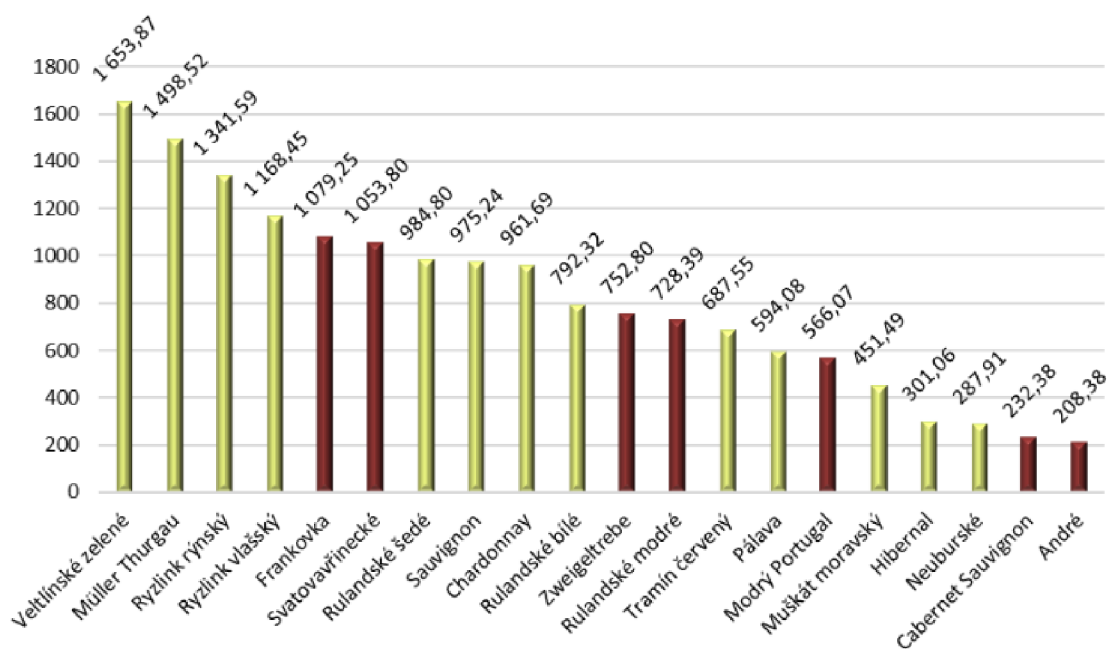
V současné době se produkce PIWI odrůd významně zvýšila a tvoří 3,23 % z celkové produkce. Nejvíce pěstovanou odrůdou v ČR v kategorii bílých vín je hibernal, dále pak solaris, johaniter a safira, v kategorii červených nativa [2].

Cílem této diplomové práce byla chemická charakterizace vín z vybraných PIWI odrůd, která zahrnovala analýzy organických i anorganických složek. Organické analýzy zahrnovaly stanovení organických kyselin pomocí IC, fenolických látek pomocí HPLC, antioxidační aktivity, celkových fenolických látek a těkavých látek. Anorganická analýza byla reprezentována stanovením prvkového složení. Získaná data byla zpracována pomocí statistických analýz a porovnána s dostupnou literaturou.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vinohradnictví v České republice

V ČR v současné době zaujímají vinice 18 067,93 ha. Na **Obrázek 1** lze vidět, že mezi nejvíce pěstované bílé odrůdy patří Veltlínské zelené, Müller Thurgau, Ryzlink rýnský, Ryzlink vlašský a mezi červené Frankovka, Svatovavřínecké, Zweigeltrebe, Rulandské modré. V posledních letech však tyto tradiční odrůdy začínají být vytlačovány odrůdami moderními. V roce 2018 byly hojně vysazovány odrůdy Pálava, Hibernal a Merlot. Tato skutečnost je způsobena výraznou změnou klimatických podmínek a s tím spojený dřívější nástup chorob. V posledních letech dochází k výrazným teplotním výkyvům. V roce 2018 byly první letní teploty, přesahující 30 °C, zaznamenány již v koncem dubna. Výkyvy teplot, kdy noci jsou ještě chladné a vlhké a dny horké, napomáhají dřívějšímu nástupu a rychlému rozvoji chorob révy [2].



Obrázek 1: Nejpěstovanější odrůdy v ČR [2]

Česká republika je rozdělena na dvě vinařské oblasti: Čechy a Morava. Každá oblast je rozdělena na několik podoblastí uvedených v

Tabulka 1. Všechny podoblasti jsou charakteristické svým terroir, tedy stanovištěm pro pěstování révy. Každé stanoviště má specifické geologické podmínky a předává révě a následně i vínu typické chemické složení, podle kterého lze přesně určit, z jaké podoblasti víno pochází [3].

Z vinice si hrozny nesou primární a sekundární metabolity. Za primární jsou považovány cukry a kyseliny, za sekundární aromatické a fenolické látky, tedy nositele vůně a chuti. Všechny látky, jako celek zajišťují typickou odrůdovost vína [3].

Tabulka 1: Vinařské oblasti a podoblasti v ČR [2]

| Oblast | Podoblast | Plocha vinic (ha) |
|--------|-----------------|-------------------|
| Čechy | Mělnická | 322 |
| | Litoměřická | 317 |
| Morava | Mikulovská | 4948 |
| | Znojemská | 3182 |
| | Velkopavlovická | 4872 |
| | Slovácká | 4413 |

2.2 PIWI odrůdy

Na kvalitu vín vyrobených z interspecifických odrůd bylo zpočátku pohlíženo jako na velmi nízkou. Z řad vinařů dokonce zaznívaly i názory, že je zdraví nebezpečné. Kříženci totiž po svých amerických předcích získali výraznou chuť připomínající jahody, což se do té doby ve vínech nevyskytovalo. Za jahodové aroma je zodpovědný furaneol, který se během dozrávání hromadí v bobulích. Další výhradu měli k výskytu barviva malvidin-3,5-diglukosidu, který ovlivňuje senzorické vlastnosti a způsobuje dominantnost divokých tónů [1].

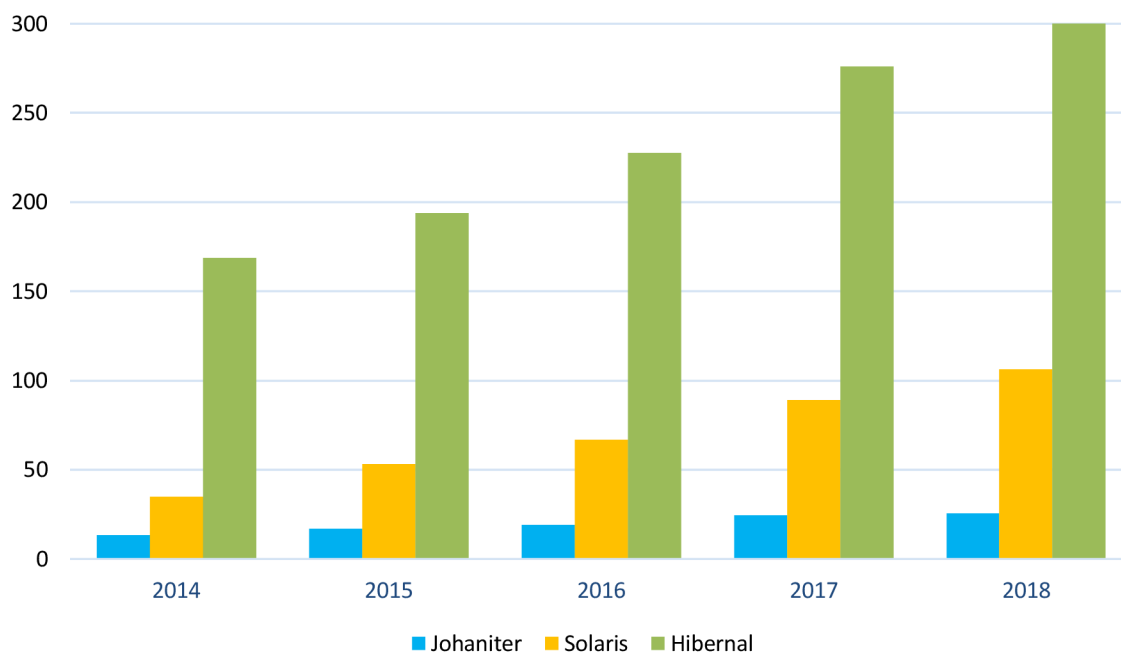
V České republice se však pro šlechtění, a jako nositelé resistance využívají Seibel 13 666 a Villard blanc, které produkují pouze monoglukosidy, takže kvalita vína i rezistence si zachovávají vysokou úroveň [1].

Bílá odrůda Villard blanc vznikla křížením odrůdy Subereux a Seibel. Má středně velký, tmavě zelený list a kuželovitý hrozen s dlouhou, větvenou třapinou, s řídce rozprostřenými bobulemi. Vyznačuje se bujným růstem a bohatou násadou. Hrozny jsou velmi odolné vůči plísni révy a padlí révovému. Výsledné víno si nese vyšší kyselinu a travnatou dochuť [1].

Modrá odrůda Seibel 13 666 vznikla zkřížením dvou klonů odrůdy Seibel. Má střední, výrazně zoubkovaný list. Hrozen je na rozdíl od odrůdy Villard blanc malý, hustý s voskovitým povlakem, díky kterému je odolný vůči plísni, padlí a šedé hnilobě. Finální víno má vyšší, ostrou kyselinu. Většina interspecifických odrůd se vyznačuje vyšším pH a obsahem kyseliny vinné v bobulích, čímž je zajištěna vyšší mikrobiální stabilita vína [4].

I přes počáteční nedůvěru, v posledních letech výrazně stoupla plocha osázená vybranými PIWI odrůdami. Vzestupný trend lze pozorovat u všech tří vybraných odrůd (**Obrázek 2**).

Plocha osázená vybranými PIWI odrůdami [ha]



Obrázek 2: Osázení ploch vybranými PIWI odrůdami [2]

2.2.1 Hibernal

Jedná se o bílou odrůdu vyšlechtěnou křížením odrůd Seibel a Ryzlink rýnský. Mezi PIWI odrůdami je to nejpěstovanější interspecifická odrůda. Má velký, tmavě zelený list s intenzivním zoubkováním. Hrozeny jsou střední velikosti. Bobule mají silnou slupku, jsou těsně přisedlé k sobě a během dozrávání mění barvu ze zelené na růžovo hnědou až růžovo fialovou [1].

Pro pěstování jsou vhodné slunečné, svažité lokality s hlinitopísčnými půdami, kde je zajištěný optimální obsah živin a zadržována voda [1].

Hibernal (**Obrázek 3**) má velmi dobrou odolnost k mrazům, padlí révy a plísní šedé, vůči plísní révy má však odolnost pouze dobrou. Při vyšším tlaku plísně jsou napadána zejména květenství, kdy dochází k jejich postupnému zasychání a odumírání. Je tedy vhodné je alespoň jednou až třikrát za vegetaci ošetřit. Běžná doba dozrávání je první polovina října [1].

Hibernal může dosáhnout cukernatosti 21 – 24 °NM. Při této optimální zralosti tvoří příjemnou kyselinu. Vína vyráběná z této odrůdy jsou velice harmonická, s projevem ovoce a květinových tónů [1].

Díky silné, kožovité slupce má Hibernal velmi nízkou vylisnost. Proto je na místě použití pektolytických enzymů, které rozkládají pektiny ve slupce a snižují tak její pevnost. Většina

vinařů však dává přednost několikahodinové (6-12 hodin) maceraci hroznů za zvýšené teploty [1].

Výhodou hibernalu je schopnost dosáhnout vyšší cukernatosti a optimální kyseliny. Při kvašení je tedy vhodné sledovat obsah zbytkového cukru a nějaký ve víně ponechat. Dojde tak k lepšímu projevu aromatických látek [1].



Obrázek 3: Hibernál [5; 6]

2.2.2 Solaris

Bílá rezistentní odrůda, vyšlechtěná křížením odrůd Merzling (Ryzlink rýnský X Rulandské šedé) X Gm 6493 (Seibel X Muškát Ottonel). Solaris má velmi velké, intenzivně zubaté světle zelené listy. Povrch listů je intenzivně zpuchřený. Hrozny jsou velké, kuželovité, s bobulemi těsně přisedlými k sobě. Plně vyztřelé hrozny mají žlutou až zlatavou barvu.

Pro solaris jsou nejvhodnější písčité až hlinitopísčité půdy. Při vyšším obsahu vody v půdě velmi bujně roste. Je proto vhodný do sušších oblastí. Není pro něj vhodné ale ani příliš velké sucho. V tom případě se ve víně objevují tóny spáleného karamelu.

Obvyklá doba dozřívání je konec srpna. V teplém a suchém roce však může dozřívát již v polovině.

Solaris má velmi dobrou odolnost vůči mrazům, plísní révy a padlí révovému. Vůči šedé hnilobě má odolnost dobrou. Ale díky tomu, že dozřívá již v horkých letních měsících, které nejsou na srážky moc bohaté, není potřeba révy vůči této hnilobě nijak ošetřovat. Jedná se tedy o jedinou odrůdu, kterou lze pěstovat bez jakéhokoliv chemického zásahu.

U této PIWI odrůdy lze dosáhnout vysokých výnosů a cukernatosti. Solaris obvykle dosahuje 25-28°NM, ovšem na úkor kyselin. Chybějící kyselinu vinnou je možné dle nařízení (ES) č. 1234/2007 do vína dodat. Dodání kyseliny je možné v množství až 2,5g/l a musí se hlásit na SZPI [7].

Velké množství vinařství využívá Solaris k výrobě částečně zkvašeného moštu (burčáku). Při použití hroznů pro výrobu vína je dobré množství hroznů na keři nejprve zredukovat a jen nepatrně „odlistit“. Hrozny jsou tak přirozeně chráněny proti UV-záření a dojde k minimalizaci výskytu spálených tónů ve víně.

Pro kvašení je vhodné využití technologie řízeného kvašení při nižších teplotách. Dojde tak k rozvoji ovocného aroma, jako např. citrusů, zeleného jablka, broskví a dojde také k zachování svěží kyseliny [1].

2.2.3 Johaniter

Bílá interspecifická odrůda vzniklá křížením Ryzlinku rýnského X (Villard blanc X (Rulandské šedé X Chrupka bílá)). Má střední, světle zelené listy, které mohou mít místa zbarvená až do světle žluté. Hrozen je válcového tvaru s bobulemi těsně přisedlými k sobě. Při dozrávání mění barvu z trávově zelené na zlatavou až narůžovělou [1].

Nároky na polohu a pěstování má Johaniter velmi podobné Ryzlinku rýnskému. Vyžaduje slunné polohy a hlinitopísčité půdy [1].

Johaniter (**Obrázek 4**) má dobrou odolnost vůči mrazům, plísni révy a padlí révy. Je tedy dobré na jeho ochranu použít jednu až dvě aplikace přípravku proti houbovým chorobám. Díky pevnější slupce jsou bobule velmi odolné vůči šedé hnilobě, ale na rozdíl od Hibernalu může být napadán ušlechtilou plísní [1].

Obvyklá doba dozrávání je polovina října, což umožňuje dosáhnout vyšší cukernatosti a výrobu přívlastkových vín a sur-lie. Pro výrobu a zrání vína jsou vhodnější nerezové nádrže. Mícháním na jemných kalech lze dosáhnout intenzivnější ovocitosti. Ve vínech se projevují tóny jablek, hrušek, broskví, květinové tóny a svěží kyselina.

V některých oblastech Německa je Johaniter využíván k výrobě ledových vín [1].



Obrázek 4: Johaniter [8]

2.3 Choroby révy

Réva vinná je méně či více náchylná k houbovým chorobám. Tato skutečnost způsobuje nejen produkční, ale i významné finanční ztráty [9]. Při nejvyšším tlaku plísně révové byla např. v Itálii zaznamenána ztráta 18 milionů eur [10]. Nehybridní *Vitis vinifera* se při středním tlaku a konvenčnímu pěstování proti houbovým chorobám ošetřuje syntetickými pesticidy až 12krát [11].

PIWI jsou díky své pozměněné genetické informaci proti plísním chráněny přirozeně a snižují tak použití pesticidů na minimum [1]. Nejrozšířenějšími chorobami révy vinné jsou padlí révové, plíseň révy a šedá hniloba.

2.3.1 Padlí révové

Původcem tohoto onemocnění je houba *Erysiphe necator*. Příznaky napadení jsou bílá až šedá mycelia na listech, povrchu hroznů ale i květenství. Lidově se padlí také někdy označuje jako „moučnatka“, protože její rozmístění na listech připomíná rozsypaná zrnka mouky. V pokročilém stádiu napadení dochází k černání a postupnému usychání postižených míst na listech. U bobulí se napadení projevuje praskáním, vytlačováním semen a postupným zasycháním hroznů (**Obrázek 5**) [12; 13].



Obrázek 5: Hrozen napadený padlí révovým [14]

V posledních letech došlo ke zvýšení výskytu padlí. Příčinou je výrazná změna počasí. Ideální pro rozšíření plísně je totiž vyšší teplota 21-30 °C a delší období sucha. Pro rozvoj mycelií jsou optimální stinná místa, kde nedochází k dlouhodobějšímu působení slunečního záření a zajištění optimální vlhkosti. Nejvyšší riziko napadení mají tedy husté porosty [15].

2.3.2 Plíseň révy

Plíseň révy je způsobena přítomností houby *Plasmopara viticola*. Houba napadá jak plody a květenství, tak veškeré zelené části rostlin. Počáteční příznaky se projevují jako světle žluté, olejové skvrny na horní straně listů, na spodní se objevují šedá sporangia (**Obrázek 6**). Pokud nedojde k ošetření révy začínají žluté části listu postupně hnědnout a po sléze usychat. U květenství a plodů se napadení projevuje šedým povlakem na povrchu, následně dochází ke změně zelené barvy na černo-fialovou a následuje usychání [1].

K rozšíření choroby napomáhá zejména vlhké a teplé počasí. Zvýšený výskyt bývá zaznamenán zejména v letech, kdy dochází k vysokým srážkovým úhrnům [16].



Obrázek 6: Plíseň révy [17]

2.3.3 Šedá hniloba

Stejně jako plíseň révy napadá šedá hniloba (*Botritis cinerea*) všechny části rostliny. Nejvíce se rozšiřuje v jarním období za deštivého počasí. Choroba se začne projevovat jako šedo zelené skvrny, které postupně přechází na šedo hnědé a zasychají. Při napadení bobulí ve fázi dozrávání dochází nejdříve k vytvoření šedého povlaku a následně k jejich prsknutí a vytlačení dužiny ven (**Obrázek 8**). Pokud je ovšem bobule napadena při vyšší cukernatosti (19° NM), má *Botritis cinerea* pozitivní vliv na zvýšení obsahu cukrů, díky porušení slupky a zvýšení ztráty vody (**Obrázek 8**).

Šedé hniloba bývá doprovázena různými druhy plísní, kvasinek, octových a mléčných bakterií. Tyto způsobují vznik nežádoucích metabolitů, jako je kyselina octová nebo nepříjemný zápach. Ukazatelem napadení hroznů šedou hnilobou jsou drozofily, které se na poškozených bobulích shlukují a roznášejí ji. Pokud je ovšem napadena bobule při vyšší cukernatosti (19° NM) má [1; 18; 19].

2.3.3.1 Vliv šedé hniloby na aroma

Při hojném výskytu šedé hniloby, v závislosti na množství srážek v daném roce, se mohou napříč vinařskými oblastmi projevovat různé vady. Druhy vad závisí i na tom, jakou plísní či bakterií je hniloba doprovázena.

Botritis cinerea produkuje exobuněčné enzymy esterázy, které katalyzují hydrolýzu esterů, které produkují kvasinky během fermentace. Dochází tak k významnému snížení koncentrace těchto vonných látek.

Nejčastěji se vyskytuje vada geosmin, která dodává vínu chuť vlhké zeminy a řepy. Je způsobena přítomností *Botritis cinerea* a *Penicillium spp.* Těto vadě lze předejít aplikací ochranných postřiků proti hnilobě.

Šedá hniloba způsobuje také ztrátu typického odrůdového aroma. Nejvíce se projevuje u muškátových odrůd, kdy přítomnost 20 % infikovaných bobulí snižuje odrůdové aroma až o 50 %. Hlavní nositelé aromatu terpenoly (linalool, geraniol) jsou přeměněny na oxidy a další sloučeniny, které nemají takový vonný charakter. Dochází tedy k produkci vín se slabou nebo žádnou aromatickou [19].

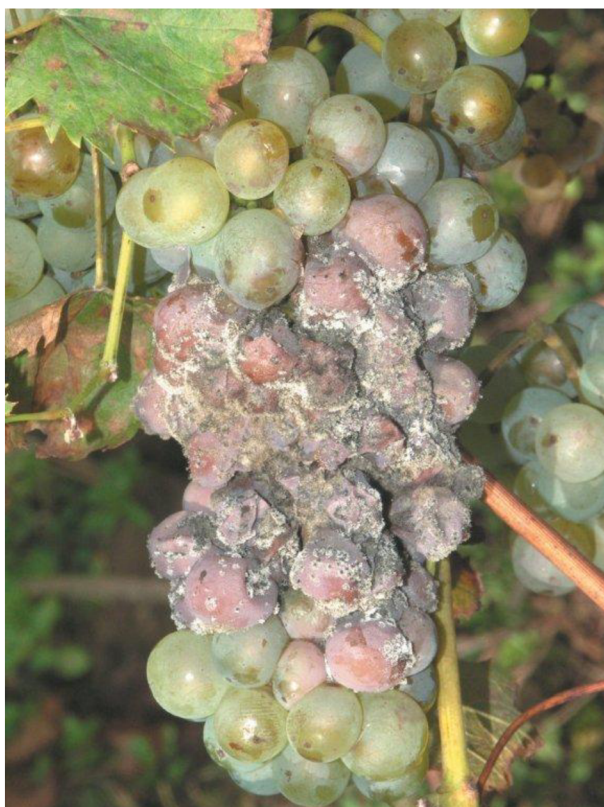
Botritis cinerea kromě šedé hniloby způsobuje hnilobu kyselou. Napadené bobule jsou zbarveny cihlově červenou, dochází k vyučování šťávy a ostrého zápachu kyseliny octové. Octovou fermentaci způsobují aerobní kvasinky *Hanseniaspora uvarum* a octové bakterie. Na octovou hnilobu stejně jako na šedou hnilobu má vliv deštivé počasí. Bobule absorbují velké množství vody, což má za následek jejich praskání a vytékání šťávy. Nejprve však dojde k napadení hroznů plísní šedou. Jakmile začnou denní teploty atakovat 30 °C postup šedé plísně se zastaví a nastupuje plíseň kyselá [19].

2.3.3.2 Vliv šedé hniloby na kyseliny

Hniloba (**Obrázek 7**) napadá metabolismus kyselin v bobulích. Může docházet ke změnám koncentrací kyselin vinné a jablečné nebo k vytvoření kyselin, které jsou ve vínech nežádoucí. Typickými zástupci jsou kyseliny octová a glukonová. Kyselina glukonová se v moštích ze zdravých hroznů projevuje v jednotkách miligramů na litr. U moštů z napadených hroznů šedou nebo kyselou hnilobou, lze nalézt 5 až 15 g/l.



Obrázek 7: Ušlechtilá šedá hniloba [18]



Obrázek 8: Šedá hniloba [18]

2.4 Sacharidy

Sacharidy patří do skupiny hydroxyderivátů karbonylových sloučenin. Dělí se na dvě základní skupiny: aldózy a ketózy. Podle toho, z kolika uhlíků se jejich řetězec skládá se dále dělí na triózy, pentózy a hexózy. Další dělení sacharidů je dle toho, kolik monosacharidových jednotek obsahuje řetězec. Základním stavebním kamenem jsou monosacharidy, následují oligosacharidy, které obsahují 2 – 10 monosacharidových jednotek a polysacharidy, které jsou tvořeny více než 10 monosacharidovými jednotkami [7].

Prvními zástupci monosacharidů ve víně jsou triózy. Tyto se ve zdravých vínech nevyskytují. Jejich přítomnost vypovídá o napadení vína octovými bakteriemi [7].

Ve vínech se nachází i pentózy. Tyto nejsou zkvašovány kvasinkami *Saccharomyces*, ale pouze bakteriemi či pouze některými rody kvasinek. Typičtí zástupci jsou arabinóza, xylóza a ribóza [7].

Pro víno jsou nejdůležitější hexózy, které jsou reprezentovány glukózou, fruktózou a galaktózou. Jedná se o sladké cukry, které jsou zpracovávány kvasinkami *Saccharomyces* na ethanol. Poměr glukózy a fruktózy v mošttech je téměř vyrovnaný. Během zkvašování dochází přednostně ze zpracování glukózy kvasinkami. Fruktóza a sacharóza jsou zpracovávány bakteriemi, které se ale v mošttech, které jsou získány z kvalitních hroznů nevyskytují nebo jen v minimálním zastoupení. Proto může být ve víně až 10x vyšší koncentrace fruktózy než glukózy [7].

Oligosacharidy se ve vínech objevují pouze ve stopovém množství. Nejvíce jsou zastoupeny disacharidy, a to laktóza, maltóza a sacharóza.

Polysacharidy, reprezentované pektinem, jsou ve vínech nežádoucí. Působí komplikace již během kvašení, kdy alkoholové kvasinky nejsou schopny pektin štěpit. Řešením je použití pektolytických enzymů, které pektin rozštěpí na zpracovatelnou glukózu. Koncentrace polysacharidů dále klesá s dobou ležení vína, kdy dochází k hydrolýze [7].

2.5 Organické kyseliny

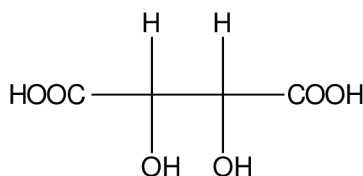
Obsah organických kyselin ve víně je stejně jako fenolické látky závislý na mnoha vnějších faktorech, jako jsou podmínky pěstování, počasí, oblast pěstování a typu odrůdy. Ve víně má největší zastoupení kyselina vinná, jablečná a citronová, které pocházejí z hroznů. Kyseliny mléčná, jantarová a octová se objevují až během alkoholového kvašení.

Přítomnost kyselin ve víně je velmi důležitá pro udržení mikrobiální a chemické stability. Proto je nezbytné jejich koncentraci ve víně pravidelně sledovat již od čerstvě vylisované šťávy, až po hotové víno [20].

2.5.1 Kyselina vinná

Nositelem kyselosti vína je nejvíce zastoupená kyselina, kyselina vinná (**Obrázek 9**). V bobulích se začíná tvořit 40 až 50 dní po odkvětu a její obsah, který se pohybuje mezi 6 a 11 g/l, v závislosti na tom, o jakou odrůdu se jedná, je konstantní. Na rozdíl od ostatních kyselin je metabolitem cukrů [19].

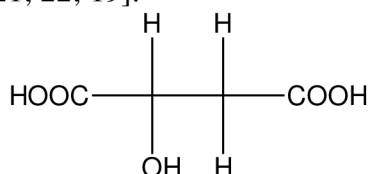
Její koncentrace se v moštích většinou pohybuje mezi 3 až 7 g/l a s postupující fermentací klesá na 2 až 5 g/l. Snižování obsahu kyseliny vinné je způsobeno vysrážením ve formě vinného kamene. Kyselinu vinnou většina kvasinek nedokáže rozložit. Tuto schopnost mají jen bakterie rodu *Lactobacillus*, které způsobují vinnano-mléčnou fermentaci, při které dochází k rozkladu kyseliny vinné na kyseliny mléčnou a octovou. Rozkladu lze předejít dostatečným obsahem volného oxidu siřičitého ve víně. U sladkých vín je ztráta kyseliny vinné způsobena ušlechtilou plísní *Botrytis cinerea* [7].



Obrázek 9: Kyselina vinná

2.5.2 Kyselina jablečná

Kyselina jablečná (**Obrázek 10**) je produktem metabolismu bobulí. Lze ji považovat za ukazatele vyžrálosti hroznů, protože během dozrávání se její obsah snižuje z 2,6 až 8,5 g/l na polovinu. Pokud její obsah ve víně převažuje nad vinnou, hrozny byly posbírány ještě před dosažením plné vyžrállosti. Přítomnost kyseliny jablečné ve víně způsobuje ostrou, neuhlazenou chuť. K jejímu zjemnění dojde díky jablečno – mléčné fermentaci. Díky bakteriím mléčného kvašení dojde k dekarboxylaci kyseliny jablečné na kyselinu mléčnou. Tím je docíleno sametové chuti vína s přítomností ovocitých tónů. Standardní obsah kyseliny jablečné se pohybuje v rozmezí 0 až 5 g/l. [21; 22; 19].



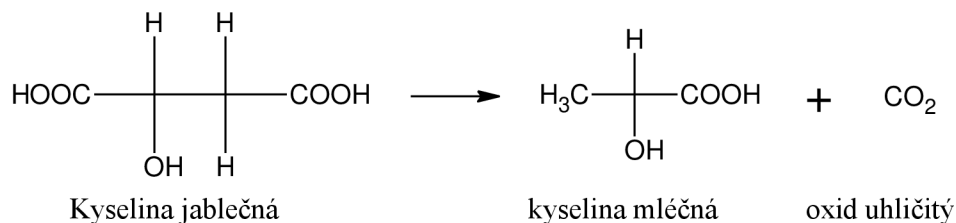
Obrázek 10: Kyselina jablečná

2.5.2.1 Jablečno-mléčná fermentace

Je to proces dekarboxylace kyseliny L-jablečné na L-mléčnou za uvolnění oxidu uhličitého **Rovnice 1**. Nastává po ukončení primární, alkoholové fermentace nebo ve výjimečných případech může probíhat i souběžně. Konverzi kyselin způsobují bakterie *Oenococcus oeni*, které se v bobulích přirozeně vyskytují. Aktivita bakterií startuje zároveň s alkoholovým kvašením, se zvyšováním množství kvasinek *Sacharomyces cerevisiae* však klesá. Ve

výsledku, po ukončení primární fermentace, je přítomna pouze jedna populace, která není schopna jablečnou-mléčnou fermentaci rozběhnout [19].

Fermentaci je nejlepší iniciovat lyofilizovanými, čistými kulturami po ukončení alkoholového kvašení.



Rovnice 1: Jablečno-mléčná fermentace [7]

Jablečno-mléčné kvašení se uplatňuje především u červených vín. V některých případech se využívá i u bílých a to tehdy, když je třeba snížit obsah ostré kyseliny ve víně, víno stabilizovat a uchránit ho tak před spontánním kvašením nebo u odrůdy Chardonnay posílit typickou aromatikou [23].

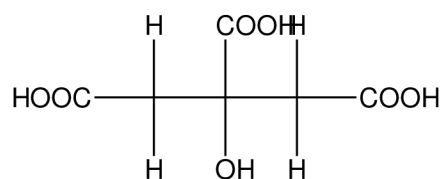
Před zahájením jablečno-mléčného kvašení je dobré víno ohřát na 20 až 25 °C a udržovat hladinu volného CO₂ na koncentraci 20 mg/l. Za těchto podmínek může dojít ke spontánnímu kvašení, které bude trvat 40 dní. Pokud je žádoucí proces konverze kyselin urychlit, je možné víno zaočkovat jiným vínem, které fermentaci již prošlo nebo lyofilizovanými bakteriemi. Proces konverze se tak zkrátí na 20 až 30 dní.

Kyselinu mléčnou jsou schopny produkovat i jiné kmeny bakterií. Nejvýznamnějšími zástupci jsou *Lactococcus*, *Lactobacillus* a *Pediococcus*. Jedná se však o kontaminující kmeny, jejichž přítomnost je nežádoucí. Mimo kyselinu mléčnou produkují těkavé kyseliny, biogenní aminy a sírné sloučeniny, které způsobují charakterové vady [24].

2.5.3 Kyselina citronová

Obvyklý obsah kyseliny citronové (Chyba! Nenalezen zdroj odkazů. ve víně je 0,05 až 0,5 g/l. Pokud dojde k napadení hroznů plísní *Botrytis cinerea*, její obsah může vzrůst až na 0,6 g/l. K rozkladu dochází během jablečno-mléčné fermentace bakteriemi mléčného kvašení. Touto cestou se uvolňuje diacetyl, který způsobuje máselnou chuť. Tento proces je typický pro odrůdu Chardonnay, kde lze máslovou chuť cítit již při 0,2 g/l. [7].

Kyselina citronová působí na metabolismus kvasinek v moštu a zpomaluje tak jejich růst. Mimo to je součástí metabolických dějů [20].



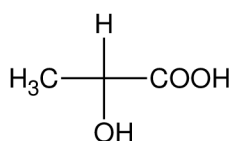
Obrázek 11: Kyselina citronová

2.5.4 Kyselina mléčná

Obsah kyseliny mléčné (**Obrázek 12**) ve víně se pohybuje v rozsahu 0,05 až 3 g/l. Ve víně se může vyskytovat ve dvou izomerech, D(-) a L(+), v závislosti na tom, jestli je produktem alkoholového kvašení nebo mléčných bakterií.

Vznik kyseliny mléčné jako sekundárního produktu alkoholového kvašení nebo působením homo(hetero)fermentativních bakterií je nežádoucí. Dochází k rozkladu sacharidů za vzniku nežádoucích látek, jako jsou kyselina octová, buthandiol a kyselina jantarová.

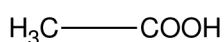
Jediná cesta, jak získat kyselinu mléčnou bez nežádoucích látek je dekarboxylace kyseliny jablečné pomocí mléčných bakterií [7].



Obrázek 12: Kyselina mléčná

2.5.5 Kyselina octová

Kyselina octová (**Obrázek 13**) patří mezi těkavé kyseliny. Její zastoupení ve víně se pohybuje v rozmezí 0,3-0,6 mg/l. Její původ ve víně může být z buď to z moštu díky napadení hroznů plísní *Botrytis cinerea* nebo z alkoholové fermentace. Glukóza se v glykolýze zpracovává až na kyselinu pyrohroznovou. Pokud probíhá fermentace za přístupu vzduchu, dojde z oxidací kyseliny pyrohroznové na kyselinu octovou. Kyseliny vinná může ale také vzniknout již v hotovém víně. Pojeví se jako vada známá pod názvem „octovatění vína“. Dochází k přeměně ethanolu octovými bakteriemi *Acetobacter* za přístupu kyslíku [7].



Obrázek 13: Kyselina octová

2.6 Fenolické látky

Fenolické látky (**Tabulka 2**) jsou po sacharidech a kyselinách třetí nejzastoupenější složkou hroznů a vína. Nejvíce fenolů v hroznech obsahuje slupka, třapina a semínko. Dělí se do čtyř skupin: fenolové kyseliny, flavonoidy, anthokyany a třísloviny. Ovlivňují především sensorické vlastnosti, jako jsou barva, chuť, ale také proces stárnutí vína. Obsah fenolických látek je ovlivněn mnoha faktory. Těmi nejvýznamnějšími jsou přidavek SO₂, kyseliny askorbové a kvasinek ještě před zahájením fermentace a doba macerace rmutu. Čím déle bude probíhat, a čím vyšší bude tlak při lisování, tím se do moštu uvolní více fenolických sloučenin. U bílých vín se obsah fenolů pohybuje okolo 0,25 g/l, u červených až 4,5 g/l. Menší podíl na obsahu má vlivu počasí a charakter odrůdy. Množství fenolických látek se u jednotlivých odrůd výrazně liší [25; 7].

Tabulka 2: Obsah fenolických látek ve víně [7]

| | Bílá vína [mg/l] | Červená vína [mg/l] |
|--------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Fenolické kyseliny | 1 až 10 | 100 až 200 |
| Flavonoidy | Stopy | Do 15 |
| Anthokyany | Stopy | 200 až 500 |
| Taniny | 1 až 100 | 1000 až 5000 |

Degradace fenolických látek probíhá kontinuálně od prvního zpracování hroznů, až po zrání hotového vína. Během vinifikace podléhají hrozny nejrozličnějším metodám zpracování jako je mletí, filtrace, chlazení, díky kterým prokazatelně dochází k iontové výměně, změnám struktur molekul a ke změně barvy [25].

Stabilitu fenolických látek v již hotovém víně ovlivňuje mnoho faktorů. Nejdůležitějšími jsou kvalita ovzduší, kondice vinice, doba slunečního svitu a v neposlední řadě iontová výměna. Většina chemických změn fenolů začíná již v době sklizně, pokračuje během fermentace, kdy dochází k enzymatickým změnám, až do doby zrání vína [25].

2.6.1 Fenolické kyseliny

U fenolových kyselin jsou rozlišovány dvě skupiny: hydroxylové deriváty kyseliny benzoové a kyseliny skořicové (**Tabulka 3**). Deriváty obou těchto kyselin se vyskytují v hroznech, kde se váží v esterech kyseliny vinné [7].

Tabulka 3: Hydroxylové deriváty kyseliny benzoové a skořicové

| Vzorec kyseliny | R2 | R3 | R4 | R5 | Název kyseliny |
|--|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------------------|
| Deriváty kyseliny benzoové  | H | OCH ₃ | OH | H | vanilová |
| | H | OH | OH | OH | gallová |
| | H | OCH ₃ | OH | OCH ₃ | syringová |
| Deriváty kyseliny skořicové  | H | H | OH | H | p-kumarová |
| | O | OH | OH | H | kávová |
| | H | OCH ₃ | OH | H | ferulová |
| | H | OCH ₃ | OH | OCH ₃ | sinapová |

2.6.1.1 Hydroxyderiváty kyseliny benzoové

Tyto deriváty se vyskytují jak v hroznech, tak ve víně. Nejvýrazněji zástupené jsou kyseliny vanillová, gallová a syringová. Nejdůležitější kyselinou je kyselina gallová, která je prekurzorem hydrolyzovatelných taninů [7; 25].

2.6.1.2 Hydroxyderiváty kyseliny skořicové

Deriváty kyseliny skořicové se stejně jako hydroxyderiváty kyseliny benzoové nacházejí v hroznech i ve víně. Nejvýznamnějšími zástupci jsou kyselina p-kumarová, kávová, ferulová a sinapová. Tyto kyseliny jsou prekurzory těkavých fenolů. V bílém víně může dojít působením kvasinek k dekarboxylaci kyselin ferulové a p-kumarové za vzniku vinylguajakolu a vinylfenolu. Tato degradace se při vyšších koncentracích výsledných produktů projeví jako farmaceutický pach vína. U červeného vína může dojít ke kontaminaci kvasinkami rodu *Brettanomyces*, které produkují enzym vinylfenolreduktázu. Tato má za následek přeměnu vinylfenolu na ethylguajakol a ethylfenol, což se při vyšších koncentracích projeví ve vůni jako pach koňského potu [7; 25].

Pro stanovení fenolických látek ve víně se nejčastěji využívá kapalinová chromatografie s UV-VIS detektorem nebo tandemové spojení s hmotnostní spektrometrií.

2.7 Těkavé látky

Těkavé látky ovlivňují aromatický profil vín. Aroma dělíme na primární, které má původ v hroznech a sekundární, které se vytváří během alkoholové fermentace. Během ležení a zrání vína získávají aroma terciální, které se do popředí dostává na úkor buketu primárního [5]. Na aromatickém projevu vína se podílí směs více než stovky molekul [26].

Primární aromatické látky jsou produktem sekundárního metabolismu rostlin. Primárně složí k přilákání hmyzu, za účelem opylení květů. Jejich tvorba je významně ovlivněna teplotou a slunečním zářením. Optimální podmínky pro vznik buketních látek je teplota 20 – 25 °C přes den a 10 – 15 °C během noci [26; 27]

2.7.1 Estery

Ke vzniku esterů dochází esterifikací. Je to reakce alkoholů s organickými kyselinami. Jedná se o nejzastoupenější skupinu, která má tudíž na aroma vína největší podíl. Projevují se především jako ovocné a květinové vůně. Jejich projev lze ovlivnit i použitým typem alkoholových kvasinek [7; 26].

2.7.2 Laktony

Vznikají intramolekulární esterifikací karboxylové kyseliny alkoholem. Ve vínech se projevují jako exotické vůně. Některé laktony se mohou projevovat jako typická odrůdová aromata. Například γ -lakton, který má původ také v hroznech se projevuje jako typický buket pro Ryzlink rýnský [7].

2.7.3 Terpeny

Terpeny se projevují především jako odrůdová aromata a mohou být použity k ověření pravosti odrůd. Terpeny se řadí mezi primární buket. Jejich největší koncentrace je soustředěna v bobulích. Na tvorbu terpenů má největší vliv sluneční záření, kdy s vyzrálostí hroznů přímoúměrně stoupá množství terpenických látek [1].

2.7.4 C₁₃-norisoprenoidy

C₁₃-norisoprenoidy jsou produkty degradace karotenoidů. Stejně jako u terpenů je i tvorba C₁₃-norisoprenoidů závislá na klimatických podmínkách. Na rozdíl od terpenů se však koncentrace nezvyšuje od počátku zrání, ale až po zaměknutí bobulí. C₁₃-norisoprenoidy jsou také brány jako typická odrůdová aromata. Nejznámější je TDN (1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen), který je brán jako typické petrolejové aroma pro odrůdy Ryzlink rýnský a Rulandské šedé [1].

2.7.5 Methoxypyraziny

Tyto aromatické látky se projevují jako typické zelené aroma papriky či hrášku. Jedná se o typický odrůdový buket pro Sauvignon blanc. Někteří vinaři jej označují jako aroma kopřivové.

Nejvyšší koncentrace je v zelených hroznech, s postupem vyzrávání klesá [7].

2.8 Prvkové složení vína

Prvkové složení vína je ovlivněno původem hroznů, ze kterých je víno vyrobeno. Podle poměrů koncentrací prvků ve víně je možno zjistit přesný původ hroznů. Vinná réva má rozsáhlý kořenový systém. Je tvořen postranními kořeny, které sahají do hloubky 30 – 80 cm a hlavním kořenem, který může dosahovat délky až několik metrů. Díky této schopnosti se kořen dostává do blízkosti horniny v podloží. Réva však není schopna přijímat živiny jinak než ve formě iontů, které jsou vázány v krystalické struktuře nerostu a proces jejich uvolňování do podzemní vody je velmi zdlouhavý [7].

Hlavními zástupci iontů, přijímaných kořeny, jsou K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ a dusík [3].

2.8.1 Vápník

Vápník je jedním z nejobsáhlejších prvků ve víně. Vápencové horniny umožňují snadnou propustnost kořenů a ty tak snadno prokoření do hlubších vrstev. Réva je tedy schopna přijímat velké množství živin. Díky vztlínání půdní vody pomocí pletiv se vápník dostává do dužiny, odkud se uvolňuje do moštu a vína. Jeho obsah ve víně je závislý na pH a ethanolu. Se zvyšujícím se obsahem alkoholu klesá rozpustnost vápníku. Při nižším pH se může koncentrace vápníku pohybovat mezi 80 až 200 mg/l. Hraniční koncentrace, po jejímž překročení dochází k vysrážení vínanu draselného, je pro bílá vína 80 mg/l a 60 mg/l pro vína červená [7].

2.8.2 Draslík

Pro aroma vína je také velmi důležitým prvkem draslík. Ovlivňuje management vody ve vinné révě a tím také obsah kyselin a pH v bobulích. Obsah kyseliny vinné a její poměr ke kyselině jablečné má na obsah aromatických látek výrazný vliv. Draslík putuje rostlinou ve formě iontů společně s vodou pomocí vodivých pletiv až do bobulí. Zde reaguje s kyselinou vinnou za vzniku soli. Tím dochází ke snížení koncentrace kyseliny vinné. Pokud půda trpí deficitem draslíku, zůstává koncentrace kyseliny vysoká, a tudíž je vysoký i poměr s kyselinou vinnou. Tato nerovnováha se projevuje kovovou vůní i chutí vína. Nedostatkem draslíku trpí téměř celé území ČR. Proto je důležité hladinu draslíku pravidelně doplňovat pomocí hnojiv [7].

Průměrná koncentrace draslíku ve víně je 1 g/l. U jednotlivých vín se ovšem obsah draslíku liší v závislosti na půdě a podloží. Pro člověka je doporučená denní dávka 2 g/l. Nedostatek způsobuje svalovou ochablost, nadbytek močopudnost [7].

2.8.3 Dusík

Dusík je důležitým aspektem pro vonné látky zejména bílých vín. Pokud je asimilovatelného dusíku v hroznech nedostatek, je nízká i koncentrace aromatických látek ve víně. Jako prekurzory aromatických esterů jsou aminokyseliny, které ovlivňují hlavně ovocné a květinové tóny. Dusík lze do půdy dovát pomocí hnojiv nebo organických hmot, jako je chlévská mrva či výsevem rostlin bohatých na zelenou hmotu [7].

2.8.4 Hořčík

Hořčík bývá v půdě hojně zastoupen. Díky vysoké koncentraci je rostlinou snadno přijímán a způsobuje hořkou chuť ve víně. Má ovšem velmi pozitivní vliv na činnost kvasinek. Zlepšuje jejich respiraci a urychluje glykolýzu. Běžná koncentrace Mg ve víně bývá v rozmezí 80 až 140 mg/l. Poměr vápníku a hořčíku napovídá také o pozdějším složení vína. Pokud je hořčíku více než vápníku, bude ve víně nižší koncentrace kyseliny octové a acetaldehydu a vyšší koncentrace kyseliny citronové a glycerolu [7].

2.8.5 Sodík

Obsah sodíku ve víně je 10 až 40 mg/l. Nejedná se o zdravý škodlivý prvek. Důležitější je jeho poměr ku draslíku (K:Na), který přesahuje 10. V přímořských oblastech se koncentrace sodíku ve vínech může pohybovat kolem 200 mg/l [7].

2.8.6 Železo

Běžná koncentrace železa ve víně se pohybuje mezi 2 až 5 mg/l. Pokud je obsah vyšší, bylo víno kontaminováno během sklizně či vinifikace prostřednictvím železných zařízení a nástrojů.

Často také dochází ke zvýšení koncentrace během zrání vína v betonových tancích, jejichž součástí je železná armatura.

Hladinu železa samozřejmě výrazně ovlivňuje i složení půdy. Pokud se koncentrace pohybuje mezi 8 až 15 mg/l, dochází k reakci mezi železem a barvivem za vzniku modrého zákalu nebo mezi železem a kyselinou fosforečnou za vzniku bílého zákalu. Vznikům zákalů lze předejít udržováním kyselého pH a dostatečného množství oxidu siřičitého.

U člověka trpícího cirrhózou jater může nadbytek železa vést k jeho ukládání v játrech. Naopak nedostatek způsobuje anémii a nižší obranyschopnost [7].

2.8.7 Měď

Přirozený obsah mědi v hroznech se pohybuje v řádech desetin miligramů. Ke zvýšení koncentrace dochází vlivem použití měďnatých postřiků. K redukci obsahu mědi dochází ale již během alkoholového kvašení, kdy je do částečně zkvašeného moštu přidáván oxid siřičitý. V půdě a po sléze ve víně lze také nalézt širokou škálu těžkých kovů. Jejich množství je ovlivněno průmyslovou činností, intenzitou dopravy, ale především hospodařením. Koncentrace těžkých kovů je limitována zákonem č. 13/1994 Sb. Největší rizika představují kadmium, olovo, chrom a rtuť [7].

2.8.8 Kadmium

Kadmium je součástí podpovrchových hornin, ze kterých se uvolňuje do podzemních vod. To, v jakém množství, závisí na složení matečné horniny a pH. Obvyklá koncentrace kadmia v půdě se pohybuje v rozmezí 0,01-1,1 mg·kg⁻¹. V České republice je však obsah kadmia 0,2-1,5 mg/kg v závislosti na lokalitě.

S klesajícím pH půdy nepřímo úměrně stoupá jeho rozpustnost. To znamená, že v lokalitách, kde jsou půdy kyslejší je koncentrace kadmia vyšší. Naopak v zásaditých půdách je jeho koncentrace minimální.

Při zvýšeném obsahu síranů dochází ke tvorbě kadmiových solí a jeho obsah v půdních vodách klesá. Rozpustnost kadmia ovšem zvyšují chloridové ionty.

Vysoký výskyt kadmia způsobuje ztrátu schopnosti fixovat vzdušný dusík a dochází tak k pozastavení růstu.

Ve víně vyskytuje v koncentraci 1 až 20 µg/l [7].

2.8.9 Olovo

Olovo se vyskytuje v koncentraci 10 až 20 mg/kg. Nejvíce je zastoupeno v živci a slídkách, tedy v kyselých půdách. Tyto nerosty jsou velmi obtížně rozpustné ve vodě. Olovo je naopak velmi dobře vázáno jíly a humusem. Proto je velmi důležité dbát na co nejnižší koncentraci olova v půdě, které se koncentruje do 5 cm pod povrchem. Největší množství olova se do půdy dostává prostřednictvím insekticidů s obsahem arseničnanu olovnatého, který je ovšem zakázaný.

Olovo představuje vysoké zdravotní riziko. Proto je nejvyšší povolená koncentrace ve víně 0,2 mg/l [7].

Ve víně se může vyskytovat řada dalších prvků ve stopovém množství **Tabulka 4**. Jejich zvýšená koncentrace nasvědčuje většinou umělému dodání ve snaze klamání o původu vína [7].

Tabulka 4: Stopové prvky ve víně [7]

| Prvek | Koncentrace [mg/l] | Prvek | Koncentrace [mg/l] |
|-----------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| Lithium | 0,05 | Nikl | 0,1 až 1 |
| Rubidium | 0,5 až 5 | Kadmium | 1 až 20 |
| Titan | 0,05 až 0,5 | Kobalt | 1 až 20 |
| Stroncium | 0,2 až 3 | Molybden | 1 až 10 |
| Baryum | 0,05 až 0,35 | Chrom | 1 až 10 |
| Cín | 0,01 až 0,05 | Stříbro, vanad, selen | - |

2.9 Metody využívané pro stanovení chemického složení vína

2.9.1 Separáční techniky

Mezi základní techniky pro separaci složek ve víně pat  kapalinov , iontov  a plynov  chromatografie. Principy fungování jsou popsány v následujících kapitolách.

2.9.1.1 Kapalinov  chromatografie (HPLC)

Kapalinov  chromatografie, objeven  v roce 1903 botanikem M. S. Cvetem a pat  do kategorie separačních technik, kter  pracují na základě afinity vzorku v u i dvěma kapaln m, navzájem nem siteln m f z m. Jedna fáze je pohybliv  – mobilní a druh  je fáze stacionární. Díky tomuto principu je možné separace a stanoven  velkého množství organických i anorganických sloučenin, až po ultrastopov  koncentrace. Molekuly s v y  i afinitou ke stacionární fázi z st v j  v systému, naopak ty molekuly, kter  mají v y  i afinitu k mobilní fázi jsou unášeny chromatografick m systémem na detektor. Mohou ovšem nastat dva krajn  p r pady a to, že molekuly separovaných látek nemají  adnou afinitu ke stacionární fázi a systémem projdou rychlostí mobilní fáze nebo nemají afinitu k mobilní fázi a zůstanou uvnitř systému. T mto situacím lze zabránit výběrem vhodného složení f z  [28; 29; 30].

Rozd len  separovaných látek mezi jednotliv  fáze je popsáno pomocí distribuční konstanky K_D (**Rovnice 2**).

Jedná se o poměr rovnovážných koncentrací látek ve stacionární fázi C_S ku koncentraci ve fázi mobilní C_M [31].

$$K_D = \frac{C_S}{C_M}$$

Rovnice 2: Výpočet distribuční konstanky [31]

Velikost distribuční konstanty ukazuje, zda byly látky více či méně zadržovány v koloně. Tato skutečnost se projeví rozdílnými retenčními časy, které slouží k výpočtu retenčních faktorů k . Retenční faktor k (**Rovnice 3**) vyjadřuje poměr časů strávených ve stacionární a mobilní fázi. Pokud se látka nachází pouze v mobilní fázi je retenční čas, tedy i retenční faktor roven nule. Pokud se látka nachází pouze ve stacionární fázi je retenční čas nekonečno [31].

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

Rovnice 3: Výpočet retenčního faktoru k [31]

Pro výpočet retenčního koeficientu je využíván t_R , což je retenční čas vyjadřující vzdálenost od nástřiku látky po maximum píku a t_M , mrtvý čas, což je doba nezadržované látky, která ze systému vychází v nejkratším čase [31].

Mimo retenčních charakteristik je pro popis chromatogramu využívána účinnost a rozlišnost kolon. Důležitými parametry pro účinnost jsou šířka píku, počet teoretických pater kolony a výškový ekvivalent teoretického patra.

Počet teoretických pater n je bezrozměrná veličina a je dána vztahem uvedeným v **Rovnice 4**. Kde t_R vyjadřuje retenční čas a $w_{1/2}$ šířku píku v polovině výšky [31].

$$n = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{w}\right)^2 = 5,545 \cdot \left(\frac{t_R}{w_{1/2}}\right)^2$$

Rovnice 4: Výpočet počtu teoretických pater [31]

Výškový ekvivalent teoretického patra vyjadřuje úsek kolony, který odpovídá jednomu teoretickému patru. Lze jej vypočítat z poměru délky kolony L a počtu teoretických pater n **Rovnice 5**. Vyjadřuje kvalitu kolony. Kolona je tím lepší, čím více obsahuje teoretických pater [31].

$$H = \frac{L}{n}$$

Rovnice 5: Výškový ekvivalent teoretického patra [31]

Pro rozlišení dvou píků je využíván vztah uvedený v **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**

První činitel vyjadřuje příspěvek účinnosti n . Jeho hodnotu lze změnit použitím delší kolony nebo změnou podmínek separace tak, aby bylo docíleno minimálního výškového ekvivalentu. Druhý činitel vyjadřuje příspěvek selektivity α . Selektivitu kolony lze změnit pouze její výměnou. Má největší vliv na rozlišení.

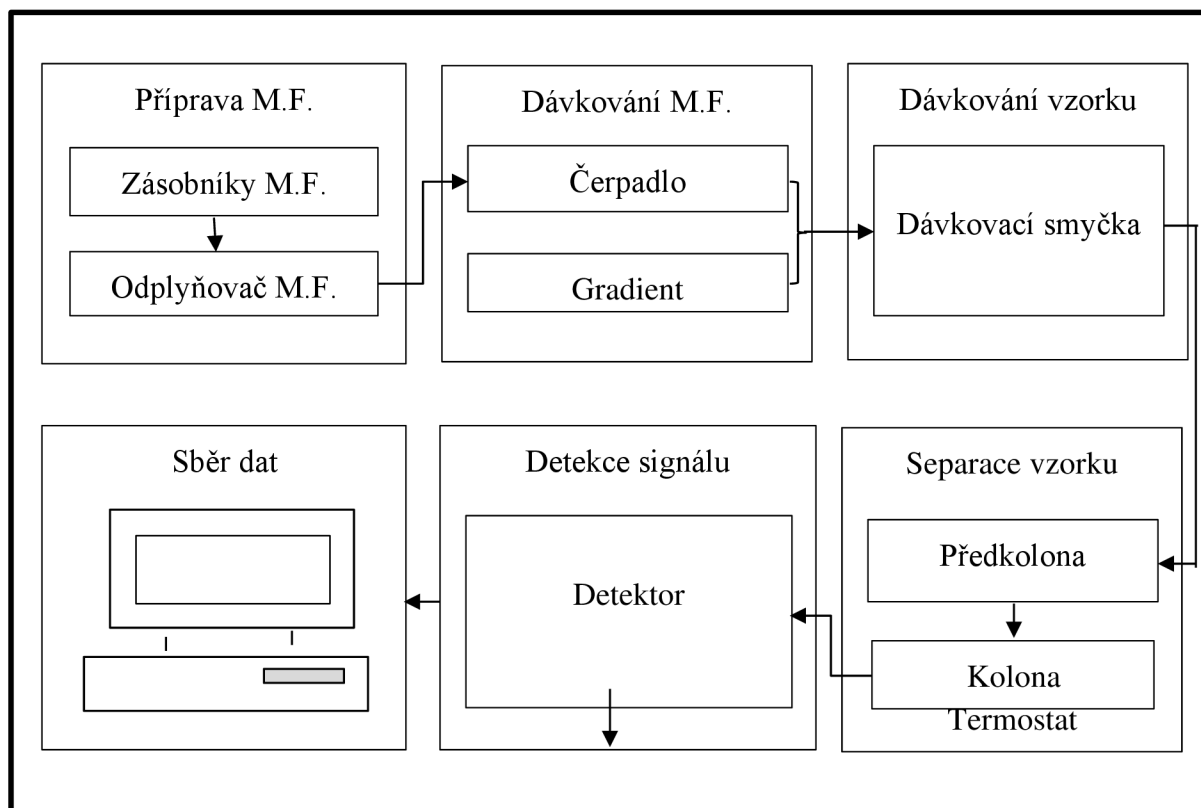
Posledním činitelem je příspěvek kapacity k . Kapacitu lze změnit zvýšením teploty nebo snížením elučního tlaku u mobilní fáze.

Obecně platí, že pokud má kolona vysokou účinnost, nemá vysokou kapacitu a pokud je špatná účinnost kolony, lze ji kompenzovat selektivitou [31].

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{n} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k_2}{1 + k_2}$$

Rovnice 6: Rozlišení dvou piků [31]

Kapalinový chromatograf se skládá z několika částí **Obrázek 14.**



Obrázek 14: Schéma kapalinového chromatografu

Mobilní fáze se uchovává v zásobních lahvích o objemu 1 l. Poté prochází vakuovým odplyňovačem, kde proudí v polopropustné trubičce, která je z materiálu propouštějící molekuly plynů.

Dále je mobilní fáze dodávána pomocí čerpadla, které umožňuje tvorbu gradientu. Pomocí gradientové eluce lze během separace měnit složení mobilní fáze.

U kapalinové chromatografie je možno využít dvou retenčních mechanismů. A to s normálními a reverzními fázemi. U systému s normálními fázemi je stacionární fáze polárnější než mobilní a tvoří eluotroponí řadu. Systémy s obrácenými fázemi mají naopak polárnější mobilní fázi, která obsahuje směs organických rozpouštědel a vody. Tohoto systému je využito i v této práci.

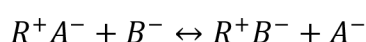
Separace může probíhat na dvou typech kolon. Na monolitických, kde se jako stacionární fáze využívá porézní vrstva monomeru nebo na náplňových, které využívají různých typů náplní. V současné době jsou výhradně využívány náplňové kolony. Jedná se o nerezové trubice o průměru 2,1 nebo 4,6 mm a délce 25 až 50 cm. Mohou být naplněny silikagelem, který se využívá pro separaci alkanů, aminoskupin, oxidy kovů, hybridními částicemi.

Pro sledování eluátu jsou využívány různé typy detektorů. Nejvyužívanější jsou UV-VIS detektory. V této práci byl použit detektor s diodovým polem, který umožňuje snímat široké spektrum vlnových délek. Jako zdroj záření je využívána žárovka, produkující záření. To

prochází paprskem přes štěrbinu a měrnou celou. Za měrnou celou se nachází monochromátor, který rozkládá polychromatické záření na jednotlivé vlnové délky a ty pak dopadají na diodové pole. Diodové pole je tvořeno řadou diod, které měří v UV a VIS oblasti. Kvantifikace látek je založena na principu schopnosti detekované látky absorbovat záření a následném přepočtu přes Lambert-Beerův zákon [31].

2.9.1.2 Iontová chromatografie

Metoda využívaná pro separaci látek s iontovou povahou. Základním principem jsou elektrostatické interakce mezi aktivními centry stacionární fáze a separovanými látkami s iontovou povahou. Dochází k výměně iontů, které jsou zabudovány na matici – stacionární fáze – za ionty, které se nachází v roztoku **Rovnice 7** [32].



Rovnice 7: Princip iontové chromatografie. Kde R^+A^- je měnič iontů (katex) s navázaným aniontem A^- (anex) a B^- představuje ionty v roztoku [32].

Ionexová chromatografie využívá separace na základě velikosti náboje. S velikostí souvisí afinita iontů k měniči. Na základě toho, je tedy iontová chromatografie schopna oddělit látky s jinak velmi podobnými vlastnostmi. V koloně jsou déle zadržovány ionty s větším nábojem, pokud se náboje velikostí shodují, má větší retenci ten s vyšší hmotností. Pokud mají látky shodný náboj s měničem nejsou naopak zadržovány vůbec.

Na pevnost vazeb mají mimo velikost náboje vliv van der Waalsovy síly, polární interakce, iontová síla a pH roztoku [32].

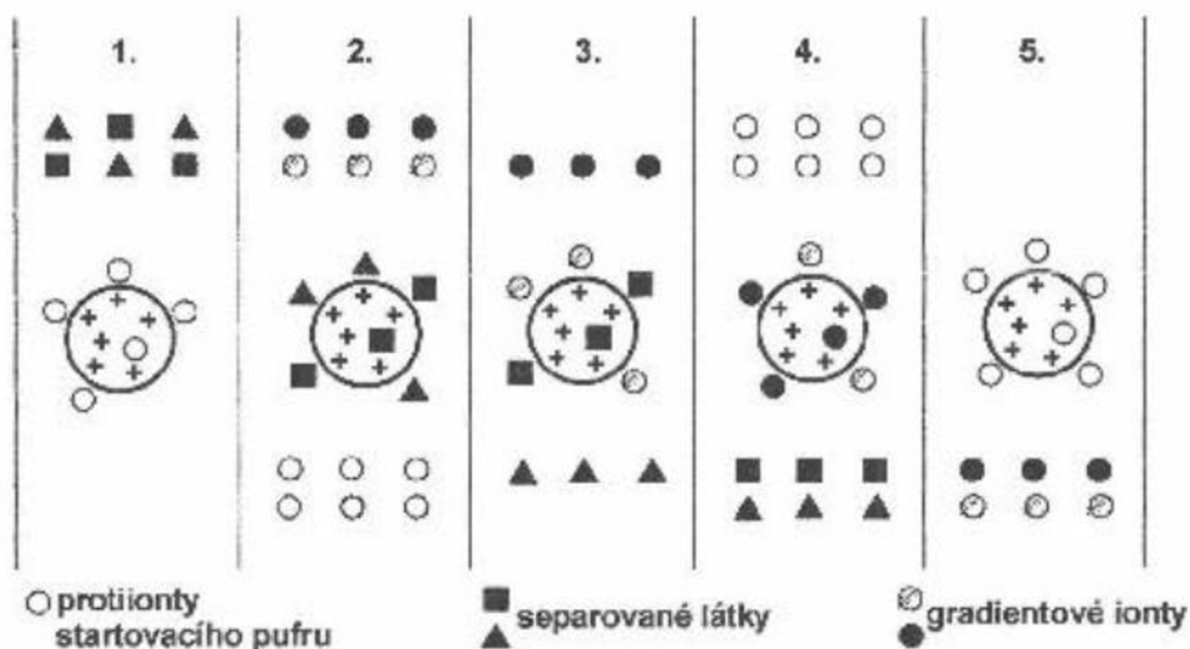
Jako měniče iontů jsou zde využívány matrice, na kterých jsou kovalentními vazbami přichyceny skupiny nesoucí kladný nebo záporný náboj. Ionexy jsou rozděleny podle toho, jakou mají sílu na slabé, střední a silné. Toto označení udává, jaké disociace skupin jsou schopny v závislosti na pH. Silné ionexy jsou schopny fungovat ve velkém rozmezí pH, naopak slabé pracují jen v úzkém profilu [32].

Jako matrice jsou využívány pryskyřice, celulóza a dextranové gely. Pryskyřice jsou zesíťované polymery, na kterých jsou ve velké míře navázány funkční skupiny. Díky tomu, že jsou polymery vysoce zesíťované, je jejich kapacita nízká a hustota náboje vysoká. Tato skutečnost způsobuje, že je vazba mezi měničem a látkou velmi silná. Naopak celulózové ionexy jsou substituovány funkčními skupinami jen málo, a proto mají pro malé ionty velmi malou kapacitu. Pokud by byla celulóza více substituovaná, způsobilo by to rozpustnost celulózy ve vodě. Na rozdíl od pryskyřicových ionexů, který mají pravidelný, kulovitý tvar a průtok roztoku je tak snadný, mají celulózové tvar velmi nepravidelný a jsou měkké.

Dextranové ionexy díky své sacharidové povaze umožňují dobré zesíťování, a tudíž mohou být více substituovány. Jejich kapacita pro malé ionty je na střední úrovni. Jedná se sice o měkké gely, ale průtok látek je díky kulovitému tvaru částic také na střední úrovni [32].

Separace látek pomocí iontové chromatografie probíhá v pěti krocích. Nejprve se ionexy nacházejí v rovnováze s protiionty ze startovacího pufru. Při výběru pufru je nutné brát v potaz charakter separovaných látek. Musejí být zajištěné optimální podmínky, jako je pH prostředí a iontová síla. Čím je iontová síla nižší, tím je separace pomalejší a výsledek má horší rozlišení. V dalších krocích již probíhá samotná separace. Nejprve se na ionex naváže látka ze vzorku, který má být separován. Naopak ty látky, které se na ionexu nezachytí chromatografický systém opustí. Poté dochází k desorpci gradientovými ionty a postupné regeneraci ionexu (**Obrázek 15**). Při desorpci dochází ke změně pH a iontové síly elučního pufru [32].

Při dávkování vzorku je nutné brát v potaz separační kapacitu kolony. Pokud by byla kapacita překročena, nedocházelo by k separaci požadované látky, ale odcházela by jako součást mrtvého objemu.



Obrázek 15: Průběh iontové chromatografie [32]

2.9.1.3 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS)

Metoda využívaná pro detekci těkavých složek vzorků. Od kapalinové chromatografie se liší v použité mobilní fázi. Tou není kapalina, ale nosný plyn. Platí ale pravidlo, že MF nesmí reagovat se vzorkem. U plynové chromatografie je tato skutečnost zajištěna tak, že se jako nosný plyn využívají plyny inertní. Jako nosný plyn je využíván dusík (N_2), který má velmi účinnou separaci látek při malém průtoku. Vodík (H_2), který má sice vysokou průtokovou rychlost, ale horší separaci než N_2 . Při jeho úniku hrozí nebezpečí vznícení. Vhodným kompromisem je helium (He), které má ovšem vyšší pořizovací náklady [33; 34].

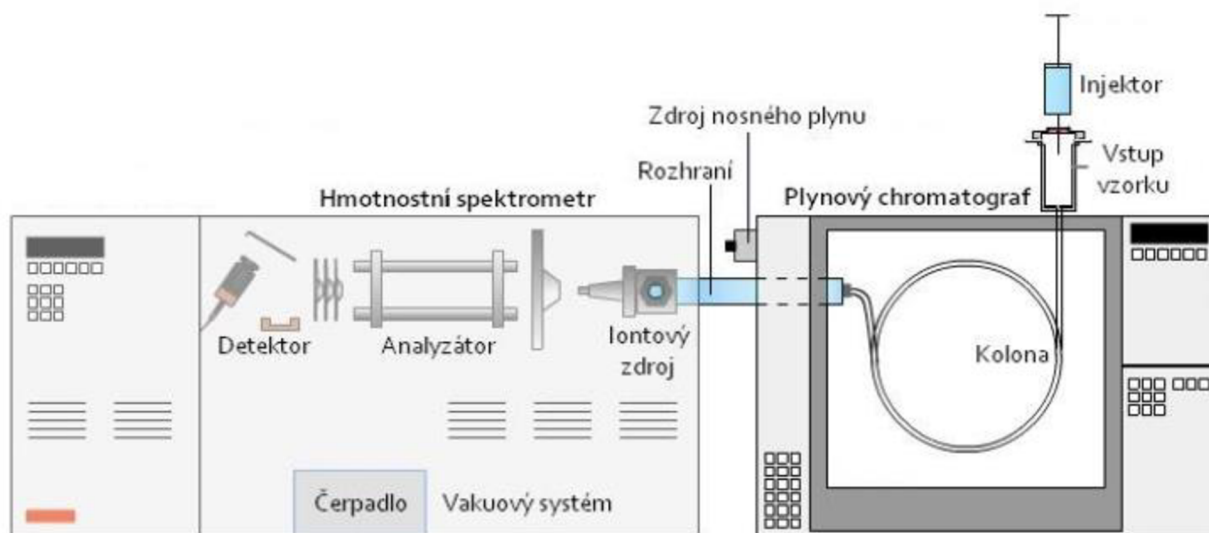
Existují dva základní typy kolon. Náplňové a kapilární.

Náplňové kolony jsou skleněné nebo nerezové trubice o délce 3 m a průměru 3 mm. Využívají dvou retenčních mechanismů. Adsorpční, které jsou využívány k analýze plynů s obtížnou

separací a jsou plněny podle charakteru separovaných látek. Rozdělovací, kde je nosičem pevná inertní částice, na jejímž povrchu je tenká vrstva stacionární fáze, která je volena podle povahy separované látky.

Kapilární kolony jsou tenté křemenné trubice s vrstvou polyimidu, který zajišťuje jejich pružnost a odolnost. Obvyklý průměr je 0,25 mm a délka 10 až 50 m [33; 34].

Tandem s hmotnostní spektrometrií **Obrázek 16** umožňuje spojení výhod obou technik. Látku je možno separovat na základě chromatografie a identifikaci jednotlivých látek na základě poměru hmotnosti a náboje. Výhodou použití kapilárních kolon u GC je možnost spojení přímo s iontovým zdrojem. Nejčastěji je využívána elektronová ionizace, která umožňuje využití knihoven při identifikaci látek. Jako analyzátor je ve většině případů využíván kvadrupol. Kvadrupol se skládá ze 4 tyčí, z nichž 2 a 2 naproti sobě jsou elekticky spojené a je na ně přiváděné stejnosměrná střídavé napětí. Ion vltne mezi tyče, a proto, že se netrefí nikdy doprostřed, je přitahován k tyči s opačným nábojem. Než k ní ale doletí, tyč změni polaritu a začne ion odpuzovat. Ionty s požadovanou m/z projdou kvadrupolem ve šroubovicové trajektorii a dopadají na detektor. Ionty o jiné m/z začnou průměr trajektorie letu zvětšovat a buďto z kvadrupolu vyletí, či narazí do tyče. [35].

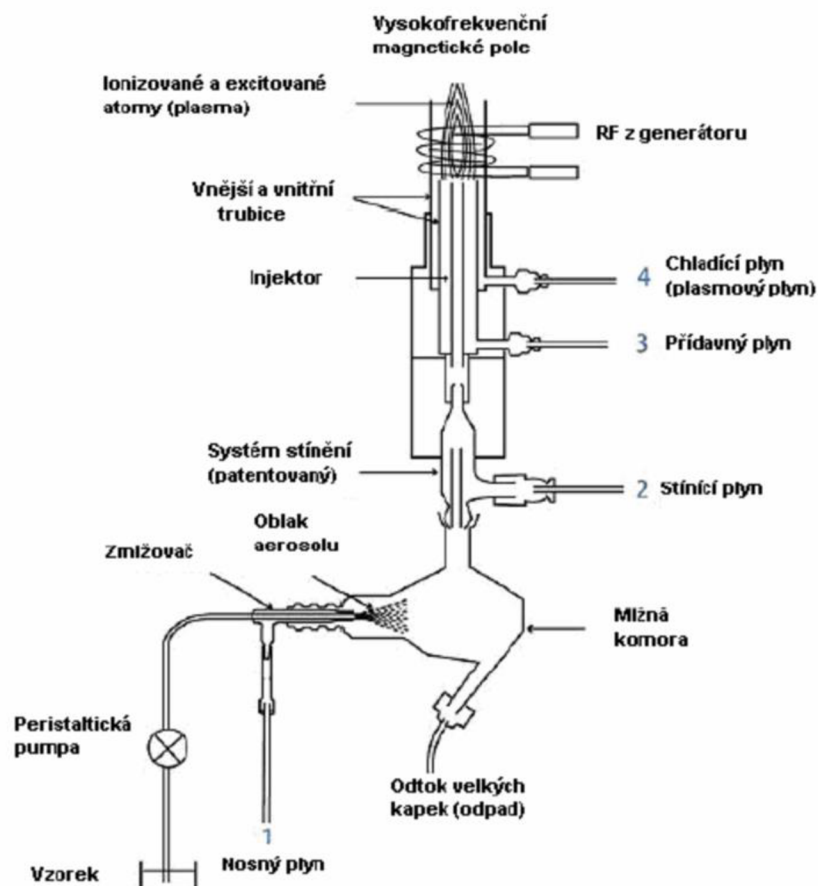


Obrázek 16: Schéma plynového chromatografu s hmotnostní detekcí [36]

2.9.2 Metody prvkové analýzy

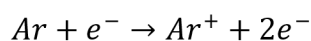
2.9.2.1 Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES)

Metoda využívaná k prvkové analýze kapalných vzorků. Vzorky jsou ionizovány pomocí plazmatu, vytvořeného ze vzácných plynů. Nejvhodnějším plynem pro ionizaci je helium, které je ale velmi nákladné. Proto se nejčastěji využívá argon. Vzácné plyny jsou vhodné zejména pro jednoduchost svých emisních spekter a malou reaktivitu [37; 38].



Obrázek 17: Schéma ICP-OES [37]

Plazma je tvořena v plazmovém hořáku, který se skládá ze dvou křemenných trubice a vnitřní korundové. Vnější trubicí proudí chladicí, plazmový plyn. Střední trubicí proudí argon sloužící k tvorbě plazmatu a třetí, korundovou trubicí proudí aerosol tvořený směsí vzorku a argonu. Vznik samotné plazmy iniciuje výboj z Teslova generátoru. Dochází ke vzniku kladně nabitých iontů argonu a uvolnění elektronů (Rovnice 8). Díky elektromagnetickému poli je zajištěna postupná kolize elektronů s dalšími atomy Ar [37; 38].

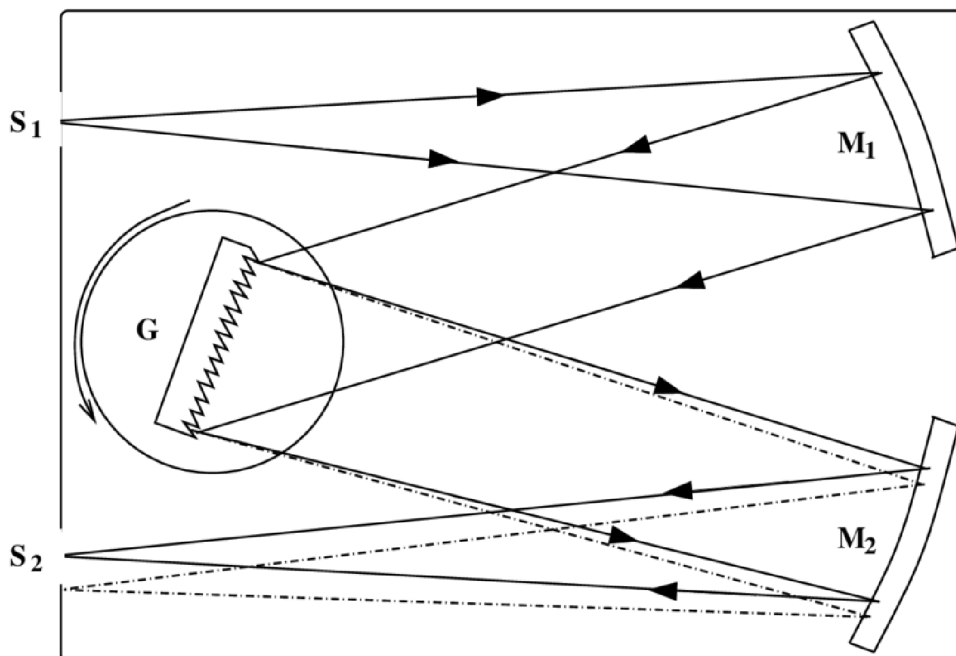


Rovnice 8: Vznik iontů argonu [38]

Vzorek je do systému zaváděn pomocí pneumatického kónického zmlžovače. Kapalný vzorek je nasáván pomocí kapiláry. Nosný plyn prochází zmlžovačem, ve kterém dochází v místě zúžení k poklesu tlaku a je tvořen aerosol. Aerosol proudí dále do mlžné komory. V případě této práce byla využita cyklonová mlžná komora, ve které na aerosol působí odstředivá síla. Ta způsobí, že kapičky větší než 10 μm narazí na stěnu komory a odchází do odpadu, menší kapičky se pravidelně rozmístí a jsou unášeny nosným plynem do plazmatu [37; 38].

Při průchodu vzorku plazmou dochází k excitaci elektronů. Při jejich následné deexcitaci dochází k uvolnění energie o specifické vlnové délce, respektive fotonu o určité frekvenci. Záření dále prochází na monochromátor, Czerny-Turner, který rozloží záření podle

jednotlivých vlnových délek. Skládá se ze vstupní štěrbinu, kterou prochází spojité záření. V ohniskové vzdálenosti se nachází zrcadlo, od kterého se fotony odráží a dopadají na pohyblivou mřížku. Natočením mřížky lze měnit vlnovou délku svazků fotonů. Monochromní záření dopadá na zrcadlo a vychází výstupní štěrbinou na detektor, nejčastěji na fotonásobič **Obrázek 18**. Výstupem je diskrétní (nespojité) atomové emisní spektrum [37; 38].

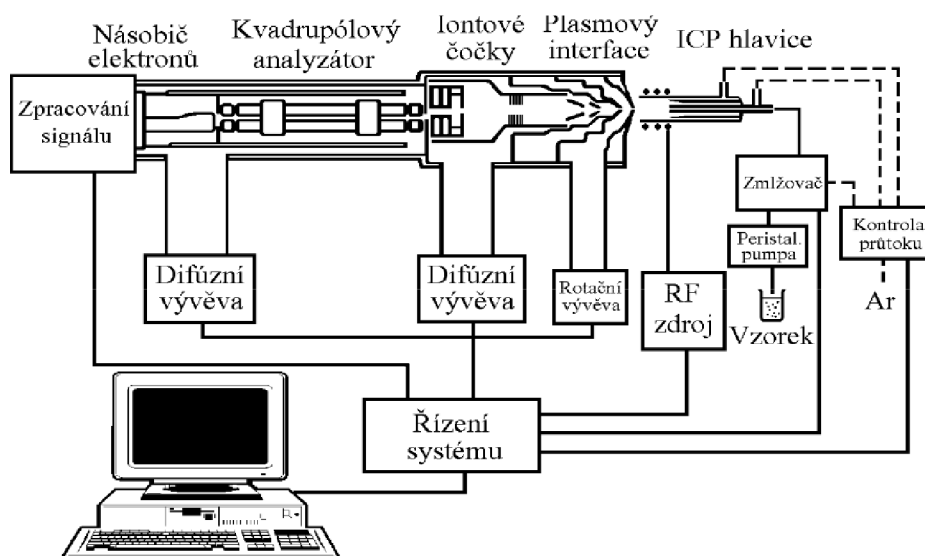


Obrázek 18: Schéma optického systému [37]

2.9.2.2 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

Analytická metoda sloužící k prvkové analýze pevných, kapalných i pevných vzorků. Ze všech dostupných analytických metod má nejnižší meze detekce.

Je stejně jako ICP-OES založena na ionizaci vzorku pomocí plazmy v plazmovém hořáku. Suchý aerosol je atomizován a ionizován v analytickém kanálu. Ionty dále postupují přes skimer do hmotnostního spektrometru, kde je vakuum. Nejdříve prochází analyzátozem, kde jsou separovány na základě poměru hmotnosti a náboje (m/z), a dopadají na detektor.



Obrázek 19: ICP-MS [37]

Kapalné vzorky jsou stejně jako u ICP-OES do systému zaváděny pomocí zmlžovače ve formě aerosolu. Dojde tak k odpaření matrice a látky jsou atomizovány a ionizovány. Ionizující zdroj je nejčastěji argon. Na rozdíl od ICP-OES je plazmová hlavice orientována ve směru letu iontů, aby bylo dosaženo co nejvyšších teplot [37].

Velmi důležitou součástí je přechod z iontového zdroje, kde je atmosférický tlak, do hmotnostního spektrometru, kde je vakuum. K přechodu dochází přes interface, který se skládá ze dvou částí. Sampleru a skimeru. Oba jsou vyrobeny z vodivých kovů, jako je například Cu nebo Pt a jsou chlazeny vodou. Sampler dochází do přímého styku s plazmou. Za ním vytváří rotační olejová vývěva tlak 500 Pa. Dochází tak k expanzi plynu a k poklesu teploty, což zajišťuje eliminaci většiny reakcí. Poté, ve vzdálenosti 6-7 mm následuje skimer a za ním vakuum. Přítomnost vakuu zajišťuje to, že nedochází ke kolizím iontů se vzduchem.

Vakuum je vytvářeno pomocí olejové rotační vývěvy a turbomolekulární pumpy, která je schopna zajistit vakuum až 10^{-6} Pa [37].

Proud iontů je po průchodu skimerem divergentní a může obsahovat i nenabitě částice. Ty je třeba odstranit, aby nedocházelo k šumu na pozadí. Do proudu částic je vložena kovová destička, o kterou se neutrální částice zastaví, ionty se jí vyhnou a putují dál po přesně vymezené dráze, kterou zajišťuje elektrické pole [37].

Jako analyzátor může být využíván kvadrupol, iontová past nebo průletový analyzátor (TOF). Všechny analyzátoři pracují na principu separace m/z

Princip kvadrupolu je popsán v kapitole 2.9.1.3.

Iontová past se skládá ze tří elektrod: 2 krycí a 1 prstencová. Přes krycí elektrodu se do pasti napustí ionty o určité kinetické energii. Do pasti se napustí trochu helia, aby došlo k ochlazení iontů, a to tak, že dojde díky kolizím s heliem ke snížení kinetické energie. Ionty se tak soustředí u středu pasti. Poté dochází ke zvyšování radiofrekvenčního napětí, vkládaného na prstencovou

elektrodu, ionty začínají kmitat v osmičkových trajektoriích a začínají vyletovat ven. Nejprve z pasti vylétávají nejmenší elektrony a poté až těžší [39].

V průletovém analyzátoru (TOF) jsou ionty urychleny v elektrickém poli na stejnou kinetickou energii. Pokud je kinetická energie iontů stejná, liší se hmotnost a rychlost iontů. Tyto zónou vakua, tzv. driftovací, a je měřena doba, za kterou zónu přeletí a dopadnou na detektor [39].

Jako detektor slouží elektronásobič. Ionty dopadají na dynodu a svou kinetickou energií z ní vyrazí elektron. Ten je urychlený ke konverzní dynodě a má takovou energii, aby došlo k vyražení nejméně dvou elektronů. Signál je takto postupně zesilován [39].

2.10 Statistická analýza dat

Pro vyhodnocování experimentálních dat se standardně využívá celé řady statistických metod. Pro vícerozměrnou charakterizaci pozorování je vhodné využívat Analýzy hlavních komponent (PCA) a pro hypotézové testování parametrických a neparametrických testů jako je ANOVA a Kruskal-Wallis.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Vzorky

Pro chemickou charakterizaci byly vybrány tři zástupci PIWI odrůd. Johaniter, Hibernál a Solaris. Aby bylo možné práci realizovat, muselo být zajištěno dostatečné množství vzorů. Tyto byly poskytnuty vinaři z Mikulovské oblasti. Většina vín byla z roku 2018, dva vzorky byly z roku 2017. Zastoupení odrůd bylo rovnoměrné, tedy každá odrůda měla 5 zástupců.

Kompletní seznam vzorků je uveden v **Tabulka 5**.

Tabulka 5: Seznam vzorků

| Označení vzorku | Odrůda | Obec | Trat' | Ročník | Vinařství |
|-----------------|-----------|------------------|---------------|--------|-----------|
| 1A | Johaniter | Perná | Věstonsko | 2018 | Baláž |
| 2A | Johaniter | Perná | Věstonsko | 2018 | Volařík |
| 3A | Johaniter | Břeží | Liščí vrch | 2018 | Kadrnka |
| 4A | Johaniter | Horní Věstonice | U Venuše | 2018 | Červinka |
| 5A | Johaniter | Břeží | Ořechová hora | 2018 | Kňourek |
| 6A | Hibernál | Dolní Dunajovice | Plotny | 2018 | Baláž |
| 7A | Hibernál | Perná | Věstonsko | 2018 | Volařík |
| 8A | Hibernál | Břeží | Ořechová hora | 2018 | Kňourek |
| 9A | Hibernál | Dolní Dunajovice | Mlýnská | 2018 | Bařina |
| 10A | Hibernál | Mikulov | X | 2017 | Machů |
| 11A | Solaris | Dolní Dunajovice | Mlýnská | 2018 | Baláž |
| 12A | Solaris | Mikulov | Za Tuoldem | 2018 | Volařík |
| 13A | Solaris | Mikulov | Za Tuoldem | 2017 | Tichý |
| 14A | Solaris | Horní Věstonice | Pod Martinkou | 2018 | Červinka |
| 15A | Solaris | Břeží | Ořechová hora | 2018 | Kňourek |

3.2 Laboratorní vybavení

3.2.1 Chemikálie

- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma-Aldrich, Švýcarsko)
- Bezvodý uhličitan sodný (Lachema, Česká republika)
- Kyselina sírová 96% (Penta, Česká republika)
- Methanol v HPLC čistotě (Lach-ner, Česká republika)
- Kyselina mravenčí (Fluka, Švýcarsko)
- Acetonitril (Sigma-Aldrich, Německo)
- Standardy pro IC: malát, laktát, sukcinát, acetát, formiát, citrát (Fluka, Švýcarsko)
- Standardy pro HPLC: kyselina galová, katechin, kyselina vanilová, kyselina kumarová, kyselina ferulová, kyselina sinapová (Sigma-Aldrich, Německo)
- Standardy pro ICP-OES: Na, K, Ca, P, Pb, Sr (Analytika Praha)

3.2.2 Pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Plastové zkumavky (10 ml)
- Mikropipety, špičky
- Skleněné vialky, septa
- Injekční stříkačky
- Mikrofiltry o velikosti pórů 0,45 μm

3.2.3 Přístroje

- OenoFoss
- Iontový chromatograf Metrohm 850
- Spektrofotometr
- Kapalinový chromatograf Agilent 1200
- Plynový chromatograf *TraceTM 1310* s hmotnostním detektorem *ISQTM LT*
- Horiba Jobin Yvon, typ Ultima 2

3.3 Příprava vzorků

Vzorky vína byly připravovány různým způsobem dle analýz. Pro stanovení antioxidační aktivity a celkových fenolů nebyly vzorky ředěny, pouze filtrovány přes sříkačkový filtr o velikosti pórů 0,45 μm . Pro stanovení organických kyselin a fenolických látek byla vína zředěna deionizovanou vodou v poměru 1:1 a přefiltrována přes sříkačkový filtr o velikosti pórů 0,45 μm . Pro prvkovou analýzu na ICM-OES byla vína 10x zředěna deionizovanou vodou

3.4 Popis stanovení jednotlivých charakteristik

3.4.1 Obecná analýza vín z vybraných PIWI odrůd

Obecná charakterizace vzorků byla realizována pomocí přístroje OenoFoss v komerční laboratoři. Přístroj pracuje na principu Fourierovy transformace. Tímto způsobem byly stanoveny alkoholy, zbytkové sacharidy (součet glukóza + fruktóza) a celkové kyseliny.

3.4.2 Stanovení organických kyseliny ve vybraných PIWI odrůdách

Organické kyseliny byly stanoveny pomocí iontového chromatografu Metrohm 850 s vodivostním detektorem. Jako mobilní fáze byla použita 0,5mmol/l kyselina sírová s 15 % acetonu. Separace probíhala za podmínek uvedených v **Tabulka 6**

Tabulka 6: Podmínky separace organických kyselin

| | |
|---------------------|----------------------------------|
| Doba analýzy | 30 min |
| Kolona | Methrosep Organic Acid – 250/7.8 |
| Průtok | 0,5 ml/min |
| Tlak | 6,85 MPa |
| Teplota | 30 °C |

3.4.3 Stanovení antioxidační aktivity a celkových fenolických látek

Pro stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda TEAC. Ve zkumavkách byl smíchán 1 ml ABTS a 10 μ l vzorku. Po 15 min byl při $\lambda = 734$ nm změřen úbytek volných radikálů ABTS⁺. Každý vzorek byl změřen 3x. Pro výpočet byla využita kalibrační křivka Troloxu.

Pro stanovení celkových polyfenolů bylo využito Folin-Ciocalteuovo činidlo. Ve zkumavkách bylo smícháno 1 ml činidla, 1 ml MQ vody a 100 μ l vzorku. Po 5 min byl do zkumavek přidán Na₂CO₃ a zkumavky byly ponechány v temnu dalších 30 min. Poté byla změřena absorbance při $\lambda = 765$ nm. Obsah celkových polyfenolů byl vypočten pomocí kalibrační křivky kyseliny gallové a vyjádřen jako ekvivalent.

3.4.4 Stanovení fenolických látek ve vybraných PIWI odrůdách pomocí HPLC

Fenolické látky byly vybrány na základě jejich vlivu na sensorické a organoleptické vlastnosti vína **Tabulka 7**. Stanovení bylo prováděno pomocí kapalinového chromatografu Agilent 1260 s detektorem s diodovým polem (DAD). Jako mobilní fáze byl použit 100% acetonitril (A) a 2% kyselina mravenčí (B). Separace probíhala pomocí gradientové eluce: 0-10 min 88% A, 12% B; 10-11 min 80% A a 20% B; 11-24 min 40% A, 60% B; 24-35 min 88% A, 12% B. Podmínky analýzy jsou uvedeny v **Tabulka 8**.

Tabulka 7: Stanovované fenolické kyseliny

| Analyt | Retenční čas [min] | Vlnová délka DAD [nm] |
|--------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| Kyselina gallová | 2,50 | 280 |
| Katechin | 4,26 | 280 |
| Kyselina kávová | 5,90 | 300 |
| Kyselina vanilová | 6,37 | 300 |
| Kyselina kumarová | 10,35 | 300 |
| Kyselina ferulová | 12,53 | 330 |
| Kyselina sinapová | 12,79 | 330 |

Tabulka 8: Podmínky separace fenolických látek

| | |
|---------------------------|-------------|
| Teplota termostatu | 40 °C |
| Objem nástřiku | 5 μ l |
| Průtok | 0,75 ml/min |

3.4.5 Stanovení těkavých látek ve vínech z vybraných PIWI odrůd pomocí GC/MS

Těkavé látky ve vínech z vybraných PIWI odrůd byly detekovány pomocí plynového chromatografu *TraceTM 1310* s hmotnostním detektorem *ISQTM LT*. Podmínky SPME extrakce jsou uvedeny v **Tabulka 9**, podmínky GC/MS detekce jsou uvedeny v **Tabulka 10**.

Tabulka 9: Podmínky SPME extrakce

| | | |
|-------------------------|----|-----|
| Doba inkubace | 5 | Min |
| Teplota inkubace | 40 | °C |
| Doba extrakce | 30 | Min |

Tabulka 10: Podmínky GC/MS detekce

| | | |
|---------------------------------|--|--------|
| Teplota injektoru | 250 | °C |
| Doba desorpce | 7 | min |
| Průtok nosného plynu | 1 | ml/min |
| Teplotní program | 40 °C po dobu 1 min, vzestupný gradient 2 °C/min 100 °C po dobu 3 min, vzestupný gradient 5 °C/min 130 °C po dobu 5 min, vzestupný gradient 2 °C/min 220 °C po dobu 2 min | |
| Celková doba analýzy | 100 | min |
| Teplota iontového zdroje | 230 | °C |

3.4.6 Prvková analýza vín z vybraných PIWI odrůd pomocí ICP-OES

Prvkové složení vzorků vín z vybraných PIWI odrůd bylo změřeno na přístroji *Horiba Jobin Yvon*, typ *Ultima 2*. Ve vzorcích byly stanovovány 4 makroprvky (Ca, K, Na, P) a dva mikroprvky (Sr, Rb), za podmínek uvedených v a jako detektor byl použit fotonásobič. Podmínky analýzy jsou uvedeny v **Tabulka 11**.

Tabulka 11: Podmínky prvkové analýzy

| | Makroprvky | Mikroprvky | |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|--------|
| Výkon | 1200 | 1400 | W |
| Otáčky pumpy | 15 | 18 | ot/min |
| Průtok plazmového plynu | 14 | 14 | l/min |
| Průtok stínícího plynu | 0,8 | 0,5 | l/min |
| Tlak zmlžovače | 3 | 3 | bar |

3.5 Statistická analýza dat

Pro zjištění rozdílů mezi víny z vybraných PIWI odrůd bylo použito hypotézového testování. Nejprve byl použit Grubbsův test pro odlehle hodnoty, dále byla zjištěna normalita dat pomocí

testu Shapiro-Wilka. Data s normálním rozložením byly dále otestovány na homogenitu pomocí Leveneho testu. Pokud byla data shledána jako homogenní, s normálním rozdělením, byly provedena ANOVA, v opačném případě byl proveden neparametrický test Kruskal-Wallis. U obou testů byla nastavena hladina významnosti 95 %. Pro zjištění statisticky významných rozdílů byly definovány dvě hypotézy. Hypotéza H_0 určovala, že mezi daty nejsou statisticky významné rozdíly. Naopak hypotéza H_1 určovala, že mezi daty statisticky významné rozdíly jsou.

Vícerozměrná analýza dat byla provedena pomocí metody PCA s pearsonovou korelací. Vizualizace pozorování byla realizována do dvou rozměrného prostoru prvních dvou komponent. Tato analýza v této diplomové práci sloužila ke grafickému zobrazení charakteristik vín z PIWI odrůd.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato kapitola se zabývá prezentací a diskuzí všech dosažených výsledků. Jednotlivé kapitoly jsou členěny dle skupin stanovovaných látek.

4.1 Obecné charakteristiky vybraných PIWI odrůd

Výsledky stanovení základních parametrů ve vínech z PIWI odrůd jsou prezentovány v **Tabulka 12**.

Tabulka 12: Obecné charakteristiky PIWI odrůd

| | | Alkohol [vol%] | Glukóza + fruktóza [g/l] | Celkové kyseliny [g/l] |
|------------|----------|--------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| JOH | Min | 12,0 | 2,9 | 6,0 |
| | Max | 14,0 | 11,1 | 7,2 |
| | Průměr | 13,0 | 7,9 | 6,9 |
| | Odchylka | 1,0 | 3,5 | 0,5 |
| HIB | Min | 13,0 | 1,2 | 6,1 |
| | Max | 13,5 | 37,4 | 7,7 |
| | Průměr | 13,2 | 10,7 | 6,7 |
| | Odchylka | 0,3 | 15,1 | 0,6 |
| SOL | Min | 12,0 | 9,1 | 5,6 |
| | Max | 13,5 | 61,2 | 7,6 |
| | Průměr | 12,8 | 37,1 | 6,9 |
| | Odchylka | 0,6 | 19,8 | 0,8 |

U všech vín z vybraných PIWI odrůd byl stanoven obsah alkoholu, zbytkového cukru vyjádřený jako suma glukózy a fruktózy a celkových kyselin. U vín vyrobených z Johaniteru byl stanovený průměrný obsah alkoholu na 13,0 vol%, Hibernalu na 13,2 vol% a u Solarisu na 12,8 vol%. U výsledků byla provedena analýza rozptylu ANOVA, která neprokázala statisticky významné rozdíly ($P = 0,6610$). U vín z PIWI odrůd zkoumaných v práci Kapusty a kol. (2016) byl průměrný obsah alkoholu u vín z Johaniteru 12,1 vol%, u Hibernalu 12,5 vol% a u Solarisu 12,8 vol%. V článku J. Liu a kol. (2015), kde se autoři zabývali pouze víny z odrůdy Solaris, byl obsah alkoholu stanoven v rozmezí 10,0 – 13,5 vol%.

Dalším zkoumaným parametrem byl obsah glukózy a fruktózy. U vín v této diplomové práci byl průměrný obsah zbytkového cukru stanoven u vín z odrůdy Johaniter na 7,9 g/l, u Hibernalu 10,7 g/l a u Solarisu 37,1 g/l. Výsledky byly podrobeny testu na statisticky významné rozdíly, u kterého vyšla P hodnota 0,0144, následně Tukeyho test odhalil odchylky mezi víny z odrůd Solaris a Johaniter. U polských vín vyrobených z PIWI odrůd byl u odrůdy Johaniter stanoven průměrný obsah zbytkového cukru na 0,54 g/l, u Hibernalu na 1,38 g/l a u Solarisu 0,66 g/l [35]. V publikaci J. Liu a kol. (2015) je obsah glukózy a fruktózy uveden v rozmezí 0,05-16,1 g/l. PIWI odrůdy mají díky své velké listové ploše výbornou schopnost absorbovat sluneční

záření a tím pádem mohou tvořit a ukládat cukr do bobulí [1]. Rozdíly v cukernatosti tak mohou být způsobeny stanovištěm, kde byla réva pěstována.

Mezi obsahem celkových kyselin u testovaných vzorků vín není významný rozdíl ($P=0,8589$). U vín z odrůdy Johaniter je průměrná koncentrace 6,9 g/l, stejně tak u Solarisu. U vín z Hibernalu je koncentrace 6,7 g/l. U vín z PIWI z Polska je u Hibernalu 6,2 g/l celkových kyselin, u Johaniteru 7,4 g/l a u Solarisu 6,0 g/l [35]. U vín ze Solarisu z Dánska se obsah kyselin pohyboval v rozmezí 5,51-9,2 g/l.

4.2 Stanovení organických kyselin ve vybraných PIWI odrůdách

V této kapitole jsou prezentovány a diskutovány výsledky stanovení organických kyselin ve vzorcích vína z vybraných PIWI odrůd (**Tabulka 13**). Obsah organických kyselin ve víně velmi závislý na podmínkách, na způsobu pěstování a na vifikaci [40]. Množství kyselin však hraje ve víně důležitou roli. Je hlavním parametrem určujícím kvalitu vína. Ovlivňuje nejen sensorické, ale i organoleptické vlastnosti. Má vliv na proces stárnutí vína, a především na mikrobiologickou stabilitu [26].

Tabulka 13: Organické kyseliny ve vybraných PIWI odrůdách

| | | Kyseliny citronová [mg/l] | Kyselina jablečná [mg/l] | Kyselina jantarová [mg/l] | Kyselina mléčná [mg/l] | Kyselina mravenčí [mg/l] | Kyselina octová [mg/l] |
|------------------|----------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| JOH | Min | 106,4 | 788,0 | 125,6 | 110,3 | 0,26 | 136,9 |
| | Max | 155,2 | 1011 | 406,5 | 273,9 | 1,02 | 264,1 |
| | Průměr | 141,7 | 868,7 | 277,0 | 220,7 | 0,63 | 217,8 |
| | Odchylka | 19,96 | 87,59 | 101,9 | 75,48 | 0,31 | 49,17 |
| HIB | Min | 121,1 | 742,1 | 83,03 | 35,89 | 0,26 | 147,6 |
| | Max | 205,4 | 1286 | 213,9 | 137,5 | 1,23 | 359,7 |
| | Průměr | 145,7 | 984,9 | 173,3 | 69,89 | 0,53 | 262,2 |
| | Odchylka | 35,38 | 202,1 | 51,67 | 40,75 | 0,40 | 86,28 |
| SOL | Min | 99,04 | 735,0 | 182,6 | 99,43 | 0,09 | 180,2 |
| | Max | 158,8 | 971,6 | 364,8 | 213,6 | 0,64 | 394,8 |
| | Průměr | 125,9 | 850,6 | 247,2 | 139,3 | 0,26 | 327,4 |
| | Odchylka | 21,86 | 96,54 | 70,68 | 47,20 | 0,23 | 99,64 |
| P hodnota | | 0,4866 | 0,2893 | 0,1360 | 0,0058 | 0,2461 | 0,1656 |

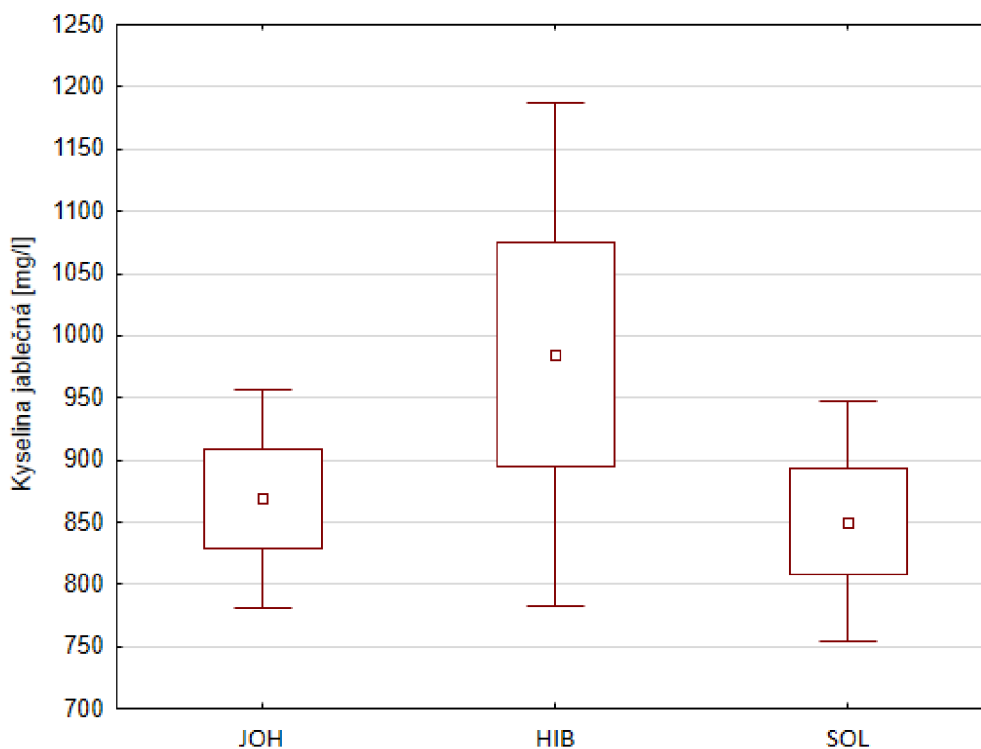
Nejvíce zastoupenou organickou kyselinou byla u všech vzorků kyselina jablečná (**Obrázek 20**). Nejvyšších koncentrací dosahovala u odrůdy Hibernál, v průměru 984,95 mg/l. Vína z odrůd Johaniter a Solaris obsahovaly v průměru velmi podobné množství množství, a to

868,74 a 850,63 mg/l. Výsledky byly podrobeny analýze rozptylu ANOVA, která však mezi víny z třech testovaných PIWI odrůd neprokázala statisticky významný rozdíl ($P = 0,2893$).

A.Robles a kol. (2019) [40] ve svém článku shodně uvádí, že nejvíce zastoupenou organickou kyselinou ve vzorcích je výše zmíněná kyselina jablečná spolu s kyselinou vinnou. Kyselina jablečná má dle R. Garrida-Delgada a kol. (2013) původ v hroznech. Nejvyšší koncentrace dosahuje v zelených bobulích a s postupným dozráváním její obsah klesá [25]. J. Zeravik a kol (2016) [42], se ve svém článku zabývá stanovením kyselin v Moravských vínech ze Znojemské podoblasti. Pro srovnání byly zvoleny odrůdy Ryzlinky rýnský a Rulandské šedé, a to z toho důvodu, že vybraní zástupci PIWI odrůd vznikly jejich křížením s odrůdami Seibel a Vilard blanc. Koncentrace kyseliny jablečné dosahují až trojnásobku množství stanoveného u vzorků PIWI odrůd. Tato nuance je způsobena především rozdílnou zralostí při sběru hroznů. Při příliš brzkém sběru může v průměru koncentrace kyseliny jablečné u Rulandského šedého typu vystoupat až na 8500 mg/l, naopak u Ryzlinku rýnského nebude, ani při nejvyšší zralosti, nižší než 2600 mg/l [43].

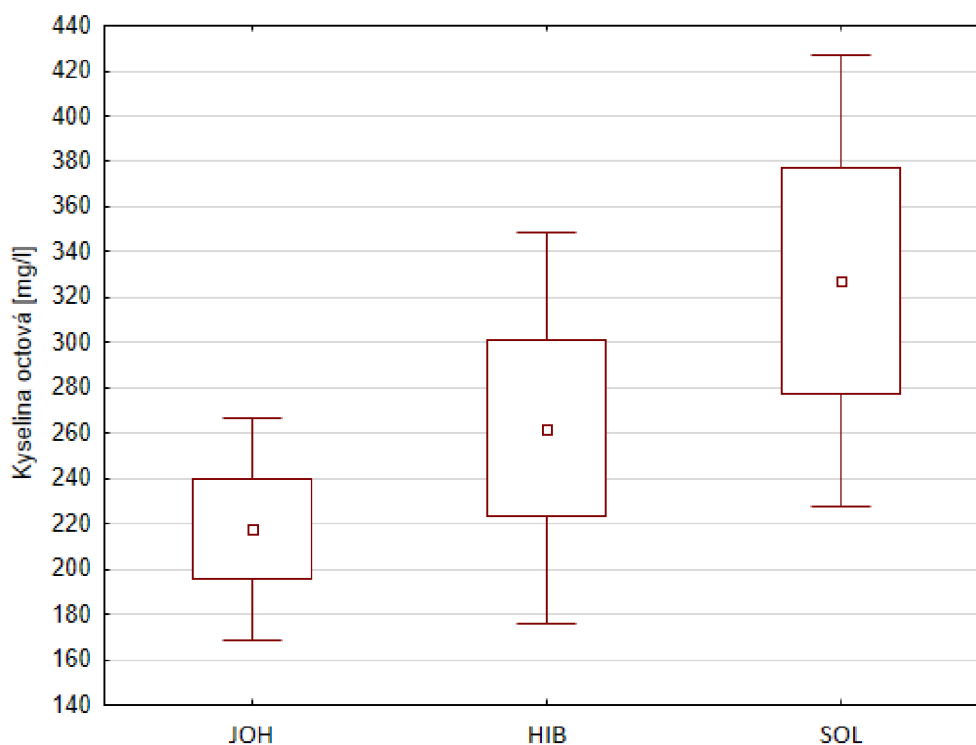
Víny z PIWI odrůd se ve své studii zabývají také Kapusta a kol. (2017). Obsah kyseliny jablečné uvedli u vín z Hibernalu 3520 mg/l, u Johaniteru 3570mg/l a u Solarisu 2950 mg/l.

V článku J. Liu a kol. (2015) se autoři zabývají identifikací vybraných organických kyselin vín odrůdy Solaris, pěstované v Dánsku. Jimi stanovené koncentrace pro kyselinu jablečnou se pohybují v rozmezí 1690-3800 mg/l a potvrzují, že obsah kyselin ve vínech je velmi závislý na podmínkách pěstování a způsobu zpracování. Tyto vyšší hodnoty kyseliny jablečné ukazují, že v severských zemích odrůda Solaris nedosahuje takové vyzrállosti jako na území České republiky, kde se ve stanovovaných vzorcích pohybuje kyselina jablečná v rozmezí 735-1286 mg/l.



Obrázek 20: Obsah kyseliny jablečné ve vínech z vybraných PIWI odrůd

Druhou nejvíce zastoupenou kyselinou byla kyselina octová (**Obrázek 21**). Její koncentrace se u většiny stanovovaných vzorků PIWI odrůd pohybovala v rozmezí 100-400 mg/l. Nejméně kyseliny octové v průměru obsahovaly vína z odrůdy Johaniter 217,8 mg/l a Hibernál 262,2 mg/l. Největší množství bylo detekováno u odrůdy Solaris, a to v průměru 327,4 mg/l. Po provedení testu na odlehlé hodnoty byl z analýzy vyřazen vzorek 15A_SOL u kterého byla koncentrace kyseliny octové stanovena na 2230,37 mg/l, což je dvojnásobek limitu povoleného zákonem č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství. Nadměrná přítomnost kyseliny octové může mít hned několik příčin. Nejvíce pravděpodobný je vznik již během kvašení. Alkoholová fermentace probíhala rychle a za přítomnosti kyslíku. Solaris dosahuje vysokého stupně zralosti již v druhé polovině srpna, je tedy zpracováván za velmi vysokých teplot, které fermentaci urychlují. Řešením je v tomto případě použití suchého ledu pro ochlazení rmutu a následné využití chladících kvasných tanků [7]. Solaris je ovšem ke zvýšené koncentraci náchylný i díky svému původu. K jeho šlechtění bylo jako rodičovská odrůda použito Rulandské šedé. Z článku J. Zeravika a kol. [42] vyplývá, že Rulandské šedé je na tvorbu těkavých kyselin také náchylné. U vín vyrobených z této odrůdy stanovili koncentraci kyseliny octové 501,43 mg/l. Ve stejné práci byl publikován obsah kyseliny octové i u vín z odrůdy Ryzlink rýnský. Průměrně vína obsahovala 464,7 mg/l, což je výrazně více, než je prezentováno u vín v této diplomové práci. Náchylnost Solarisu k vyššímu obsahu kyseliny octové potvrzuje i práce Kapusty a kol. (2016), kteří průměrný obsah u vín z této odrůdy stanovili na 350 mg/l, zatím co u vín z Hibernálu uvedli koncentraci 150 mg/l a u Johaniteru 160 mg/l.



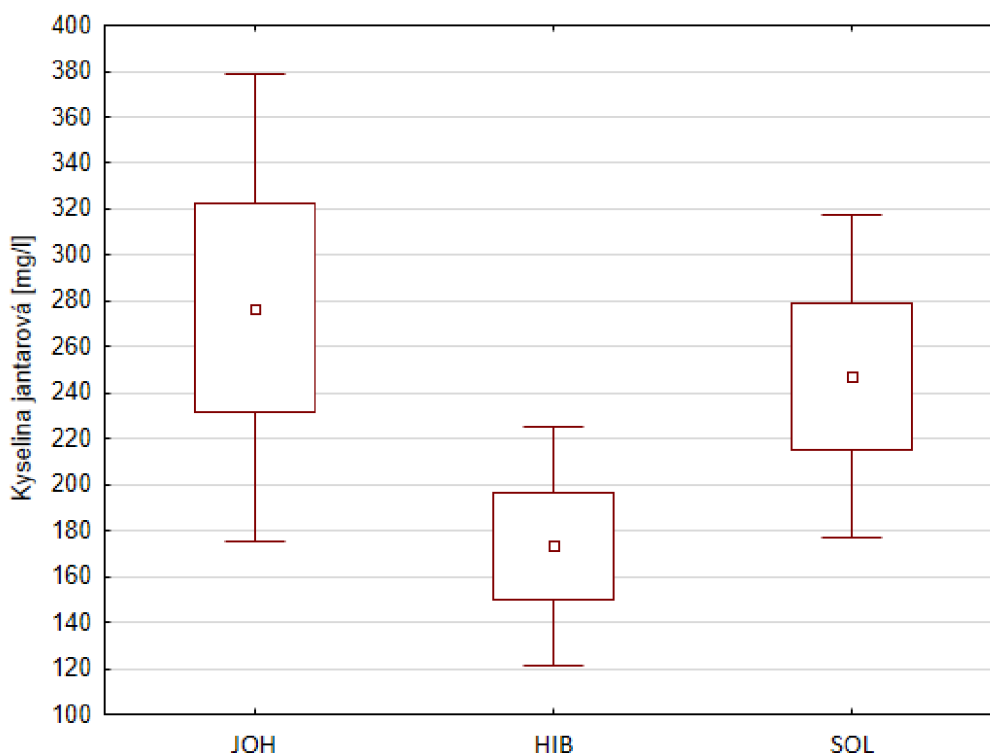
Obrázek 21: Obsah kyseliny octové ve vínech z vybraných PIWI odrůd

Další analyzovanou kyselinou byla kyselina jantarová (**Obrázek 22**). Koncentrace kyseliny jantarové se v analyzovaných vzorcích pohybovala v rozmezí 83-406 mg/l. Nejvíce zastoupená byla u vín z odrůdy Johaniter, 277,08 mg/l. Následoval Solaris s 247,2 mg/l a Hibernál 173,3

mg/l. Po provedení analýzy rozptylu ANOVA nebyl u kyseliny jantarové zjištěn statisticky významný rozdíl ($P = 0,1142$). J. Zeravik a kol. (2016) stanovili u vín vyrobených z odrůdy Rulandské šedé 405,4 mg/l a u vín z odrůdy Ryzlink rýnský 619,0 mg/l kyseliny jantarové.

U vín z PIWI odrůd v publikaci Kapusty a kol. (2016) je uvedena průměrná koncentrace u Johaniteru 1710,0 mg/l, u Solarisu 900,0 mg/l a u Hibernalu 770 mg/l.

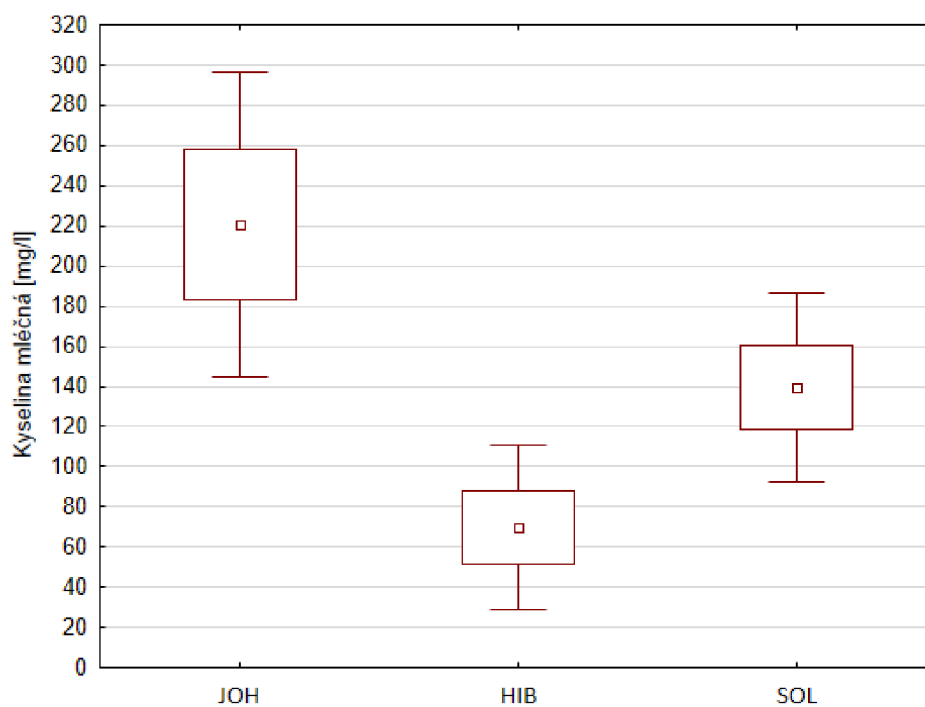
Nízké koncentrace kyseliny jantarové v této diplomové práci vypovídají o tom, že ve vínech neproběhla jablečno-mléčná fermentace. Koncentrace kyseliny jantarové stoupá přímo úměrně s přibývajícím množstvím kyseliny mléčné, protože slouží jako inhibitor jablečno-mléčného kvašení [7].



Obrázek 22: Obsah kyseliny jantarové ve vínech z vybraných PIWI odrůd

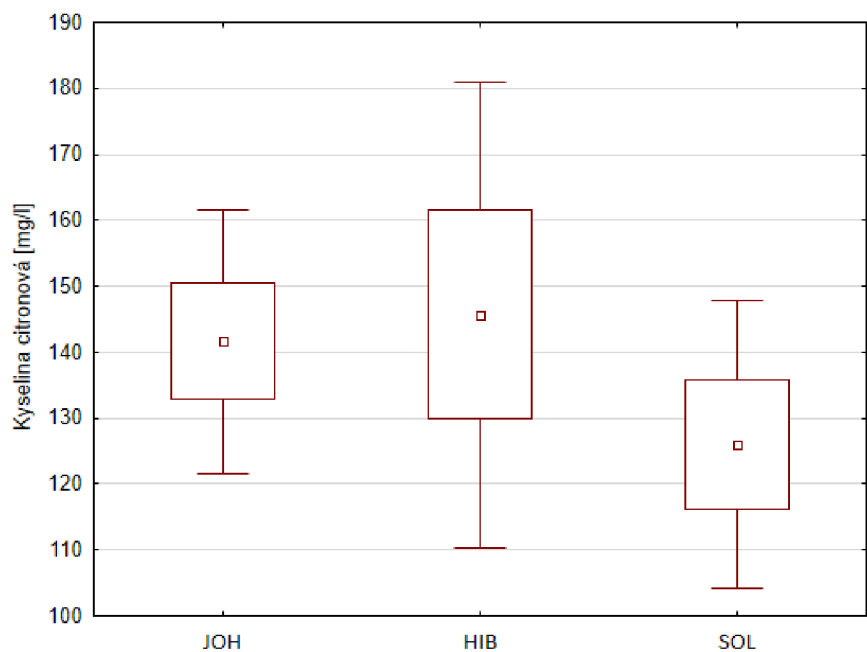
Koncentrace kyseliny mléčné v analyzovaných vzorcích se pohybovala v rozmezí 35,9 – 273,9 mg/l (**Tabulka 13**). Tato kyselina se v hroznech vyskytuje pouze ve velmi malém množství, ale vlivem působení mléčných bakterií koncentrace roste [7]. byla nejvíce zastoupena v Johaniteru 220,7 mg/l (**Obrázek 23**). Následoval Solaris 139,3 mg/l a Hibernal 69,9 mg/l. Velmi nízká koncentrace kyseliny mléčné v analyzovaných vzorcích nasvědčuje tomu, že jablečno-mléčná fermentace proběhla během vinifikace pouze v malé míře. Po provedení analýzy rozptylu ANOVA byl zjištěn statisticky významný rozdíl $P = 0,0219$. Pro zjištění odlišnosti mezi vzorky v rámci kyseliny mléčné, byl proveden Tukeyho test. Tento prokázal odlišnost mezi odrůdou Johaniter a Hibernal ($P = 0,006$). Mezi odrůdou Johaniter a Solaris a Hibernal a Solaris rozdíl prokázán nebyl ($P = 0,2112$ a $P = 0,1318$).

U vín z odrůdy Rulandské šedé se průměrně vyskytovala v koncentraci 753,7 mg/l a u vín z odrůdy Ryzlink rýnský je její obsah nižší, 344,1 mg/l [42]. U vín PIWI odrůd zkoumaných Kapustou a kol. (2016) byla průměrná koncentrace u odrůdy Johaniter 430 mg/l, u Solarisu 220 mg/l a u Hibernalu 80 mg/l.



Obrázek 23: Obsah kyseliny mléčné ve vínech z vybraných PIWI odrůd

Koncentrace kyseliny citronové, která pochází stejně jako kyselina jablečná z hroznů, se během procesu vinifikace a ležení významně nemění (**Obrázek 24**). Její koncentrace většinou nepřekračuje 500 mg/l, pokud je přítomna ve vyšším množství, jsou hrozny velmi pravděpodobně napadeny plísní *Botrytis cinerea* [7]. Koncentrace u všech zkoumaných vzorků tuto hranici nepřekročila. Největší zastoupení měla kyselina citronová u vín z odrůdy Hibernál, a to 145,69 mg/l. Následoval Solaris se 125,97 mg/l a Johaniter se 141,78 mg/l. Po provedení analýzy rozptylu ANOVA lze konstatovat, že mezi odrůdami není statisticky významný rozdíl ($P = 0,5943$). V jiné studii zabývající se víny z PIWI odrůd byly stanoveny průměrné koncentrace u vín z Hibernálu na 150 mg/l, Johaniteru 160 mg/l a u Solarisu 350 mg/l [44]. Při porovnání s prací J. Zeravika a kol (2016) je zřejmé, že PIWI odrůdy měly mnohonásobně nižší koncentraci kyseliny citronové, než u vín z odrůdy Rulandské šedé, kde je průměrná koncentrace 390,65 mg/l. Zvýšená koncentrace byla zaznamenána pouze u vín z odrůdy Solaris, kde je patrný vliv rodičovské odrůdy Rulandského šedého. Nižší obsah kyseliny citronové značí menší napadení ušlechtilou plísní, což potvrzuje vyšší odolnost PIWI odrůd vůči houbovým chorobám [1].



Obrázek 24: Obsah kyseliny citronové ve vínech z vybraných PIWI odrůd

Nejméně zastoupenou kyselinou byla kyselina mravenčí, která je produktem činnosti kvasinek. Je zastoupena pouze ve stopovém množství. Pokud by obsah kyseliny mravenčí překračoval koncentraci 600 mg/l značilo by to napadení vína octovými bakteriemi [41]. Nejvíce zastoupená byla u Johaniteru 0,63 mg/l. Dále pak u Hibernalu 0,53 mg/l a Solarisu 0,26 mg/l. Byla provedena analýza rozptylu ANOVA, která prokázala, že mezi obsahem kyseliny mravenčí u jednotlivých odrůd není statisticky významný rozdíl ($P = 0,2460$).

4.3 Stanovení antioxidační aktivity a celkových fenolických látek ve vybraných PIWI odrůdách

V této kapitole jsou prezentovány a diskutovány výsledky stanovení celkových fenolů a antioxidační aktivity ve vínech z vybraných PIWI odrůd uvedené v **Tabulka 14**. Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí metody TEAC, čili vyjádřena jako ekvivalent standardu Troloxu v mmol/l. Metoda využívá schopnost antioxidantů ve vzorku zhášet kyslíkové radikály ABTS⁺.

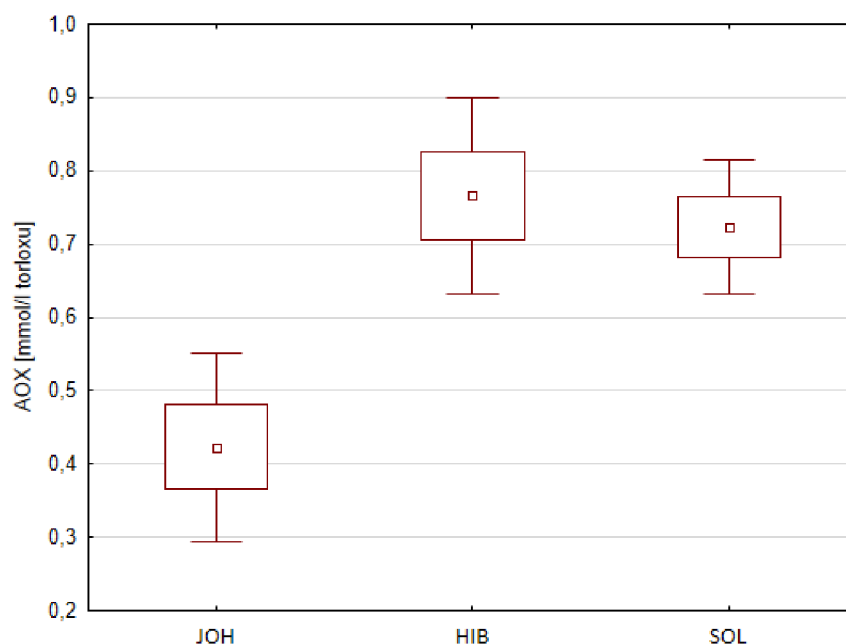
Tabulka 14: Antioxidační aktivita a celkové fenoly u vybraných PIWI odrůd

| | | Antioxidační aktivita [mmol/l troloxu] | Celkové fenoly [mg/l] |
|------------------|----------|---|----------------------------------|
| JOH | Min | 0,2988 | 292,26 |
| | Max | 0,6336 | 360,65 |
| | Průměr | 0,4228 | 330,00 |
| | Odchylka | 0,1294 | 25,951 |
| HIB | Min | 0,6091 | 273,55 |
| | Max | 0,9683 | 390,32 |
| | Průměr | 0,7659 | 307,81 |
| | Odchylka | 0,1348 | 47,830 |
| SOL | Min | 0,6182 | 327,74 |
| | Max | 0,8270 | 370,65 |
| | Průměr | 0,7234 | 350,39 |
| | Odchylka | 0,0911 | 18,834 |
| P hodnota | | 0,0013 | 0,1712 |

Z výsledků vyplývá, že nejvyšší antioxidační kapacitu vykazovaly vína z odrůdy Hibernál, a to průměrně 0,7659 mmol/l troloxu. Téměř identická hodnota byla zjištěna u odrůdy Solaris, tedy průměrně 0,7234 mmol/l troloxu. Velmi odlišná však byla schopnost zhaset radikály u odrůdy Johaniter, průměrně 0,4228 mmol/l troloxu. V článku Staško a kol. (2008) [45] který se zabývá stanovením antioxidační kapacity u bílých vín je uvedeno, že průměrná koncentrace antioxidantů se v závislosti na odrůdě pohybuje v rozmezí 0,3 – 1,2 mmol/l troloxu. Získané výsledky byly podrobeny analýze rozptylu ANOVA. Test prokázal, že u antioxidační aktivity byl statisticky významný rozdíl patrný i z boxového grafu (**Obrázek 25**). ($P = 0,0013$). Dále byl proveden Tukeyho test který jednoznačně potvrdil odlišnost antioxidační aktivity Johaniteru od Hibernálu a Solarisu ($P_{JOH/HIB} = 0,0020$ a $P_{JOH/SOL} = 0,0051$).

V.M. Burin a kol (2014) [46] se ve své článku zabývali stanovením antioxidační aktivity u nehybridních kultivarů *Vitis vinifera* a *Vitis labrusca*. Došli k závěru, že americká réva má díky vyššímu obsahu bioaktivních látek antioxidační aktivitu výrazně vyšší než evropské kultivary. Lze tedy předpokládat, že křížením těchto dvou kultivarů je možno u hybridů dosáhnout vyššího obsahu antioxidantů, než odrůd nehybridních. A proto, že PIWI odrůdy vznikly křížením evropské *Vitis vinifera* L. a americké *Vitis labrusca*, existoval předpoklad, že antioxidační aktivita hybridů bude vyšší než u odrůd nehybridních. Ten se potvrdil u odrůd Solaris a Hibernál, které měly antioxidační aktivitu téměř identickou. U odrůdy Johaniter byla naměřena hodnota nižší.

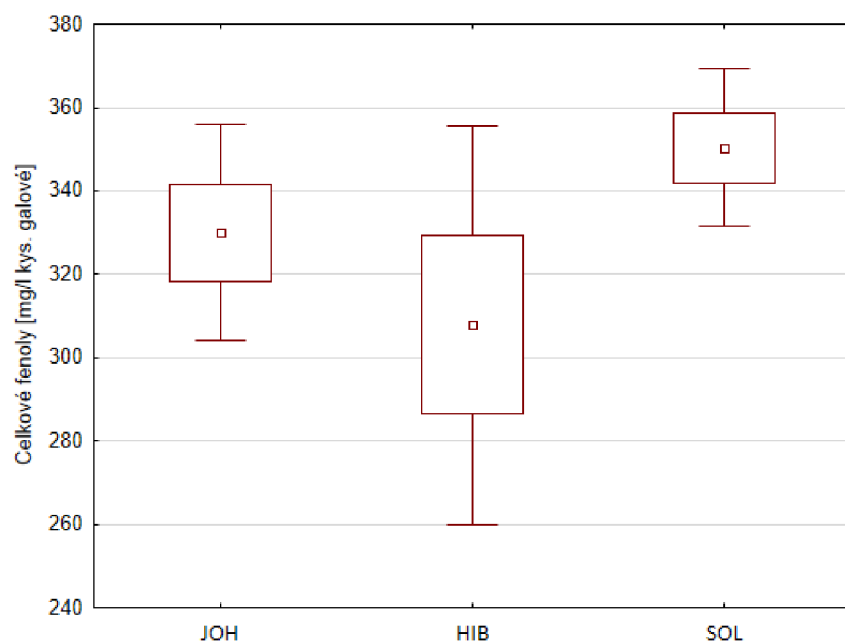
V publikaci I.V. Vrčka a kol. (2011) se autoři zabývali stanovením antioxidační aktivity u vín z odrůdy Chardonnay a stanovili průměrnou hodnotu na 0,5942 mmol/l troloxu. Ve stejné práci byla také publikována antioxidační aktivita 0,7213 mmol/l troloxu patřící vínům z odrůdy Tramín, který je pěstovaný bez použití pesticidů.



Obrázek 25: Antioxidační aktivita vín z vybraných PIWI odrůd

V případě stanovení celkových fenolických látek dosahovaly všechny testované vzorky téměř identických hodnot (**Obrázek 26**). Nebyly stanoveny statisticky významné rozdíly mezi odrůdami ($P=0,1409$) Nejvyšší obsah celkových fenolických látek měla vína z odrůdy Solaris, průměrně 350,39 mg/l, následoval Hibernal s 330,0 mg/l a nejméně fenolů obsahoval Johaniter, a to 307,81 mg/l. N. Paixao a kol (2007) [47] se ve svém článku zabývali stanovením celkových fenolických látek u portugalských bílých komerčních vín. Průměrná hodnota ekvivalentu kyseliny galové byla u testovaných vzorků 369,4 mg/l, což je srovnatelné s výsledky této diplomové práce.

V práci I.V. Vrčka a kol. (2011) byl celkový obsah fenolů u vín z odrůdy Chardonnay stanoven na 271,5 mg/l. Dále se také zabývaly stanovením celkových fenolů u vín z Tramínu pěstovaného v organickém režimu a stanovili jejich obsah na 346,9 mg/l. Dlouhodobé působení pesticidů a fungicidů révu snižuje obsah celkových fenolů v hroznech. Fenoly jsou sekundární metabolity rostlin. Při působení chemických látek může dojít k narušení produkce sekundárních metabolitů [48].



Obrázek 26: Obsah celkových fenolů ve vínech z vybraných PIWI odrůd

4.4 Stanovení vybraných fenolických látek ve vybraných PIWI odrůdách

V této kapitole budou prezentovány a diskutovány výsledky stanovení separovaných fenolických látek ve vínech z vybraných PIWI odrůd, prezentované v **Tabulka 15**.

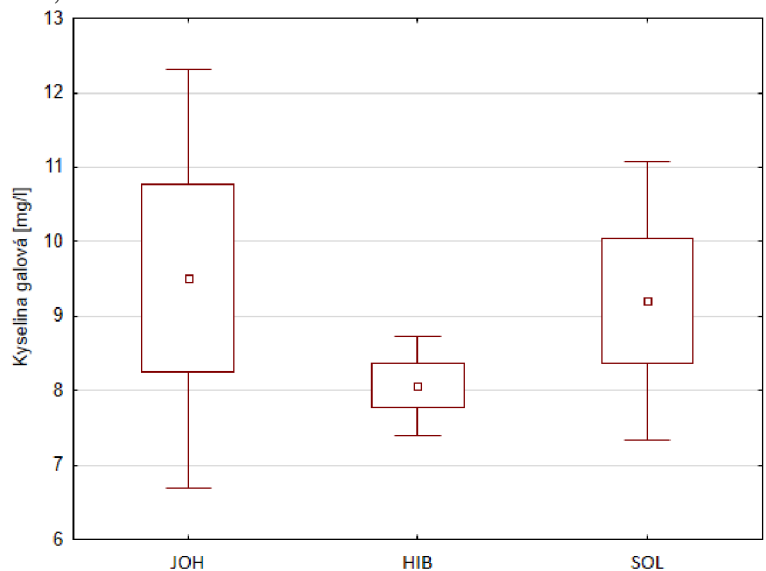
Obsah fenolických látek je velmi závislý na mnoha faktorech. Nejen na tom, o jakou odrůdu se jedná, ale hlavně na podmínkách pěstování, postupu zpracování a v neposlední řadě na počasí [47]. Jako zástupci fenolických látek byly vybrány dle zastoupení ve víně fenolické kyseliny, které se dělí na hydroxyderiváty kyseliny benzoové a skořicové a jeden flavanol.

Tabulka 15: Obsah fenolických látek ve vybraných PIWI odrůdách

| | | Kyselina gallová [mg/l] | Katechin [mg/l] | Kyselina kávová [mg/l] | Kyselina vanilová [mg/l] | Kyselina kumarová [mg/l] | Kyselina ferulová [mg/l] | Kyselina sinapová [mg/l] |
|------------------|-----------------|--|----------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|
| JOH | Min | 6,991 | 1,611 | 0,964 | 0,1892 | 0,1868 | 0,1221 | 0,0120 |
| | Max | 13,96 | 4,860 | 3,848 | 0,2499 | 1,6642 | 0,6239 | 0,0232 |
| | Průměr | 9,510 | 2,778 | 2,657 | 0,2139 | 0,9927 | 0,4649 | 0,0160 |
| | Odchylka | 2,814 | 1,318 | 1,305 | 0,0295 | 0,5509 | 0,2035 | 0,0044 |
| HIB | Min | 7,319 | 3,034 | 0,901 | 0,1333 | 0,7030 | 0,4216 | 0,0180 |
| | Max | 9,112 | 6,016 | 3,536 | 0,4499 | 1,4889 | 0,7251 | 0,0329 |
| | Průměr | 8,065 | 4,342 | 2,461 | 0,2420 | 1,0205 | 0,5815 | 0,0236 |
| | Odchylka | 0,669 | 1,284 | 0,997 | 0,1244 | 0,3285 | 0,1252 | 0,0062 |
| SOL | Min | 7,665 | 2,275 | 0,513 | 0,0144 | 0,0040 | 0,1157 | 0,0050 |
| | Max | 12,13 | 4,996 | 1,075 | 0,3380 | 0,0077 | 0,4452 | 0,0161 |
| | Průměr | 9,204 | 3,337 | 0,739 | 0,1153 | 0,0059 | 0,2638 | 0,0105 |
| | Odchylka | 1,877 | 1,272 | 0,211 | 0,1412 | 0,0016 | 0,1333 | 0,0042 |
| P hodnota | | 0,0195 | 0,4426 | 0,0299 | 0,2963 | 0,0479 | 0,2020 | 0,9086 |

Chyba! Nenalezen zdroj odkazů. Z výsledků vyplývá, že nejvíce zastoupenou fenolickou kyselinou ve všech vzorcích byla kyselina gallová (**Obrázek 27**). Nejvyšší koncentrace byla zjištěna u vín z odrůdy Johaniter, 9,51 mg/l. Následoval Solaris s 9,20 mg/l a Hibernal s 8,07 mg/l. U výsledků proveden test rozptylu ANOVA, který ukázal, že mezi odrůdami je statisticky významný rozdíl ($P = 0,0195$). Po provedení Tukeyho testu však nebyly prokázány rozdíly mezi odrůdami.

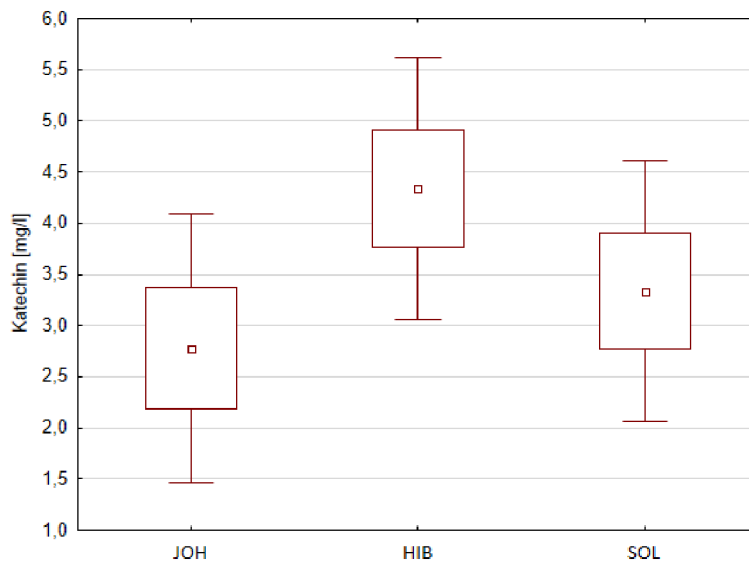
Soyollkham a kol. (2011) se zabývali studiem Rakouských a Moravských vín, zastoupených odrůdou Veltlínské zelené. Došli k závěru, že v jimi testovaných vínech je nejvíce zastoupenou fenolickou látkou kyselina gallová, v průměru 5,69 mg/l, stejně jako u naší testovaných vín. Kyseliny gallová vzniká hydrolyzou taninů a má velmi vysoké antioxidační účinky [49]. Po provedení korelační analýzy mezi kyselinou gallovou a antioxidační aktivitou byl získán pro odrůdy Johaniter a Hibernal velmi nízký korelační koeficient $R = 0,05$ a $R = 0,13$. U Solarisu byla zjištěna korelace $R = 0,93$, tak jako u Soyollkham a kol. (2011), kteří ve své publikaci uvedli korelaci $R = 0,95$.



Obrázek 27: Boxový graf pro zastoupení kyseliny gallové ve vín z vybraných PIWI odrůd

Druhou nejzastoupenější testovanou fenolickou látkou byl katechin (**Obrázek 28**). Nejvíce jej bylo obsaženo u odrůdy Hibernal, a to 4,34 mg/l. Následoval Solaris s 3,34 mg/l a Johaniter s 2,77 mg/l.

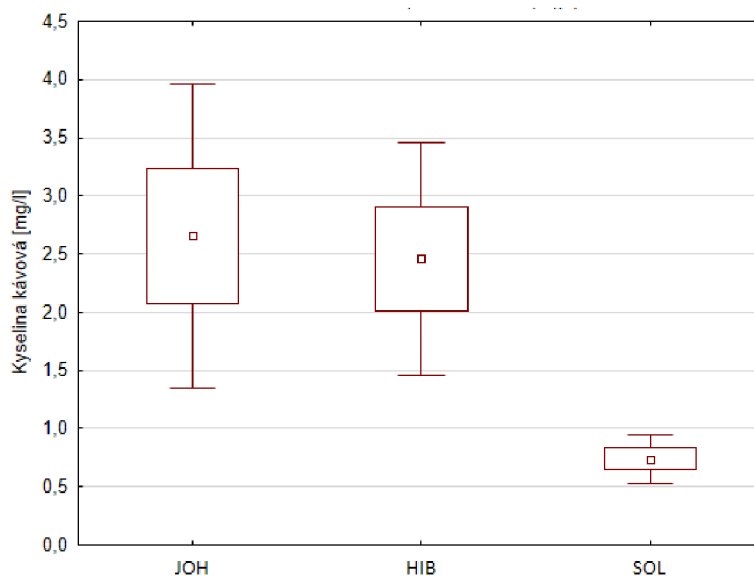
Kapusta a kol (2018) [44], kteří se zabývali stanovení fenolických látek u odrůd Johaniter, Hibernal a Solaris z Polska, ve své publikaci uvedli katechin jako nejzastoupenější fenolickou látku. Shodně však prezentovali zastoupení katechinu mezi odrůdami. Nejvíce jej obsahovala vína z Hibernalu, následoval Solaris a Johaniter. U nehybridních odrůd se průměrná koncentrace katechinu pohybuje v rozmezí 5,46 - 7,14 mg/l, u vín z odrůdy Veltlínské zelené, 1,22 mg/l pro vína z odrůdy Chardonay [50; 51]. Katechin je nejzastoupenější flavan-3-ol ve víně. Je zodpovědný za hořkou a trpkou chuť. Jeho množství je závislé nejen na odrůdě, ale také na způsobu zpracování hroznů. Katechin je nejvíce soustředěný ve slupce a jádru bobule a jeho obsah ve víně se zvyšuje spolu s dobou macerace.



Obrázek 28: Boxový graf pro zastoupení katechinu ve vínech z vybraných PIWI odrůd

Kyselina kávová, patřící k derivátům kyseliny skořicové, byla nejhojněji zastoupena u Johaniteru 2,66 mg/l, následoval Hibernal s 2,46 mg/l a Solaris s 0,74 mg/l (**Obrázek 29**). Výsledky byly podrobeny analýze rozptylu ANOVA, který u kyseliny kávové prokázal statisticky významný rozdíl ($P = 0,0299$). Dále byl proveden Tukeyho test, který poukázal na odlišnost vín z odrůd Hibernal a Solaris.

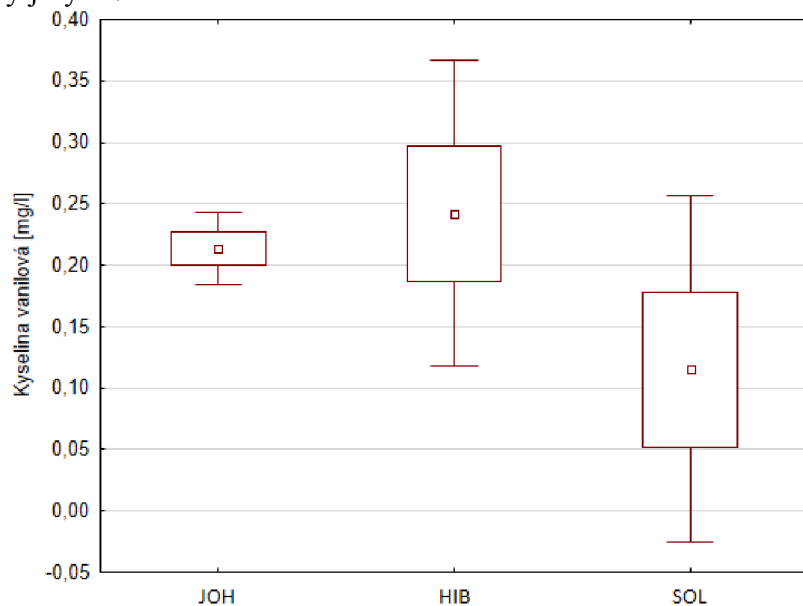
Kapusta a kol. (2018) stanovili koncentraci kyseliny kávové u vín z Johaniteru na 2,5 mg/l, u Solarisu na 1,96 mg/l a Hibernalu 1,7 mg/l. Shodu je tedy možné pozorovat pouze u Johaniteru. Solaris a Hibernal se od sebe značně liší. Soyollkham a kol. (2011) publikovali, že jimi testovaná vína z odrůdy Veltlínské zelené obsahovala 0,51 až 3,54 mg/l kyseliny kávové. I.V. Vrček a kol. (2011) uvádějí u vín z odrůdy Chardonay průměrnou koncentraci kyseliny 0,47 mg/l.



Obrázek 29: Boxový graf pro obsah kyseliny kávové ve vínech z vybraných PIWI odrůd

Další analyzovanou fenolickou látkou byla kyselina vanilová, patřící taktéž k derivátům kyseliny skořicové (**Obrázek 30**). Nejvyšší koncentrace byla nalezena u vín z odrůdy Hibernal, 0,242 mg/l. Následoval Johaniter s 0,214 mg/l a Solaris s 0,115 mg/l. Byla provedena ANOVA, která neodhalila žádný statisticky významný rozdíl.

Soyollkham a kol. (2011) [50] ve své publikaci pojednávající o Rakouských a Moravských vínech z odrůdy Veltlínské zelené, stanovili průměrnou koncentraci kyseliny vanilové v testovaných vínech na 0,87 mg/l. U vín z vybraných PIWI odrůd zkoumaných v této diplomové práci, se kyselina vanilová pohybovala v rozmezí 0,01 až 0,45 mg/l, což odpovídá koncentraci zjištěné u směsi španělských bílých vín v práci Pena-Neira a kol. (2000) [52]. Kvůli málo prozkoumané oblasti PIWI odrůd bohužel nebylo možno srovnat výsledky z této práce s výsledky jinými.

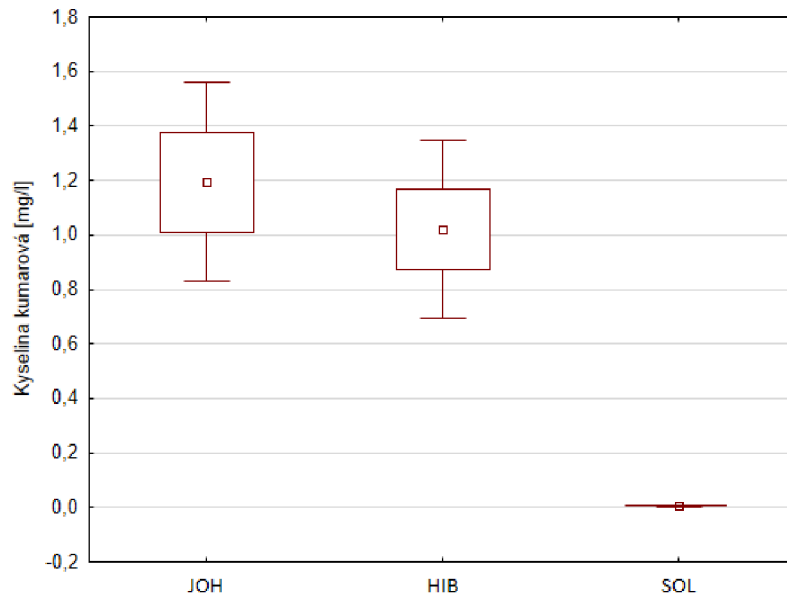


Obrázek 30: Boxový graf obsahu kyseliny vanilové ve vínech z vybraných PIWI odrůd

Kyselina kumarová byla u vín z odrůdy Hibernal detekována v množství 1,020 mg/l, u Johaniteru 0,993 mg/l a u Solarisu 0,006 mg/l (**Obrázek 31**). Výsledky byly podrobeny analýze rozptylu ANOVA, která prokázala statisticky významný rozdíl ($P = 0,0013$). Dále byl proveden Tukeyho test, který odhalil, výraznou odlišnost vín ze Solarisu od vín z ostatních vybraných PIWI odrůd.

V práci Kapusty a kol. (2018) je průměrný obsah kyseliny kumarové u vín z Hibernalu a Johaniteru podstatně nižší, 0,31 a 0,28 mg/l. U Solarisu je však průměrně zastoupena množstvím 0,86 mg/l. Naopak Soyollkham a kol. (2011) uvádějí, že obsah kyseliny kumarové u odrůdy Veltlínské zelené byl nedetekovatelný. I.V. Vrček a kol. (2011) uvádějí u vín z odrůdy Chardonay průměrný obsah kyseliny kumarové 0,51 mg/l.

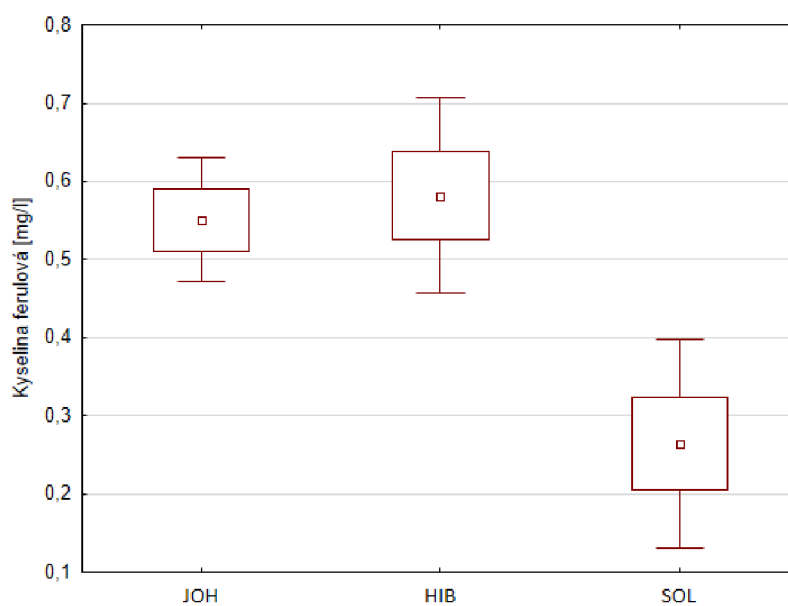
Při dekarboxylaci a následné redukci kyseliny kumarové dochází ke vzniku 4-ethylfenolu. Tento je při napadení vína kvasinkami rodu *Brettanomyces* odpovědný za vznik vady ve víně, konkrétně za „pach koňského sedla“. Z výsledků lze tedy soudit, že u vín z odrůdy Solaris se tato vada při napadení výše zmíněnou kvasinkou téměř neprojeví [53].



Obrázek 31: Boxový graf obsahu kyseliny kumarové ve vínech z vybraných PIWI odrůd

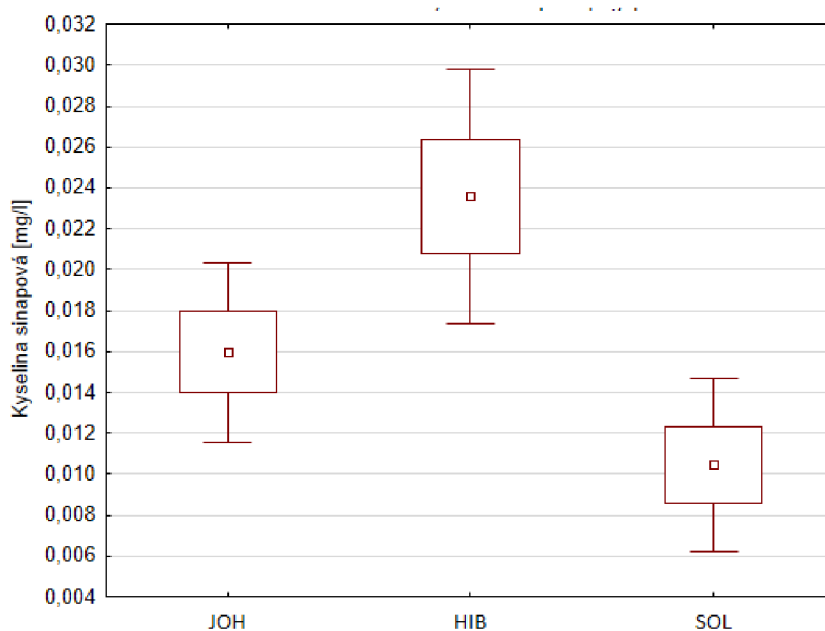
Kyselina ferulová byla nejvíce zastoupena u vín z odrůdy Hibernal, a to 0,581 mg/l, následoval Johaniter s 0,465 mg/l a Solaris s 0,264 mg/l (**Obrázek 32**). Po provedení analýzy rozptylu byly zjištěny statisticky významné rozdíly ($P = 0,0239$). Po provedení Tukeyho testu byly detekovány rozdíly mezi víny z odrůd Hibernal a Solaris.

V práci Kapusty a kol. (2018) je kyseliny ferulové nejvíce zastoupena u Solarisu a to ve shodném množství 0,26 mg/l. U Johaniteru a Hibernalu jsou uvedeny shodné koncentrace 0,07 mg/l, což je výrazně méně. V publikaci Soyollkham a kol. (2011) je obsah kyseliny ferulové pod hranicí detekce. I.V. Vrček a kol. (2011) uvedli průměrnou koncentraci kyseliny ferulové u vín z odrůdy Chardonay 0,55 mg/l. Kyselina ferulová je při napadení vína kvasinkami rodu *Brettanomyces* prekurzorem pro vznik 4-vinylguajakolu, který se ve víně projevuje jako kouřové aroma či aroma dehtu [53].



Obrázek 32: Boxový graf obsahu kyseliny ferulové ve vínech z vybraných PIWI odrůd

Kyselina sinapová byla nejméně zastoupenou fenolickou látkou **Obrázek 33**. U všech vín ze tří vybraných PIWI odrůd se pohybovala ve velmi podobné v koncentraci 0,01 mg/L u Solarisu, 0,016 mg/l u Johaniteru a 0,02 mg/l u Hibernalu, ale i pře to se statisticky významně lišily ($P = 0,0048$). Po provedení Tukeyho testu byl zjištěn rozdíl mezi víny z odrůd Hibernal a Solaris.



Obrázek 33: Boxový graf obsahu kyseliny sinapové ve vínech z vybraných PIWI odrůd

4.5 Identifikace těkavých látek ve vybraných PIWI odrůdách

V této kapitole budou prezentovány a diskutovány výsledky stanovení těkavých látek ve vínech z vybraných PIWI odrůd. Pro lepší přehlednost byly výsledky rozděleny do jednotlivých kapitol (estery, vyšší alkoholy, aldehydy, terpeny, ostatní).

Ve vzorkách bylo celkem identifikováno celkem 22 esterů, 9 vyšších alkoholů, 3 aldehydy, 6 monoterpenů a 5 ostatních látek.

4.5.1 Estery

Mezi identifikovanými estery nejvíce převažovaly ethyl estery. K jejich vzniku dochází během alkoholového kvašení reakcí alkoholu, respektive ethanolu, s příslušnou kyselinou. Přispívají k sekundárnímu aroma vína [54]. J.J. Hunter a kol. (2002) ve své studii uvádějí, že obsah esterů je velmi závislý na klimatických podmínkách a způsobu zpracování. Pro vznik esterů jsou optimální teploty 20-25 °C během dne a 10-15 °C v noci [27].

Tabulka 16: Zastoupení esterů ve vínech z vybraných PIWI odrůd

| Estery | JOH | HIB | SOL | Aroma [7; 55; 56] |
|---|----------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | Název | Plocha píku × 10 ⁵ | Plocha píku × 10 ⁵ | |
| Isoamylester kyseliny octové | 21055,4 | 48795,6 | 39057,8 | Banán, hruška |
| Hexylester kyseliny octové | 2865,2 | 8744,8 | 7694,6 | Hruška, byliny |
| Ethylester kyseliny hexanová | 93470,8 | 111787,8 | 149202,3 | Jablečná slupka, ostružina |
| Diethylester kyseliny jantarové | 17120,3 | 10643,9 | 22145,6 | Ovoce |
| Ethylester kyseliny oktanové | 323999,2 | 407362,1 | 493208,9 | Pomeranč, tuk |
| Methylester kyseliny dekanová | - | 1778,5 | 5988,0 | Rozinky, med |
| 2-fenylethylester kyseliny octové | 3160,8 | 10191,5 | 5242,9 | Růže, med, tabák |
| Ethylester kyseliny laurové | 13320,7 | 16709,9 | 17232,9 | Vosk, kokos |
| Ethyl ester kyseliny máselné | 2942,0 | 6023,2 | 5589,2 | Ananas, banán |
| Ethylester kyseliny butenové | 232,8 | - | - | - |
| Ethyl-2-methylester kyseliny máselné | 1116,5 | - | - | Jablka |
| Methylester kyseliny oktanové | 797,9 | 1270,2 | 1187,4 | Pomeranč |
| 3-methylbutylester kyseliny oktanové | 2764,0 | 2608,6 | 3042,8 | Ovoce, sýr |
| 3-methylbutylester kyseliny pentadekanové | 398,9 | 971,1 | 1398,1 | - |
| Ethylester kyseliny benzenocticové | 627,1 | - | - | - |
| Ethylester kyseliny myristové | 1543,5 | 1335,9 | 1352,7 | Muškatový oříšek |
| Ethylester kyseliny palmitové | 996,4 | 645,4 | 853,5 | Vosk |
| Ethylester kyseliny pelargonové | 2616,8 | 6057,9 | 4415,7 | Sladká vůně, květiny, hrozen |
| Ethylester kyseliny dekanová | 168997,3 | 253083,9 | 258111,4 | Květiny |
| Propylester kyseliny dekanová | - | 468,6 | - | - |
| Ethylester kyseliny hexadienové | - | 480,4 | - | Ananas |

| | | | | |
|------------------|--------|--------|--------|-----------------------|
| Ethyl-(S)-laktát | 5880,4 | 3476,8 | 1641,8 | Máslo, krémovitost |
|------------------|--------|--------|--------|-----------------------|

U vzorků **Johaniteru** bylo identifikováno 19 esterů, které se vyskytovaly ve všech pěti vzorcích **Tabulka 16**. Nejvíce zastoupený byl ethylester kyseliny oktanové, který tvořil 48,6 % z celkového množství stanovených esterů. Vínu dodává pomerančové aroma. Při vyšších koncentracích se může projevovat jako aroma tuku. Dalším hojně zastoupeným esterem byl ethylester kyseliny dekanové. Tvořil 25,4 % esterů. Ve víně se projevuje květinovou vůní. Dalším významným zástupcem je ethylester kyseliny hexanové. Tvořil 14,0 % z celkového množství esterů a ve víně se projevuje jako aroma ostružin a jablečné slupky. Dále byl ve víně identifikován isoamylester kyseliny octové. Tvořil 3,2 % zastoupených esterů. Ve víně se projevuje jako hruškové, při delším ležení vína jako banánové aroma. Diethylester kyseliny jantarové, který tvořil 2,6 % esterů, se ve víně projevuje jako aroma ovoce. Jednoprocentní hranici překročil ještě ethylester kyseliny dodekanové. Tvořil 1,9 %. Tento dodává vínu aroma kokosu, ve vyšších koncentracích se projevuje až jako aroma vosku [7; 55; 56].

Ethyllaktát, který tvořil 0,88 % esterů se projevuje jako máslová až krémovitá chuť. Pokud ve víně proběhne malolaktická fermentace, hladina ethyllaktátu se zvyšuje a dochází tak ke zjemnění a zakulacení chuti vína. Tento proces je žádoucí zejména u červených vín [7; 55; 56].

2-fenylethylester kyseliny octové tvořil 0,47 %. Ve víně se projevuje jako aroma růže a medu. Při vyšším zastoupení může připomínat spíše tabák. Dalším zástupcem byl ethylester kyseliny máselné. Tvořil 0,44 % z celkového množství zjištěných esterů. Jeho aroma se projevuje jako ananas či banán. Hexylester kyseliny octové se na zastoupení esterů podílel 0,42 %. Vínu dodává hruškové a bylinné sladké aroma. 0,4 % hranici překročil ještě 3-methylbuthylester kyseliny oktanové. Tento ester se na aroma vína podílí ovocnou a sýrovou vůní. Těsně pod hranicí 0,4 % skončil ethylester kyseliny pelargonové. Víno obohacuje o sladkou vůni květin a hroznovým aroma [7; 55; 56].

Na aroma vína se 0,23 % podílel ethylester kyseliny myristové. Tento ester se hlavní měrou podílí na aroma muškátovém oříšku a dodává vínu jeho vůni [7; 55; 56].

Ethyl-2-methylester kyseliny máselné se na aroma vína podílí 0,17 % a dodává mu jablečné aroma. Dalším zástupcem s 0,15 % byl ethylester kyseliny palmitové. Ten dodává vínu neutrální voskové aroma. Methylester kyseliny oktanové tvoří 0,12 % celkového množství esterů a dodává vínu pomerančovou vůni [7; 55; 56].

Poslední tři aromatické látky tvořili méně jak 0,01 % aroma zkoumaných vín. Byly to ethylester kyseliny benzenoové, 3-methylbuthylester kyseliny pentadekanové a ethyl ester kyseliny butenové. Ani jeden z těchto esterů se na aroma vína neprojevuje [7; 55; 56].

U **Hibernalu** bylo identifikováno 18 esterů, které se stejně jako u Johaniteru objevovaly ve všech vzorcích.

Nejvíce zastoupeným esterem byl stejně jako u Johaniteru ethylester kyseliny oktanové a to 40,6 %. I u Hibernalu lze tedy očekávat ovocité pomerančové aroma, při vyšším zastoupení aroma tuku. Dalším esterem byl ethylester kyseliny dekanové, který stejně jako u Johaniteru tvořil 25,3 % identifikovaných aromatických látek a dodává vínu květinovou vůni. Třetím nejzastoupenějším esterem byl ethylester kyseliny hexanové. Tvořil 12,5 % z celkového složení esterů. V téměř identickém množství se projevoval i u Johaniteru a dodává vínům vůni ostružin

a jablečné slupky. Dále byl stejně jako u Johaniteru nalezen isoamylester kyseliny octové, a to v zastoupení 5,5 %. Ve víně se dá tedy očekávat hruškové aroma, které vlivem ležení vína přechází až do aroma banánu [7; 55; 56].

Nad hranici jednoho procenta se dostal ethylester kyseliny laurové, v zastoupení 1,8 %. U Hibernalu, stejně jako u Johaniteru lze nelézt aroma kokosu až vosku [7; 55; 56].

Dalším esterem s výskytem 1,2 % je diethylester kyseliny jantarové. Ve víně se projevuje ovocitou vůní. U odrůdy Johaniter byl stanoven ve dvojnásobném množství. 1,1 % esterů bylo u Hibernalu tvořeno 2-fenylmethylesterem kyseliny octové. Tento se projevuje vůní růží, medu až tabáku. U Johaniteru byl také nalezen, ovšem ve čtyřnásobně nižším zastoupení [7; 55; 56].

Těsně pod hranicí 1 %, tedy 0,97 % byl identifikován hexylester kyseliny octové. Vínu dodává bylinné a hruškové aroma. U Johaniteru bylo zastoupení poloviční. Dalším esterem byl ethylester kyseliny pelargonové, který tvořil 0,7 %. Projevuje se jako hroznová a sladká, květinová vůně. U odrůdy Johaniter byla zastoupena v polovičním množství. Ethylester kyseliny máselné tvořil 0,67 % z celkového množství esterů. U vína se projevuje jako ananasová a banánová vůně. Téměř třetinové zastoupení, než u Johaniteru měl u Hibernalu ethyllaktát, a to 0,4 %. Ve víně se projevuje jako jemná, máslová až krémovitá chuť. 0,3 % celkových esterů tvoří 3-methylbuthylester kyseliny oktanové. Tento ester dodává vínu ovocitou, po delším ležení vína syrovou chuť. Methylester kyseliny dekanové, který tvoří 0,2 % z detekovaných esterů dodává vínům typické hroznové aroma a dochuť medu. Tento ester byl identifikován pouze u odrůdy Hibernal.

Stejně procentuální zastoupení mají u Hibernalu ethylester kyseliny myristové, dodávající vínu vůni muškátového oříšku a methylester kyseliny oktanové, který je odpovědný za aroma pomeranče [7; 55; 56].

Pod hranicí 0,1 % jsou ethylestery kyselin palmitové, která je odpovědná za voskovou chuť vína a hexadienové, předávající vínu vůni ananasu. Poslední jmenovaná a propylester kyseliny dekanové byly identifikovány pouze u Hibernalu.

U vzorků **Solarisu** bylo identifikováno 16 esterů, které se vyskytovaly u všech pěti vzorků. Stejně jako u Johaniteru a Hibernalu, byl nejzastoupenějším esterem Ethylester kyseliny oktanové s procentuálním zastoupením 48,8 %. Druhým nejzastoupenějším esterem byl, také ve všech vínech, ethylester kyseliny dekanové, s podílem 25,5 %. Třetí a čtvrtá pozice je taktéž u všech vín stejná, a to ethylester kyseliny hexanové s 14,8 % a isoamylester kyseliny octové s 3,9 % [7; 55; 56].

Dalším identifikovaným esterem byl diethylester kyseliny jantarové. Zde se procentuální zastoupení esterů liší. Diethyl ester byl v Solarisu zastoupen stejně jako u Johaniteru, tedy 2,2 %. Následuje Ethylester kyseliny laurové s 1,7 % [7; 55; 56].

Pod hranicí 1 % se nachází hexylester kyseliny octové se zastoupením 0,8 %. U Johaniteru byl tento ester zastoupen v o něco větší míře, u Hibernalu jej naopak bylo méně. Další podíl na celkovém obsahu esterů u Solarisu má ethylester kyseliny máselné a to 0,6 %, což se shoduje s Hibernalem. U Johaniteru bylo zastoupení o 0,1% nižší. 2-fenylester kyseliny octové tvoří 0,5 % z celkových esterů. Stejně zastoupení se vyskytovalo u odrůdy Johaniter. U Hibernalu bylo množství dvojnásobné. Ethylester kyseliny pelargonové byl zastoupen 0,4 %, což je stejné zastoupení jako u Johaniteru. Hibernal obsahoval tohoto esteru o 0,1 % více. U všech odrůd bylo detekované stejné zastoupení 3-methylbuthylesteru kyseliny oktanové, tedy 0,3 % [7; 55; 56].

Dalším esterem byl ethyllaktát, jehož množství se výrazně lišilo. U Solarisu bylo detekováno 0,1 % ze všech esterů. U hibernalu bylo množství trojnásobné, u Johaniteru dokonce osminásobné. U obsahu 3-methylbuthylesteru kyseliny pentadekanové bylo zastoupení u Solarisu i Hibernalu stejné, tedy 0,1 %. U Johaniteru byl obsah nižší, 0,06 %. Esterem, který u Solarisu překročil hranici 0,1 % byl ethylester kyseliny myristové. Jeho obsah, se stejně jako u předchozího zmiňovaného esteru nelišil u odrůd Solaris a Hibernal. U Johaniteru bylo jeho zastoupení dvojnásobné. Shodné zastoupení u všech tří odrůd měl ethylester kyseliny oktanové, a to 0,1 % [7; 55; 56].

Pod hranicí 0,1 % se nacházel ethylester kyseliny palmitové. Toto zastoupení se shodovalo u odrůd Solaris a Hibernal. U Johaniteru bylo zastoupení dvojnásobné [7; 55; 56].

Z výsledků vyplývá, že čtyři nejvíce zastoupené estery byly přítomny ve všech vzorcích v téměř identickém zastoupení. Obecně lze tedy aroma vybraných PIWI odrůd charakterizovat jako ovocité. Nejvíce zastoupený ester byl ethylester kyseliny oktanové, který se ve víně projevuje jako aroma pomeranče, při vyšším množství jako aroma tuku. Dále byl detekován ethylester kyseliny dekanové, který se projevuje jako květinové aroma. Ethylester kyseliny hexanové zodpovídá za aroma ostružiny a jablečné slupky a posledním esterem, zastoupeným ve stejném množství, je isoamylester kyseliny octové, který se projevuje jako aroma hrušky, při delším ležení vína přechází do banánu [7; 55; 56].

Ostatní výše uvedené estery byly detekovány u všech odrůd, ale v rozdílném zastoupení. Výjimku tvoří ethylester kyseliny benzenoctové, který byl identifikován pouze u Johaniteru. Tento se však na aromatickém projevu nijak nepodílí, protože není sensoricky aktivní [55]. U Johaniteru, na rozdíl od ostatních testovaných odrůd, byl také detekován ethylester kyseliny butenové a ethyl-2-methylester kyseliny máselné, přidávající vínu jablečné aroma. U Hibernalu byl navíc detekován propylester kyseliny dekanové, který taktéž nemá aromatický projev a ethylester kyseliny hexadienové, který vínu přidává vůni ananasu [7; 55; 56].

V článku J. Liu a kol. (2015), zabývající se studiem těkavých látek v Dánských vínech ze Solarisu, jsou stejně jako zde za nejpočetnější skupinu těkavých látek považovány estery. Je ale patrný rozdíl mezi zastoupením esterů. Za nejzastoupenější ester J. Liu a kol. (2015) [55] ve své práci označili isoamylester kyseliny octové a hexylester kyseliny octové, což se s výsledky,

získanými analýzou Moravských vín neshoduje. U některých zástupců dánských PIWI vín je uveden vysoký podíl ethyllaktátu, což značí, že u nich proběhla jablečno-mléčná fermentace. U všech námi vybraných vzorků bylo zastoupení ethyllaktátu velmi nízké, což potvrzují i výsledky stanovení organických kyselin uvedené v **Tabulka 13**. Vysoké zastoupení v dánských PIWI vínech měl diethylester kyseliny jantarové, jehož přítomnost značí proces zrání vína a jeho zastoupení se v průběhu tohoto procesu zvyšuje [57]. Vína analyzovaná v rámci této diplomové práce byla vína relativně mladá s výjimkou vzorku 13A z roku 2017, ve kterém se vyšší koncentrace diethylesteru kyseliny jantarové taky projevila. Co se týče srovnání s nehybridními odrůdami, A. Schüttler a kol. (2015) se zabývali stanovením aromatických látek s nejdominantnějším sensorickým projevem ve vínech Ryzlinkového typu. U esterů dospěli k závěru, že nejhojněji zastoupenými estery je ethylester kyseliny propanové, ethylester kyseliny máselné, diethylester kyseliny jantarové a 2-methylbutylester kyseliny octové.

Z výše prezentovaných tezí je patrné, že vína z PIWI odrůd mají svůj charakteristický profil těkavých látek spojený s estery [7; 55; 56].

4.5.2 Alkoholy

Druhou nejzastoupenější skupinou volatilních látek byly vyšší alkoholy **Tabulka 17**. U vybraných PIWI odrůd bylo detekováno pro Johaniter 8, pro Hibernál 6 a pro Solaris 5 vyšších alkoholů. Tyto se vyskytují ve velmi malém množství, ale mají na aroma vína velký podíl. Jejich původ je spojován s metabolismem kvasinek a množstvím dusíkatých látek obsažených v moštu. Množství vyšších alkoholů je závislé na obsahu dusíkatých látek. Pokud bude v moštu více aminokyselin a pouze malé množství amoniakálního dusíku, bude se obsah vyšších alkoholů zvyšovat. Pokud ale bude převyšovat obsah amoniaku, vyšší alkoholy budou produkovány v daleko menším množství [7; 55; 56].

Tabulka 17: Zastoupení vyšších alkoholů ve vínech z vybraných PIWI odrůd

| Vyšší alkoholy | | | | |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Název | JOH | HIB | SOL | Aroma |
| | Plocha píku × 10 ⁵ | Plocha píku × 10 ⁵ | Plocha píku × 10 ⁵ | |
| 2-methylpropanol | 4956,2 | 4655,6 | 5750,1 | Hořkost |
| 3-methylbutanol | 122160,3 | 123687,5 | 104353,2 | Whiskey, slad |
| Hexanol | 4342,4 | 6407,2 | 7095,5 | Pryskyřice, květiny |
| Fenylethyl alkohol | 37883,0 | 33897,2 | 35431,1 | Med, růže, lilie |
| Butandiol | 2091,9 | 1137,1 | 2526,8 | Ovoce, cibule |
| Oktanol | 601,7 (2A,4A) | - | - | Tuk, mýdlo, citron, tráva |
| 2-ethylhexan-1-ol | 751,2 (3A) | - | - | Růže, tráva |
| 3-hexen-1-ol | - | 519,3 (9A) | - | Tráva |
| Benzenethanol | 11213,9 (1A,2A) | - | - | Růže, sladkost |

Nejzastoupenějším alkoholem byl u všech vín 3-methylbutanol. U Johaniteru tvořil v průměru 71,3 % z celkového množství vyšších alkoholů, u Hibernalu 72,8 %. U Solarisu bylo jeho průměrné zastoupení o něco nižší, a to 67,3 %. 3-methylbutanol dodává vínu ovocné aroma čerstvých hroznů a je produktem rozkladu leucinu [7; 55; 56]. Tvrzení, že se jedná o vyšší alkohol s nejvyšším zastoupením potvrzuje i J. Liu a kol. (2015) [55]. Noguerol-Pato a kol. (2015) [58] potvrzuje, že jako nejhojněji zastoupený vyšší alkohol vystupuje i u nehybridních odrůd.

Druhým nejhojněji zastoupeným vyšším alkoholem byl u všech odrůd fenylethylalkohol. U Johaniteru byl zastoupen 22,1 %, u Solarisu 22,8 %. U Hibernalu bylo jeho zastoupení o něco nižší a to 19,9 %. Tento alkohol dodává vínům květinovou, konkrétně růžovou a liliovou vůni. Fenylethylalkohol vzniká z fenylalaninu. Ke stejnému závěru došli i J. Liu a kol. (2015) [7; 55; 56].

U dalších alkoholů již docházelo k nuancím. Pro Hibernal a Solaris byl další nejzastoupenější alkohol hexanol. U Hibernalu tvořil 3,8 %, u Solarisu 4,6 %. Tento je odpovědný za aroma květin a pryskyřice. U Johaniteru byl detekován až jako čtvrtý nejzastoupenější alkohol se 2,5 % [7; 55; 56].

2-methylpropanol byl detekován u Johaniteru se zastoupením 2,9 %, u Hibernalu s 2,7 % a u Solarisu s 3,7 %. Tento vyšší alkohol je zodpovědný za ovocné aroma a případnou hořkost. Je produktem degradace valinu. Ke stejnému závěru dospěli J. Liu a kol. (2005) u Solarisu [7; 55; 56].

Posledním detekovaným společným vyšším alkoholem je 2,3-buthandiol. U Johaniteru tvoří 1,2 % z celkových alkoholů, u Hibernalu 0,7 % a u Solarisu 1,6 %. Vínu dodává sladkou chuť a aroma cibule [7; 55; 56].

U některých vzorků byla prokázána i přítomnost dalších vyšších alkoholů. Ve vzorcích 1A_JOH a 2A_JOH byla navíc prokázána přítomnost benzenethanolu v zastoupení 6,1 %. Tento dodává vínům sladkost a vůni růží. Oktanol, který připívá aromatem citronu a trávy byl zastoupen pouze 0,3 %, a to ve vzorcích 2A_JOH a 4A_JOH. U vzorku 3A_JOH byla prokázána přítomnost 2-ethylhexan-1-olu. Jeho podíl na celkových vyšších alkoholech byl 0,4 %. Ve vínech se projevuje jako růžová a travnatá vůně. U vzorku Hibernalu, konkrétně 9A_HIB byla navíc prokázána jen přítomnost 3-hexen-1-olu a to ve velmi nízkém zastoupení 0,3 %. Tento vyšší alkohol se projevuje jako travnaté aroma [7; 55; 56].

Co se týče srovnání s nehybridními odrůdami, A Schüttler a kol. (2015) uvedli jako nejzastoupenější vyšší alkohol u vín z odrůdy Ryzlink rýnský a Sauvignon hexanol, který dodává vínům vůni čerstvě posekané trávy [59]. V testovaných vzorcích vín z PIWI odrůd nebyl tento vyšší alkohol detekován. Dá se tedy u nich očekávat jiný aromatický profil

Z pohledu vyšších alkoholů u PIWI vín, lze konstatovat, že vínům dodávají převážně sladkou, květinovou vůni s projevem travnatých tónů. Nejvíce alkoholů bylo zjištěno u Johaniteru, tedy

8, nejméně pak u odrůdy Solaris, a to 5. S tím úplně nesouhlasí studie J. Liu a kol. (2005), ve které bylo popsáno 22 vyšších alkoholů. Teno rozdíl mohl být způsoben rozdílným obsahem dusíkatých látek, ale také rozdílnou metodikou [7; 55; 56].

4.5.3 Aldehydy

Aldehydy (**Tabulka 18**) jsou představiteli oxidací alkoholů. Vznikají také činností kvasinek. Jejich množství se zvyšuje společně se stupněm vyzrálости vína. Běžně se pohybují ve velmi nízkých koncentracích [7].

Tabulka 18: Zastoupení aldehydů ve vínech z vybraných PIWI odrůd

| Aldehydy | JOH | HIB | SOL | Aroma |
|-------------|---|----------------------------------|----------------------------------|----------------|
| | Název Plocha píku × 10 ⁵ | Plocha píku × 10 ⁵ | Plocha píku × 10 ⁵ | |
| Nonanal | 1261,7 (1A,2A) | - | - | Posekaná tráva |
| Benzaldehyd | 1827,6 | 2191,0 | - | Mandle |
| Furfural | - | - | 886,3 (13A) | Chléb |

U odrůd Johaniter a Hibernál byla prokázána přítomnost pouze jednoho aldehydu, který byl nalezen u všech testovaných zástupců dané odrůdy, a to benzaldehydu **Tabulka 18**. Tento dodává vínům chuť po hořkých mandlích a je považován za začínající vadu [54]. U vzorků 1A_JOH a 2A_JOH byla prokázána přítomnost nonanal, který dodává vínu vůni po čerstvě posekané trávě. U Solarisu byl jako jediný aldehyd prokázán 2-furfural, a to pouze u jednoho vzorku. Tento dodává vínu chuť chlebové střídy. Lze jej nalézt již u vyzrálých vín, u mladých se nevyskytuje. Toto tvrzení se shoduje se studií G.C. Gómeze (2012) [60]. Ve vzorku 13A_SOL byl nalezen z toho důvodu, že na rozdíl od ostatních vín, testovaných v této diplomové práci, byl vyroben v roce 2017. Ostatní vína byla z roku 2018.

J. Liu a kol. (2015) u dánských vín ze Solarisu publikovali přítomnost 8 aldehydů. Kromě tří více zmíněných uvádí ještě hexanal, odpovědný za aroma trávy, 2-methylbutanal, který se projevuje jako aroma sladu či karamelu, heptanal projevující se jako aroma citrusových plodů, octanal vonící po citronech a dekanal projevující se mýdlovým aroma. A. Schütter a kol. (2015) u odrůd Ryzlink rýnský a Sauvignon žádné aldehydy neidentifikovali [7; 55; 56].

4.5.4 Terpeny

Tabulka 19: Zastoupení terpenů ve vínech z vybraných PIWI odrůd

| Terpeny | JOH | | HIB | | SOL | | Aroma |
|-------------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------|
| | Plocha × 10 ⁵ | píku | Plocha × 10 ⁵ | píku | Plocha × 10 ⁵ | píku | |
| Linalool | 3505,7 | | 10157,8 | | 3045,7 | | Konvalinky, citron |
| Citral | 1307,4 (1A) | | 230,2 (8A) | | - | | Citrusy |
| Geraniol | 1945,6 | | 1765,2 | | - | | Muškát, pelargonie |
| α-Terpineol | 1791,8 | | 2828,2 | | 1379,1 | | Anýz, máta |
| Eukalyptol | 548,7 (1A,2A) | | - | | - | | Kafr, svěžest |
| Thymol | 415,4 (1A,2A) | | - | | - | | Byliny |

Nejhojněji zastoupeným terpenem byl u všech testovaných odrůd linalool **Tabulka 19**. Tento předává vínu květinové, konvalinkové aroma. Tento terpen je typický spíše pro muškátové odrůdy, jeho obsah však stoupá v závislosti na vyzrálosti hroznů. Nejvíce zastoupený byl u odrůdy Hibernal, kde tvořil 68,9 % z celkových terpenů. Následovali Solaris a Johaniter s 68,8 a 48,4 %. Další, pro všechny tři vybrané odrůdy společný terpen, byl α-terpineol. Ten se ve víně projevuje jako vůně máty a kafru. Největší zastoupení měl u Solarisu, 31,2 %, následoval Johaniter s 24,7 % a Hibernal s 19,2 %. U Johaniteru a Hibernalu byl dále analyzován geraniol, v zastoupení 16,9 a 11,9 %, který je opět typický spíše pro muškátové odrůdy. Vytváří u vína aroma citronu a růží. Tento byl nejvíce zastoupen u odrůdy Johaniter [7; 55; 56].

Nejvíce terpenů, tedy 6, bylo detekováno u vzorku 1A_JOH. Mimo výše zmíněné se ve vzorku vyskytovaly citral, který dodává vínu aroma citronu, eukalyptol, který se projevuje jako eukalyptus a thymol, který se projevuje jako bylinné aroma. U vzorku 8A_HIB byl navíc detekován, stejně jako u 1A_JOH citral. Tyto markantní rozdíly mezi víny stejných odrůd mohou být způsobeny použitým typem kvasinek při zaočkování alkoholové fermentace [7; 55; 56].

V publikaci J. Liu a kol. (2015) autoři uvedli jako nejzastoupenější terpen u vín ze Solarisu neroloxid, který dodává vínům olejové aroma. Tento však u vzorků vín v této diplomové práci nebyl identifikován. Dalšími prezentovanými terpeny pak byly shodně linalool a terpineol. Co se týče srovnání s víny z odrůdy Ryzlink rýnský, jimiž se zabývá A. Schütler a kol. (2015), byly nalezeny pouze tři monoterpeny. Tyto se shodují s terpeny identifikovanými u všech tří vín z vybraných PIWI odrůd v této práci. U PIWI vín lze tedy očekávat, stejně jako u vín z Ryzlinku rýnského svěží citronové aroma s květinovými projevy [7; 55; 56].

4.5.5 Ostatní

Tabulka 20: Zastoupení ostatních těkavých látek ve vínech z vybraných PIWI odrůd

| Ostatní | JOH | HIB | SOL | Aroma |
|---|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--|
| | Plocha píku × 10 ⁵ | Plocha píku × 10 ⁵ | Plocha píku × 10 ⁵ | |
| Název | | | | |
| 4-vinylguajakol | 145,2 (2A) | - | - | Lékárna |
| 2-methoxyfenol | - | 1014,5 | 4097,4 | Kouř |
| Ionon | 1122,0 | 772,2 | - | Fialky, červené bobulovité letní ovoce |
| 1,1,5-trimethyl-1,2- dihydronaftalen | 6372,4 | 983,2 | 1417,6 | Petrolej |

U všech odrůd byl prokázán 1,1,5-trimethyl-1,2-dihydronaftalen **Tabulka 20**. Nejvíce byl zastoupený u Johaniteru, a to 85,0 %, u Solarisu 35,5 % a poté u Hibernalu 25,7 %. Tato sloučenina iniciuje ve víně petrolejový nádech. Dále byl u Johaniteru a Hibernalu detekován ionon, v zastoupení 15,0 a 27,9 %. Tato sloučenina se ve víně projevuje jako červené letní ovoce a fialky. Oba tyto C₁₃-norisoprenoidy byly detekovány také v práci A. Schüttler a kol. (2015), který se zabýval studiem aromatických látek u vín vyrobených z Ryzlinku rýnského. U Solarisu a Hibernalu byl dále v zastoupení 74,3 a 36,6 % identifikován 2-metoxyfenol. Tento dodává vínům kouřový nádech, nebyl však identifikován v práci J. Lui a kol. (2015) u dánských vín ze Solarisu a ani A. Schüttlerem a kol. (2015) ve vínech z Ryzlinku rýnského. Lze tedy soudit, že jeho přítomnost ve vzorcích je způsobena činností kvasinek [7].

U vzorku 2A_JOH bylo detekováno velmi malé množství 4-vinylguajakolu. Ten se projevuje kořeněným aroma. Při vyšších koncentracích je nežádoucí, protože způsobuje tzv. lékárenský pach a může značit napadení vína kvasinkami rodu *Brettanomyces* a tím pádem rozvíjející se vadu [7; 53]

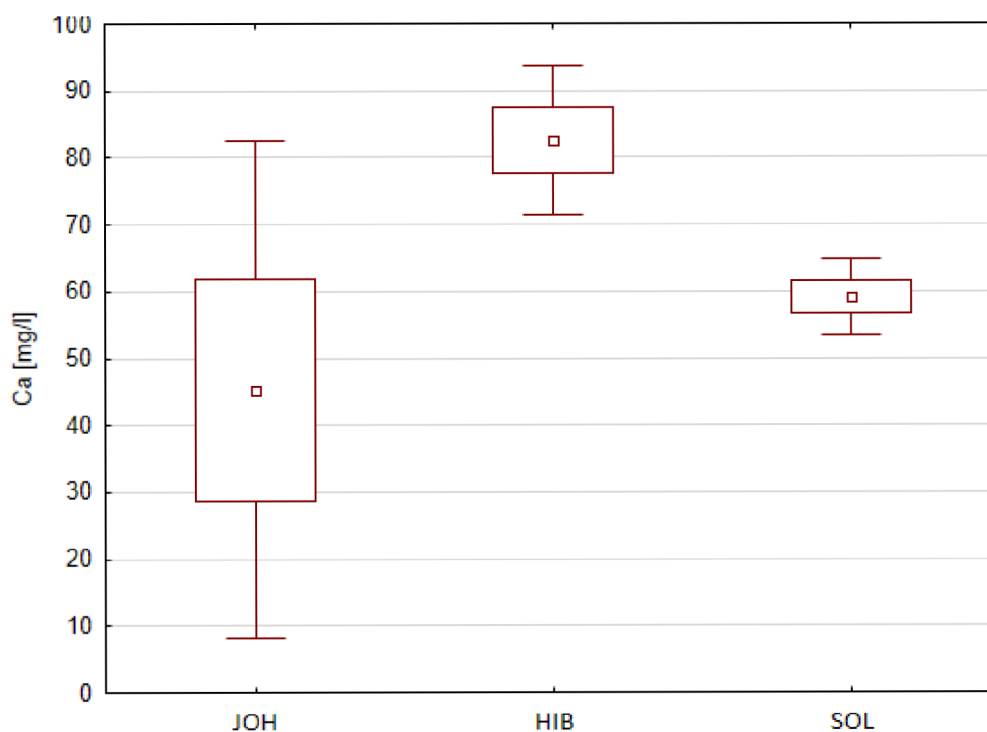
4.6 Prvková analýza vín z vybraných PIWI odrůd

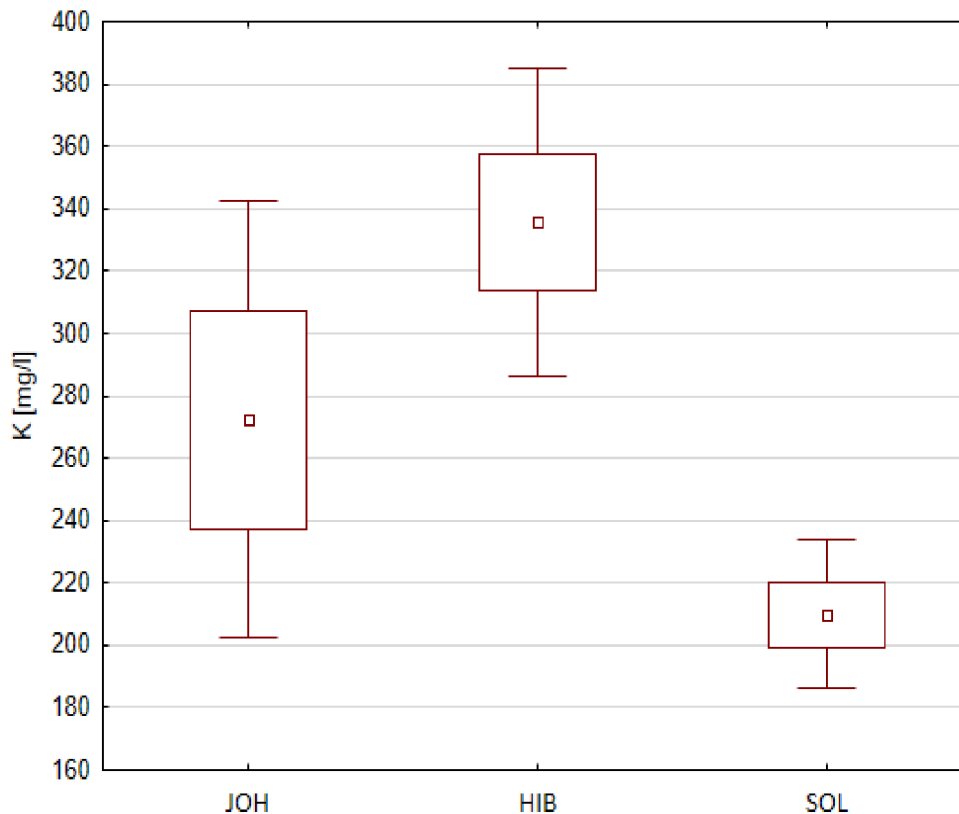
V této kapitole budou prezentovány a diskutovány výsledky stanovení prvkového složení vín z vybraných PIWI odrůd, prezentované v **Tabulka 21a** **Obrázek 34**.

Díky prvkové analýze bylo možno charakterizovat anorganické složení vzorků. Prvková analýza byla provedena způsobem popsáním v kapitole 3.4.6. Již dříve bylo v práci J. Pořízky a kol. (2017) prokázáno, že prvkové složení vín může být charakteristický odrůdový znak [61].

Tabulka 21: Prvkové složení vín z vybraných PIWI odrůd

| | | Ca[mg/l] | K[mg/l] | Na[mg/l] | P[mg/l] | Rb[mg/l] | Sr[mg/l] |
|------------------|----------|----------|---------|----------|---------|----------|----------|
| JOH | Min | 16,09 | 50,23 | 10,18 | 182,8 | 0,21 | 1,24 |
| | Max | 91,88 | 376,9 | 45,97 | 263,2 | 0,31 | 1,79 |
| | Průměr | 45,26 | 227,9 | 28,43 | 231,8 | 0,25 | 1,50 |
| | Odchylka | 37,20 | 116,5 | 13,18 | 31,46 | 0,04 | 0,25 |
| HIB | Min | 65,36 | 261,9 | 13,66 | 184,4 | 0,21 | 0,88 |
| | Max | 95,72 | 392,3 | 53,71 | 450,5 | 0,32 | 1,62 |
| | Průměr | 82,58 | 335,7 | 32,72 | 276,7 | 0,26 | 1,27 |
| | Odchylka | 11,09 | 49,55 | 15,07 | 108,4 | 0,04 | 0,30 |
| SOL | Min | 50,69 | 190,1 | 11,32 | 165,4 | 0,19 | 1,29 |
| | Max | 65,09 | 237,7 | 49,13 | 398,9 | 0,34 | 1,79 |
| | Průměr | 59,09 | 209,9 | 25,12 | 308,4 | 0,24 | 1,53 |
| | Odchylka | 5,660 | 23,76 | 14,72 | 94,89 | 0,06 | 0,21 |
| P hodnota | | 0,0646 | 0,0068 | 0,7102 | 0,3890 | 0,8029 | 0,2642 |





Obrázek 34: Boxové grafy pro prvky, u nich byl u vín z PIWI odrůd zaznamenán rozdíl

Nejvíce zastoupeným prvkem v analyzovaných vzorcích byl fosfor, který se pohyboval v rozmezí 31,5 – 450,5 mg/l. Největší průměrné množství bylo stanovené u vín z odrůdy Solaris 30,36 mg/l, u Hibernalu 276,35 mg/l a u Johaniteru 231,76 mg/l. V literatuře je uveden obsah fosforu ve vínech v rozmezí od 20 do 300 mg/l. Nejčastěji bývá vázán ve formě fosfátu a kyseliny fosforečné [7].

Dalším, hojně zastoupeným prvkem byl draslík. Jeho koncentrace se pohybovala v rozmezí 50,23 – 392,33 mg/l. Po provedení analýzy rozptylu ANOVA by zjištěný významný statistický rozdíl (0,0068). Po provedení Tukeyho testu byl odhalen rozdíl mezi vín z odrůdy Solaris a Hibernál ($P = 0,0053$). Vrček a kol. (2011) stanovili průměrný obsah draslíku u vín z odrůdy Tramín na 1024 mg/l a u Chardonay 707 mg/l. V literatuře je publikován obsah draslíku v rozmezí 0,1 – 1,8 g/l. Obsah draslíku ve víně je ovšem velmi závislý na způsobu vinifikace [7].

Obsah vápníku byl stanoven v rozsahu 16,09 – 95,72 mg/l. Analýza rozptylu vzorků neprokázala statisticky významný rozdíl ($P=0,0646$) mezi testovanými odrůdami. V publikaci I.V. Vrčka (2011) je uveden průměrný obsah vápníku u Tramínu 61,9 mg/l a u Chardonay 73,8 mg/l. Obsah vápníku u PIWI vín měl velký rozsah. V průměru obsahoval 62,3 mg/l, což se shoduje s víny z odrůdy Tramín.

Sodík byl stanoven v rozmezí 10,18 – 53,71 mg/l. Nejvíce jej bylo detekováno u vín z odrůdy Hibernál 32,72 mg/l. Následoval Johaniter s 28,43 mg/l a Solaris 25,12 mg/l. Po provedení ANOVY nebyl mezi vzorky nalezen statisticky významný rozdíl. U chorvatských vín odrůdy Tramín bylo detekováno 9,71 mg/l u vín z odrůdy Chardonay 6,24 mg/l. Lze tedy říci, že PIWI vína z oblasti Pálavy mají vyšší obsah sodíku, než vína chorvatská.

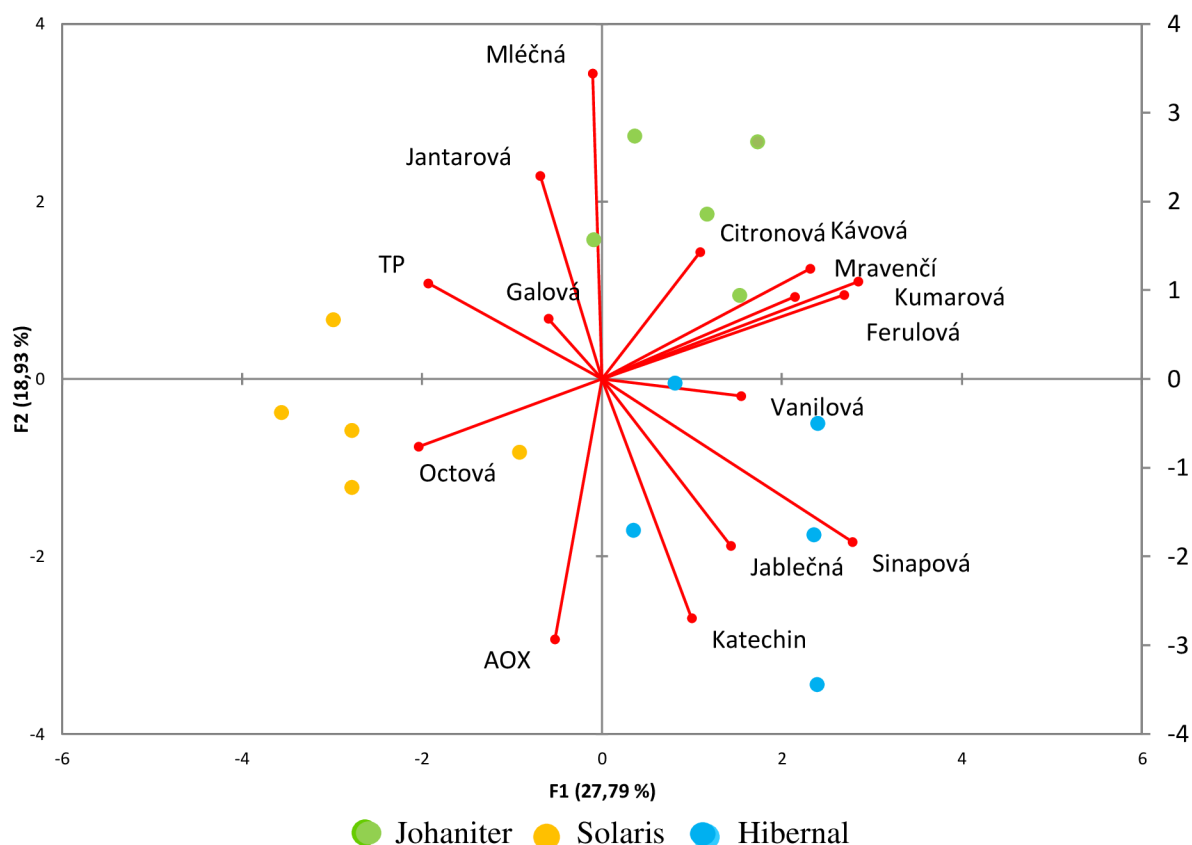
Rubidium, patřící do mikroprvků bylo stanoveno v rozmezí 0,19 – 0,34 mg/l. Nejvíce jej bylo obsaženo u vín z odrůdy Hibernál, a to v průměru 0,25 mg/l. U vín z Johaniteru byla průměrná koncentrace 0,25 mg/l a u Solarisu 0,24 mg/l. V literatuře je jako běžný obsah rubidia v bílých vínech uveden rozsah 0,5 – 5 mg/l [7]

Posledním, ze všech zkoumaných prvků nejméně zastoupeným, bylo stroncium. Koncentrace ve vínech z vybraných PIWI odrůd se pohybovala v rozmezí 0,88 – 1,79 mg/l. Nejméně bylo zastoupeno v Hibernálu, a to v průměru 1,27 mg/l, následovala vína vyrobená z Johaniteru s 1,5 mg/l a Solarisu 1,53 mg/l. Po provedení analýzy rozptylu nebyl ani u stroncia nalezen statisticky významný rozdíl. V literatuře se jako průměrná koncentrace u bílých vín uvádí 0,2 až 3 mg/l.

Z výsledků je patrné, že u makroprvků jsou mezi odrůdami významné rozdíly. U mikroprvků jsou rozdíly pouze minimální. Tuto tezi potvrzuje i I.V. Vrček a kol. (2011) [51].

4.7 Vícerozměrná analýza dat

U výsledků uvedených v předchozích kapitolách byla provedena analýza hlavních komponent (PCA). Výsledky jsou prezentovány ve dvourozměrném grafu, s hlavními komponentami F1 a F2 (**Obrázek 35**). Díky zobrazení vzorků vín z vybraných PIWI odrůd do roviny hlavních komponent bylo možné zjistit podobnosti a rozdílnosti pozorování (vín) na v závislosti na jejich chemickém složení.



Obrázek 35: Výsledek analýzy hlavních komponent

Z grafu (**Obrázek 35**) je patrné, že díky PCA došlo k oddělení vín z vybraných PIWI odrůd do jednotlivých klastrů. Vína z odrůdy Johaniter byly vyprojektovány do grafu s pozitivním skóre jak pro komponentu F1 tak i pro F2. Komponenta F1 je pozitivně korelována s proměnnými - kyselina mravenčí a citronová a fenolické látky kyselina kávová, kumarová a ferulová. F2 je dále silně pozitivně korelována s parametry koncentrace kyseliny mléčné a jantarové. Další klastr tvořily vzorky vín z odrůdy Hibernál, a to v oblasti s negativním skóre pro komponentu F2. Na negativní korelaci mají vliv kyselina jablečná, kyseliny vanilová, sinapová a katechin. Vzorky vín z odrůdy Solaris se shromáždily do 3. klastru. Pro tento bylo typické negativní skóre pro komponenty F1 i F2. Na negativní korelaci měly vliv kyselina octová a antioxidační aktivita, což přesně odpovídá výsledkům analýzy organických kyselin z IC. U vín z odrůdy Solaris byl prokázán zvýšený obsah kyseliny octové a nízký obsah fenolických látek. Z výše uvedeného vyplývá, že chemické složení vín z těchto tří testovaných PIWI odrůd se v rámci studovaných parametrů liší.

5 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce byla chemická charakterizace vín z vybraných PIWI odrůd. Jako zástupci intespecifických odrůd byly vybrány tři nejpěstovanější odrůdy v ČR Johaniter, Hibernál a Solaris.

Teoretická část práce byla věnována popisu PIWI odrůd a metod využitých ke stanovení charakteristik.

Jako nejvíce zastoupená organická kyselina byla kyselina jablečná. Nejvíce byla zastoupena kyselina jablečná v rozsahu 850,6 mg/l u vín z odrůdy Solaris až 984,9 mg/l u vín z Hibernálu. Druhou nejzastoupenější testovanou kyselinou byla kyselina octová. Nejnižší koncentrace byla stanovena u vín z odrůdy Johaniter, a to 217,7 mg/l, nejvíce byla zastoupena u vín z odrůdy Solaris 327,4 mg/l. Další zastoupenou analyzovanou kyselinou byla kyselina jantarová. Její obsah se ve vínech z vybraných PIWI odrůd pohyboval v rozmezí 173,3 až 277,0 mg/l. Nejméně byla zastoupená u vín z odrůdy Hibernál a nejvíce u Johaniteru. U kyseliny mléčné bylo stanoveno rozmezí 69,9 – 220,7 mg/l pro Hibernál až Johaniter. Následovala kyselina citronová se 125,9 mg/l u vín z odrůdy Solaris a 145,7 mg/l u Johaniteru. Jako nejdůležitější odrůdové znaky jsou kyseliny octová a citronová. Kyselina octová vypovídá o míře napadení hroznů octovou hnilobou. U odrůd Johaniter a Hibernál je napadení nižší než u Solarisu. Tato skutečnost souvisí zejména s jeho původem. Jednou z odrůd, která byla použita při křížení je Rulandské šedé, které je na napadení octovými bakteriemi velmi náchylné. Dalším aspektem, který ovlivňuje koncentraci kyseliny octové je schopnost Solarisu dosahovat vyššího obsahu cukrů v bobulích, díky velké listové ploše. Kyselina citronová značí napadení hroznů plísní *Botrytis cinerea*. U vín testovaných v této diplomové práci byla koncentrace konstantní a oproti vínům z nehybridních odrůd nižší. Tento podstatný znak je výsledkem *Vitis vinifera L.* s *Vitis labrusca* respektive evropských kultivarů s odrůdami Seibel a Villard blanc, které slouží jako nositelé genu odolnosti vůči houbovým chorobám.

Antioxidační aktivita vín z vybraných PIWI odrůd se pohybovala v rozmezí 0,4229 mmol/l Troloxu u Johaniteru až 0,7659 mmol/l Troloxu u Hibernálu. Obsah celkových fenolů byl stanoven v rozmezí 307,8 – 350,4 mg/l a vyjádřen jako ekvivalent kyseliny galové. Antioxidační aktivita i obsah celkových fenolů jsou spojeny se sekundárním metabolismem rostlin. Díky rezistenci PIWI odrůd vůči houbovým chorobám, nedochází k narušení produkce sekundárních metabolitů použitím fungicidů.

Z fenolických kyselin byla ve vínech z vybraných PIWI odrůd nejvíce zastoupena kyselina galové. Její koncentrace se pohybovala v rozmezí 8,1 – 9,5 mg/l. Další zastoupenou fenolickou látkou byl katechin, který byl zastoupen 2,7 – 4,3 mg/l. Následovala kyselina kávová se zastoupením 0,7 – 2,6 mg/l. Největší rozdíl mezi odrůdami byl zaznamenán u kyseliny kumarové. U vín z odrůdy Johaniter a Hibernál se koncentrace pohybovala v rozmezí 0,9 – 1,0 mg/l. U vín z odrůdy Solaris však byla průměrná koncentrace pouze 0,006 mg/l. Nejméně

zastoupenou fenolickou kyselinou pak byla kyselina sinapová. Její koncentrace se pohybovala v rozmezí 0,01 – 0,02 mg/l.

Pomocí prvkové analýzy bylo stanoveno zastoupení 4 makroprvků: Ca, K, Na a P a 2 mikroprvků Rb a Sr. Nejvíce zastoupeným prvkem byl fosfor, v rozmezí 231,8 - 308,4 mg/l. Následoval draslík se zastoupením 209,9 – 335,7 mg/l, vápník se 45,3 – 82,6 mg/l a sodík s 25,1 – 32,7 mg/l. U mikroprvků bylo více zastoupené stroncium v rozmezí 1,3 -1,5 mg/l. Rubidium se pak pohybovalo mezi 0,24 – 0,26 mg/l.

Největší procentuální zastoupení těkavých látek měly ve všech vínech z vybraných PIWI odrůd estery. Konkrétně ethylester kyselina oktanové, ethylester kyseliny dekanové, ethylester kyseliny hexanové a isoamylester kyseliny octové. Ethylester kyselina oktanové je zodpovědný za aroma pomeranče, ve vysoké koncentraci pak za aroma tuku. Ethylester kyseliny dekanové dává vínům květinové aroma. Ethylester kyseliny hexanové je zodpovědný za aroma jablečné slupky a ostružin, isoamylester kyseliny octové pak za hruškové, při vyšší koncentraci banánové aroma. U všech vzorků byl dále identifikován 1,1,5-trimethyl-1,2-dihydronaftalen. Tako těkavé látka je charakteristická pro odrůdu Ryzlink rýnský a dodává vínům aroma petroleje. Obecně však lze projev těkavých látek vín z vybraných PIWI odrůd popsat jako ovocné s nádechy květinových tónů.

Výsledkem této diplomové práce je, že chemické složení vín z vybraných tří PIWI odrůd je pro každou odrůdu odlišné a rozděluje vína do tří samostatných skupin.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PAVLOUŠEK, Pavel. *Bio odrůdy révy vinné*. Praha: Grada Publishing, 2016. ISBN 978-80-247-4330-1.
- [2] *Situační a výhledová zpráva*. 1. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky, 2018. ISBN 978-80-7434-471-8.
- [3] PAVLOUŠEK, Pavel a Pavla BUREŠOVÁ. *Vše, co byste měli vědět o víně: --a nemáte se koho zeptat*. Praha: Grada, 2015. ISBN 978-80-247-4351-6.
- [4] MORRIS, J.R., C.A. SIMS, J.E. BOURQUE a J.L. OAKES. Relationship of must pH and acidity to the level of soluble solids in six French-American hybrid grapes. *Ark. Farm Res.* (33), 4-5.
- [5] Wine of Czech republic. *Vína z Moravy, vína z Čech* [online]. [cit. 2020-02-05]. Dostupné z: <https://www.wineofczechrepublic.cz/nase-vina/bila-vina/odrudy-bilych-vin/4-hibernal.html>
- [6] Hibernal. *Vína z Moravy, vína z Čech* [online]. [cit. 2020-05-16]. Dostupné z: <https://www.wineofczechrepublic.cz/nase-vina/bila-vina/odrudy-bilych-vin/4-hibernal.html>
- [7] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. 1. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-2-5.
- [8] Johaniter. *BS vinařské potřeby* [online]. [cit. 2020-02-06]. Dostupné z: <https://www.vinarskepotreby.cz/sazenice-revy-vinne/>
- [9] FULLER, K.B., J.M. ALSTON a O.S. SAMBUCCI. The value of powdery mildew resistance in grapes: Evidence from California. *Wine Economic and Policy*. 2014, **3**(2), 90-107. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wep.2014.09.001>.
- [10] SALINARI, F., S. GIOSUÈ, F.N. TUBIELLO, A. RETTORI, V. ROSSI, F. SPANNA, C. ROSENZWEIG a M.L. GULLINO. Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01175.x>.
- [11] ROUSSEAU, J., S. CHANFREAU a É. BONTEMPS. *Les cépages résistants aux maladies cryptogamiques : panorama européen : guide technique*. 1. Groupe ICV, 2013. ISBN 978-2-7466-5802-8.
- [12] *Rostlinolékařský portál* [online]. [cit. 2020-01-24]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%22c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c26be54%22#fotogalerie|hledej:padl%C3%AD%20r%C3%A9vy|so:c18ccd9cbe2ba381e37b810d0c26be54
- [13] CALONNEC, A., P. CARTOLARO, L. DELIERE a J. CHADOEUF. Powdery mildew on grapevine: the date of primary contamination affects disease development on leaves and damage on grape. *IOBC WPRS BULLETIN*. 2006, **29**(11), 67.
- [14] *Ekovin* [online]. [cit. 2020-01-24]. Dostupné z: www.ekovin.cz/choroby-a-skudci/padli-revo

- [15] AUSTIN, C.N., G.G. GROVE, J.M. MEYERS a W.F. WILCOX. Powdery mildew severity as a function of canopy density: Associate impact on sunlight penetration and spray coverage. *American journal of enology and viticulture*. 2011, **62**(1), 23-31.
- [16] ROSSI, Vittorio a Tito CAFFI. The Role of Rain in Dispersal of the Primary Inoculum of *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*. 2012, **102**(2), 158-165. DOI: 10.1094/PHYTO-08-11-0223. ISSN 0031-949X. Dostupné z: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO-08-11-0223>
- [17] *Agromanuál* [online]. [cit. 2020-02-03]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/aktualni-prehled-ochrany-rostlin-srpen-zari>
- [18] Ekovin. *Ekovin* [online]. [cit. 2020-02-04]. Dostupné z: <http://www.ekovin.cz/choroby-a-skudci/plisen-seda>
- [19] MICHLOVSKÝ, Miloš. *Příprava bílých vín*. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014. ISBN 978-80-905319-4-9.
- [20] CASTIÑEIRA, A., R.M. PEÑA, C. HERRERO a S.J. GARCÍA-MARTÍN. *Food Comp. Anal.* 2002, (15), 319–331.
- [21] IBER-GOMEZ, M., C. ANDREAS-LACUEVA, R.M. LAMUELA-RAVENTOS a A.L. WATERHOUSE. *Am. J. Enol. Viticulture*. 2002, **53**, 218-221.
- [22] PEREIRA, V., J.S. CÂMARA, J. CAHO a J.C. MARQUES. HPLC-DAD methodology for the quantification of organic acid, furans and polyphenols by direct injection of wine samples. *J. Sep. Sci.* 2010, **33**, 1204-1215.
- [23] CH., Augustin, Bonhomme S., Murat M.-L. a Masneuf-Pomarede I. Un nouveau procédé de sélection de levures pour la révélation de l'arôme variétal du Sauvignon blanc. *Revue des oenologues et des techniques*. 2002, **29**(105), 33-35.
- [24] M.-L., Murat, Gindreau E., Augustin CH., Futer A. a Malan S. De la bonne gestion de la fermentation malolactique. Patie " : Les fondamentaux de la fermentation malolactique. *Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques*. 2007, **34**(124), 24-28.
- [25] GARRIDO, Jorge a Fernanda BORGES. Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. *Food Research International*. 2013, **54**(2), 1844-1858. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>.
- [26] RIBÂEREAU-GAYON, Pascal. *Handbook of enology*. 2nd ed. Chichester: John Wiley, 2006. ISBN 978-0-470-01037-2.
- [27] HUNTER, J.J. a V. BONNARDOT. Suitability of Some Climatic Parameters for Grapevine Cultivation in South Africa, with Focus on Key Physiological Processes. *South African Journal of Enology and Viticulture*. 2016, **32**(1). DOI: 10.21548/32-1-1374. ISSN 22247904. Dostupné z: <http://www.journals.ac.za/index.php/sajev/article/view/1374>
- [28] *CHROMAcademy* [online]. USA: LC-GC magazine and Crawford Scientific, 2019 [cit. 2020-02-11]. Dostupné z: <https://www.chromacademy.com/index.html>

- [29] *Vysokoúčinná kapalinová chromatografie* [online]. Praha: Autorský kolektiv ústavu 402 VŠCHT Praha [cit. 2020-02-11]. Dostupné z: http://fchi-oppa.vscht.cz/uploads/AK-skripta/Kap_1.pdf
- [30] MEYER, Veronika. *Practical high-performance liquid chromatography*. 5th ed. Chichester, U.K.: Wiley, 2010. ISBN 978-047-0682-180.
- [31] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2013. ISBN 978-80-260-4244-0.
- [32] KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-708-0586-2.
- [33] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [34] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [35] J., Čáslavský. *Instrumentální a strukturní analýza: Plynová chromatografie II*. Fakulta chemická VUT, Brno, 2018.
- [36] *Schéma plynového chromatografu s hmotnostní detekcí* [online]. In: . [cit. 2020-05-25]. Dostupné z: <https://www.semanticscholar.org/paper/GC-MS%3A-Principle%2C-Technique-and-its-application-in-Hussain-Maqbool/77cae8ddea08d6eb6c8d26e50bd19c63da7deda3>
- [37] OTRUBA, V., ed. *Kurz ICP spektrometrie* [online]. 1. Brno: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, 2011 [cit. 2020-05-03]. ISBN 978-80-904539-1-3.
- [38] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-951-8.
- [39] ČÁSLAVSKÝ, J. *Instrumentální a strukturní analýza: Hmotnostní spektrometrie*. Fakulta chemická VUT, Brno, 2018.
- [40] ROBLES, A., M. FABJANOWICZ, T. CHMIEL a J. PIOTKA-WASYLKA. Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges. *Trends in Analytical Chemistry*. 2019, (120), 115630. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115630>.
- [41] POLO, Carmen a M. MORENO-ARRIBAS. *Wine chemistry and biochemistry*. 2008. ISBN 978-0-387-74116-1.
- [42] ZERAVIK, J., Z. FOHLEROVA, M. MILOVANOVIC et al. Various instrumental approaches for determination of organic acids in wines. *Food Chemistry*. 2016, **2016**(194), 432-440. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.013>.
- [43] GERÓS, H., M. CHAVES a S. DELROT. *The Biochemistry of the Grape Berry*. 1. Bentham e book, 2012. 978-1-60805-360-5.
- [44] KAPUSTA, Ireneusz, Tomasz CEBULAK a Jan OSZMIAŃSKI. Characterization of polish wines produced from the interspecific hybrid grapes grown in south-east Poland. *European Food Research and Technology*. 2018, **244**(3), 441-455. DOI:

- 10.1007/s00217-017-2972-5. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-017-2972-5>
- [45] STAŠKO, A., V. BREZOVÁ, M. MAZÚR, M. ČERTÍK a M. KALIŇÁK. A comparative study on the antioxidant properties of Slovakian and Austrian wines. *LWT - Food Science and Technology*. 2008, **2008**(41), 2126-2135. DOI: doi:10.1016/j.lwt.2007.11.021.
- [46] BURIN, V.M., N.E. FERREIRA-LIMA, C.P. PANCERI a M.T. BORDIGNON-LUIZ. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. *Microchemical Journal*. 2014, **2014**(114), 155-163. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.12.014>.
- [47] PAIXAO, N., R. PERESTRELO, J.C. MARQUES a J.S. CÂMARA. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wine. *Food Chemistry*. 2007, (105), 204-214.
- [48] DANIEL, O, M MEIER, J SCHLATTER a P FRISCHKNECHT. Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides. *Environmental Health Perspectives*. 1999, **107**(1), 109-114. DOI: 10.1289/ehp.99107s1109. ISSN 0091-6765. Dostupné z: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.99107s1109>
- [49] STRLIČ, M., T. RADOVIČ, J. KOLAR a B. PIHLAR. Anti- and Prooxidative Properties of Gallic Acid in Fenton-Type Systems. *J. Agric. Food Chem.* 2002, **50**(22), 6313-6317. DOI: 10.1021/jf025636.
- [50] SOYOLKHAM, Badamtsetseg, Pavel VALÁŠEK, Miroslav FIŠERA, Vlastimil FIC, Vlastimil KUBÁŇ a Ignác HOZA. Total polyphenolic compounds contents (TPC), total antioxidant activities (TAA) and HPLC determination of individual polyphenolic compounds in selected Moravian and Austrian wines. *Open Chemistry*. 2011, **9**(4). DOI: 10.2478/s11532-011-0045-3. ISSN 2391-5420. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/chem.2011.9.issue-4/s11532-011-0045-3/s11532-011-0045-3.xml>
- [51] VRČEK, Ivana, Mirza BOJIĆ, Irena ŽUNTAR, Gordana MENDAŠ a Marica MEDIĆ-ŠARIĆ. Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chemistry*. 2011, **124**(1), 354-361. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.05.118. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610007016>
- [52] PEÑA-NEIRA, A., T. HERNÁNDEZ, C. GARCÍA-VALLEJO, I. ESTRELLA a J. SUAREZ. A survey of phenolic compounds in Spanish wines of different geographical origin. *European Food Research and Technology*. 2000, **210**(6), 445-448. DOI: 10.1007/s002170050579. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s002170050579>
- [53] Brettanomyces Monitoring by Analysis of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol. In: *ETS laboratories* [online]. 2000 [cit. 2020-05-25]. Dostupné z:

<https://web.archive.org/web/20080219204946/http://www.etslabs.com/scripts/ets/pagetemplate/blank.asp?pageid=193>

- [54] CLARKE, J. a J. BAKKER. *Wine Flavour Chemistry*. 1. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2004. ISBN 978-1-4051-5004-0.
- [55] LIU, Jing, Torben TOLDAM-ANDERSEN, Mikael PETERSEN, Shujuan ZHANG, Nils ARNEBORG a Wender BREDIE. Instrumental and sensory characterisation of Solaris white wines in Denmark. *Food Chemistry*. 2015, **166**, 133-142. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.05.148. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614008747>
- [56] BRYANT, R.J. a A.M. MCCLUNG. Volatile profiles of aromatic and non-aromatic rice cultivars using SPME/GC-MS. *Food Chemistry*. 2011, **124**(2), 501-513. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.06.061. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610007715>
- [57] FRANCIOLI, S., J. TORRENS, M. RIU-AUMATELL, E. LÓPEZ-TAMAMES a S. BUXADERAS. Volatile Compounds by SPME-GC as Age Markers of Sparkling Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 2003, **54**(3), 158-162.
- [58] NOGUEROL-PATO, R., M. GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, C. GONZÁLEZ-BARREIRO, B. CANCHO-GRANDE a J. SIMAL-GÁNDARA. Aroma profile of Garnacha Tintorera-based sweet wines by chromatographic and sensorial analyses. *Food Chemistry*. 2012, **134**(4), 2313-2325. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.03.105. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814612005900>
- [59] SCHÜTTLER, Armin, Matthias FRIEDEL, Rainer JUNG, Doris RAUHUT a Philippe DARRIET. Characterizing aromatic typicality of Riesling wines: merging volatile compositional and sensory aspects. *Food Research International*. 2015, **69**, 26-37. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.12.010. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996914007807>
- [60] GÓMEZ GARCÍA-CARPINTERO, E., M.A. GÓMEZ GALLEGO, E. SÁNCHEZ-PALOMO a M.A. GONZÁLEZ VIÑAS. Impact of alternative technique to ageing using oak chips in alcoholic or in malolactic fermentation on volatile and sensory composition of red wines. *Food Chemistry*. 2012, **134**(2), 851-863. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.02.194. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814612004098>
- [61] DIVIŠ, Pavel, Jaromír POŘÍZKA, Pavel DIVIŠ a DVOŘÁK. Elemental analysis as a tool for classification of Czech white wines with respect to grapevine varieties. *Journal of Elementology*. 2018, (22018). DOI: 10.5601/jelem.2017.22.4.1379. ISSN 16442296. Dostupné z: <http://jsite.uwm.edu.pl/articles/view/1379/>

7 SEZNAM ZKRATEK

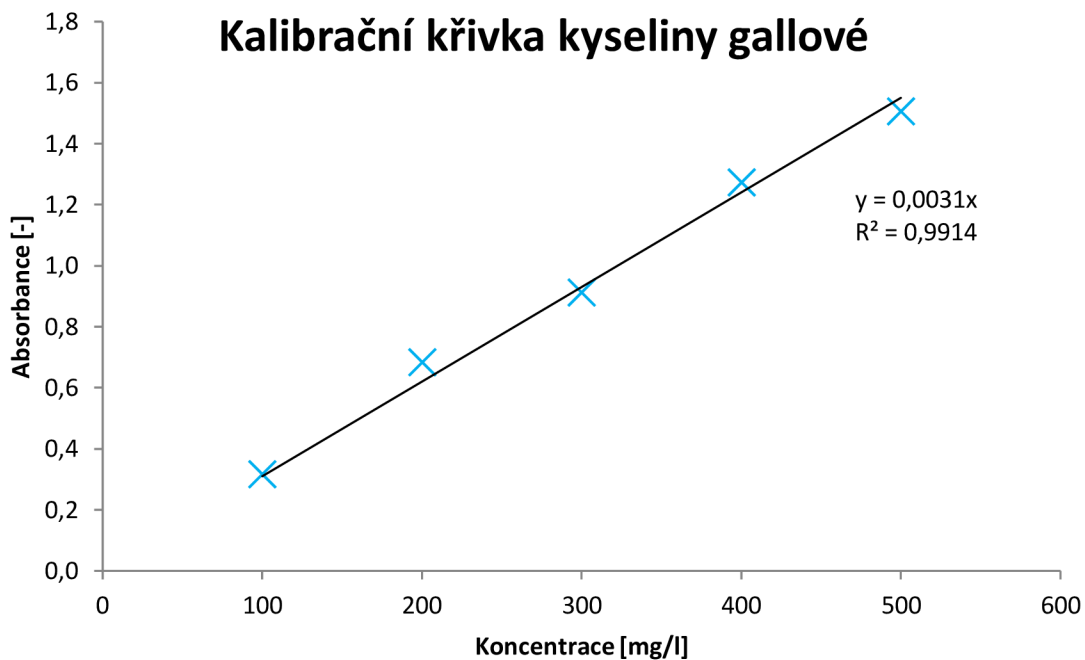
| | |
|---------|--|
| HPLC | Kapalinová chromatografie |
| IC | Iontová chromatografie |
| ICP-OES | Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem |
| ICP-MS | Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem |
| CG/MS | Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí |
| TEAC | Trolox equivalent antioxidant capacity – antioxidační aktivita |
| GAE | Ekvivalent kyseliny galové |
| PCA | Analýza hlavních komponent |
| ANOVA | Analýza rozptylu |
| m/z | Poměr hmotnosti ku velikosti náboje |
| TOF | Průletový analyzátor (Time Of Flight) |

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

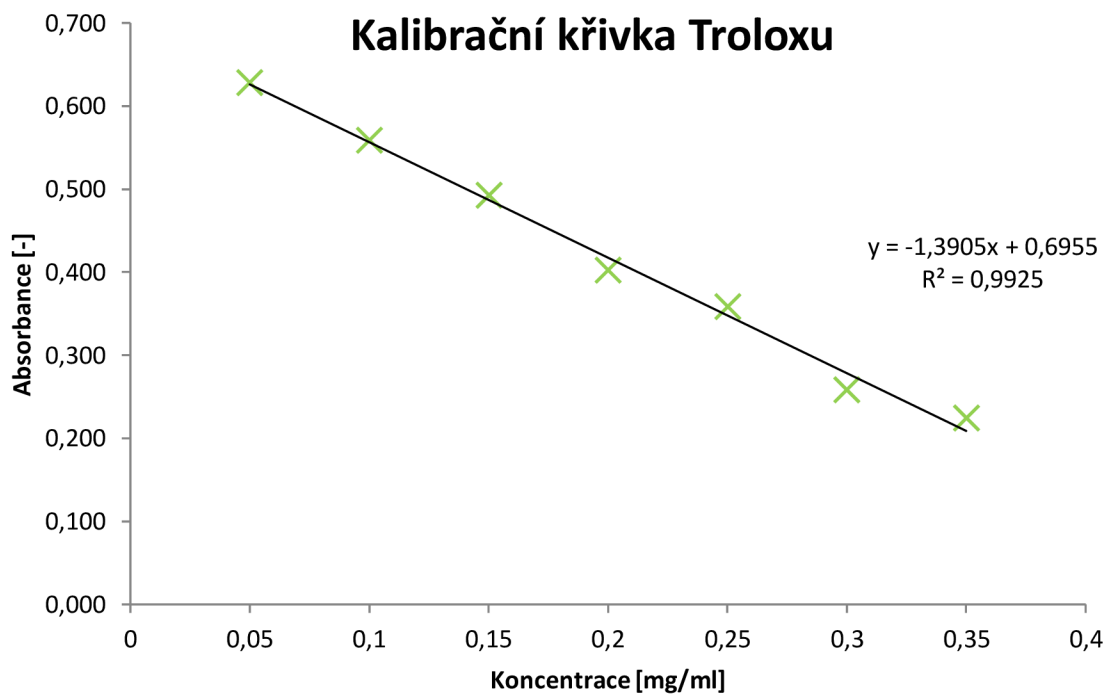
| | |
|--|----|
| Obrázek 1: Nejpěstovanější odrůdy v ČR [2] | 10 |
| Obrázek 2: Osázení ploch vybranými PIWI odrůdami [2] | 12 |
| Obrázek 3: Hibernál [5; 6] | 13 |
| Obrázek 4: Johaniter [8] | 15 |
| Obrázek 5: Hrozen napadený padlí réвовým [14] | 16 |
| Obrázek 6: Plíseň révy [17] | 17 |
| Obrázek 7: Ušlechtilá šedá hniloba [18] | 18 |
| Obrázek 8: Šedá hniloba [18] | 19 |
| Obrázek 9: Kyselina vinná | 21 |
| Obrázek 10: Kyselina jablečná | 21 |
| Obrázek 11: Kyselina citronová | 22 |
| Obrázek 12: Kyselina mléčná | 23 |
| Obrázek 13: Kyselina octová | 23 |
| Obrázek 14: Schéma kapalinového chromatografu | 31 |
| Obrázek 15: Průběh iontové chromatografie [32] | 33 |
| Obrázek 16: Schéma plynového chromatografu s hmotnostní detekcí [36] | 34 |
| Obrázek 17: Schéma ICP-OES [37] | 35 |
| Obrázek 18: Schéma optického systému [37] | 36 |
| Obrázek 19: ICP-MS [37] | 37 |
| Obrázek 20: Obsah kyseliny jablečné ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 46 |
| Obrázek 21: Obsah kyseliny octové ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 47 |
| Obrázek 22: Obsah kyseliny jantarové ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 48 |
| Obrázek 23: Obsah kyseliny mléčné ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 49 |
| Obrázek 24: Obsah kyseliny citronové ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 50 |
| Obrázek 25: Antioxidační aktivita vín z vybraných PIWI odrůd | 52 |
| Obrázek 26: Obsah celkových fenolů ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 53 |
| Obrázek 27: Boxový graf pro zastoupení kyseliny galové ve vín z vybraných PIWI odrůd | 55 |
| Obrázek 28: Boxový graf pro zastoupení katechinu ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 56 |
| Obrázek 29: Boxový graf pro obsah kyseliny kávové ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 56 |
| Obrázek 30: Boxový graf obsahu kyseliny vanilové ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 57 |
| Obrázek 31: Boxový graf obsahu kyseliny kumarové ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 58 |
| Obrázek 32: Boxový graf obsahu kyseliny ferulové ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 58 |
| Obrázek 33: Boxový graf obsahu kyseliny sinapové ve vínech z vybraných PIWI odrůd | 59 |
| Obrázek 34: Boxové grafy pro prvky, u nich byl u vín z PIWI odrůd zaznamenán rozdíl | 70 |
| Obrázek 35: Výsledek analýzy hlavních komponent | 72 |

9 PŘÍLOHY

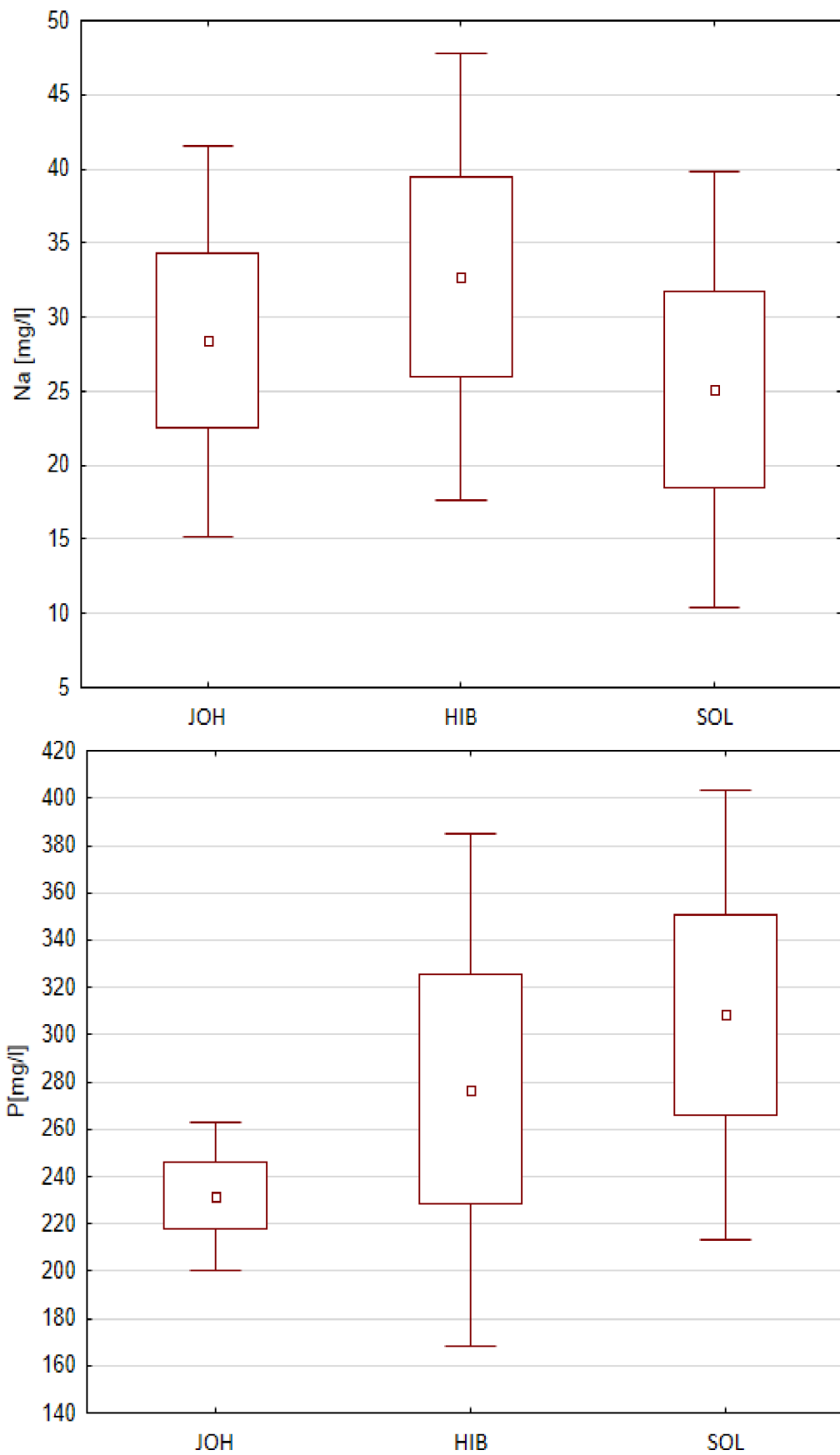
Příloha č. 1: Kalibrační křivka kyseliny galové

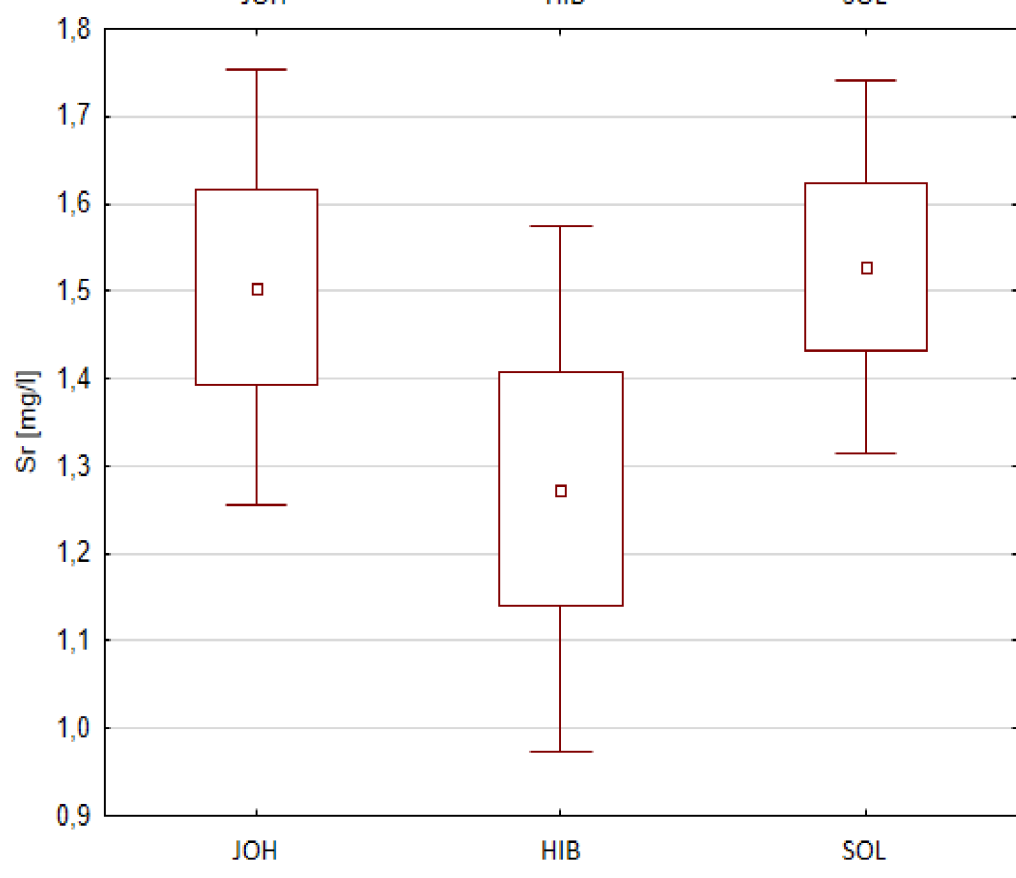
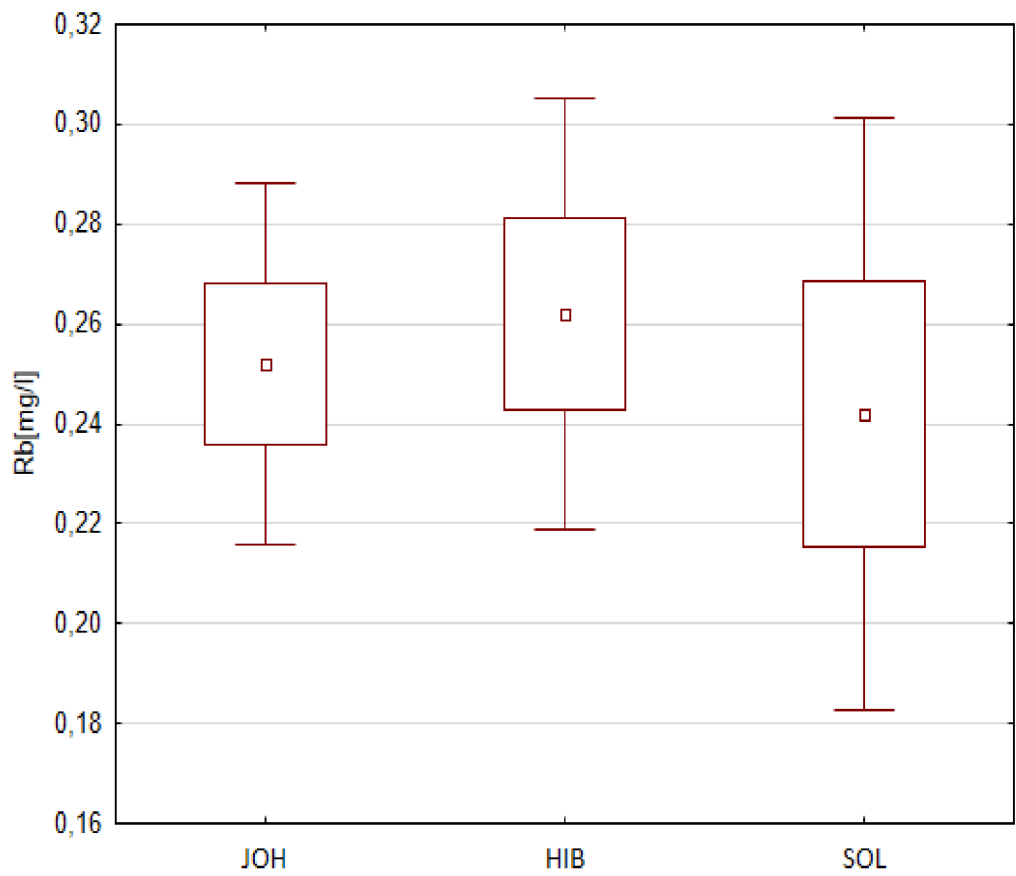


Příloha č. 2: Kalibrační křivka Troloxu



Příloha č. 3: Boxové grafy pro prvkové složení vín z vybraných PIWI odrůd





Příloha č. 4: Příklad chromatogramu pro vzorek 1A_JOH z IC

