

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Brno, 2023

Bc. Michaela Šumberová



# 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

# STUDIUM LÁTKOVÉHO PROFILU VÍN ODRŮDY RYZLINK RÝNSKÝ

STUDY OF THE CHEMICAL PROFILE OF WINE OF RIESLING VARIETY

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Michaela Šumberová

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2023

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1800/2022 Akademický rok: 2022/23  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Bc. Michaela Šumberová**  
Studijní program: Chemie přírodních látek  
Studijní obor: bez specializace  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Studium látkového profilu vín odrůdy Ryzlink rýnský

### Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled studované problematiky – látkové složení vína, charakteristika odrůdy, parametry a metody vhodné pro charakterizaci a autentifikaci vín.
2. Analyzujte vína odrůdy Ryzlink rýnský z různých regionů ČR.
3. Stanovte a pomocí vhodných statistických metod porovnejte látkový profil vybraných vzorků vín.

### Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

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

-----  
Bc. Michaela Šumberová  
studentka

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

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

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

## ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá tématem chemického složení a autentifikace původu vína odrůdy Ryzlink rýnský ze 4 vinařských moravských podoblastí. V experimentální části bylo proměřeno 20 vzorků této odrůdy pomocí 5 instrumentálních analytických metod – HS-SPME-GC-MS pro aromatické látky, HPLC-MS pro fenolické látky, MAS pro celkový obsah fenolických látek, ICP-OES a ICP-MS pro elementární analýzu. Aromatických látek bylo identifikováno 36, z toho 7 odrůdových terpenů a 2 C<sub>13</sub> norisoprenoidy. Celkový obsah fenolických látek byl pro odrůdu Ryzlink rýnský stanoven v rozmezí 174,22–380,96 mg·l<sup>-1</sup>. Z konkrétních fenolických látek byly změřeny kyselina gallová (0,41–34,99 mg·l<sup>-1</sup>), katechin (0,05–7,44 mg·l<sup>-1</sup>), epikatechin (0,03–4,14 mg·l<sup>-1</sup>), kyselina kávová (0,14–2,05 mg·l<sup>-1</sup>) a kyselina kumarová (0,30–4,04 mg·l<sup>-1</sup>). V Ryzlinku rýnském bylo stanoveno celkem 18 prvků, makroprvky K > P > Mg > Ca > Na v koncentracích nad 10 mg·l<sup>-1</sup>, mikroprvky Al > Fe > Zn > Mn > Sr > Cu v rozmezí koncentrací 0,1–10 mg·l<sup>-1</sup> a stopové prvky Ni > Cr > V > Pb > Mo > Co > Cd v koncentracích 0,0001–1 mg·l<sup>-1</sup>. Nejvíce obsaženým prvkem byl draslík (386,37 mg·l<sup>-1</sup>). Výsledky byly zpracovány pomocí parametrické a neparametrické univarietní analýzy rozptylu (ANOVA) a vícerozměrné analýzy hlavních komponent (PCA). Statisticky významnými parametry, které byly ovlivněny vinařskou oblastí, byly pouze Ni<sup>60</sup> ( $p = 0,0029$ ), ethyl-benzoát ( $p = 0,0060$ ) a diethyl-sukcinát ( $p = 0,0247$ ) pro hladinu významnosti  $\alpha = 0,05$ . Z celkově 57 naměřených proměnných bylo vybráno 7 statisticky významných parametrů, které byly použity pro grafické vyhodnocení vzorků pomocí PCA. Výsledky PCA ukazují, že pomocí vybraných chemických sloučenin a vybraných metod chemometrie bylo možné částečně autentifikovat původ vína jedné odrůdy.

## ABSTRACT

This diploma thesis focuses on the chemical profile and authentication of the geographical origin of varietal wine Rhine Riesling obtained from 4 Moravian wine regions. In the experiment, 20 wine samples were analysed with 5 instrumental analytical methods – aromatic compounds were determined by HS-SPME-GC-MS, phenolic compounds by HPLC-MS, total phenolic content by MAS, and elemental analysis by ICP-OES and ICP-MS. In total 36 aromatic compounds were detected, from which 7 were varietal terpenes and 2 of them C<sub>13</sub> norisoprenoids. The total phenolic content for the Rhine Riesling wine was measured in the concentration range of 174,22–380,96 mg·l<sup>-1</sup>. Gallic acid (0,41–34,99 mg·l<sup>-1</sup>), catechin (0,05–7,44 mg·l<sup>-1</sup>), epicatechin (0,03–4,14 mg·l<sup>-1</sup>), caffeic acid (0,14–2,05 mg·l<sup>-1</sup>), and coumaric acid (0,30–4,04 mg·l<sup>-1</sup>) were the specific measured phenolics. In total 18 elements were measured in Rhine Riesling wine, macroelements K > P > Mg > Ca > Na with concentrations above 10 mg·l<sup>-1</sup>, microelements Al > Fe > Zn > Mn > Sr > Cu in the concentration range 0,1–10 mg·l<sup>-1</sup>, and trace elements Ni > Cr > V > Pb > Mo > Co > Cd in the concentration 0,0001–1 mg·l<sup>-1</sup>. Potassium was the most abundant element (386,37 mg·l<sup>-1</sup>). The results were used for the parametric and nonparametric univariate analysis of variance (ANOVA) and multivariate principal component analysis (PCA). Ni<sup>60</sup> ( $p = 0,0029$ ), ethyl benzoate ( $p = 0,0060$ ), and diethyl succinate ( $p = 0,0247$ ) were statistically the most significant parameters influenced by the wine region for the significance level  $\alpha = 0,05$ . Out of the 57 measured variables 7 parameters were identified as statistically significant and used for PCA graphic representation of the samples. PCA results show, that the varietal wine's origin can be authenticated by chosen chemical compounds and chemometric methods.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

HS-SPME-GC-MS, HPLC, TPC, ICP-MS, ICP-OES, PCA, víno, autentifikace, Ryzlink rýnský

## **KEY WORDS**

HS-SPME-GC-MS, HPLC, TPC, ICP-MS, ICP-OES, PCA, wine, authentication, Rhine Riesling

ŠUMBEROVÁ, Michaela. *Studium látkového profilu vín odrůdy Ryzlink rýnský*. Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148893>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Eva Vítová.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....  
podpis studenta

## PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala paní doc. Ing. Vítové, Ph.D. a panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. za věcné komentáře k mé diplomové práci a pomoc při práci v laboratoři.

## OBSAH

1	ÚVOD .....	8
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	9
2.1	Vinařství a pěstování révy vinné v České republice.....	9
2.1.1	Vinařské oblasti v České republice .....	9
2.1.2	Pěstování odrůdy Ryzlink rýnský v České republice .....	10
2.2	Autenticita vína .....	10
2.2.1	Parametry pro hodnocení autenticity vín .....	11
2.3	Obecná charakteristika odrůdy Ryzlink rýnský.....	11
2.4	Chemie vína .....	12
2.4.1	Voda a cukry.....	13
2.4.2	Alkoholy.....	13
2.4.3	Kyseliny.....	14
2.4.4	Fenolické látky.....	15
2.4.5	Aromatické látky ve víně .....	17
2.4.6	Prvky.....	22
2.5	Látková charakteristika Ryzlinku rýnského.....	23
2.5.1	Aromatické látky typické pro odrůdu Ryzlink .....	23
2.5.2	Fenolické látky typické pro odrůdu Ryzlink.....	26
2.5.3	Prvky typické pro odrůdu Ryzlink .....	28
2.6	Vybrané metody pro charakterizaci a autentifikaci vína .....	29
2.6.1	Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií.....	30
2.6.2	Vysokoučinná kapalinová chromatografie .....	33
2.6.3	Metody pro elementární analýzu.....	33
2.6.4	Spektrofotometrické stanovení celkových fenolických sloučenin .....	34
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	35
3.1	Použité přístroje .....	35
3.2	Použité chemikálie.....	35
3.3	Analyzované vzorky .....	35
3.4	Použité metody.....	36
3.4.1	Plynová chromatografie – stanovení aromatických látek .....	37
3.4.2	Kapalinová chromatografie – stanovení fenolických látek .....	38
3.4.3	Folin-Ciocalteuova metoda – stanovení celkového obsahu fenolických látek .....	39
3.4.4	Atomová emisní spektrometrie – stanovení prvků.....	40
3.4.5	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem – stanovení prvků.....	40

3.5	Statistické zpracování výsledků .....	41
4	VÝSLEDKY A DISKUSE .....	42
4.1	Aromatický profil vína odrůdy Ryzlink rýnský .....	42
4.1.1	Parametrické a neparametrické testy pro aromatické látky.....	44
4.2	Celkový obsah fenolických látek.....	46
4.3	Kvantifikace vybraných fenolických látek.....	48
4.3.1	Parametrické a neparametrické testy pro fenolické látky .....	50
4.4	Elementární složení vín .....	52
4.4.1	Parametrické a neparametrické testy pro prvky.....	53
4.5	Analýza hlavních komponent .....	54
5	ZÁVĚR.....	58
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	59
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	70
8	SEZNAM PŘÍLOH .....	73
9	PŘÍLOHY .....	74



# 1 ÚVOD

Ryzlink rýnský patří mezi bílá vína tradičně pěstovaná v České republice, jedná se o třetí nejpěstovanější odrůdu vína u nás a hlavní oblastí pěstování je Jihomoravský kraj. Jak si poslední dobou můžeme všimnout na trhu, vína jsou často cílem falšování, a proto je důležité je správně a přesně chemicky analyzovat. Tento úkol je velice náročný pro analytickou chemii, protože víno je komplexní matrice s mnoha vlivy na jeho složení. Složení vína může být ovlivněno podnebím, počasím v daném ročníku, geologickým podložím vinohradu, hnojením, manipulací s hrozny ve vinohradu, vinařským zpracováním, skladováním a dalšími faktory. Ve vědě je stále nedostatek poznatků, které by obsáhly všechny tyto faktory ve svých studiích. Dalším úkolem pro autentifikaci je poté chemometrické zpracování velkého množství dat a výběr vhodných statistických metod.

Cílem této práce bylo analyzovat typický chemický profil odrůdy Ryzlink rýnský na vzorcích z různých vinařských oblastí Jihomoravského kraje a pokusit se o autentifikaci původu a rozdělení vín podle podoblastí pomocí charakteristického chemického složení vín.

V teoretické části je popsáno téma autenticity vín z hlediska analytické chemie, chemické složení vín a popsána je také odrůda Ryzlink rýnský. Shrnuty jsou instrumentální metody analytické chemie, které byly vybrány pro charakterizaci této odrůdy, a také se jedna z kapitol věnuje rešerši dosud získaných poznatků o chemickém profilu odrůdy Ryzlink rýnský.

Experimentální část se věnuje měření, kvalitativnímu a kvantitativnímu určení chemických sloučenin obsažených ve vínech této odrůdy pocházejících ze 4 moravských vinařských podoblastí (znojemská, mikulovská, velkopavlovická a slovácká). Použitými analytickými technikami byly plynová chromatografie s hmotnostně spektrometrickým detektorem, kapalinová chromatografie, spektrofotometrie, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Z chemických sloučenin byly charakterizovány aromatické látky, fenolické látky a prvky. Pomocí statistických jednorozměrných i vícerozměrných metod byla vína hodnocena z hlediska původu a celkovým výsledkem je graf analýzy hlavních komponent, který třídí vína do shluků podle původu.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Vinařství a pěstování révy vinné v České republice

Réva vinná je z ekonomického hlediska nejdůležitějším ovocem na světě [1] a její pěstování a vinařství má dlouhou historii a tradici [2]. Rod *Vitis* má více než 50 druhů [1]. V současné době jsou nejvíce pěstovány dvě odrůdy révy vinné [2] – réva evropská (*Vitis vinifera*), která je jediným evropským druhem, druhem nejstarším a s množstvím odrůd, které vznikají šlechtěním a mutacemi, a réva americká (*Vitis labrusca*, *riparia*, *berlandieri*, *rupestris*), která se kvůli své odolnosti používá jako podnož pro roubování. Další odrůdy jsou hybridní kříženci těchto dvou rév a jsou odolnější vůči nemocem a révokazu [3].

Réva vinná je teplomilná rostlina, nejlépe se jí daří při teplotách 18–25 °C v létě. Optimální podmínky pro její růst jsou v oblastech, kde teploty neklesají pod -20 °C, nevyskytují se jarní mrazy, je dostatek slunce a dlouhý teplý podzim pro dozrávání hroznů [3]. Ampelografie rozděluje révu na odrůdy moštové pro výrobu bílého a červeného vína a na odrůdy stolní určené pro přímý konzum [4]. Charakteristika vína je nejvíce určena vinnou odrůdou a pro vhodnou chemickou autentifikaci je důležité vyvíjet kritéria pro jejich odlišení a analýzu [5].

V obchodních řetězcích je možné se setkat s označením vín jako výběrové, odrůdové, typové a známkové. Výběrová vína mají nejvyšší jakost a nejvíce výrazné charakteristické vlastnosti pro odrůdu, jsou tedy nejkvalitnější. Odrůdová (druhová) vína jsou vyrobena pouze z jediné odrůdy, kde je možná příměs jiné odrůdy do maximálně 25 %, odrůdová vína se liší svou kvalitou podle příznivých či nepříznivých klimatických podmínek daného ročníku. Typová vína jsou směsí odrůd, které vykazují typickou charakteristiku, jejich kvalita se rovněž každým rokem mění. Známková vína mají naopak každý rok stejný charakter a jsou typická pro dané vinařství [4].

Odvětví vinařství je v České republice velmi atraktivním směrem potravinářského průmyslu. Z celosvětového hlediska není Česká republika, kde je dlouhodobě větší dovoz než vývoz vína, důležitým producentem vín, ale významně ovšem ovlivňuje zaměstnanost a ekonomiku regionů s vinařskou produkcí [6]. Od devadesátých let se vinařství v České republice posunulo i díky vstupu do Evropské unie z produkce kvantitativní na produkci vín vysoce kvalitních [7].

V roce 2020 se v České republice obhospodařovalo 18 099,36 hektarů vinic, z toho 93,7 % vinic se nachází v Jihomoravském kraji (16 957,32 ha). Méně vinic se nachází ve Zlínském, Středočeském a Ústeckém kraji (300–500 ha). Oproti roku 2015 se rozloha vinic rozšířila o 2,3 %. Obecně trend nasvědčuje rozšiřování vinic, ale úbytek počtu malých pěstitelů. Nejvíce pěstovanými odrůdami v roce 2020 byly v tomtéž roce Veltlínské zelené a Müller Thurgau. Na třetím místě se nachází Ryzlink rýnský, na čtvrtém Ryzlink vlašský [8].

#### 2.1.1 Vinařské oblasti v České republice

V České republice existují dva regiony, které se považují za centra vinařství – je to český vinařský region s hlavními vinařskými podoblastmi litoměřickou a mělnickou, a druhým a podstatně více produkujícím regionem je moravský vinařský region s podoblastmi mikulovská, slovácká, velkopavlovická a znojenská [3; 9]. Oba regiony jsou zaměřeny spíše na výrobu bílých jakostních odrůdových vín a jakostních vín s přívlastkem [3].

Vinařské oblasti se mezi sebou liší klimatem, které souvisí s polohou vinic, složením půdy, a také často i zpracovatelskými postupy. Odrůdy révy se poté vybírají i podle polohy vinice.

Obecně platí, že vína ze severu obsahují více kyselin, méně alkoholu a více aromatických látek [3].

Vinohradnictví se v České republice neustále rozvíjí a v roce 2010 (19633,45 ha vinic) byla oproti šedesátým letům produkce trojnásobná [10]. Kolektiv Chládkové a kol. [10] v roce 2010 předpokládal další nárůst a výraznější rozšíření odrůd Ryzlink rýnský, Sauvignon, Lemberger (Frankovka) a Zweigeltrebe.

Největší změny ve vinohradnictví a legislativě nastaly v letech 2000–2004 v souvislosti se vstupem České republiky do Evropské unie [10]. Chládková také zmiňuje náročnější produkci českého vína a vyšší tlak mimotuzemských výrobců na spotřebitele v souvislosti se vstupem České republiky do Evropské unie v roce 2004 [11]., kde vešel v platnost zákon č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů [10].

### 2.1.2 Pěstování odrůdy Ryzlink rýnský v České republice

Odrůda Ryzlink rýnský se v roce 2020 v České republice pěstovala na ploše 1363,82 ha (viz. Tabulka 1), z toho 1225,53 ha v Jihomoravském kraji (89,86 %), výrazně méně pak ve Zlínském kraji 55,59 ha (4,08 %) a v dalších krajích [8].

Tabulka 1: Pěstování odrůdy Ryzlink rýnský v roce 2020 v krajích České republiky (vytvořeno podle [8])

	(ha)	(%)
<b>Česká republika</b>	<b>1363,82</b>	<b>100,00</b>
Praha	5,08	0,37
Středočeský kraj	46,13	3,38
Ústecký kraj	31,22	2,29
Zlínský kraj	55,59	4,08
Jihomoravský kraj	1225,53	89,86

Oproti roku 2015, kdy v celé České republice plocha Ryzlinku rýnského zaujímala 1225,64 ha (6,9 % celé ČR), se v roce 2020 její rozloha zvýšila na 7,5 % celé ČR. Jedná se o odrůdu s největším nárůstem pěstované plochy v porovnání s posledním šetřením v roce 2015. Naopak nejvíce pěstované odrůdy Veltlínské zelené a Müller Thurgau [10] zaznamenaly úbytek osázené plochy, kterým produkce od roku 2015 klesla (o 1,70 % a 9,39 %) [8]. Tento fakt svědčí o popularitě odrůdy Ryzlink. Podle studie Chládkové a kol. [11], která se dotazovala 1000 osob z různých částí České republiky, patří mezi deset nejkupovanějších vín Frankovka, Cabernet Sauvignon, Müller Thurgau, Veltlínské zelené, Rulandské bílé, Svatovavřínecké, Modrý Portugal, Chardonnay, Ryzlink vlašský a Bohemia sekt.

## 2.2 Autenticita vína

V poslední době se ve světě i v Evropě stále více pozornosti soustředí na specifikaci původu vína a testování jeho autenticity [12]. Autenticita neboli pravost vína je důležitým parametrem pro spotřebitele i výrobce [13]. Víno patří mezi velmi často falsifikované potraviny, hlavně co se týče jeho původu a odrůdy [14], proto je nacházení vhodných parametrů pro hodnocení autenticity a dohledatelnosti vína důležitým úkolem pro analytickou chemii [15]. Testování autenticity se provádí pomocí chemické analýzy metabolitů a dalších sloučenin, jejichž zdrojem je vinná réva a exogenní zdroje [16]. Pro identifikaci se používá množství analytických metod, které by ideálně měly být levné a rychlé [14], a následně poté chemometrické

(statistické) metody, které odhalují vztahy mezi jednotlivými chemikáliemi z vína pomocí statistických výpočtů [17]. Ze statistických metod se nejčastěji používají jednorozměrné metody (ANOVA – analýza rozptylu) a vícerozměrné statické metody (shluková analýza a analýza hlavních komponent PCA – *principal component analysis*) pro zpracování velkého množství dat [13].

### 2.2.1 Parametry pro hodnocení autenticity vín

Autenticitu lze hodnotit z hlediska různých parametrů. Prvním parametrem je geografický původ vína. U vína je důraz na geografický původ větší než u jakékoliv jiného potravinářského produktu, protože s ním velmi úzce souvisí jeho kvalita a charakter [15]. Regionalita vína je často spojena s vyšší cenou a kvalitou vína, a tedy i vyšší preferencí spotřebitelem [14]. Falšování původu vína chybným nebo nepravdivým označováním produktů a následný prodej za vyšší cenu je častým problémem na trhu. Tento trend se ve světě i v České republice zvyšuje [18].

S oblastí pěstování hroznů souvisí termín *terroir*, což je pojem, který označuje souhrn klimatických podmínek, vliv polohy a typu půdy na růst a zrání hroznů [3]. Rozdíl mezi dvěma *terroiry* lze nejvíce poznat v chuti a aroma hroznů a moštu. Rostlina prochází několika fyziologickými procesy během růstu, které poté určují její chemické složení. Tyto procesy jsou ovlivněny environmentálními faktory, jako je teplota vzduchu, dostupnost světla, déšť a obsah vody v půdě, chemické složení a pH půdy, které jsou často typické i pro daný vinohrad [19]. *Terroir* definuje lokalitu rostliny a váže se na polohu vinice. Je ovlivněn nejen klimatickými a geologickými faktory, ale také lidskou aktivitou při obstarávání vinohradu. Každý hrozen, který je produkován ve specifickém *terroiru*, s sebou nese tuto informaci ve formě chemického složení [15]. U hroznů a vín ze dvou *terroirů* se výrazně liší jejich chemický profil, například ve studii Ferretti a kol. [19] existoval u hroznů velký rozdíl ve složení prvků, aminokyselin, polyfenolů, thiolů a terpenů a aromatu podle toho, jestli rostlina rostla na křemičité půdě s jemnou zrnitostí nebo na dolomitové hrubší půdě.

Geografický původ vína se ukázal být jako nejlepším indikátorem kvality, ukazuje na specifické složení fytochemikálií [16], a také je nejdůležitější informací vyžadovanou spotřebiteli při koupi [20]. Z posledních studií plyne, že geografická autenticita vína může být klasifikována zejména pomocí následujících chemických sloučenin: fenolických látek, aromatických látek, minerálních látek a izotopových poměrů [16].

Druhým parametrem je autenticita odrůd vín, kde se kromě výše zmíněných chemických skupin pro testování používá navíc také analýza DNA [21]. Diviš a kol. [18] uvádí verifikaci odrůd vína, jejichž rozmanitost je pro Českou republiku typická, jako jednu z nejsložitějších úloh analytické chemie a kontrolních laboratoří.

Studie, které se zabývaly konkrétním určením *terroiru* a autenticitou vín odrůdy Ryzlink rýnský a dalších vín v závislosti na chemickém složení, jsou uvedeny v rešerši v kapitole 2.5 a metody pro testování autenticity jsou uvedeny v kapitole 2.6.

### 2.3 Obecná charakteristika odrůdy Ryzlink rýnský

Odrůda Ryzlink patří mezi tradiční a velmi ceněné německé odrůdy pro výrobu kvalitního bílého vína oblíbeného po celé střední Evropě [22]. Ryzlink pochází z Porýní a často je nazýván králem vín. Hrozny bývají drobné a válcovité, bobule jsou zelenožluté až narůžovělé při vyzrání. Obvykle dozrávají později a sběr může probíhat až do listopadu [4]. Odrůda, pokud je pěstována pod fungicidní ochranou, je středně odolná proti napadení plísněmi [23]. Kromě

Německa se hojně její varianty pěstují v Kalifornii a Austrálii [22]. Jedná se o odrůdu také typicky pěstovanou v České republice, protože má požadavky spíše na chladnější klima [24].

Ryzlink rýnský vznikl (na základě genetické analýzy) pravděpodobně křížením tří odrůd – Gouais blanc (*Heunisch weiss*), Tramín červený a třetí autochtonní německou odrůdou z okolí řeky Rýn [25].

V České republice byla odrůda Ryzlink rýnský ve Státní odrůdové knize zapsána roku 1941 [3] a to pod číslem VIT00032, kódem 2750010 a registračním číslem 8031 [23]. Zde je tato odrůda charakterizována jako bílá mošťová pozdní odrůda. Výnos z hroznů je středně vysoký až vysoko cukernatý. Vyrobená vína jsou výborné kvality, mají žlutozelenou barvu, ovocnou, bylinnou a kořenitou chuť i vůni. Dále kniha uvádí popis odrůdy jako harmonická, svěží a jemně aromatický typ [23]. Jedná se o svěží víno, které je charakteristické vyšším obsahem kyselin, výraznou odrůdovou chutí a vůní připomínající lipový květ. Odrůda je vhodná pro vína pozdního sběru. Vína vyrobená z nedozrálých hroznů jsou příliš kyselá [3]. Ryzlink má květinové růžové aroma [22].

V Evropě se při označování odrůdy vína místo biologického názvu odrůdy Ryzlink bílý používá často synonymní název Ryzlink rýnský (Rheinriesling nebo Rhine Riesling) nebo jen Ryzlink (Riesling) [23; 26] V zemích mimo Evropu se používá termín White Riesling, Johannisberg Riesling nebo jen Riesling [22]. Existuje řada vín, která se označují Ryzlink, obzvláště zahraničních, které se často geneticky i svým aromatickým profilem liší od tradiční odrůdy Ryzlink rýnský [22; 26]. Ryzlink vlašský (Welschriesling) pochází z jižních a východních oblastí Evropy, jako je Rakousko, balkánské země a Itálie, Cape Riesling a Paarl Riesling z jižní Afriky, Hunter Valley Riesling z Austrálie a Emerald Riesling neboli Ryzlink americký z Kalifornie [26]. Dále existují Hunter Riesling z Nového Zélandu, Goldriesling (Riesling Doré) a Frankenriesling [22].

## 2.4 Chemie vína

Víno obsahuje nespočetné množství různorodých molekul, které pocházejí z primárního metabolismu (cukry, aminokyseliny, organické kyseliny, lipidy) a sekundárního metabolismu rostliny (fenolické látky, alkaloidy, terpeny a steroidy, mastné kyseliny). Z těchto těkavých i netěkavých metabolitů byl přesně identifikován pouze jejich zlomek [27]. Charakteristikou těchto malých molekul v biologickém vzorku na základě jejich metabolického profilu se zabývá vědní obor metabolomika. Část těchto látek je biologicky aktivních, hlavně sekundární metabolity, což znamená, že navyšují nutriční hodnotu nebo ovlivňují sensorických charakter vína pozitivně i negativně [28], příkladem mohou být fenolické látky se svými antioxidačními účinky [29]. Tyto sloučeniny jsou důležité pro charakteristiku sensorického profilu vína, ale i autenticitu vína [27].

Senzoricky vnímá člověk při konzumaci vína nejvíce následující složky: vodu, ethanol, kyseliny (hlavně kyselinu jablečnou a mléčnou), sladké jednoduché cukry (glukosa a fruktosa), trpké trísloviny a glycerol jako tělo a hladkost vína [22].

Zdrojem všech chemických sloučenin jsou v první řadě hrozny révy, které obsahují řadu vitaminů, minerálů, cukrů, vlákninu a další biologicky aktivní fytochemikálie, kde nejvýznamnějšími jsou fenolické látky [2]. Dalším je proces kvašení, při kterém vzniká mnoho metabolitů aktivitou kvasinek, a posledním zdrojem je zrání vína v sudech nebo jiných nádobách [30].

### 2.4.1 Voda a cukry

Hlavní složkou vína je voda, která určuje celkový polární charakter vína a hraje také důležitou roli v enzymatických reakcích při kvašení a poté i zrání vína [22].

Cukr pochází z dužiny bobulí révy a je důležitý jako substrát pro kvasinky pro následující kvašení. Obsah cukru závisí na druhu révy, odrůdě, zralosti a zdraví rostliny [22]. Cukry jsou ve víně přítomny ve formě jednoduché nebo vázané s jinou sloučeninou ve formě glykosidů [31]. Glykosidy jsou rozpustné ve vodě, jsou netěkavé, sensoricky neaktivní a pocházejí z hroznů. Hydrolyzou během fermentace vznikají aromaticky aktivní látky, které poté lze identifikovat ve víně [32].

Nejvíce zastoupenými jednoduchými cukry jsou glukosa a fruktosa. Sacharosa není typická pro vinnou révu (*Vitis vinifera*), ale může být přítomna u jiných rodů (například réva americká – *Vitis labrusca*). I tak je sacharosa z většiny rozložena při fermentaci na glukosu a fruktosu [22]. Suchá vína obsahují převážně pentosy (arabinosa, rhamnosa a xylosa), botrytická vína obsahují více galaktosy, arabinosy a také trehalosy, která je produkována plísní [22].

Cukernatost bobulí se hodnotí před zkvašením pomocí stupnic v každé zemi jinak, v České republice se jedná o stupně normalizovaného moštoměru (NM), které ukazují kilogramy cukru ve 100 litrech moštu [9]. Podle této cukernatosti se vína označují jako zemská (nejméně 14° NM), jakostní (15° NM) a jakostní víno s přívlastkem (19° NM), kam patří podkategorie pozdní sběr (21° NM), výběr z hroznů (24° NM), výběr z bobulí (27° NM), výběr z cibéb (32° NM), ledové víno (27° NM) a slámové víno (32° NM) [33].

Podruhé se obsah cukru uvádí dle zbytkového cukru po zkvašení, a také podle sensorické finální sladkosti – v tomto případě získáváme rozdělení na vína suchá (4–9 g·l<sup>-1</sup>), polosuchá (12–18 g·l<sup>-1</sup>), polosladká (do 45 g·l<sup>-1</sup>) a sladká (45 g·l<sup>-1</sup> a více) [9].

### 2.4.2 Alkoholy

Fermentací cukrů vzniká řada sensoricky významných produktů – alkoholy, estery mastných kyselin a aldehydy. Nejvýznamnějším produktem z alkoholů je ethanol [4]. Ethanol se ve víně nachází v 14–15 % objemu, při fermentaci jeho hladina stoupá, až dosáhne kritické, při které kvasinky umírají [22]. Ve víně je ethanol důležitý nejen z hlediska sensorické aktivity, kde modifikuje sladkost, kyselost a trpkost, ale také víno stabilizuje spolu s kyselinami proti mikrobiálnímu napadení, funguje jako reaktant při tvorbě aromatických metabolitů a podporuje jejich extrakci a rozpustnost ve víně. S kyselinami reaguje za tvorby esterů a s aldehydy za tvorby acetalů [22].

Methanol ve víně vzniká hydrolyzou pektinových methylových skupin, ve víně se vyskytuje v minimálním množství (30–35 mg·l<sup>-1</sup> [31]), které je netoxické, protože hrozny obsahují oproti většině ovoce pektinu málo [22].

Jako vyšší alkoholy nebo přiboudliny se označují alkoholy s více než dvěma uhlíky. Patří sem hlavně isobutyl, amyl a isoamylalkoholy [31]. Až na minimum alkoholů extrahovaných z hroznů vznikají při fermentaci paralelně s ethanolem a tvoří velkou část aromaticky aktivních sloučenin v koncentracích až 0,3 g·l<sup>-1</sup>. Jejich prekurzory jsou aldehydy, aminokyseliny a cukry. Produkci podporují vyšší teploty a přítomnost kyslíku, inhibuje ji oxid siřičitý a nízké fermentační teploty [31]. Z vyšších alkoholů a ethanolu vznikají estery charakteristické pro buket vína rychlými enzymatickými reakcemi při kvašení, a poté neenzymatickými pomalými reakcemi při zrání [22]. Estery mohou mít „kvasné“ aroma, například 2-methylbutyl-acetát, které je typické

pro mladá bílá vína [34]. Vyšší alkoholy také mohou ukazovat na přítomnost kontaminujících kvasinek a bakterií [22; 31].

V nižším množství se ve víně nachází i cukerné alkoholy alditol, arabitol, erythritol, mannitol, *myo*-inositol a sorbitol [22].

Glycerol vzniká jako produkt kvašení a často bývá třetí nejvíce zastoupenou látkou po vodě a ethanolu. Ve vínech se nachází v koncentraci 7–10 mg·l<sup>-1</sup>. Ve vyšším množství se nachází v červeném víně a suchých vínech. Má sladkou chuť a ovlivňuje viskozitu. Botrytická vína produkují nejvyšší obsahy glycerolu [22]. Glycerol vzniká redukcí a následnou hydrolýzou dihydroxyacetonfosfátu souběžně s glykolýzou. Tento krok umožňuje alternativní regeneraci (oxidaci) NADH (nikotinamidadeninukleotidu) na NAD<sup>+</sup>, který je důležitý v šestém kroku glykolýzy [31]. Syntézu glycerolu ovlivňuje typ kvasinek, teplota, pH a oxid siřičitý [22].

### 2.4.3 Kyseliny

Kyseliny ve víně jsou důležité pro modifikaci sensorických vlastností, mohou působit jako antioxidanty a také mají antimikrobiální účinky [35]. Kyselost vína by se měla pohybovat okolo 8,5 mg·l<sup>-1</sup> a obecně platí, že bílá vína jsou více kyselá než červená. Kyselost vína se vyjadřuje v ekvivalentech kyseliny octové a požadované pH je 3,1–3,6. Další rolí kyselin je kyselá katalýza hydrolytických reakcí – hydrolýza glykosidů a polysacharidů při drcení hroznů [22].

Přibližně 10–15 % kyselin ve víně tvoří těkavé kyseliny s krátkým řetězcem, zejména kyselina octová a dále pak kyseliny propionová, máselná, valerová a kapronová [36]. Kyselina octová vzniká jako produkt kvašení anebo hydrolýzou hemicelulóz při zrání [22]. Ve víně se tyto kyseliny nevyskytují ve vysokém a sensoricky rozeznatelném množství (méně než 300 mg·l<sup>-1</sup>), pokud víno není zkažené [22]. Vyšší množství indikuje přítomnost octových aerobních bakterií nebo divokých nesaccharomycetních kvasinek [36].

Netěkavé nižší kyseliny pochází z hroznů a 90 % jich tvoří kyseliny vinná a jablečná [22]. Obě jsou technologicky i sensoricky důležité. Kyselina vinná se používá pro samočištění vína srážením nečistot na vinný kámen (vínan draselný) a precipitací fenolů s bílkoviny [37]. Obsah kyseliny jablečné v hroznech se zráním klesá a její obsah je určujícím faktorem pro den sklizně [38].

Výrazně kyselá kyselina jablečná je z části odbourávána bakteriemi mléčného kvašení na méně kyselou a příjemnější kyselinu L-mléčnou procesem tzv. malolaktického kvašení (dekarboxylací), kde dochází ke zvýšení pH a také změně aroma vína [39]. Vyšší množství kyseliny mléčné, obvykle racemátu, ale poukazuje na přítomnost kontaminujících bakterií mléčného kvašení [22]. Obsah kyselin může poukazovat na vnější úpravu pH, ředěné víno nebo přítomnost kontaminujících bakterií [38].

Další organické kyseliny vznikají fermentací a většinou nejsou sensoricky aktivní. Jejich prekurzory jsou cukry, aminokyseliny a mastné kyseliny. Cukerné kyseliny se nacházejí obvykle v botrytických vínech (kyselina glukonová, glukuronová, galakturonová), kde vznikají často i konkurenčními octovými bakteriemi [22; 38]. Fenolické kyseliny pocházejí buď z hroznů, vznikají kvašením drahou kyseliny šikimové nebo se macerují z dubových sudů při zrání [22].

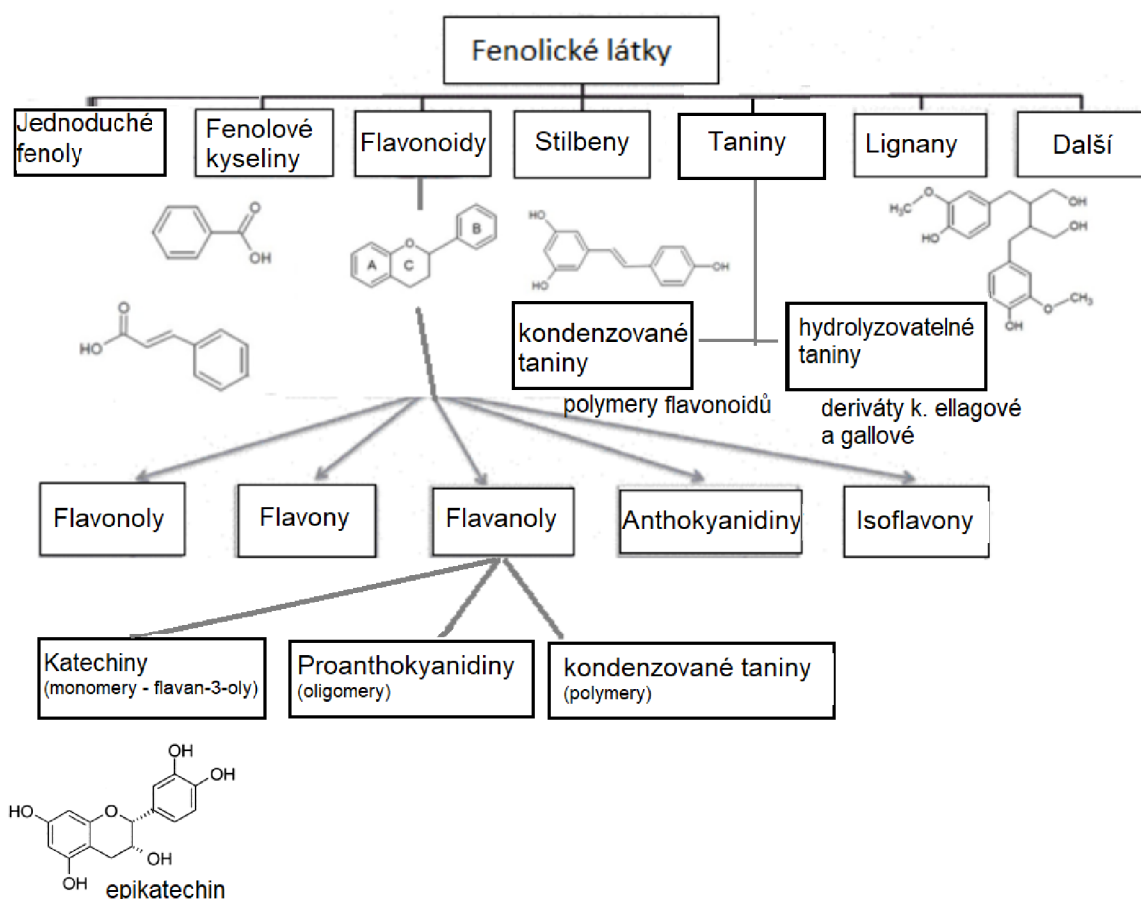
Suché víno odrůdy Ryzlink má velmi nízké pH. Ve studii Gajeka a kol. [40] ze 180 vzorků různých vín bylo dokonce pH nejnižší (2,86), hlavně z důvodu vyššího obsahu kyseliny vinné a jablečné, což byl jeden z hlavních rozdílů oproti suchému Chardonnay pěstovanému ve stejné oblasti.

## 2.4.4 Fenolické látky

Fenolické látky, někdy označované jako polyfenoly, jsou odvozeny od struktury fenolu, který má aromatický kruh a různé množství substituovaných hydroxylových skupin. Podle dalších substituentů se tyto látky dělí na další skupiny (viz. Obrázek 1) [41].

Fenolické látky můžeme rozdělit na jednoduché fenoly s jediným aromatickým kruhem, kam patří typicky fenolové kyseliny – kyseliny hydroxyskořicové a hydroxybenzoové, karbonyly a fenoly, a pak polyfenoly, které obsahují více kruhů. Významnou skupinou jsou flavonoidy, které mají typickou strukturu se třemi kruhy. Taniny neboli třísloviny jsou vysokomolekulární látky obsahující více fenolických kruhů. Hydrolyzovatelné taniny (ellagotanniny, gallotanniny) jsou deriváty kyseliny gallové a kyseliny ellagové, kondenzované taniny jsou směsí polymerních flavonoidů. U vína se často fenolické látky rozdělují na flavonoidy a non-flavonoidy, kam se zařazují fenolové kyseliny, hydrolyzovatelné taniny a stilbeny [42].

Ve vyšším množství se fenolické látky nacházejí spíše v červeném víně [22]. Pro konzumenty se uvádí obsah přibližně 200 mg fenolických látek na lahev červeného vína a jen 40 mg na lahev vína bílého [42].



Obrázek 1: Systematické rozdělení fenolických látek (vytvořeno podle [41; 42])

Fenolické látky jsou syntetizovány v rostlinách pomocí sekundárních metabolických drah (dráha kyseliny šikimové a fenylypropanová dráha). V rostlině fenolické látky fungují jako obrana proti napadení mikroby, pesticidy a jinými toxiny z prostředí [41]. Právě proto mají množství biologicky aktivních účinků – patří mezi antioxidanty, UV filtry, antimikrobiální činidla,



mají protinádorové, kardioprotektivní, protizánětlivé účinky a anti-aging účinky. Fenolické látky také mohou sloužit při prevenci degenerativních onemocnění, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, některé typy rakovin a stárnutí [2; 43].

Přímý dopad těchto benefičních účinků fenolických látek z hroznů osvětluje i takzvaný Francouzský paradox související se stravou lidí z území Středozeří. Přestože jejich strava je bohatá na nasycené tuky a cholesterol, incidence kardiovaskulárních onemocnění je nízká právě díky konzumaci červeného vína, které zvyšuje hladinu HDL cholesterolu a redukuje oxidativní stres [44; 45]. Snížení rizika infarktu a mozkových příhod je hlavně připisováno resveratrolu [46], který se nachází ve slupkách vinných bobulí a je obsažen ve víně červeném, ale i bílém v menším množství [3; 42].

Ve víně pocházejí fenolické látky hlavně z hroznů a do vína jsou extrahovány při procesech zpracování [22]. Nejvíce jsou obsaženy ve slupkách, stoncích, listech a semínkách hroznů. Koncentrace fenolických látek je v dužině mnohonásobně menší oproti slupkám. Celkový obsah fenolických látek se liší podle odrůdy, složení půdy, klimatu a geografického původu [2]. Fenolické látky poskytují informace o původu vína, proto je lze úspěšně použít pro určení autenticity a odrůdy vína [12; 15].

Fenolické látky mají ve víně několik funkcí. Jejich přítomnost způsobuje trpkost (hlavně červených vín), způsobují barvu červeného vína a jsou důležité pro uchování vína, protože se jedná o antioxidanty [42]. Další důležitou vlastností fenolických látek je schopnost interagovat s bílkoviny. Flavanoly reagují s proteiny ve slinách a tvoří komplexy, které jsou zodpovědné za adstringentní vjem. Nekovalentní interakce fenolických látek také mohou tvořit zákal vína [41].

#### **2.4.4.1 Fenolické látky ve vínech**

Rozdíl mezi červeným a bílým vínem lze vidět hlavně v obsahu fenolických látek. Bílá vína jsou vyráběna přímo z hroznového moštu bez slupek, zatímco červená se vyrábí fermentací v přítomnosti pevných slupek a semínek. Červená vína jsou extraktem celého hroznů, zatímco bílá pouze extraktem dužniny [42].

Víno obsahuje nejvíce flavonoidů – flavanoly (až  $45 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  [41]), katechiny neboli flavan-3-oly (až  $300 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  [41]), anthokyaniny ( $200\text{--}350 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  [41]) a leukoanthokyaniny [22], stilbeny (například resveratrol) a fenolové kyseliny [2]. Nacházejí se volně jako acyl deriváty nebo polymerní vázané na cukr ve formě glykosidů [22].

Anthokyaniny jsou označeny pro celý glykosid, necukerná fenolická složka se označuje jako anthokyanidin [41]. Jedná se o pigmenty obsažené ve slupkách hroznů, proto jejich nejvyšší množství lze nalézt v červených vínech. Obecně je tmavší barva hroznů asociována s vyšší hodnotou celkového obsahu fenolických látek. V červených vínech je nejvíce zastoupeným flavonoidem (+)-katechin [2]. Barvu bílých vín nezpůsobují anthokyaniny, ale přirozeně žluté sloučeniny kvercetin, kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová, třísloviny a také oxidované fenolické látky [31].

Mezi stilbeny minimálně obsažené v lidské stravě patří i výše zmíněný antikarcinogenní resveratrol ( $15 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  ve formě glykosidu ve víně) [41]. Existuje ve formě *cis* a *trans*, izomeraci na méně stabilní *cis* formu způsobuje světlo. Každá z forem absorbuje světlo při jiných vlnových délkách, čehož se využívá při jejich stanovování [46]. Fenolické látky typicky obsažené ve vínech jsou vypsány níže (viz. Tabulka 2).

Tabulka 2: Zástupci fenolických látek typicky přítomných ve vínech

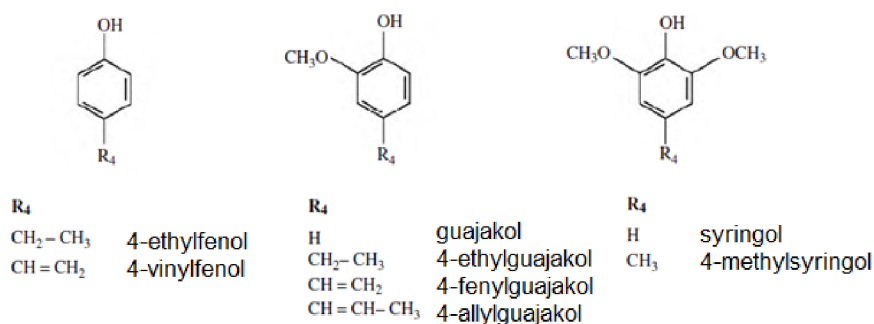
Fenolické látky typicky obsažené ve vínech	
Fenolové kyseliny	kyselina kumarová, kyselina kávová, kyselina ferulová, kyselina gallová, kyselina ellagová, [42]
Estery hydroxyskořicových kyselin s kyselinou vinnou	kyselina p-coutarová, kyselina kaftarová, kyselina fertarová [42]
Stilbeny	<i>cis</i> -resveratrol, <i>trans</i> -resveratrol [46], <i>cis</i> -piceid, <i>trans</i> -piceid [47]
Flavonoidy – flavan-3-oly	(+)- <i>trans</i> -katechin, (-)- <i>cis</i> -epikatechin, oligomerní proanthokyanidiny [42], epigallokatechin, prokyanidin B1, prokyanidin B2 [48]
Flavonoidy – flavonoly	kvercetin, myricetin, kaempferol [42]
Flavonoidy – anthokyanidiny	malvidin, kyanidin, peonidin, delfidin, petunidin [42]

#### 2.4.4.2 Těkavé fenolické látky

Těkavé fenoly se řadí mezi aromatické látky, protože jsou olfaktometricky aktivní. V nižších koncentracích jsou důležité pro vůni vína, ve vyšších mohou být nežádoucí a připomínat lékárnické, plastové nebo kouřové aroma [36].

Hlavními těkavými fenoly jsou 4-vinylguajakol, 4-vinylfenol, 4-ethylguajakol, 4-ethylfenol, syringol a methyl syringol [31; 36]. Vznikají termální nebo enzymatickou dekarboxylací kyseliny skořicové, kumarové a ferulové [49]. Vinylové sloučeniny jsou typické pro bílá vína, ethylové pro červená [36]. Tyto sloučeniny lze identifikovat pomocí GC-MS (plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií – *gas chromatography mass spectrometry*) [49]. Chemické struktury uvedených sloučenin ukazuje Obrázek 2.

Když vína zrají v dubových sudech, dřevo se částečně maceruje a dochází také k degradaci ligninu na fenolické látky. Tyto látky dodávají vínu typické kouřové až spálené aroma – tyto látky jsou 4-methyl-, propyl-, a allylguajakol (isoeugenol), syringol a 4-methylsyringol [31]. Ze sudů pochází i látky 4-vinylguajakol, eugenol a vanilin [50].



Obrázek 2: Těkavé fenoly obsažené ve vínech a dřevu sudů na víno, upraveno podle [31]

#### 2.4.5 Aromatické látky ve víně

Aromatické látky jsou zodpovědné za charakteristický sensorický profil vína, konkrétně za flavour a aroma. Aroma vzniká během zpracování vína v několika krocích: v prvním případě jsou to extrahované aromatické látky, které jsou přirozenou součástí hroznů dané odrůdy a jejich obsah závisí na klimatických podmínkách a metabolismu rostliny. V druhém případě vzniká aroma při biotechnologickém zpracování moštu kvasinkami, které vytváří aroma různými metabolickými cestami (oxidace, hydrolýza, alkoholové a malolaktické kvašení) [31].

V poslední řadě vzniká aroma i zráním v sudech, kde navíc víno získává aroma i luhováním látek obsažených v dubových sudech [9].

Mezi největší část aromatických sloučenin patří alkoholy, těkavé kyseliny a estery mastných kyselin. Alkoholy obvykle tvoří 50 % všech těkavých látek vyjma ethanolu. Dále obsahuje víno v menším množství aromatické látky karbonylové sloučeniny, těkavé fenolické látky, laktony, terpeny, acetaly, čisté uhlovodíky a sloučeniny síry a dusíku, které jsou zodpovědné za charakteristické aroma vinných odrůd [22].

Velká část aromatických látek je vázána ve formě glykosidů, to znamená s cukernou jednotkou. Glykosidy jsou netěkavé a sensoricky neaktivní, ale lze je považovat za potenciální zdroj aroma, pokud se hydrolyzují pomocí enzymů nebo kyselin [51]. V roce 2011 provedl tým Doneva-Sapceske [51] z Makedonie analýzu aromatických látek vína odrůdy Ryzlink bez přídavku a s přídavkem  $10 \text{ g} \cdot \text{hl}^{-1}$  enzymu glykosidázy. Změřeny byly dvě frakce po destilaci a také víno samotné bez úpravy pomocí metody SBSE-GC-MS (sorpční extrakce na míchadle ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií – *stir bar sorptive extraction gas chromatography mass spectrometry*). Přídavek tohoto enzymu podpořil uvolňování monoterpenů z vázaných glykosidů a otevřel tak debatu ohledně přídavku těchto enzymů do vína za účelem obohacení aromatického profilu. Víno po enzymatické reakci obsahovalo nejvyšší množství terpenoidů linaloolu, nerolu,  $\alpha$ -terpineolu a geraniolu. Víno také obsahovalo vyšší množství vitispiranu a damascenonu, což jsou látky, které mohou být vázány v glykosidech a pocházejí většinou ze sudů, ve kterých víno zraje.

#### **2.4.5.1 Senzorická aktivita aromatických látek**

Základní podmínkou pro látku, aby byla řazena jako aromatická a oflaktometricky aktivní, je její těkavost. Těkavá látka je schopna dosáhnout čichového epitelu a vyvolat vjem. Snahy chemicky porozumět aroma vína lze pozorovat už od 40. let minulého století. Těkavost těchto látek je základním předpokladem pro analýzu pomocí plynové chromatografie [49].

Ve víně bylo zatím identifikováno více než 700 aromatických sloučenin, samostatně více než 160 esterů. Pouze některé z těchto látek jsou však sensoricky důležité, v nižších koncentracích se totiž spousta látek nachází pod prahem vnímání [22]. Podle nejnovějších studií ovšem i sloučeniny nacházející se pod prahem vnímání mohou ovlivňovat konečné aroma [52]. Všechny sloučeniny přítomné v matrici spolu mohou interagovat a díky tomu mohou vznikat různé sensorické vjemy [52]. Je velmi obtížné určit, které chemické sloučeniny jsou zodpovědné za které charakteristiky vína. Konkrétní aroma vždy vzniká kombinací několika aromatických sloučenin různých skupin, ne jen jedinou charakteristickou sloučeninou [22; 52]. Přiřazování jednoho konkrétního deskriptoru aroma k jedné konkrétní chemické sloučenině je sice typické pro sensorickou analýzu, ale tento postup nebere v úvahu možnou změnu vůně se změnou koncentrace této látky [34]. Aroma může být ovlivněno synergicky i antagonisticky s jinými těkavými látkami, hlavně dalšími terpeny anebo netěkavou matricí [22; 34]. Typickým příkladem synergisty ovocných vůní je dimethylsulfid, který sám o sobě nemá ovocné aroma, ale v přítomnosti dalších látek toto aroma podporuje [52].

Komplexní aroma a chuť vína je důležitou atributou vína a souvisí také s jeho cenou a kvalitou. Kvalita vína se obvykle hodnotí pomocí analytických metod a sensorické analýzy, která probíhá v rámci zavedených vinařských soutěží. Kromě určení pH, titrační kyselosti a rozpustných pevných látek se nejčastěji v laboratoři určuje aromatický profil pomocí HS-SPME-GC-MS (head-space mikroextrakce na tuhou fázi ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií – *headspace solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry*) [53].

#### **2.4.5.2 Odrůdové aroma**

Termín odrůdové aroma neznamena, že každá odrůda hroznů je typická svými tčavými sloučeninami, ale že individuální aromatický charakter odrůdy je ovlivněn kombinací a koncentrací těchto sloučenin. Jejich prekuzory mohou často být nalezeny v různých typech odrůd [31]. Stejně jako se liší každá vinařská sezóna počasím, liší se mírně i jednotlivé ročníky aromatickými látkami. Odrůdový charakter vína tvoří skupina několika hlavních aromatických látek přítomných v různých poměrech a velmi typických pro danou odrůdu, ostatní aromatické látky jsou pouze doprovodné [36].

Složení aromatických látek je dáno odrůdou hroznů, technologií zpracování a terroirem [36], tedy lokalitou, klimatem a typem půdy [3]. Při pozorování aromatických látek v daných odrůdách v několika ročnicích za sebou lze dospět k závěru, že složení aromatických látek jedné odrůdy je podobné a typické a anomálie jsou způsobeny hlavně technologickým zpracováním [36].

Vztah mezi kvalitou vína a jeho aroma existuje, přestože je těžké jej objektivně definovat. Podle sensorických hodnotitelů souvisí kvalita s některými konkrétními sloučeninami, například sloučeniny linalool, hexyl-acetát, 2-fenylethyl-acetát jsou typické u vína Chardonnay. Tyto poznatky však nebyly ověřeny opakovaně a není jisté, jestli platí univerzálně nebo jen pro tehdy analyzované konkrétní vzorky [53].

Australská studie shromáždila 157 vzorků červeného vína odrůdy Shiraz z let 2018 a 2019 oceněných ve vinařských soutěžích. Jak moc a které tčavé sloučeniny jsou zodpovědné za přesný charakter vína bylo náročné určit. Přestože studie potvrdila souvislost mezi některými tčavými látkami a skórem kvality vína ze sensorické analýzy, výsledky nebyly konzistentní a obsah sloučenin se lišil u různě starých vín. Jen podle analýzy samotných tčavých látek nelze dostatečně přesně určit kvalitu vína [53].

#### **2.4.5.3 Karbonylové sloučeniny a estery**

Většina aldehydů je produkována během fermentace a zpracování vína, přímo z hroznů pochází hlavně hexanaly a hexenaly, které mají zelené, „travnaté“ aroma a vyskytují se hlavně u mladých vín. Nejvíce obsaženým aldehydem je acetaldehyd, benzaldehyd, méně poté furfural, 5-hydroxymethyl-2-furaldehyd a fenolové aldehydy cinnamaldehyd a vanillin pocházející ze sudů. Z ketonů jsou důležité okt-5-en-3-on a oktan-3-on, diacetyl (butan-2,3-dion) vznikající fermentací při malolaktickém kvašení, acetoin a pentan-2,3-dion [22].

Estery jsou výrazně zastoupenou skupinou aromaticky aktivních látek, tčavé estery dodávají mladému vínu typický květinový buket. Ve vínech se nejvíce vyskytují acetátové estery s přiboudlinovými alkoholy (isoamyl-acetát a isobutyl-acetát) a ethylestery s krátkými mastnými kyselinami (ethyl-hexanoát, ethyl-oktanoát a ethyl-dekanoát) nebo organickými kyselinami (estery kyseliny jablečné, vinné a citronové). Primárním zdrojem esterů nejsou hrozny, ale jedná se o produkty kvašení. Ethyl-acetát je obvykle asociován s přítomností bakterií octového kvašení a negativně ovlivňuje aroma vína [22].

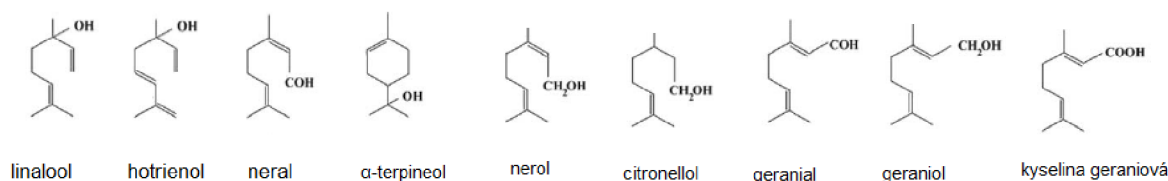
#### **2.4.5.4 Terpeny**

Terpeny jsou nejvíce zkoumanými aromaticky aktivními sloučeninami [31]. Nacházejí se ve formě oflaktometricky neaktivních glykosidů i volné po rozštěpení glykosidasami, které jsou produkovány kvasinkami při kvašení [54].

Terpeny jsou sekundární metabolity, které mají lipidový charakter a jejich hlavní jednotkou je pětiuhlíkatý isopren [22], ze kterého se syntetizují drahou kyselinou mevalonové z acetylkoenzymu A [32]. Podle počtu jednotek se dělí na hemiterpeny ( $C_5$ ), monoterpeny ( $C_{10}$ ), seskviterpeny ( $C_{15}$ ), diterpeny ( $C_{20}$ ), sesterterpeny ( $C_{25}$ ), triterpeny ( $C_{30}$ ) a tetraterpeny ( $C_{40}$ ), a polymerní polyterpeny [55].

Nejvíce sensoricky aktivní jsou monoterpeny, které mají často velmi nízký práh vnímání [36]. Monoterpeny jsou zodpovědny za většinu příjemných ovocných a květinových aroma [54]. Monoterpeny se vyskytují ve formě jednoduché (například limonen), aldehydové (geranial), alkoholové (linalool) a ve formě kyselin (kyselina linalová) a esterů (linalyl-acetát). Podle jejich obsahu se odrůdy vín dělí na intenzivně aromatické muškátové odrůdy, kde volné monoterpeny jsou obsaženy v koncentraci nad  $6 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , příkladem je odrůda Tramín a Muškát. Další jsou nemuškatové aromatické odrůdy ( $1\text{--}4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ), kam patří i Ryzlink rýnský, a poslední neutrální odrůdy, u kterých monoterpeny nejsou důležitými faktory pro aroma (například Rulandské šedé) [32; 36].

Monoterpeny se do vína dostávají z hroznů, a proto jsou považovány za typické identifikátory odrůdy. Odrůdy Muškát a Ryzlink jsou považovány za nejjednodušeji identifikovatelné podle obsažených monoterpenů [22]. Nejvíce aromatickými monoterpeny jsou linalool,  $\alpha$ -terpineol, nerol, citronellol, hotrienol a geraniol, které mají kvěnatou vůni podobnou růžím [36]. Vybrané monoterpeny obsažené ve vínech ukazuje následující Obrázek 3.



Obrázek 3: Monoterpeny typicky se vyskytující ve vínech (upraveno podle [32])

#### 2.4.5.5 Norisoprenoidy $C_{13}$

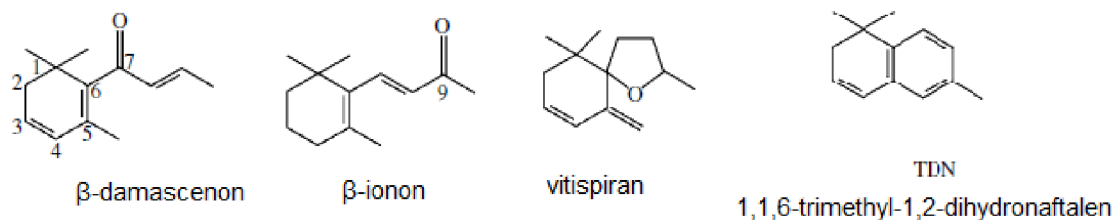
Norisoprenoidy se neřadí mezi terpeny, ale jsou produkovány chemickou nebo enzymatickou hydrolyzou tetraterpenů (karotenoidů) z hroznů [31]. Norisoprenoidy se 13 uhlíky výrazně zvyšují aromatický profil u odrůdy Ryzlink rýnský a Chardonnay [36]. Chemicky se jedná většinou o ketony a další kyslíkaté látky [22].

Ve víně jsou významnými zástupci  $\beta$ -damascenon (květinová, jablečná vůně),  $\beta$ -ionon (fialková, malinová, dřevitá vůně) typický spíše pro červená vína [22] a vitispiran (kaťová, eukalyptová vůně) [31]. Obsaženy jsou také deriváty  $C_{13}$  norisoprenoidů: 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen je označován jako TDN a má typické petrolejové aroma, jeho přítomnost vzniká nadměrným sluněním hroznů a může charakter vína ovlivňovat i negativně [36]. TDN je obzvláště důležitým markerem aroma Ryzlinku, v mladém víně se nevyskytuje. TDN a vitispiran jsou sloučeniny, které vznikají při zrání vína v sudech. Koncentrace  $C_{13}$  norisoprenoidů se liší u různých odrůd [31].

$\beta$ -damascenon má velmi nízký práh vnímání ( $0,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ), a proto je ve vínech snadno rozpoznatelný i při nižších koncentracích. Je to látka typická vysokou aromatickou aktivitou ve vínech, ale není považována za látku určující a rozlišující charakter vín [49]. Jedná se o látku typickou pro odrůdu Chardonnay a Ryzlink [22].  $\beta$ -damascenon byl popsán u Ryzlinku

i ve studii Bowena a kol. s deskriptory jablko a růže a vyskytoval se ve vyšším obsahu u vín ledových než u vín stolních [49].

Zmíněné norisoprenoidní sloučeniny jsou zobrazeny na následujícím obrázku (Obrázek 4).



Obrázek 4: C<sub>13</sub> norisoprenoidy a jejich deriváty nacházející se ve vínech (upraveno podle [31])

#### 2.4.5.6 Methoxypyraziny

Methoxypyraziny jsou rovněž významné sensoricky aktivní sloučeniny [31]. Jedná se o dusíkaté heterocykly, které vycházejí z metabolismu aminokyselin. Jejich aroma je podobné pepři nebo chřestů. Typickým zástupcem je izomethylpyrazin a 2-methoxy-3-isobutylpyrazin (IBMP), jehož množství se v zelených bobulích zráním snižuje [36]. Aroma IBMP je pro vína nežádoucí [31].

#### 2.4.5.7 Sírné látky

Hlavními sírnými sloučeninami ve vínech jsou vonné thioly (merkaptany), které se uvolňují z prekurzorů enzymaticky při kvašení a způsobují většinou nepříjemné aroma. Jejich prekurzory jsou metabolity sírných aminokyselin. Typickými thiole jsou methanthiol, ethanthiol, 4-merkaptio-4-methylpentan-2-on nebo 4-merkaptio-4-methylpentan-2-ol (4-MMP, 4-MMPOH), 3-merkaptiohexanol (3-MH), 3-merkaptio-3-methylbutanol (3-MMB), thiofen-2-thiol, 2-furanmethanthiol a také sulfan [36]. U odrůdy Ryzlink byly ve významnějších koncentracích nalezeny pouze 3-MMB (26–190 ng·l<sup>-1</sup> [31]) a 3-MH (123–1234 ng·l<sup>-1</sup> [31]), jehož aroma připomíná černý rybíz, grapefruit a granátové jablko [31; 36].

Při úpravě vína se také používá oxid siřičitý jako antimikrobiální a antioxidační činidlo. Přestože se jedná o alergen, v technologii je prozatím naprosto nezbytný. Oxid siřičitý má vliv i na aromatický profil látek, které mají každá jiný oxidačně-redukční charakter a oxid siřičitý tak ovlivňuje jejich množství. U Ryzlinku rýnského bylo například detekováno zvýšení obsahu zastoupených aromatických látek při ošetření oxidem siřičitým [36].

#### 2.4.5.8 C<sub>6</sub> sloučeniny

Aromatické šestiuhlíkaté sloučeniny vznikají z nenasycených mastných kyselin linolové a  $\alpha$ -linolenové enzymatickými reakcemi. Jelikož se jedná o prekurzory pocházející z hroznů, šestiuhlíkaté sloučeniny jsou považovány za odrůdové markery vín. Do této skupiny patří C<sub>6</sub>-alkoholy, C<sub>6</sub>-aldehydy, C<sub>6</sub>-kyseliny a C<sub>6</sub>-estery [56; 57]. Hlavními zástupci jsou hexanoly a hexenoly s bylinným aroma, které je charakteristické pro vína vyrobená z nedozrálých hroznů [31].

Studie Oliveiry a kol. [57] potvrdila, že poměry alkoholů (*E*)-hex-3-enolu, (*Z*)-hex-3-enolu a hexan-1-olu mohou být vhodným identifikátorem odrůdy a na základě tohoto poměru bylo

možné od sebe oddělit některé odrůdy portugalských vín. Tyto alkoholy jsou stálé a nejsou ovlivněny metabolickou aktivitou kvasinek. Analýza v této studii byla provedena pomocí GC-MS.

#### 2.4.6 Prvky

Prvky (minerály) ve víně pocházejí primárně z hroznů, mohou ovšem do vína přicházet i při úpravě vína ve formě aditiv. Ve víně se nacházejí převážně ve formě kationtů solí, mezi menší skupinu aniontů patří fosforečnany, sírany nebo siřičitany, dusičnany, bromidy a chloridy, které pocházejí hlavně z hnojiv. Hlavními minerály ve vínech jsou draslík, železo, sodík, měď, vápník, hořčík, hliník, mangan a zinek [30].

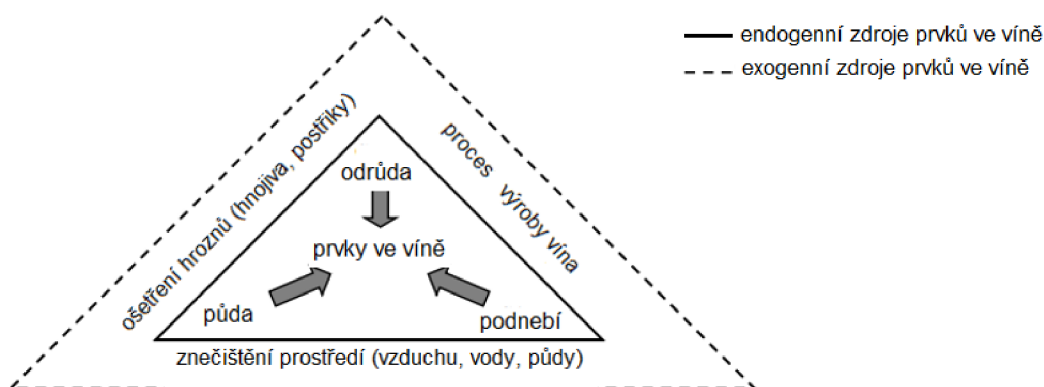
Vína se z hlediska obsahu prvků liší hlavně podle geografických podmínek a přirozeně se prvky vyskytují v netoxických koncentracích [31]. Obsah minerální látek se liší podle vegetačního období – v deštivém období je přívod minerálů k rostlině větší, a naopak v období sucha menší [36]. Zdrojem prvků jsou zejména půda ve vinohradu, ze které přechází do rostliny a akumulují se v hroznu, a poté kovové nářadí pro manipulaci ve vinohradu a uchovávání moštu (měď, olovo a železo), exogenní kontaminanty, postřiky (fungicidy, pesticidy, hnojiva), nářadí pro manipulaci a posléze i úprava vína, například přídavek uhličitanů draselných nebo vápenatých pro odkyselení, šíření sudů a podobné [30; 31]. Endogenní a exogenní zdroje prvků ve víně shrnuje schéma (viz. Obrázek 5).

Minerály se do rostliny dostávají skrz kořenový systém přijmem z půdy, kořeny se často liší svým stářím, proto dochází k různému příjmu prvků z různých hloubek půdy [18]. Příjem prvků z půdy je ovlivněn půdou, klimatem, geografickou polohou a typem kořenů. Kořeny fungují také jako regulátory příjmu a transportu makroprvků, hlavně hořčíku, železa a draslíku [58].

Prvky ve víně mají různé funkce a projevy, hlavními jsou tvorba zákalu (hlavně hliník a zinek), pufrování pH (draslík a vápník se váží na kyselinu jablečnou a vinnou [31]), tvorba komplexů se sirnými sloučeninami (měď s thioley), s polyfenoly a proteiny (hlavně železo a měď) při koncentracích přibližně  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  a u některých i změna chuti na určitou kovovost, trpkost a kyselost. Problematické jsou oxidačně-redukční reakce ve víně ( $\text{Fe}^{2+/3+}$  a  $\text{Cu}^{+/2+}$ ), protože mohou katalyzovat vznik škodlivých reaktivních sloučenin kyslíku. Těchto reakcí se také účastní fenolické látky, kyselina askorbová a siřičitany, se kterými mohou kovy tvořit komplexy. Tyto reakce mohou ovlivňovat profil aromatických sloučenin ve víně [30]. Naopak zásadní pro vývoj hroznů a spolu s fosforečnany i pro metabolismus kvasinek, je obsah draslíku, který se může dodávat i ve formě hnojiva [36].

Nežádoucími prvky ve víně jsou těžké a další kovy (olovo, kadmium, nikl, rtuť, arsen), jejichž obsah je regulován legislativou [30]. Ve vyšších koncentracích jsou toxické a některé z nich se akumulují v lidském organismu. Podle studií z devadesátých let obsahovaly americká vína průměrně  $68 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  olova. Olovo je ve víně problematické i proto, že tvoří stabilní komplex s pektiny [31].

Ve vínech se kovy nachází v různých koncentracích. Jako makroprvky se označují prvky nacházející se v koncentracích  $10\text{--}1000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (Ca, K, Na a Mg), mikroprvky v rozmezí  $0,1\text{--}10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (Al, Fe, Cu, Mn, Rb, Sr, Zn) a stopové prvky v rozmezí  $0,0001\text{--}1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  (Ba, Cd, Co, Cr, Li, Ni, Pb, V a další) [17; 59].



Obrázek 5: Endogenní a exogenní zdroje prvků ve víně (upraveno podle [59])

Díky závislosti obsahu na geografických podmínkách jsou prvky jedny z hlavních markerů pro určení autenticity vín [30]. Analýza prvků je proto vhodnou metodou pro identifikaci odrůd a oblastí původu [18; 58]. Prvky se obvykle analyzují pomocí spektroskopických technik [30]. Autenticita vína z hlediska obsahu minerálů je ovlivněna fyziologií rostliny. Nejdůležitějším faktorem je stáří kořenů, rychlost zrání, citlivost na přítomnost kyslíku a symbióza kořenů s mikroorganismy, která ovlivňuje rychlost příjmu prvků [18].

Elementární analýza je vhodnou technikou pro testování autenticity, pokud se dvě vína velmi málo liší svými organoleptickými vlastnostmi, jako je barva, obsah kyselin a aroma [17]. Například obsah kovů ve vínech z různých vinařských oblastí Evropy se velmi liší [59].

Aby mohlo víno být uvedeno na trh, je také nutné uvést obsah popela. Obsah popela uvádí anorganické složky vín, které zůstávají po odpaření organických složek. Koncentrace ve vínech se pohybují okolo  $1,5\text{--}3\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  popela. Dále se analyzuje také alkalita popela [44].

## 2.5 Látková charakteristika Ryzlinku rýnského

V následujících kapitolách budou shrnuty dosavadní poznatky studií, které se zabývaly analýzou chemických sloučenin bílých vín a konkrétně odrůdy Ryzlink. Na základě teorie byly vybrány jako chemické markery vhodné pro analýzu autenticity vín aromatické látky, fenolické látky a prvky, proto jim je věnována pozornost v následujících podkapitolách.

### 2.5.1 Aromatické látky typické pro odrůdu Ryzlink

Tak jako mnohé odrůdy i Ryzlink rýnský má svůj charakteristický aromatický terpenový profil. Jak již bylo uvedeno v úvodních kapitolách, existuje několik vín užívajících název Ryzlink a často nejsou dále specifikovány. Analýzou vybraných monoterpenů je lze snadno odlišit, protože se ve svém profilu liší [26; 50]. Odlišnosti mezi víny jsou ovlivněny zralostí hroznů při sklizni a zráním vín [26]. Aromatický charakter také závisí na geografickém umístění [50].

Těkavé látky typické pro aroma Ryzlinku pocházejí z fermentace (ethyl estery a vyšší alkoholy), anebo jsou typické pro odrůdu a pocházejí z hroznů (monoterpeny,  $C_{13}$  norisoprenoidy a thioly). Tyto chemické sloučeniny lze identifikovat pomocí metod analytické chemie. Kromě analýzy chemického profilu jsou ryzlinková vína obvykle dobře rozpoznatelná také pomocí senzorní analýzy [34]. Důležitost senzorní analýzy a senzorních expertů pro určování terroiru, kvality a typických charakteristik vína uvádí také studie Cadota a kol. [60].



Rapp a kol. [26] zmiňují odlišnost monoterpenových profilů u odrůd Ryzlinků pocházejících z různých částí světa, který je způsoben rozdíly ve vyzrálosti hroznů při sklizni a zrání vína. Jako charakteristickou sloučeninu pro Ryzlink rýnský původem z Německa ve své studii označili ethyl-dec-9-enoát, který se v ostatních vzorcích Ryzlinků ze zahraničí nenacházel.

Studie Schüttlera a kol. [34] se zabývala vytvořením typického aromatického profilu pro Ryzlink, a to pomocí sensorické analýzy a chromatografických metod, zejména GC-MS. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí vícerozměrných statistických metod. Cílem bylo také tuto odrůdu odlišit od odrůd Sauvignon blanc a Chardonnay a identifikovat typické chemické markery důležité pro aroma Ryzlinku. Tým analyzoval 23 vzorků Ryzlinku pocházejících z Německa a Francie (z let 2007 a 2008). Identifikováno bylo celkem 43 těkavých molekul (ethylestery, sirné sloučeniny, monoterpeny a C<sub>13</sub> norisoprenoidy). Senzoričtí hodnotitelé v této studii označovali vzorky jako typické a netypické pro odrůdu Ryzlink. Vzorky označené jako nejvíce typický Ryzlink měly nižší koncentrace vyšších alkoholů a některých esterů (19 ± 6 mg·l<sup>-1</sup> 2-methylbutanolu, 99 ± 22 μg·l<sup>-1</sup> 3-methylbutanolu, 15 ± 4 mg·l<sup>-1</sup> 2-fenylethylalkoholu a 48 ± 20 mg·l<sup>-1</sup> ethyl-isobutanoátu, 1,63 ± 0,89 μg·l<sup>-1</sup> diethyl-sukcinátu), proto se tyto látky nemohou považovat za typické markery pro Ryzlink. Z terpenů byly vyhodnoceny jako charakteristické α-terpineol (47 ± 20 μg·l<sup>-1</sup>), *cis*-linalool (28 ± 15 μg·l<sup>-1</sup>), *trans*-linalool oxid (48 ± 20 μg·l<sup>-1</sup>) a nerol oxid (23 ± 9 μg·l<sup>-1</sup>). Z toho jediný linalool (8–147 μg·l<sup>-1</sup>) byl detekován v koncentraci nad prahem vnímání, která se pro linalool uvádí 20 μg·l<sup>-1</sup>, tedy by měl být důležitý pro percepci aroma vína [34]. Autoři obvykle uvádějí důležitost linaloolu, jehož zvyšující se koncentrace přispívá k vyšší kvalitě aroma [49]. Schüttler a kol. [34] ovšem uvádí, že linalool nemá tak významnou roli, jaká mu byla dosud přisuzována, jelikož se jeho koncentrace nevztahovala k vyššímu skóre hodnocení a deskriptorům typickým pro profil Ryzlinku. Zvyšující se koncentrace nebyla benefiční pro typické aroma Ryzlinku. Naopak linalool oxid a nerol oxid byly určeny jako typické deskriptory pro Ryzlink. Norisoprenoid α-ionon (0,7 ± 0,3 μg·l<sup>-1</sup>) a dimethylsulfid (13 ± 5 μg·l<sup>-1</sup>) nebyly považovány za typické pro aroma Ryzlinku, ale ve všech vzorcích překračovaly mez vnímání [34]. DMS (dimethylsulfid) se může projevat jako synergista s jinými látkami a přispívá k ostružinovým vjemům a aroma černého rybízu. Vliv DMS na intenzifikaci aroma při zrání zůstává stále hypotézou [52]. Za typické markery pro Ryzlink byl určen také grapefruitový 3-SH (3-sulfanylhexanol 739 ± 253 ng·l<sup>-1</sup>), který je také typický pro Sauvignon blanc [34].

Vyzrálá vína Ryzlinku rýnského obvykle obsahují významné koncentrace TDN (1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen), který je typický pro své petrolejové aroma. Sacks a kol. [61] uvádí ve své studii z roku 2012 obsah TDN 6,4 ± 3,8 μg·l<sup>-1</sup>, což je mnohem víc než u vín jiných bílých odrůd. Schüttler a kol. [34] ovšem TDN na základě výsledků získaných vícerozměrnou analýzou překvapivě nezařadili mezi typické chemické markery pro Ryzlink. Vína označená jako typický Ryzlink obsahovala 4,7 μg·l<sup>-1</sup> TDN. Schüttler a kol. [34] také potvrdili, že obecně americké Ryzlinky obsahují vyšší koncentrace TDN než Ryzlinky původem z Německa.

Komes a kol. [50] ve své studii z roku 2005 porovnávali mošt a víno odrůdy Ryzlink rýnský původem z Chorvatska a regionu Zagorje. Pomocí GC-MS bylo identifikováno 64 aromatických látek. Ve studii byla také použita plynová chromatografie spojená s olfaktometrickým detektorem (GCO – *gass chromatography olfactometry*). Víno prokazovalo vyšší sensorickou aktivitu než mošt. Díky tomuto porovnání lze zjistit, které aromatické sloučeniny pocházejí z hroznů, a které látky vznikají až během fermentace. Látky identifikované ve víně se řadily do skupin alkoholů, z nichž většina byla obsažena už v moštu, esterů kratších mastných kyselin vznikajících při fermentaci, organických kyselin a terpenoidů. V nejvyšším množství se ve víně vyskytovaly z organických kyselin hexanová, oktanová a dekanová. V Ryzlinku rýnském byly identifikovány jako hlavní terpeny linalool, terpinen-4-ol,

$\alpha$ -terpineol, nerol a norisoprenoid  $\beta$ -damascenon. Terpeny jsou častým markerem používaným pro určení rozdílu mezi Muškátem a Ryzlinkem.

Studie Doneva-Sapceske a kol. [51] z Makedonie prováděla analýzu vína odrůdy Ryzlink pomocí SBSE-GC-MS. Jako hlavní aromatické látky byly identifikovány linalool, citronellol, 4-fenylethylalkohol, kyselina octová a norisoprenoidní látky vitispiran, damascenon a TDN, které všechny přispívají k charakteristické chuti Ryzlinku. Charakteristickými píky pro Ryzlink byly isoamylalkohol, isoamyl-acetát, 3-ethyl-hexanoát, 4-fenylethylalkohol, fenylethyl-acetát a ethyl-dekanoát.

Bowen a kol. [49] porovnávali stolní a ledová vína odrůdy Ryzlink a Vidal blanc původem z Ameriky pomocí SBSE-GC-O-MS. Pro Ryzlink bylo identifikováno 23 aromatických sloučenin. Nejvíce aromaticky výraznými byly podle sensorické analýzy (GCO analýzy)  $\beta$ -damascenon, dekanal, hexan-1-ol, okten-3-ol, 4-vinylguajakol, ethyl-hexanoát a ethyl-3-methyl-butyrát.  $\beta$ -damascenon ovšem nebyl považován za marker typický pro tuto odrůdu vína. Závěrem studie také bylo zjištěno, že ledová vína (14 z 18 ledových vín odrůdy Ryzlink) měla vyšší koncentraci aromatických látek než vína stolní a tato skutečnost byla přisuzována zpracování zmrzlých hroznů, které snadněji koncentrují těkavé látky. Ledové víno odrůdy Ryzlink bylo charakterizováno 12 olfaktometricky aktivními aromatickými sloučeninami, které se vyskytovaly nad prahem vnímání, nejvíce výrazné byly  $\beta$ -damascenon ( $9,30 \pm 0,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), ethyl-oktanoát ( $441 \pm 28 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), ethyl-hexanoát ( $780 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), okten-3-ol a ethyl-isobutyryát. Ve stolním víně byly nejvíce aktivní sladké estery ethyl-oktanoát ( $1025 \pm 23 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), ethyl-hexanoát ( $461 \pm 4,9 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), ethyl-isobutyryát ( $189 \pm 0,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ),  $\beta$ -damascenon ( $3,89 \pm 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), fenolická látka 4-vinylguajakol s aromatem hřebíčku ( $79,1 \pm 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) a květinový geranylacetone ( $0,33 \pm 0,01 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Z terpenů byly charakteristické linalool, *cis*-rose oxid a nerol oxid. Unikátním markerem pro ledové víno Ryzlinku byl oktan-1-ol, který ve stolních vínech nebyl nalezen, typický pro ledová vína byl acetofenon nalezený zde v mnohem vyšších koncentracích. Těkavý fenol 4-vinylguajakol byl nalezen v koncentracích  $79,1 \pm 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  a  $82,4 \pm 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  pro stolní a ledové víno, v tomto pořadí [49]. Tuto látku identifikovali i při charakterizaci Ryzlinku rýnského z Chorvatska jako aroma kouřové, pálivé a aroma uzeného masa [50].

Ribereau [31] uvádí jako typické monoterpeny přítomné ve víně odrůdy Ryzlink linalool ( $40 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ),  $\alpha$ -terpineol ( $25 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), citronellol ( $4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), nerol ( $23 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), geraniol ( $35 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) a hotrienol ( $25 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ).

Mikulíková a kol. [62] analyzovali 29 vzorků bílých vín z moravských vinařských oblastí pomocí HS-SPME-GC-MS. Statistické vyhodnocení pro 15 analyzovaných sloučenin ukázalo ve statistické diskriminační analýze pouze částečné rozdělení odrůd vín. Významně byly rozděleny pouze odrůdy Ryzlink, Tramín červený a zbytek odrůd zůstal nerozdělen v jedné skupině (Rulandské šedé, Sauvignon a Veltlínské zelené). Studie uvádí vliv samotných terpenů na rozdělení stejný jako vliv terpenů spolu s ostatními fermentačními sloučeninami, z čehož vyplývá důležitost a charakteristická role terpenů pro odrůdu vína. Dominantními odrůdovými markery pro odrůdu Ryzlink byly terpeny, hlavně linalool ( $185,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) a terpineol ( $127,8 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), dále v nižších koncentracích citronellol ( $8,4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), geraniol ( $46,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) a nerol (méně než  $26,19 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Kromě terpenů byly analyzovány také další těkavé sloučeniny převážně pocházející z kvašení (2-methylbutyl-acetát, 3-methylbutanol, furfural, ethyl-kaprylát, diethyl-sukcinát, 2-fenylethyl-acetát, kyselina kapronová, 2-fenylethanol a kyselina dekanová).

Song a kol. [63] v roce 2022 kvantifikovali 13 izomerů monoterpenů ve vínech odrůdy Ryzlink tří stylů (suché, polosuché a polosladké) ze 4 vinařských oblastí Německa, Francie (Alsasko) a USA (New York a Oregon). Song a kol. zmiňují významné rozdíly mezi enantiomery

v závislosti na původu a stylu vína a navrhuji možnost autentifikace vín pomocí profilů chirálních monoterpenů. Konkrétně se jednalo o monoterpeny (S)- a (R)-limonen, (S)- a (R)-linalool, *trans*-(2R,5R)- a *trans*-(2S,5S)-linalool oxid, *cis*-(2R,5S)- a *cis*-(2S,5R)-linalool oxid, (S)- a (R)- $\alpha$ -terpineol (R)- a (S)- $\beta$ -citronellol.

Valášek a kol. [64] charakterizovali estery typické pro odrůdu Ryzlink pro různé ročníky pomocí GC-MS. Nejvyšší koncentraci měl pentanol (82,8–261,9 mg·l<sup>-1</sup>), isobutanol (23,0–69,2 mg·l<sup>-1</sup>) a propanol (20,8–36,4 mg·l<sup>-1</sup>). Ryzlink měl vysokou koncentraci ethyl-acetátu (218,9–361,2 mg·l<sup>-1</sup>), pentyl-formiátu (36,5–52,4 mg·l<sup>-1</sup>) a ethyl-kaprylátu (8,4–15,1 mg·l<sup>-1</sup>). Studie uvádí, že i přestože vzorky pocházely z jednoho vinohradu a byly pěstovány za stejných podmínek, jejich aromatický profil se lišil a i drobné změny mohou signifikantně ovlivnit aroma vína.

### 2.5.1.1 Senzorické deskriptory typické pro odrůdu Ryzlink

Ve studii Schüttlera a kol. [34] byly přiřazeny zkušenými senzoryckými hodnotiteli pro „typický Ryzlink“ nejčastěji deskriptory „ovocný – bílé ovoce (jablko, hruška)“, „žluté ovoce (meruňka, broskev)“, ale také deskriptory „minerální“ a „vyzrálý“. Tyto deskriptory byly vztaženy na monoterpeny, jichž byly detekovány vyšší koncentrace. K deskriptoru „vyzrálý“ byl přiřazen TDN, také typický pro Ryzlink. Vína označená jako „vyzrálá“ obsahovala vyšší koncentrace monoterpenových oxidů, ethyl esterů a TDN. Netypickými deskriptory byly „rostlinné (zelená kapie)“ a „kvasné“ (přiřazeno k 2-methylbutyl-acetátu).

Ve studii Komese a kol. [50] byl na základě olfaktometrické analýzy GC-O aromatický profil Ryzlinku rýnského původem z Chorvatska popsán jako ovocný a květnatý. Panelisty byly uváděny různé deskriptory, například ovocný jako jablko, banán, bobulovité ovoce (ethyl estery krátkých mastných kyselin – ethyl-butanoát, ethyl-3-methyl-butanoát, ethyl-hexanoát, ethyl-oktanoát), květinový jako růže (2-methylpropyl-acetát, ethyl-but-2-enoát, hex-2-enol, linalool, 2-fenylethyl-acetát,  $\beta$ -damascenon, benzylalkohol, 2-fenylethanol), sladký jako bonbony (ethyl-hexanoát), ale i méně typické deskriptory – zapáchající po sýru (kyselina 3-methylbutanová), zatuchlé aroma a aroma chemikálií (3-methylbutanol, 3-methylpentanol), aroma zeleně (hexanol, 2-ethylhexanol), vařená brambora, karamel, marmeláda (damascenon) nebo uzené maso (4-vinylguajakol pocházející pravděpodobně z dubových sudů). Zelené, čerstvé a mátové aroma bylo připisováno spíše moštu než vínu, kde specifickou sloučeninou byl terpinen-4-ol.

Bowen a kol. [49] uvádí jako aromaticky nejvýraznější sloučeniny ve víně Ryzlink popsané senzoryckými hodnotiteli sloučeniny dekanal (petrolej, plast, citrus, zelené aroma) a norisoprenoid  $\beta$ -damascenon (hruškové aroma) a hexan-1-ol (zeleň, pryskyřice) pro stolní i ledová vína.

### 2.5.2 Fenolické látky typické pro odrůdu Ryzlink

Fenolické látky pocházejí primárně z hroznů, proto jsou to důležité markery geografického původu vína a jsou tedy úzce spojeny s terroirem [24].

Kupsa a kol. [24] ve své studii potvrdili, že profil fenolických látek není ovlivněn rokem produkce, ale geografickým původem. Kupsa a kol. zanalyzovali 34 Ryzlinků z různých oblastí České republiky pomocí metody HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie – *high performance liquid chromatography*). Ryzlinky byly rozděleny pomocí statistických metod do pěti shluků – Mikulov, Slovácko, Velké Pavlovice, Znojmo a Litoměřice. Pro identifikaci geografického původu vína Ryzlink navrhli tyto fenolické sloučeniny: kyselina *p*-coularová (1,54–4,18 mg·l<sup>-1</sup>),

*trans*-resveratrol (0,12–0,37 mg·l<sup>-1</sup>), *cis*-resveratrol (0,08–0,27 mg·l<sup>-1</sup>), (+)-katechin (2,04–4,5 mg·l<sup>-1</sup>) a (-)-epikatechin (0,42–2,03 mg·l<sup>-1</sup>).

Kumšta a kol. [16] u Ryzlinku za hlavní markery autenticity experimentálně určili dvě skupiny fenolických látek, a to deriváty kyseliny hydroxyskořicové a flavan-3-oly. U odrůdy Ryzlink to byly konkrétně kyselina gallová, kávová, kaftarová, *p*-coutarová, ethylester kyseliny ferulové, ethylester kyseliny *p*-kumarové a (+)-katechin a (-)-epikatechin.

Pavloušek a kol. [13] identifikovali ve vínech odrůdy Ryzlink z České republiky z nonflavonoidů následující sloučeniny pro určení geografického původu: kyselina protokatechová (1,93–3,32 mg·l<sup>-1</sup>), kyselina gallová (1,91–2,86 mg·l<sup>-1</sup>), kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina kávová (2,34–7,69 mg·l<sup>-1</sup>), kyselina *p*-coutarová (1,79–4,09 mg·l<sup>-1</sup>), kyselina kaftarová (18,63–40,57 mg·l<sup>-1</sup>), a *cis*- a *trans*-resveratrol (0,033–0,875 mg·l<sup>-1</sup>). V případě bílých vín, konkrétně pro Ryzlink, jsou z fenolických látek důležitějšími charakteristikami non-flavonoidy než flavonoidy. Pro určení původu vína se ukázaly jako signifikantní parametry stilbeny, hlavně resveratrol.

Faitová a kol. [65] porovnávali odrůdu Ryzlink z moravského a českého regionu pomocí spektrofotometrické analýzy celkových fenolických látek (TPC – *total phenolic content*) a HPLC určením koncentrace *trans*-resveratrolu. Ryzlink z české oblasti obsahoval průměrně 330,3 mg·l<sup>-1</sup> fenolických látek a 0,117 mg·l<sup>-1</sup> *trans*-resveratrolu, v moravské oblasti byly tyto hodnoty 271,7 mg·l<sup>-1</sup> a 0,123 mg·l<sup>-1</sup>. Nejvyšší obsah těchto látek byl nalezen u vína z roudnické podoblasti, tedy z českého vinařského regionu. Nejvyšší obsahy fenolických látek také obsahovaly vína typu výběr z hroznů a nejvyšší obsah resveratrolu obsahovaly vína pozdní sběr.

Určení terroiru vína pomocí koncentrace *trans*-resveratrolu potvrzuje i tým Kumšta a kol. [47] na analýze 43 vín odrůdy Ryzlink z šesti vinařských regionů České republiky. Nejvyšší koncentrace *trans*-resveratrolu obsahovaly vína z regionu Znojmo (0,38 mg·l<sup>-1</sup>) a Mělník (0,46 mg·l<sup>-1</sup>).

Merkyte a kol. [66] uvádí ve své rešerši z roku 2020, která se věnuje vztahu fenolických látek k autenticitě, že stále neexistuje dostatek studií pro určení autenticity zejména bílých vín, kde se jako markery používají fenolové kyseliny a stilbeny, u červených vín je určení častější pomocí obsahu anthokyanidinů [66]. V České republice byly anthokyanidinové pigmenty pro určení terroiru a autenticity analyzovány ve studii Kumšta a kol. [12].

Lampíř a kol. [67] na základě měření bílých vín různých odrůd určili (+)-katechin a (-)-epikatechin jako nejlepší diskriminanty, které lze použít pro klasifikaci bílých vín se 100% správností. Za nejlepší markery pro určení správnosti odrůd doporučili deriváty kyseliny hydroxyskořicové (kyselina *p*-coutarová a kaftarová) a flavan-3-oly.

Výše zmíněné studie prováděly analýzy pomocí kapalinové chromatografie s detektorem diodového pole (DAD – *diode array detector*), což je nejčastější metoda studia fenolických látek [66]. Dále používané metody pro analýzu jsou hmotnostní spektrometrie (MS), nukleární magnetická rezonance (NMR), UV-VIS spektroskopie a vibrační spektroskopie [48].

Méně obvyklou metodou je kapilární zónová elektroforéza, pomocí které bylo ve studii Balluse a kol. [68] děleno 16 fenolických látek u odrůd z jižní Ameriky, mezi nimi i brazilská odrůda Ryzlinku. Nejvyšší analyzované koncentrace byly zjištěny u 2,96 mg·l<sup>-1</sup> (+)-katechinu, 1,53 mg·l<sup>-1</sup> kyseliny kávové, 0,97 mg·l<sup>-1</sup> kyseliny gallové a 1,24 mg·l<sup>-1</sup> kyseliny 3,4-dihydroxybenzoové.

Godelmann a kol. [69] analyzovali autenticitu, odrůdu, geografický původ a ročník vína z různých oblastí Německa pomocí  $^1\text{H-NMR}$  spektroskopie a pomocí vícerozměrové analýzy a dalších statistických metod. Pro každou odrůdu byly vytvořeny „fingerprinty“ (NMR spektra), z odrůdy Ryzlink bylo analyzováno 149 vzorků vín a všechna tato vína byla typická vyšším obsahem katechinu a kaftarátu. Podobně vypracovali NMR-fingerprint pro odrůdu Ryzlink pocházející z Francie a Rumunska tým Magdas a kol. [70]. Z chemických markerů navrhaných pro autentifikaci původu vína byly uvedeny kyselina gallová, kyselina ferulová, kyselina *cis*-kaftarová a kvercetin. Magdas a kol. [70] také uvádějí značné problémy v odlišení fingerprintu odrůd Sauvignon Blanc a Ryzlink, lze tedy očekávat určitou podobnost mezi těmito odrůdami [66; 70].

Magdas a kol. [71] použili pro autentifikaci vín pomocí fenolických látek FT-Ramanovu spektrometrii. Jako markery pro odlišení archivního ročníku vína a určení původu vín různých odrůd, mezi kterými byl i Ryzlink z Rumunska, byly navrženy kyseliny kávová, kaftarová a ferulová.

Ze všech uvedených poznatků lze konstatovat, že fenolické látky jsou vhodnými markery pro autentifikaci vína [15].

### 2.5.3 Prvky typické pro odrůdu Ryzlink

Elementární analýza je vhodnou metodou pro autentifikaci vín [58]. Příjem makroprvků a stopových prvků révy evropskou (*Vitis vinifera*) a obsah prvků v půdě a listech révy byl analyzován ve studii Pepiho a kol. [58] pomocí metody ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem) a rentgenovou fluorescencí (XRF – *X-ray fluorescence*) za účelem rozlišení italských vinařských regionů podle geochemických markerů. Podle výsledků této studie je možné rozlišit dvě oblasti, resp. vinohrady, podle složení prvků v půdě, a také lze rozlišit vína dvou odrůd (v této studii konkrétně Cavernet Sauvignon a Corvina) podle rozdílné bioakumulace prvků v listech. Tato data lze použít pro autentifikaci vína pocházejícího z různých regionů.

Prvkové složení není ovlivněno jen odrůdou, ale také geografickým původem [72]. Geo-identita vinohradu silně souvisí s minerálním složením hroznů, ve studii Ferretiho a kol. [19] byly sledovatelné poměry rubidia/stroncium a dále prvky bariem, rubidium, mangan a beryllium. Dalším faktorem ovlivňujícím elementární složení je produkční systém. Studie Pořízky a kol. [72] demonstruje vliv prostředí a lidské aktivity ve vinohradu, konkrétně pesticidů na elementární složení vína. Vína ošetřená pesticidy obsahovala až třikrát více mědi.

Diviš, Pořízka a kol. [18] ve vínech odrůd Ryzlink rýnský, Müller-Thurgau a Veltlínské zelené analyzovali prvkové složení typické pro tyto odrůdy a proměnné v elementárním složení, které budou silně vázány na danou odrůdu a zároveň nebudou ovlivněny dalšími faktory, jako je například geografická poloha a zrání vína. Použity byly analytické metody ICP-OES (optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem) a ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem) a jednorozměrné a vícerozměrné statistické metody analýzy hlavních komponent (PCA – *principal component analysis*). Diviš a kol. [18] navrhují tyto metody jako efektivní a slibné varianty pro autentifikaci vín z hlediska jejich odrůdy. Tři odrůdy vytvořily ve 2D projekci shluky charakteristické danými proměnnými. Odrůda Ryzlink byla nejvíce charakteristická vysokým poměrem Tm/Yb a Yb/Lu a vysokou koncentrací Gd, Tb a Al.

Khalafyan a kol. [17] pomocí metody ICP-MS analyzovali 49 vzorků vín odrůdy Ryzlink a dalších odrůd z ruských oblastí. Pomocí korelační analýzy bylo určeno 5 stopových prvků za prediktory odrůd (Fe, Mg, Rb, Ti a Na). V Ryzlinku se tyto prvky nacházely v koncentracích

2,662–4,546 mg·l<sup>-1</sup> pro železo, 58,38–91,47 mg·l<sup>-1</sup> pro hořčík, 38,68–77,53 mg·l<sup>-1</sup> pro sodík, 0,0001–0,5850 mg·l<sup>-1</sup> pro rubidium a 0,023–0,031 mg·l<sup>-1</sup> pro titan.

Obsah prvků As, Ba, Ca, Co, Cr, Li, Mg, Rb, Sr, Sn v půdě, hroznech a vínech byl analyzován ve studii Suhaj a kol. [73], kde mezi vzorky hroznů a vín byla odrůda Ryzlink vlašský z 6 vinařských oblastí Slovenska. Pro analýzu tým použil atomovou absorpční spektrometrii s plamenem (F-AAS) a absorpční spektrometrii s grafitovou pecí (GF-AAS) a pro statistické zpracování PCA analýzu. Korelace mezi složením vína a složením půdy z vinařské oblasti byla signifikantní.

Vztahem mezi půdou vinohradu a složením vína z České republiky se zabývala také studie Kmenta a kol. [74], kde byla pro analýzu 27 prvků použita AAS a ICP-MS, vína pocházela pouze z českých vinařských oblastí. Pro vyhodnocení bylo použito PCA a dendrogramů shlukové analýzy. Pouze hořčík byl statisticky významným prvkem v koncentraci v půdě a ve víně (korelační koeficient  $r = 0,616$ ). Mezi vzorky se vyskytovala i odrůda Ryzlink rýnský. Studie uvádí nižší obsah sodíku v českých vínech (2–62 mg·l<sup>-1</sup>) oproti vínům z jiných oblastí Evropy a tomuto faktu připisují absenci moře v České republice. Studie také uvádí přítomnost těžkých kovů (Cd 0,055–3,37 μg·l<sup>-1</sup> a Pb 10,9–1253 μg·l<sup>-1</sup>), která je připisována environmentálnímu znečištění české oblasti hlavně v blízkosti Mostu a hlavního města Prahy. Průměrný obsah makroprvků (> 1 mg·l<sup>-1</sup>) uvádí v pořadí K > Ca > Mg > P Na > Fe > Mn a mikro a stopových prvků (< 1 mg·l<sup>-1</sup>) v pořadí Rb > Al > Cu > Sr, Zn > Ba > Pb > Cr > Li > Ni > V > As > Cs > Sb, Co > Cd, U, Be, Ag > Tl.

Florin-Dumitru a kol. [75] charakterizovali Ryzlink italský, který byl pěstován v Rumunsku, pomocí koncentrace kovů a izotopových poměrů olova a stroncia. Izotopové poměry <sup>207</sup>Pb/<sup>206</sup>Pb, <sup>208</sup>Pb/<sup>206</sup>Pb, <sup>204</sup>Pb/<sup>206</sup>Pb a <sup>87</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr se ukázaly jako vhodné proměnné pro určení geografického původu tohoto vína. Nejvyšší koncentrace byly pozorovány u draslíku (176,09 ± 3,09 – 514,03 ± 0,72 mg·l<sup>-1</sup>), hořčíku (82,42 ± 1,20 – 122,14 ± 2,47 mg·l<sup>-1</sup>), vápníku (30,39 ± 1,50 – 77,45 ± 1,97 mg·l<sup>-1</sup>) a železa (3,19 ± 0,07 mg·l<sup>-1</sup>).

Studie Gajeka a kol. [40] analyzovala 28 prvků pomocí metod ICP-MS, ICP-OES a CV-AAS (atomová absorpční spektrometrie s technikou studených par) pro rtuť ve vínech bílých i červených, mezi vzorky se nacházela i odrůda Ryzlink původem z oblastí Polska a Německa. Studie uvádí vyšší obsah prvků Ag, Be, Bi, Cd, Co, Li, K a Ti oproti vínům červeným, kde se nachází více prvků B, Ba, Cr, Cu, Mn, Sr a Zn.

Charlton a kol. [76] klasifikovali vína podle jejich odrůdy, ročníku a původu (Česká republika, Maďarsko, Rumunsko a Jižní Afrika) pomocí elementárních parametrů (Li, Ca, Fe a Si) a organických parametrů (kyselina šikimová a ethanolamin). Mezi vzorky bílých vín byla rovněž odrůda Ryzlink. Závěrem této studie byl fakt, že vína šlo odlišit pomocí pokročilých statistických metod na základě odrůdy a země původu.

Zatímco obsahu fenolických látek v bílých vínech a v Ryzlinku rýnském původem z České republiky se věnuje řada studií, u elementární analýzy je počet studií omezenější.

## 2.6 Vybrané metody pro charakterizaci a autentifikaci vína

Pro charakterizaci vína lze vybírat z množství instrumentálních metod podle druhu analytu [36]. Víno je komplexní matrice a z instrumentální analýzy se nejčastěji používají separační, spektroskopické a spektrometrické techniky. Většímu porozumění komplexní matrici vína významně umožnil rozvoj plynové chromatografie v padesátých letech dvacátého století a vývoj kapilárních kolon v osmdesátých letech [77].

## 2.6.1 Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií

Plynová chromatografie je vhodnou separační metodou pro analýzu těkavých látek. Aromatické látky jsou po uvolnění z matrice pomocí vhodné extrakční techniky dávkovány pomocí injektoru a vnášeny nosným plynem (dusíkem, heliem nebo vodíkem) do kolony, kde probíhá samotná separace podle fyzikálně-chemických interakcí skupin se stacionární fází kolony. Nejvíce používanými stacionárními fázemi jsou polymery odvozené od polyethylenglykolu. Kolona je umístěna v termostatu, kterým lze řídit režim analýzy – může být izotermální anebo s teplotním programem [78].

Poslední částí plynového chromatografu je detektor. Univerzálními detektory pro analýzu vína je plamenově-ionizační detektor (FID – *flame-ionization detector*) a hmotnostně spektrometrický detektor (MS – *mass spectrometry*) [78]. Hmotnostní spektrometrie slouží k separaci iontů podle jejich poměru hmoty ku náboji  $m/z$  [36]. Mezi specifické detektory patří elektrochemický detektor (ECD – *electro-chemical detector*) pro sloučeniny s halogeny a plamenový ionizační detektor (FPD – *flame photometric detector*) pro sloučeniny se sírou [78].

Spojení plynové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickým detektorem GC-MS je konkrétně u těkavých látek vína považováno za jednu z nejcitlivějších metod pro kvalitativní i kvantitativní analýzu [79] a je široce používáno v oblasti analýzy aroma vína [80]. Tato technika je hlavně vhodná pro analýzu monoterpenů v jejich volné těkavé formě [32], které tvoří charakteristické odrůdové aroma [36]. Kvůli těkavosti nelze ovšem analyzovat pomocí GC terpeny v jejich glykosidové formě, pro tuto možnost je nejvhodnější použití HPLC s reverzní fází [32].

Na rozdíl od ostatních detektorů přidává hmotnostní spektrometrie analýze další informaci a tou je iontové spektrum, tato technika má také nižší detekční limit. Jakmile je sloučenina vyloučena z plynového chromatografu a zaznamenána jako pík v chromatogramu s daným retenčním časem, následuje ionizace sloučenin, tedy rozstřílení na ionty. Existuje několik ionizačních technik, u plynové chromatografie se vzhledem k operačním tlakům používá hrubá technika elektronová ionizace (EI – *electron ionization* nebo *electron impact*) a měkká chemická ionizace (CI – *chemical ionization*). Ionty jsou rozděleny na separátoru, což je obvykle kvadrupól, iontová past nebo detektor doby letu (detektor TOF – *time of flight*), podle poměru hmoty ku náboji  $m/z$  a zaznamenány jako píky ve spektru [78].

Limitací metody GC-MS u určování odrůdového charakteru vína je fakt, že metoda neuvádí, která sloučenina se přímo podílí na vzniku aroma, pouze je kvantifikuje ve vzorku. Jak již bylo řečeno v předchozí teorii, analyty na sebe obvykle působí synergicky a jejich sensorický efekt je tak kombinací několika aromatických látek. Proto se plynová chromatografie při analýze aromatických látek vína často používá ve spojení s olfaktometrickým detektorem (GCO), který hodnotitel používá pro sensorickou analýzu. Spolu s chromatogramem lze získat k látkám eluujícím v retenčních časech i jejich sensorický popis. Touto technikou lze stanovit i práh vnímání aromatických látek [49]. Bowen a kol. [49] ve své studii uvádí, že lidský nos je citlivější detektor než GC-MS pro určité sloučeniny.

### 2.6.1.1 Hmotnostní spektrometrie v režimu SIM a TIC

MS funguje v různých módech. TIC (*total ion chromatogram* nebo *total ion current*) skenuje všechny ionty v určitém rozmezí hmot, výsledkem je kompletní chromatogram s mnoha píky. Proto se tato technika používá k identifikaci neznámých sloučenin pomocí referenčních spekter z knihoven. Limitujícím faktorem této techniky je nižší citlivost a nepřesná kvantifikace.

Druhou možností je režim SIM (*single ion monitoring* nebo *selected ion monitoring*), který měří pouze specifické předem vybrané ionty, obvykle 3 až 4 hmoty hlavní pro danou sloučeninu. SIM ze své podstaty neslouží pro kvalitativní analýzu, ale je vhodný hlavně pro stopové analýzy konkrétních sloučenin. Oproti TIC má SIM lepší citlivost [78; 81].

Kvantifikaci aromatických látek v režimu SIM výběrem selektovaných iontů látek použili také ve studii Schüttlera a kol. [12] a Bowena a kol. [49], kde byly použity 3 ionty (3  $m/z$ ) pro kvalitativní analýzu a 1 pro kvantifikaci.

Při interpretaci se používá jak retenčních časů, tak píků ze spektrometru. V poslední době se pro ověření často zavádějí navíc lineární retenční indexy, někdy nazývané Kovatsovy (série alkanů C<sub>6</sub>–C<sub>19</sub>) [50].

### **2.6.1.2 Preparační metody pro analýzu aromatických látek**

Před samotnou analýzou je nutné každý vzorek vhodně připravit a izolovat požadované analyty z matrice. Víno je matrice komplexní a volba vhodného postupu není jednoduchá [77]. Pokud jsou charakterizovanou skupinou těkavé látky, z vína je lze izolovat pomocí klasických preparačních metod, jako je destilace nebo extrakce organickým rozpouštědlem – extrakce kapaliny-kapalinou (LLE – *liquid-liquid extraction*), anebo modernějšími metodami jako je extrakce tuhou fází (SPE – *solid phase extraction*), dynamická head-space extrakce a mikroextrakce tuhou fází (SPME – *solid phase microextraction*) [82].

Starší extrakční metody jsou obvykle časově náročnější a často vedou ke ztrátám analytů a nižší citlivosti [77]. Oproti destilaci nebo extrakci kapalinou, při které dochází ke značné spotřebě rozpouštědel, jsou extrakce na tuhou fázi ekonomicky výhodnější [83], a také omezují používání toxických rozpouštědel [77]. Pro extrakci kapaliny kapalinou byl ve studii maďarských a makedonských vín Ivanovy a kol. [84] použit dichlormethan. Tato metoda LLE-GC-MS byla touto skupinou i validována [85]. LEE použili také Komes a kol. [50] pro analýzu aroma Ryzlinku rýnského z Chorvatska, extrakčním činidlem byl 1,1,1-trichlorfluormethan (Freon 11).

Alternativní a hlavně výrazně nákladnější extrakční technikou je superkritická fluidní extrakce (SFE – *supercritical fluid extraction*) [86]. Touto technikou ve spojení s GC-MS bylo v roce 2020 studií Geffroye a kol. [86] ve vínech stanoveno až 76 molekul (z toho 35 sensoricky aktivních). Studie také identifikovala dearomatizovanou matici získanou superkritickou fluidní extrakcí oxidem uhličitým jako nejlepší matici pro studování aromatického profilu. Nevýhodou této techniky je její nákladnost [86].

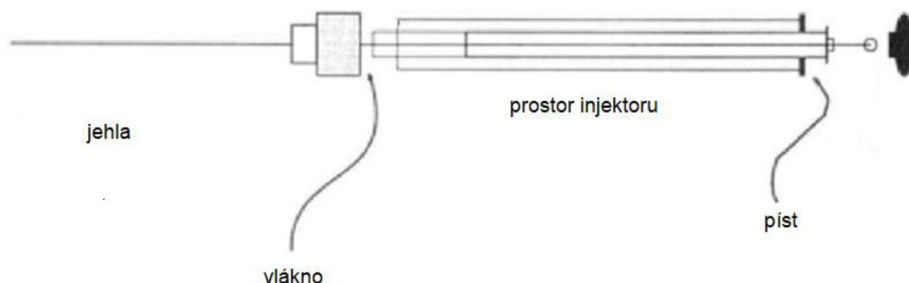
Komplikací při vyhodnocování výsledků, kde byla použita jedna z konkrétních extrakčních metod, je nesourodost výsledků. Bowen a kol. [49] popisují komplikaci při identifikaci sloučenin s nízkou koncentrací (konkrétně  $\beta$ -damascenon, linalool, cis-rose oxid, okten-3-ol), které mohou být eluované blízko velkých píků kyselin nebo esterů a tedy i možnou špatnou interpretaci výsledků.

### **2.6.1.3 Head-space mikroextrakce tuhou fází**

Mikroextrakce tuhou fází SPME (*solid-phase micro-extraction*) vychází z extrakce tuhou fází, která se provádí na kolonkách, ve kterých se analyt sorbuje na danou stacionární pevnou fázi a poté desorbuje pomocí rozpouštědla anebo teplotou. Metoda mikroextrakce tuhou fází, vyvinutá v devadesátých letech profesorem Pawliszynem a kolektivem, dosáhla úplného odstranění rozpouštědla, časové úspory a miniaturizace extrakčních metod [77; 83].



SPME metoda používá nejčastěji křemenné vlákno (Obrázek 6) uložené v mikrostríkačce o průměru 100–300  $\mu\text{m}$  a délce přibližně 21,5 cm závislé podle daného chromatografu [83]. Povrch vlákna je chemicky upraven a funguje jako sorpční stacionární fáze. Na tuto vrstvu se sorbuje analyt až do dosažení sorpční rovnováhy mezi kapalnou matricí a pevnou sorbující fází. Následuje desorpce teplotním režimem z injekčního prostoru přímo do kolony [87].



Obrázek 6: SPME vlákno, upraveno podle [83]

Sorpce na vlákno se provádí ve dvou módech; přímo ponořením do kapalného vzorku (DI – *direct immersion*) nebo častěji z prostoru nad vzorkem tzv. head-space (HS). Head-space využívá těkavosti látek a odebírá vzorek z nasycených par kapaliny nad roztokem [87]. Head-space může být statická, anebo dynamická s přítokem inertního plynu anebo vakuovou vývěvou, které vedou analyty k zakoncentrování na sorbentu [77].

Typ stacionární fáze na vláknech ovlivňuje selektivitu extrakce a výsledek celé analýzy. Výběr vlákna závisí na molekulové hmotnosti, těkavosti a polaritě analytu. Nejčastěji používanými polymery jsou polydimethylsiloxan (PDMS) pro nepolární analyty, polyakrylát (PA) pro polární sloučeniny a polyethylenglykol (PEG) pro alkoholy nebo divinylbenzen (DVB). Pro aromatické těkavé sloučeniny je nejvhodnější vlákno DVB/carboxen/PDMS [87].

Kromě typu stacionární fáze jsou dalšími faktory ovlivňujícími přesnost SPME doba a teplota extrakce, pH a iontová síla vzorku, složení matrice nebo přítomnost rozpouštědla; což je v případě vína voda a ethanol [77]. Extrakce je závislá i na době, po kterou je vlákno v head-space prostoru, kde probíhá extrakce na polymer. Analýzu také ovlivňují podmínky desorpce – hlavně teplota a průtok nosného plynu [88].

Využití SPME techniky pro analýzu vína a hroznů neustále narůstá, od devadesátých let se počet publikací ročně zvyšuje lineárně. Přestože existuje mnoho aplikací SPME-GC-MS u vína, přesných kvantifikačních a optimalizovaných metod je stále nedostatek. Optimalizace metody je totiž náročná právě z důvodu mnoha proměnných [88]. Výhodou SPME je kombinace extrakce, zakoncentrování a dávkování vzorku přímo do kolony v jednom zařízení. Nevýhodou této techniky je nízká kapacita vlákna, pouze 0,6  $\mu\text{l}$  analytu se sorbuje na 100  $\mu\text{m}$  PDMS vlákna, což ovlivňuje citlivost analýzy [89].

Zatímco SPME je u extrakce těkavých látek z vína rozšířená, méně známou a méně používanou metodou je alternativní a moderní varianta SPME, která se nazývá sorpční extrakce na míchadle SBSE (*stir-bar sorptive extraction*), a která byla vyvinuta koncem devadesátých let [49]. Analyty se sorbují na stacionární fázi na míchadlu [51]. Míchadlo může být přímo ponořené do matrice, anebo může probíhat headspace extrakce [89]. SBSE extrakce může eliminovat rušivé polární látky z matrice, jako je voda, ethanol, kyselina octová a glykol. Touto technikou se zvyšuje citlivost a snižuje detekční limit [51]. Výhodou oproti

SPME je větší kapacita vzorkování, tedy i lepší poměr signál/šum, vyšší citlivost a nižší limity detekce a kvantifikace [89]. Tuto metodu použili v roce 2017 Caven-Quantrill a kol. [90] pro porovnání aromatického profilu anglických vín fermentovaných a zrajících v ocelovém tanku a v dubovém sudu. SBSE-GC-MS použili také Bowen a kol. [49] pro kvantifikaci nejvíce aromatických látek amerických Ryzlinků. Pro analýzu vína odrůdy Ryzlink z Makedonie použili metodu extrakce SBSE-GC-MS tým Doneva-Sapceske a kol. [51] a pro analýzu Ryzlinku z Ameriky SBSE-GC-O-MS tým Bowena a kol. [49].

### 2.6.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

U kapalinové chromatografie je vzorek unášen mobilní kapalnou fází hnanou tlakem a postupně zdržován v chromatografické koloně (stacionární fázi) na základě afinity analytu k chemickým skupinám na povrchu výplně kolony. Eluce může být izokratická s neměnným složením mobilní fáze nebo gradientová s postupně modifikovaným složením mobilní fáze, což usnadňuje separaci. Složky jsou separovány a poté detekovány detektorem, který měří různé fyzikálně-chemické vlastnosti [36].

HPLC se používá u vína pro analýzu cukrů, organických kyselin a polyfenolických látek [36]. Kapalinová chromatografie je nejvhodnější technikou pro analýzu fenolických látek, přestože zatím dokážou tyto techniky produkovat pouze výsledky pro méně polymerní molekuly. Největší problém při stanovování fenolických látek je koloidní stav, ve kterém se vyskytují [31].

Při spojení separační techniky HPLC s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS) se používají ionizátory fungující za atmosférického tlaku (API – *atmospheric pressure ionization*) kvůli přechodu z vysokotlaké kapalinové chromatografie do vakua hmotnostní spektrometrie. Mezi tyto ionizační zdroje patří elektrospřejová ionizace (ESI – *electrospray ionization*), chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI – *atmospheric pressure chemical ionization*), fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI – *atmospheric pressure photoionization*) a laserová ionizace za atmosférického tlaku (APLI – *atmospheric pressure laser ionization*). Separátory typické pro HPLC-MS jsou kvadrupól (Q), trojitý kvadrupól (QqQ), iontová past (IT – *ion trap*), detektor doby letu (TOF – *time of flight detector*) a orbitrap [91].

Z detektorů se při analýze vín a jejich obsahu fenolických látek nejčastěji používá detektor hmotnostní spektrometrie (HPLC-MS) a diodové pole (HPLC-DAD – *diode array detector*) [13].

### 2.6.3 Metody pro elementární analýzu

Pro analýzu prvkového složení vína se nejčastěji používají 3 techniky. První je atomová absorpční spektrometrie (AAS – *atomic absorption spectrometry*), kde absorpce záření je přímo úměrná koncentraci prvku. Její použití je ovšem omezeno na přibližně 60 prvků [36], převážně alkalické kovy, a je vhodná pouze pro prvky ve vyšších koncentracích. Další technikou, která dokáže detekovat podstatně více prvků v nižších koncentracích ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), je atomová (optická) emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES – *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*). Tato technika využívá excitace prvku plazmatem a detekuje následnou emisi fotonů [92].

Pro nejpřesnější analýzu se používá hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS – *inductively coupled plasma mass spectrometry*), kde vysoce energetická plazma ionizuje prvky, které jsou poté separovány pomocí jejich poměru  $m/z$ . Citlivost této metody je až v řádech  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , je možné ji použít i pro ultrastopové koncentrace analytů, má podstatně nižší limity detekce, a také dokáže analyzovat široké spektrum prvků na rozdíl od rychlé, ale málo citlivé AAS [92]. Pomocí ICP-MS lze analyzovat hned několik

prvků ve velmi nízkých koncentracích zároveň, proto se někdy užívá také pojem multielementární analýza [93]. Metoda ICP-MS dokáže také díky rozlišení přesných hmotností stanovovat i jednotlivé izotopy prvků a jejich poměry [36]. Izotopovou analýzu lze použít i pro autentifikaci vín – konkrétně izotopy  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$  a  $^{18}\text{O}$ , jejichž obsah vypovídá o původu půdy, obsahu vody, geografickém původu a dalších faktorech růstu vinné révy [94].

Před samotným provedením elementární analýzy je nutné odstranit rušivé vlivy matrice pomocí preparačních kroků. K tomuto účelu se používají takzvaně mokré nebo suché metody, kam patří mikrovlnná digesce, UV-digesce, termální digesce, rozpuštění vzorku v rozpouštědle nebo zpopelnění [93].

Metody ICP-OES a ICP-MS jsou používány pro autentifikaci vín, obzvláště kovy jsou velmi vhodné pro určení geografického původu vína [93]. Tyto metody se obvykle kombinují s metodami pro stanovení dalších organických sloučenin. Analýza kovů a dalších prvků u vína obvykle doprovází analýzu těkavých sloučenin, které jsou hůře použitelné jako proměnné pro určení autenticity, protože jejich koncentrace během produkce a zrání vína může kolísat [92].

#### 2.6.4 Spektrofotometrické stanovení celkových fenolických sloučenin

Celkový obsah fenolických látek (TPC – *total phenolic content*) lze měřit pomocí Folin-Ciocalteuovy spektrofotometrické metody [95]. Principem metody je oxidačně-redukční reakce. Žluté Folin-Ciocalteuovo činidlo, které obsahuje hlavně molybden a wolfram, je redukováno na modré zbarvení pomocí fenolických látek, které se oxidují. Měření probíhá při vlnových délkách 700–760 nm. Metoda se kalibruje pro kyselinu gallovou, která je typickým zástupcem fenolických sloučenin [96; 97].

U bílých vín je celkově obsah fenolických látek nižší než u vín červených, protože jsou hrozny zpracovávány bez slupek [95]. Lee a kol. [95] uvádí, že použití kapalínové chromatografie pro jejich stanovení může být technicky náročné a doporučuje použití jednodušších spektrometrických metod.

Nevýhoda Folin-Ciocalteuovy metody je citlivost na jakékoliv redukční sloučeniny obsažené v matrici. Při měření několika různých vzorků mohou vznikat nestejnorodé výsledky. Interferenci způsobují redukující cukry, sulfidy a kyselina askorbová [95]. Celkový obsah fenolických sloučenin je také ovlivněn stářím vína, kde podle Jančářové a kol. [98] platí trend klesání obsahu fenolických látek se stářím vína.

Valášek a kol. [64] naměřili obsah celkových fenolických sloučenin pomocí Folin-Ciocalteuovy metody u vína odrůdy Ryzlink 194 až 281  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Zhijing a kol. [99] uvádí hodnoty TPC v rozmezí od 39,4 do 239,4  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ . Faitová a kol. [65] měřili TPC u odrůdy Ryzlink zároveň s měřením obsahu resveratrolu, který také patří mezi fenolické látky, ale korelace mezi těmito obsahy nebyla potvrzena (5,73 %). Faitová uvádí obsah fenolických látek v Ryzlinku pro českou oblast 223–532,7  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a moravskou oblast 175–465  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Použité přístroje

- plynový chromatograf TraceTM 1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific INC., Waltham, MA, USA)
- hmotnostní detektor ISQTM LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific INC., Waltham, MA, USA)
- knihovna spekter NIST/EPA/NIH (Gaithersburg, Maryland, USA)
- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30  $\mu\text{m}$  (Pennsylvania, USA)
- hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (Agilent 7900, USA)
- optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem Horiba Jobin Yvone Ultima 2 (Horiba Scientific, Francie)
- kapalinový chromatograf Agilent infinity 1260 (Agilent technologies, USA)
- kolona HPLC Poroshell 120 EC-C18, 150 x 4,6 mm x 2,7  $\mu\text{m}$  (Agilent technologies, USA)
- UV-VIS spektrofotometr (Helios Gamma and Delta Spectronic Unicam, USA)
- analytické váhy GR-120 EC (Helago, ČR)
- laboratorní sklo a další vybavení laboratoře

#### 3.2 Použité chemikálie

- kalibrační roztok AAS-standard stroncium 1  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (CarlRoth, Německo)
- kalibrační roztok Vanad 1  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Český meteorologický institut, ČR)
- kalibrační roztok molybden standard 1  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Fluka analytical, Švýcarsko)
- směsný standard 14 analytů 1  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  – Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn (Astasol, ČR)
- směsný standard Ca, K, Mg, Na 5  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , P 10  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Analytika Praha, ČR)
- kyselina dusičná p.a. (Lachner, ČR)
- chlorid sodný p.a. (Lachner, ČR)
- vodný kalibrační roztok Ca, K, Mg, Na, Al (Analytika Praha, ČR)
- methanol pro HPLC (VWR Chemicals, USA)
- kyselina gallová (Sigma-Aldrich, USA)
- (+)-katechin hydrát (Sigma-Aldrich, USA)
- (-)-epikatechin (Sigma-Aldrich, USA)
- kyselina *p*-kumarová pro HPLC (Sigma-Aldrich, UK)
- kyselina kávová pro HPLC (Sigma-Aldrich, USA)
- bezvodý uhličitan sodný (Lachema, ČR)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (VWR Chemicals, ČR)

#### 3.3 Analyzované vzorky

Vzorky 20 vín odrůdy Ryzlink rýnský pocházely ze 4 moravských vinařských podoblastí (znojemská, velkopavlovická, mikulovská a slovácká), kde každá byla zastoupena alespoň 4 vzorky. Vína pocházela jen z vinařství s ověřeným původem. Ročníky vín se pohybovaly v rozmezí let 2019 až 2021, vína patřila mezi suchá a polosuchá. Všechny vzorky byly analyzovány do 48 hodin po otevření lahví. Další informace o vzorcích uvádí následující Tabulka 3.

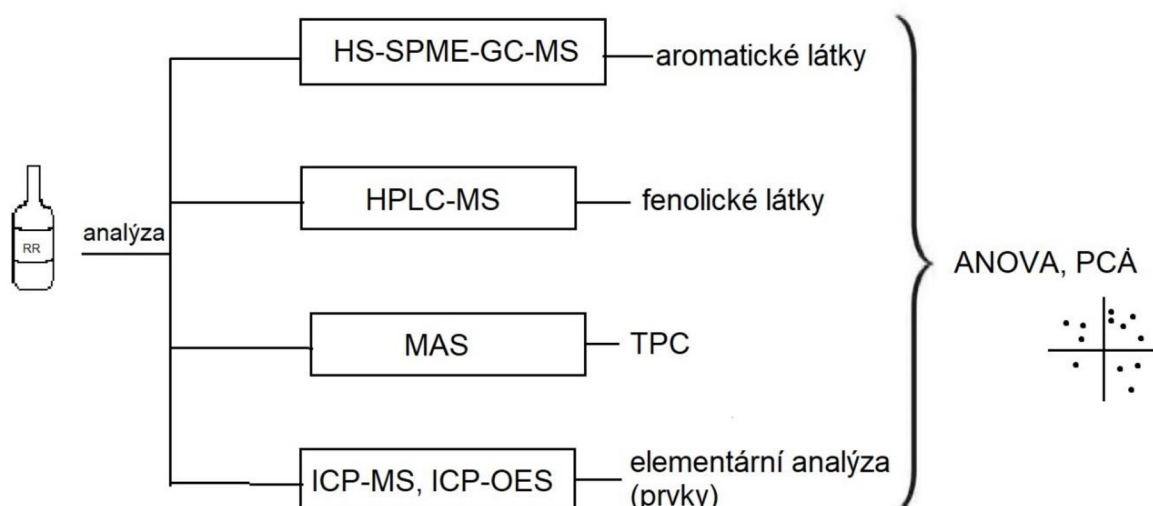
Tabulka 3: Seznam analyzovaných vín a jejich kódové označení

	kód	podoblast	vinařství	zbytkový cukr	ročník	jakost	vinařská obec	viniční trať
1	ZNO1	znojemská	Znovín	suché	2020	jakostní	Hnanice	Knížecí vrch
2	ZNO2	znojemská	Piálek & Jäger	suché	2020	VOC	Oblekovice	
3	ZNO3	znojemská	Lahofer	suché	2021	kabinetní		
4	ZNO4	znojemská	Znovín	suché	2019	pozdní sběr	Strachotice	Dívčí vrch
5	ZNO5	znojemská	Vaněk	suché	2021	VOC	Vrbovec	U sv. Urbana
6	VP1	velkopavlovická	Jedlička	suché	2019	pozdní sběr	Bořetice	Terasy
7	VP2	velkopavlovická	ZD Němčičky	suché	2021	zemské víno	Němčičky	
8	VP3	velkopavlovická	Šamšula	suché	2020	pozdní sběr	Čejkovice	
9	VP4	velkopavlovická	Sedlák	suché	2020	pozdní sběr	Velké Bílovice	Dlouhá hora
10	MIK1	mikulovská	Holánek	suché	2020	pozdní sběr	Ivaň	AEIBIS
11	MIK2	mikulovská	Kolby	suché	2020	pozdní sběr	Pouzdrňany	Kolby
12	MIK3	mikulovská	Mikrosvín	suché	2020	pozdní sběr	Mikulov	Za cihelnou
13	MIK4	mikulovská	Nové vinařství	suché	2020	pozdní sběr	Drnholec	U křížku
14	MIK5	mikulovská	Sonberk	suché	2019		Popice	
15	MIK6	mikulovská	Mádl	suché	2020	pozdní sběr	Sedlec	Nad Nesytem
16	SLO1	slovácká	Herzánovi	suché	2020	zemské víno, organicky pěstované hrozny (bio)	Lužice	
17	SLO2	slovácká	Sv. Florian	polosuché	2020	pozdní sběr	Syrovín	Lysiny
18	SLO3	slovácká	B/V	suché	2019	pozdní sběr	Ratíškovice	
19	SLO4	slovácká	Žůrek	polosuché	2019	pozdní sběr	Syrovín	Lysiny
20	SLO5	slovácká	Spielberg	suché	2019	pozdní sběr	Žarošice	Maliny

VOC – víno originální certifikace

### 3.4 Použité metody

Pro změření 20 vzorků bylo využito 5 analytických instrumentálních metod. Průběh experimentu shrnuje následující schéma (Obrázek 7).



Obrázek 7: Schéma analýzy vín odrůdy Ryzlink rýnský

### 3.4.1 Plynová chromatografie – stanovení aromatických látek

Těkavé aromatické látky byly stanoveny pomocí metody HS-SPME-GC-MS. Analyty byly stanoveny kvalitativně v režimu úplného skenu (TIC) a dále byly zpracovávány semikvantitativně integrované plochy píků.

Do vialky byly pipetovány 3 ml vína bez ředění a roztok byl zasolen 1 g chloridu sodného. Vína byla proměřena programem Xcalibur 2.2 za podmínek nastavených na chromatografu (Tabulka 4). Pro kvantitativní analýzu byla využita knihovna hmotnostních spekter NIST/EPA/NIH a relativní obsah (rel. %) obsažených sloučenin byl vypočten z plochy píků. Chromatogramy lze najít v přílohách v kapitole 9. Měření každého vzorku bylo provedeno dvakrát a relativní odchylky vyhodnocených ploch byly menší než 10 %.

Tabulka 4: Nastavení HS-SPME-GC-MS analýzy

Mikroextrakce tuhou fází	
Doba inkubace	5 minut
Teplota extrakce a inkubace (teplota agitátoru)	40 °C
Doba extrakce	30 minut
Zapnutý agitátor	5 sekund
Vypnutý agitátor	60 sekund
GC-MS analýza	
Dávkování	splitless
Uzavřený ventil	7 minut
Kapilární kolona	TG-WaxMS
Rozměry kolony	30 m x 0,25 mm x 0,5 mm
Teplota injektoru (desorpce)	250 °C
Doba desorpce	7 minut
Doba celkové analýzy	60 min
Nosný plyn	hélium
Průtok nosného plynu	1 ml·min <sup>-1</sup>

Tabulka 4: Nastavení HS-SPME-GC-MS analýzy

Teplotní program	vzestupný gradient	teplota	doba zdržení
	2 °C·min <sup>-1</sup>	do 100	3 min
	5 °C·min <sup>-1</sup>	do 130	5 min
	5 °C·min <sup>-1</sup>	do 200	1 min

Hmotnostní detektor	
Mód	elektronová ionizace
ionizační energie	70 eV
teplota iontového zdroje	220 °C
skenovací rozsah m/z	40–320 amu
rychlost skenování	0,2 s

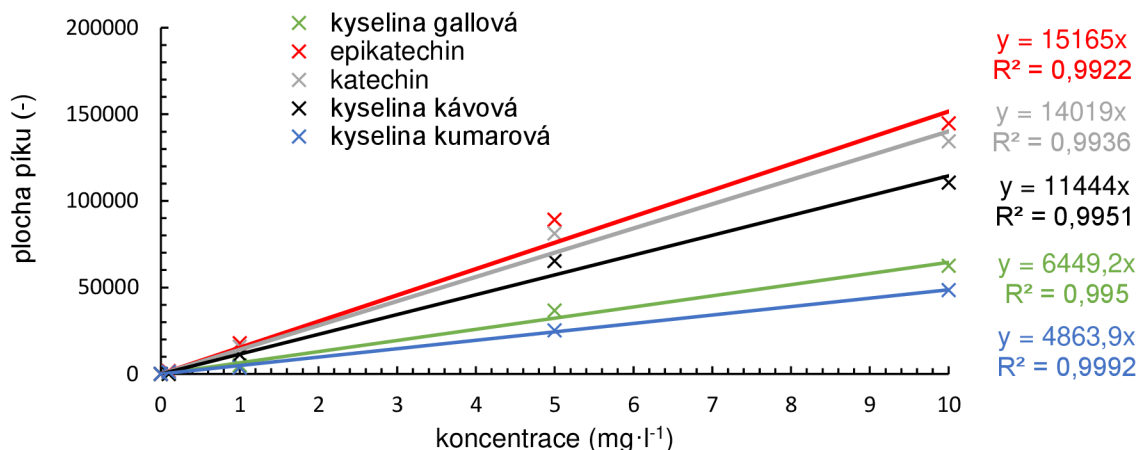
### 3.4.2 Kapalinová chromatografie – stanovení fenolických látek

Fenolické sloučeniny obsažené ve víně byly stanovovány pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostním detektorem za daného nastavení (Tabulka 5). Analyty byly stanoveny kvantitativně pomocí spekter a kalibrační rovnice. Celkem bylo stanovováno 5 fenolických látek: kyselina gallová ( $m/z = 168,9$ ), katechin a epikatechin ( $m/z = 288,9$ ), kyselina kávová ( $m/z = 178,9$ ) a kyselina kumarová ( $m/z = 118,9$ ).

Tabulka 5: Nastavení HPLC-MS analýzy

HPLC-MS			
Základní nastavení	reverzní fáze		
Eluce	gradientová eluce		
	t (min)	kyselina mravenčí 1% (%)	methanol (%)
	0,00	90	10
	2,50	90	10
	20,00	10	90
	20,01	50	50
	25,00	50	50
	25,01	90	10
Průtok mobilní fáze (ml·min <sup>-1</sup> )			1
Nástřik (μl)			5
Teplota (°C)			35
Doba analýzy (min)			30
Kolona	Kinetex 5mikrom EVO C18 100 Å 250 × 4,6 mm		
Ionizátor			ESI
Režim skenování			SIM

Vzorek vína byl dvakrát zředěn destilovanou vodou, přefiltrován přes stříkačkový filtr a dávkován do vialek. Jako kalibrační roztoky byly použity kyseliny gallová, kumarová, kávová, katechin hydrát a epikatechin. Katechin hydrát byl přepočten na katechin. Standardy o koncentraci 1 g·l<sup>-1</sup> byly rozředěny methanolem do řady kalibračních roztoků o koncentracích 0,01–1–5–10 mg·l<sup>-1</sup> (viz. Obrázek 8).

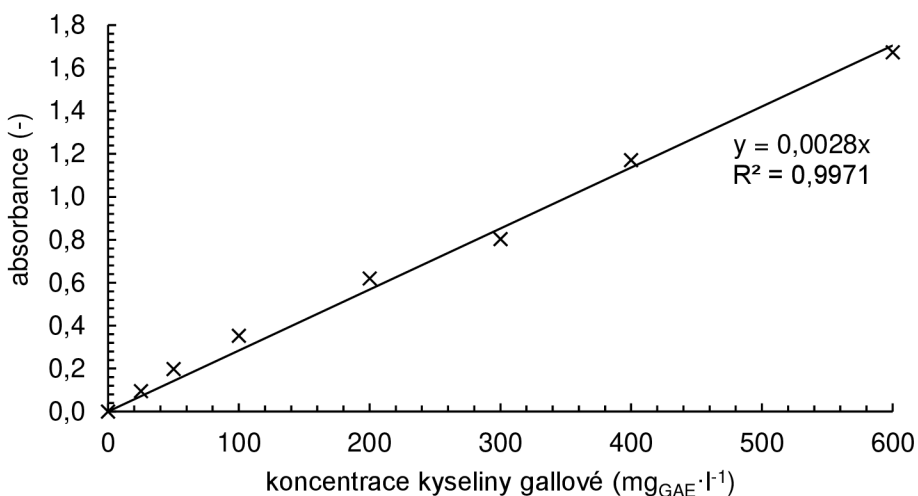


Obrázek 8: Kalibrační křivky vybraných fenolických látek

### 3.4.3 Folin-Ciocalteuova metoda – stanovení celkového obsahu fenolických látek

Pro stanovení celkového obsahu fenolických látek (TPC) byla použita spektrofotometrická Folin-Ciocalteuova metoda. Vzorky byly měřeny ve třech opakováních. Jako kalibrační standard byla použita kyselina gallová. Kalibrační roztoky byly namíchaný v rozsahu 0–25–50–100–200–300–400–600  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  (Obrázek 9). Kalibrační křivka i vzorky byly měřeny za stejných podmínek.

Pro analýzu byl připraven nasycený roztok uhličitanu sodného (7,5 g uhličitanu sodného na 95 ml vody) a Folin-Ciocalteuovo činidlo bylo 10x zředěno. Pro samotné měření byl pipetován 1 ml destilované vody, 1 ml zředěného Folin-Ciocalteuova činidla a 100  $\mu\text{l}$  vína nebo kyseliny gallové pro kalibraci. Pro slepý pokus bylo pipetováno 100  $\mu\text{l}$  destilované vody. Po uplynutí 5 minut byl přidán 1 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Vzorky byly ponechány 30 minut ve tmě pro zreagování. Po uplynutí této doby byla změřena absorbance vzorku při 760 nm. TPC byl vyjádřen v mg ekvivalentu kyseliny gallové na ml vzorku vína ( $\text{mg}_{\text{GAE}}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).



Obrázek 9: Kalibrační křivka pro kyselinu gallovou



### 3.4.4 Atomová emisní spektrometrie – stanovení prvků

Makroprvky (Ca, K, Mg, Na) a mikroprvek hliník byly stanoveny pomocí atomové emisní spektrometrie s iontově vázaným plazmatem při daných podmínkách (Tabulka 6) a vlnových délkách: Ca 396,847 nm, K 766,490 nm, Mg 285,213 nm, Na 588,995 nm, P 214,914 nm a Al 396,152 nm.

Vzorky byly předem desetkrát zředěny 1% kyselinou dusičnou. Kalibrace byla připravena metodou standardního přídatku a slepým vzorkem bylo zředěné víno.

*Tabulka 6: Nastavení ICP-OES analýzy. Pro hliník byl průtok pomocného plynu upraven na 0,2 l·min<sup>-1</sup>.*

ICP-OES	
Výkon plazmového hořáku (W)	1200
Pumpa do zmlžovače (ot·min <sup>-1</sup> )	15
Plazmový plyn argon (l·min <sup>-1</sup> )	13,5
Nebulizační plyn (l·min <sup>-1</sup> )	0,8
Auxiliární plyn (l·min <sup>-1</sup> )	0,2
Tlak zmlžovače (bar)	3

### 3.4.5 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem – stanovení prvků

Mikroprvky a stopové prvky byly stanoveny pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem dle daného nastavení (Tabulka 7). Pro metodu byl použit interní standard bismut, indium, stroncium, ytrium a terbium. Vzorky byly předem pětkrát zředěny kyselinou dusičnou.

Pro kalibraci byly použity standardní roztoky (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn, Mo, Sr, V) v koncentracích 10–100–1000 µg·l<sup>-1</sup>. Prvky Fe, Ni, Cu, Zn byly změřeny i navíc s kolizní celou.

*Tabulka 7: Nastavení ICP-MS analýzy*

ICP-MS	
Nosný plyn (l·min <sup>-1</sup> )	0,9
Plazmový plyn (l·min <sup>-1</sup> )	14,98
Vzdálenost ICP hořáku (mm)	1
Peristaltická pumpa (rpm)	0,5
Vzorkovací čas (s)	0,41
Výkon RF (W)	1600
Iontová čočka 1 (V)	-200
Iontová čočka 2 (V)	-180
Omega bias (V)	-20
Omega čočka (V)	5
Vstupní cela (V)	-40
Výstupní cela (V)	-60
MS analyzátor	kvadrupól
Deflektor (V)	14,63
Skenovací rozsah <i>m/z</i> (amu)	7–205

### 3.5 Statistické zpracování výsledků

Výsledky instrumentálních analýz byly zpracovány statisticky pomocí programu Statistica 13 a MS 365 Excel. Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka.

Byl navržen experiment, který vína rozdělí podle oblasti jejich původu (skupinový parametr) a pomocí charakteristického obsahu chemických sloučenin (proměnné).

Ze statistických metod byla použita deskriptivní analýza a korelační analýza. Pro ověření normality dat byl použit Shapiro-Wilkův test a pro ověření homogenity dat Leveneho test. Pro odlehle výsledky byl použit Grubbsův test. Pro data, která byla normálně a homogenně rozložena, byla pro zjištění rozdílů mezi vzorky použita parametrická jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA – *analysis of variance*). V rámci ANOVy byl proveden i Tuckeyho t-test. Pro nenormální a nehomogenní data byla použita neparametrická verze metody ANOVA, takzvaný Kruskal-Wallisův test. Statistické vyhodnocení jednorozměrových statistických metod proběhlo na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  (intervalu spolehlivosti 95 %).

Z vícerozměrných technik byla použita analýza hlavních komponent (PCA – *principal component analysis*). Pro tuto metodu byla data předem standardizována. Proměnné byly vybrány v intervalu spolehlivosti 90 % (hladina významnosti  $\alpha = 0,1$ ).

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Hlavním záměrem práce bylo pokusit se o autentifikaci původu a rozdělení vín vybrané odrůdy (Ryzlink rýnský) podle podoblastí pomocí charakteristického složení. V práci bylo použito 5 instrumentálních metod pro charakterizaci vzorků vín původem ze 4 moravských vinařských podoblastí (v práci jsou oblasti nadále označovány pomocí zkratk ZNO – znojenská, VP – velkopavlovická, MIK – mikulovská, SLO – slovácká). Jelikož se jedná o vzorky stejné odrůdy, byla stanovena hypotéza, že bude možné vína odlišit pomocí charakteristických chemických sloučenin podle místa původu, jak bylo už popsáno v teorii (kapitola 2.2). Data byla použita k obsáhlé statistické analýze, jejíž celkovým výstupem jsou grafy analýzy hlavních komponent.

### 4.1 Aromatický profil vína odrůdy Ryzlink rýnský

Pomocí metody HS-SPME-GC-MS bylo ve vínech semikvantitativně identifikováno 36 aromatických sloučenin. Procentuálním zastoupením výrazně převažovaly estery (identifikováno jich bylo 18), které jsou výsledkem kvašení, dále kyseliny (2) a alkoholy (7). Odrůdově důležitější terpeny (7) a norisoprenoidy C<sub>13</sub> (2) byly identifikovány v mnohem nižším množství, což je pravděpodobně způsobeno vysokou citlivostí SPME vlákna na estery, ale také vyšším obsahem esterů ve vínech obecně. Z esterů, které vínům dodávají květinový buket, jsou zastoupeny hlavně acetátové estery s přiboudlinovými alkoholy a ethyl estery kratších mastných kyselin, jak bylo předpokládáno podle dat Jacksona a kol. [22]. Následující tabulka a graf (Tabulka 8 a Obrázek 10) ukazují relativní procentuální zastoupení identifikovaných skupin aromatických sloučenin. Procento vyjadřuje tzv. relativní obsah aromatické látky ve víně, tj. zastoupení v rámci všech vyhodnocených aromatických sloučenin v chromatogramu, které bylo počítáno z celkové sumy všech vyhodnocených píků. Vzorky byly zprůměrovány pro jednotlivé oblasti původu.

Tabulka 8: Aromatické látky identifikované ve vínech odrůdy Ryzlink rýnský (ZNO – znojenská oblast, VP – velkopavlovická oblast, MIK – mikulovská oblast, SLO – slovácká oblast)

sloučenina	retenční čas (min)	průměrné procentuální zastoupení sloučeniny (rel. %)			
		ZNO	VP	MIK	SLO
ethyl-butanoát	7,47	0,82	0,74	0,79	0,77
ethyl-3-methylbutanoát	8,62	0,13	0,18	0,23	0,25
2-methylpropanol	9,93	0,50	0,60	0,62	0,77
isoamyl-acetát	10,94	1,38	0,81	1,46	1,23
isoamylalkohol	15,69	16,08	13,13	15,42	15,71
ethyl-hexanoát	16,95	20,23	18,28	17,51	15,03
hexyl-acetát	19,18	0,54	0,38	0,69	0,37
ethyl-2-hydroxypropanoát	23,56	1,31	1,21	0,63	1,03
hexan-1-ol	24,12	1,53	2,13	1,70	1,58
ethyl-oktanoát	29,21	26,04	26,26	26,70	25,57
kyselina octová	30,69	0,93	0,57	0,50	0,45
nerol oxid	31,05	0,81	1,01	0,78	0,74
geranylethylether	33,65	0,06	0,10	0,07	0,05
ethyl-hexa-2,4-dienoát	33,76	0,00	0,00	0,00	4,63
ionon	34,43	1,07	1,43	1,06	1,24
butan-2,3-diol	35,92	0,53	0,39	0,28	0,33
β-linalool	36,40	0,59	0,52	0,58	0,73

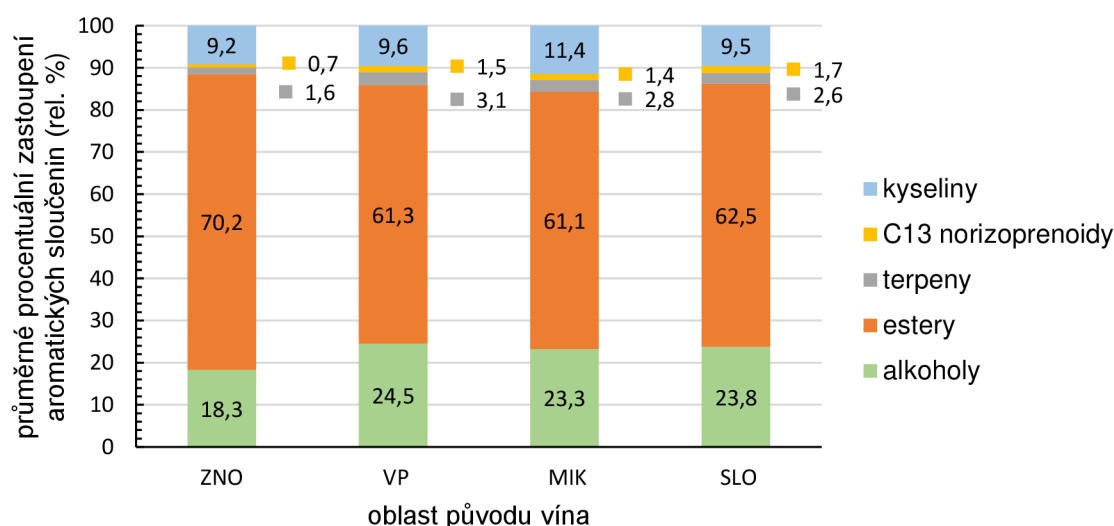
Tabulka 8: Aromatické látky identifikované ve vínech odrůdy Ryzlink rýnský (ZNO – znojemska oblast, VP – velkopavlovická oblast, MIK – mikulovská oblast, SLO – slovácká oblast)

sloučenina	retenční čas (min)	průměrné procentuální zastoupení sloučeniny (rel. %)			
		ZNO	VP	MIK	SLO
oktanol	36,82	0,16	0,26	0,26	0,24
terpinen-4-ol	38,69	0,05	0,05	0,04	0,05
hotrienol	39,33	0,60	0,66	0,56	0,51
ethyl-dekanoát	40,26	6,02	7,77	6,60	7,37
isoamyl-oktanoát	40,96	0,06	0,10	0,07	0,09
ethyl-benzoát	41,41	0,04	0,03	0,03	0,03
diethyl-sukcinát	42,05	4,48	6,15	5,01	5,79
ethyl-dec-4-enoát	42,50	0,00	0,09	0,35	0,38
α-terpineol	42,76	0,39	0,58	0,48	0,51
TDN*	44,86	0,26	0,37	0,44	0,46
dekanol	46,17	0,05	0,07	0,07	0,07
β-citronello	46,41	0,02	0,01	0,01	0,01
ethyl-fenylacetát**	47,25	0,12	0,13	0,09	0,08
fenylethyl-acetát***	48,41	0,32	0,28	0,25	0,32
ethyl-dodekanoát	49,34	0,29	0,35	0,25	0,41
kyselina hexanová	49,75	1,91	2,30	1,68	1,67
fenylethylalkohol	51,69	4,96	3,97	4,74	5,05
diethyl-malát	55,23	0,14	0,13	0,14	0,13
kyselina oktanová	55,77	7,57	9,06	6,95	7,41

\* TDN – 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen

\*\* ethylester kyseliny fenylactové

\*\*\* fenylethylester kyseliny octové



Obrázek 10: Procentuální zastoupení identifikovaných skupin aromatických sloučenin, vzorky byly zprůměrovány pro jednotlivé oblasti původu (ZNO – znojemska, VP – velkopavlovická, MIK – mikulovská, SLO – slovácká)

Obrázek 10 ukazuje, že nejvyšší obsah alkoholů byl identifikován u vzorků z velkopavlovické oblasti (24,5 %), esterů ve znojenské oblasti (70,2 %), terpenů ve velkopavlovické oblasti (3,1 %), C<sub>13</sub> norisoprenoidů ve slovácké oblasti (1,7 %) a kyselin v mikulovské oblasti (11,4 %). Obecně se ale vzorky mezi oblastmi celkovým obsahem aromatických látek výrazně nelišily.

Píky s nejvyšší intenzitou v chromatogramu byly isoamyl-acetát, isoamylalkohol, ethyl-hexanoát, hexyl-acetát, ethyl-oktanoát, ethyl-dekanoát, diethyl-sukcinát, fenylethylalkohol a diethyl-malát (viz. GC-MS chromatogram v přílohách v kapitole 9). Mnohé z těchto látek vyjmenovává ve své studii pro charakterizaci typického aromatického profilu odrůdy Ryzlink rýnský i Schüttler a kol. [34] – jako statisticky významný a typický marker odrůdy Ryzlink uvádí diethyl-sukcinát ( $p = 0,061$ ) a fenylethylalkohol ( $p = 0,021$ ).

Z terpenů byly identifikovány nerol oxid, geranylethylether,  $\beta$ -linalool, terpinen-4-ol, hotrienol,  $\alpha$ -terpineol a  $\beta$ -citronellol. Terpinen-4-ol a  $\beta$ -citronellol bylo obzvláště těžké identifikovat, protože se jednalo o nízké píky obtížně kvantifikovatelné s nízkým poměrem signál/šum (přibližně  $S/N = 10$ ). Schüttler a kol. [34] označili jako typické terpenové deskriptory odrůdy Ryzlink nerol oxid ( $p = 0,010$ ), linalool ( $p = 0,042$ ),  $\alpha$ -terpineol ( $p = 0,018$ ) a ionon ( $p = 0,063$ ). Komes a kol. [50] u odrůdy Ryzlink rýnský původem z Chorvatska identifikovali jako hlavní terpeny linalool, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, nerol a  $\beta$ -damascenon, z nichž oxidovaná forma nerolu a všechny sloučeniny kromě  $\beta$ -damascenonu byly identifikovány i v této práci. Doneva-Sapceska a kol. [51] mezi další typické aromatické látky pro Ryzlink řadí i zde identifikovaný citronellol. Ve vzorcích byly identifikovány všechny terpeny (kromě geraniolu), které byly studií Mikulíkové a kol. [62] označeny jako dominantní odrůdové markery, a které byly také použity pro vícerozměrnou analýzu v jejich studii (linalool, terpineol, citronellol a nerol). Z esterů vznikajících kvašením byly, stejně jako ve zmíněné studii, identifikovány ethyl-oktanoát, diethyl-sukcinát, fenylethyl-acetát, kyselina hexanová a kyselina dekanová. V této studii bylo také použito extrakční techniky SPME, proto se identifikované sloučeniny téměř shodují. Oproti očekávanému profilu nebyl identifikován benzaldehyd a geraniol.

Z C<sub>13</sub> norisoprenoidů byly identifikovány pouze ionon a TDN. TDN je považován za další hlavní marker odrůdy Ryzlink rýnský [31] a v této diplomové práci byl identifikován ve všech vzorcích. Norisoprenoid  $\beta$ -damascenon identifikován nebyl, ovšem Bowen a kol. [49] ve své studii pro Ryzlink  $\beta$ -damascenon nezařadili jako typický marker této odrůdy. Nebyl identifikován ani vitispiran [31] a 4-vinylguajakol [49], pravděpodobně z důvodu odlišné techniky extrakce – obvykle byl 4-vinylguajakol identifikován ve studiích, kde se používala extrakční metoda SBSE (Bowen a kol. [49]) nebo extrakce kapalinou (Komes a kol. [50]).

Za odrůdové markery lze také považovat podle Oliveiry a kol. [57] šestiuhlíkaté sloučeniny, které v této práci byly také identifikovány – konkrétně se jedná o hexan-1-ol, kyselinu hexanovou a deriváty šesti uhlíkatých sloučenin ethyl-hexanoát a hexyl-acetát.

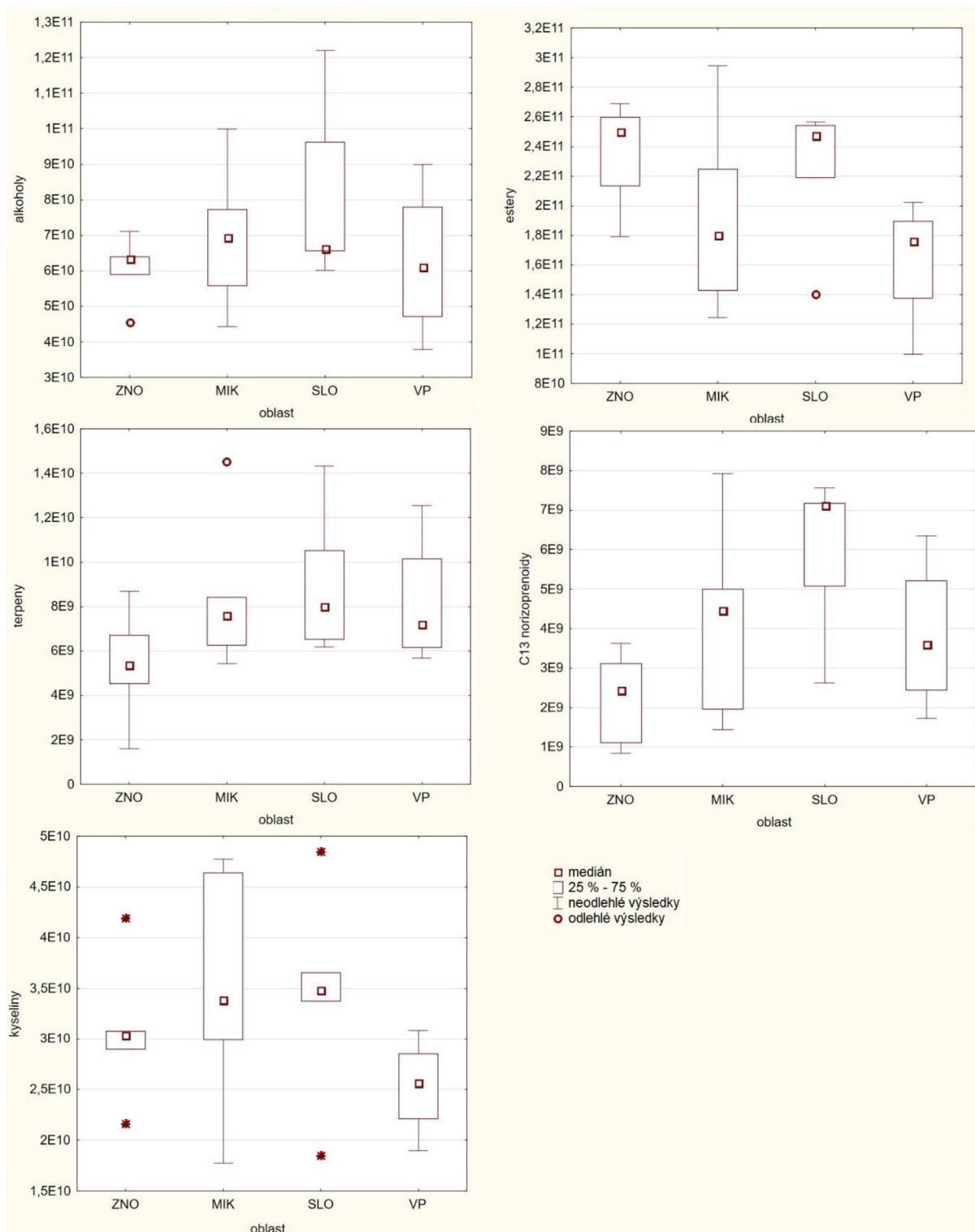
#### 4.1.1 Parametrické a neparametrické testy pro aromatické látky

Z izoprenoidních látek mezi sebou nejvíce korelovaly přímo úměrně nerol oxid a TDN (korelační koeficient  $r = 0,85$ ), TDN a ionon ( $r = 0,66$ ), nerol oxid a ionon ( $r = 0,67$ ),  $\beta$ -citronellol a  $\beta$ -linalool ( $r = 0,63$ ), hotrienol a nerol oxid ( $r = 0,49$ ),  $\alpha$ -terpineol a hotrienol ( $r = 0,53$ ),  $\alpha$ -terpineol a  $\beta$ -linalool ( $r = 0,53$ ). Nepřímo úměrně korelovaly  $\beta$ -citronellol a nerol oxid ( $r = -0,58$ ) a  $\beta$ -linalool a nerol oxid ( $r = -0,57$ ). Významně mezi sebou také korelovaly všechny ethyl estery ( $r > 0,70$ ). Nejvyšší korelace byla nalezena pro kyselinu hexanovou a oktánovou (90,53 %). Korelace byly považovány za signifikantní pro  $p < 0,05$ . U celkového srovnání skupin aromatických látek mezi sebou korelovaly statisticky významně jen estery a kyseliny, a to ze 71,06 %.

Na základě parametrické a neparametrické analýzy rozptylu bylo u aromatických látek zjištěno, že ze 36 proměnných pouze 2 jsou ovlivněny oblastí původu vína, jedná se o ethyl-benzoát ( $p = 0,0060$ ) a diethyl-sukcinát ( $p = 0,0247$ ), který zmiňoval i Schüttler a kol. [34] ve své studii ( $p = 0,061$ ). Většina aromatických látek se tedy svým obsahem podle vinařské podoblasti neliší. Na základě Tuckeyho t-testu se u proměnné ethyl-benzoátu od sebe nejvíce lišily oblast znojemská od slovácké ( $p = 0,0423$ ) a oblast znojemská od velkopavlovické ( $p = 0,0046$ ). U diethyl-sukcinátu se nejvíce lišily oblasti slovácká od znojemské ( $p = 0,0277$ ). Ostatní proměnné se signifikantně neliší v intervalu spolehlivosti 95 % a na základě univariální analýzy rozptylu mezi nimi nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Předpokladem tohoto experimentu bylo, že vína stejné odrůdy bude možné odlišit původem hlavně podle izoprenoidních látek nebo alkoholů, které jsou podle literatury významnějšími markery terroiru než estery, které vznikají při kvašení. Tento předpoklad se však nepotvrdil, jediné dva ze statisticky významných identifikovaných parametrů jsou estery. Tento výsledek je pravděpodobně způsoben menším počtem analyzovaných vzorků z podoblastí, které se nacházejí velice blízko sebe. Výsledek je částečně i v souladu s literaturou, která potvrzuje, že samotné aromatické látky nejsou zatím dostatečným markerem původu, protože se mohou v obsahu lišit, i když pocházejí ze stejného vinohradu a jedné odrůdy [64]. Aromatické látky by se měly používat v kombinaci s dalšími faktory, proto byla pro celkovou vícerozměrnou analýzu v této práci použita kombinace proměnných (viz. kapitola 4.5).

Analýza rozptylu byla také provedena podle chemických skupin pro proměnné celkové alkoholy, estery, terpeny,  $C_{13}$  norisoprenoidy a kyseliny. Všechna data byla normální a homogenní ( $p > 0,05$ ). Jednotlivé skupiny se od sebe statisticky významně nelišily (alkoholy  $p = 0,3629$ , estery  $p = 0,1955$ , terpeny  $p = 0,2858$ ,  $C_{13}$  norisoprenoidy  $p = 0,0647$ , kyseliny  $p = 0,3989$ ). Na základě Tuckeyho t-testu ovšem bylo zjištěno, že podle proměnné  $C_{13}$  norisoprenoidů se od sebe liší podoblast slovácká a znojemská ( $p = 0,0417$ ), jak lze vidět i z boxového grafu (Obrázek 11). Z tohoto důvodu byly  $C_{13}$  norisoprenoidy použity jako parametr pro PCA (viz. kapitola 4.5). Obrázek 11 zobrazuje boxové grafy pro všechny skupiny aromatických látek.



Obrázek 11: Boxové grafy pro skupiny aromatických látek obsažených ve vínech odrůdy Ryzlink rýnský (podoblasti ZNO – znojemská, MIK – mikulovská, SLO – slovácká, VP – velkopavlovická)

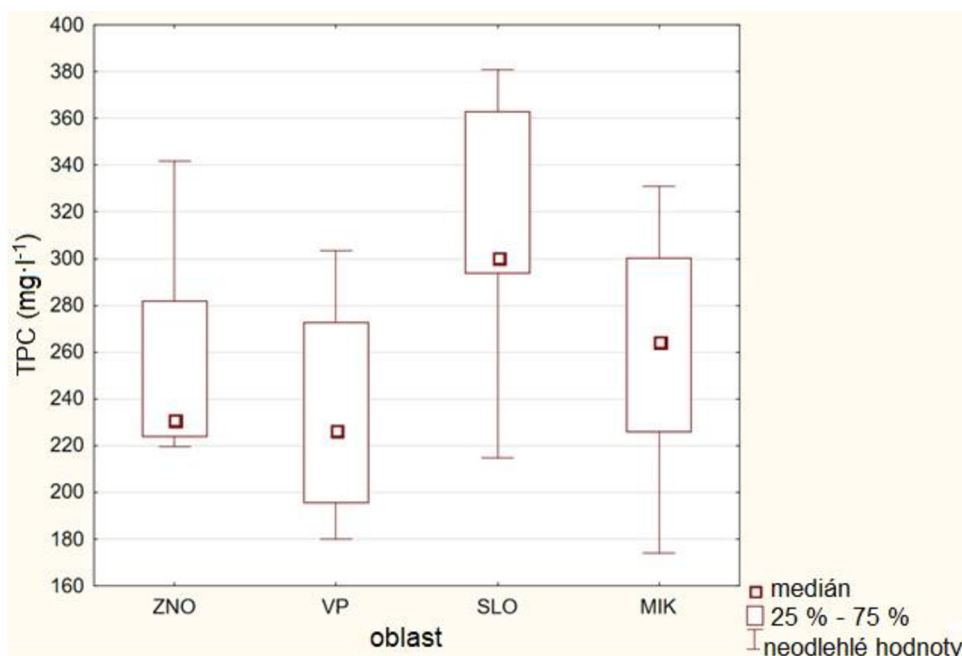
## 4.2 Celkový obsah fenolických látek

Celkový obsah fenolických látek (TPC – *total phenolic content*) byl měřen pomocí spektrofotometrické Folin-Ciocalteuovy metody a ve vínech se pohyboval od 174,22 do 380,96  $\text{mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{l}^{-1}$ . Nejnižší hodnota byla naměřena u vína z mikulovské oblasti a

nejvyšší u vína z oblasti slovácké. Uvedený rozsah souhlasí s literaturou, která uvádí koncentrace 194–281  $\text{mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{l}^{-1}$  [64] nebo 175–465  $\text{mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{l}^{-1}$  [65] u vín odrůdy Ryzlink rýnský, nebo je pouze u ojedinělých vzorků vyšší. Data shrnuje následující tabulka (Tabulka 9) a boxový graf (Obrázek 12). Z grafu lze vidět, že vína ze slovácké oblasti mají vyšší celkový obsah fenolických sloučenin a TPC data se v této podoblasti z 25–75 % pohybují v koncentracích přibližně 300–360  $\text{mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{l}^{-1}$ .

Tabulka 9: Deskriptivní statistika pro TPC ( $\text{mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{l}^{-1}$ ) podle vinařských podoblastí (MIK – mikulovská, VP – velkopavlovická, SLO – slovácká, ZNO – znojemská)

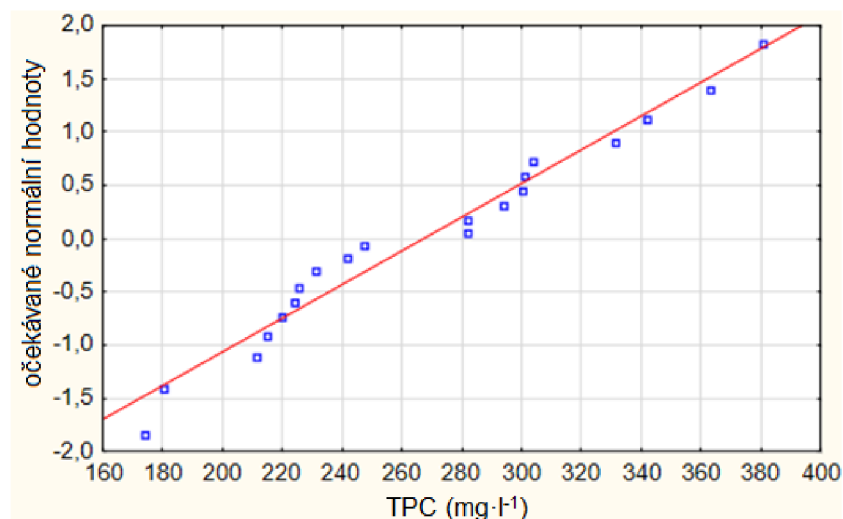
	MIK	VP	SLO	ZNO
průměr	260,06 ± 37,41	234,18 ± 44,21	310,58 ± 23,92	259,65 ± 38,13
medián	264,62	226,64	300,68	231,17
konfidenční interval 95 %	201,07–319,04	150,58–317,77	229,10–392,07	194,71–324,60
minimum	174,22	180,13	214,84	219,62
maximum	330,84	303,28	380,96	341,79
normalita dat ( $p$ -hodnota)	0,9662	0,8572	0,6487	0,1361



Obrázek 12: Boxový graf pro TPC – celkové fenolické látky ( $\text{mg}_{\text{GAE}} \cdot \text{l}^{-1}$ )

Při měření bylo předpokládáno, že se jedná o nepříliš robustní spektrofotometrickou metodu, které také předchází delší laboratorní příprava, která může být případným zdrojem chyb a vyšších směrodatných odchylek u opakování měření. Pro metodu jsou také kritické redukující cukry ve vínech, které mohou způsobovat interferenci, protože se Folin-Ciocalteuovým činidlem rovněž zbarvují do modra [95]. Přesto ale byly výsledky programem Statistica vyhodnoceny jako normální (Shapiro-Wilkův test  $p = 0,5188$ ) a homogenní (Leveneho test  $p = 0,9560$ ). Normalitu vzorků ukazuje také  $p$ -graf (Obrázek 13). U vzorků také nebyla identifikována žádná odlehlá hodnota (Grubbsův test  $p = 0,9148$ ) a TPC bylo tedy použito jako další parametr spolu s výsledky z kapalinové chromatografie pro analýzu rozptylu a vícerozměrné analýzy z hlediska obsahu fenolických látek (více v kapitole 4.3). Stanovení TPC bylo použito i proto, že bylo doporučeno ve studii Leehe a kol. [95] jako doplněk stanovení fenolických látek kapalinovou chromatografií.





Obrázek 13: p-graf normálního rozložení hodnot TPC (celkových fenolických látek)

### 4.3 Kvantifikace vybraných fenolických látek

Z fenolických sloučenin bylo pomocí HPLC-MS stanoveno 5 sloučenin: 3 fenolické kyseliny, a to kyselina gallová, kávová a kumarová, a 2 flavonoidy katechin a epikatechin (Tabulka 10).

Tabulka 10: Základní parametry pro kvantifikaci fenolických sloučenin

	kyselina gallová	katechin	epikatechin	kyselina kávová	kyselina kumarová
<i>m/z</i>	168,9	288,9	288,9	178,9	118,9
retenční čas (min)	3,1	6,9	8,9	8,2	10,0
kalibrační rovnice	$y = 6449,23x$	$y = 14018,51x$	$y = 15165,02x$	$y = 11444,24x$	$y = 4863,92x$
koeficient determinace $R^2$	0,9950	0,9936	0,9922	0,9951	0,9992

Z tabulky výsledků naměřených hodnot (Tabulka 11) lze vidět, že koncentrace těchto sloučenin jsou velmi nízké. Celkově se hodnoty pohybovaly v rozmezí: kyselina gallová (0,41–34,99  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), katechin (0,05–7,44  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), epikatechin (0,03–4,14  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), kyselina kávová (0,14–2,05  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) a kyselina kumarová (0,30–4,04  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ).

Největší rozptyl lze vidět u kyseliny gallové, kde se hodnoty pohybují od minima 0,41  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  do maxima 34,99  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . U kyseliny gallové nelze vidět žádný trend, ani podobnost chování u jednotlivých podoblastí, jak bylo předpokládáno. Naměřené hodnoty jsou výrazně vyšší, než je uvádí jiné studie u odrůdy Ryzlink rýnský z České republiky (Kupsa a kol. [24] uvádí nejvyšší naměřenou koncentraci kyseliny gallové 2,29  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , Pavloušek a kol. [13] 1,91–2,86  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Tyto studie ovšem identifikovaly fenolické látky pomocí detektoru diodového pole, zatímco v této diplomové práci byla použita hmotnostní spektrometrie a režim SIM, kde byla vybrána hlavní hmota, pomocí které šlo sloučeninu identifikovat. Je možné, že došlo k překryvu fragmentu  $m/z = 168,9$  s fragmentem jiné fenolické sloučeniny. Literatura uvádí běžný obsah kyseliny gallové 10  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  pro bílá vína [42].

Hodnoty ostatních čtyř sloučenin jsou velice nízké a pohybují se v desetinách až jednotkách  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a odpovídají koncentracím naměřeným v jiných studiích (Kupsa a kol. [24], Pavloušek a kol. [13], Lampíř a kol. [15]). Katechin a epikatechin zařadili mezi hlavní parametry vhodné pro určení autenticity vín odrůdy Ryzlink rýnský Kupsa a kol. [24], Kumšta

a kol. [16] a Lampíř a kol. [67]. Katechin a epikatechin jsou izomery a v chromatogramu se zpravidla vyskytují společně, epikatechinu bylo vždy nalezeno přibližně o polovinu méně než katechinu, což souhlasí s daty Kupsy a kol. [24], kteří pozorovali stejný trend ve všech vinařských podoblastech. Kupsa a kol. [24] naměřili nejvyšší koncentrace katechinu a epikatechinu ve vzorcích ze znojenské oblasti (katechin  $2,04 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a epikatechin  $0,42 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), v této práci byly nejvyšší průměrné koncentrace naměřeny u vzorků z oblasti slovácké (katechin  $1,97 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a epikatechin  $0,91 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Nelze očekávat, že se budou hodnoty vín změřených v této diplomové práci shodovat s hodnotami naměřenými v jiných studiích, protože se jedná sice o stejnou odrůdu Ryzlink rýnský a stejné moravské podoblasti, ale rozdílné ročníky (Kupsa a kol. [24] analyzovali ročníky 2006–2008, v této diplomové práci byly ročníky vín 2019–2021). Proto jsou směrodatnější výsledky statistické analýzy.

Tabulka 11: Výsledky deskriptivní statistiky pro identifikované fenolické látky podle vinařských oblastí

	kyselina gallová ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )	katechin ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )	epikatechin ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )	kyselina kávová ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )	kyselina kumarová ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )
<b>slovácká podoblast (SLO)</b>					
průměr	$13,20 \pm 12,84$	$1,97 \pm 3,15$	$0,91 \pm 1,81$	$0,41 \pm 0,26$	$1,00 \pm 0,62$
medián	8,85	0,21	0,12	0,37	0,70
minimum	0,81	0,09	0,05	0,14	0,41
maximum	30,86	7,44	4,14	0,84	1,70
normalita dat ( $p$ -hodnota)	0,4622	0,0123	0,0001	0,5219	0,1080
<b>mikulovská podoblast (MIK)</b>					
průměr	$11,78 \pm 9,25$	$0,13 \pm 0,11$	$0,12 \pm 0,07$	$0,26 \pm 0,22$	$1,24 \pm 0,66$
medián	12,27	0,10	0,11	0,22	0,99
minimum	0,41	0,00	0,00	0,00	0,74
maximum	21,47	0,33	0,27	0,64	2,52
normalita dat ( $p$ -hodnota)	0,2421	0,1610	0,5134	0,5462	0,0157
<b>velkopavlovická podoblast (VP)</b>					
průměr	$4,74 \pm 3,35$	$0,35 \pm 0,28$	$0,21 \pm 0,17$	$0,80 \pm 0,86$	$1,72 \pm 1,31$
medián	5,21	0,35	0,20	0,51	1,35
minimum	0,85	0,05	0,03	0,14	0,63
maximum	7,69	0,65	0,42	2,05	3,56
normalita dat ( $p$ -hodnota)	0,3042	0,6128	0,9451	0,1814	0,4005
<b>znojenská podoblast (ZNO)</b>					
průměr	$9,67 \pm 14,27$	$0,72 \pm 0,97$	$0,56 \pm 0,71$	$0,55 \pm 0,80$	$1,70 \pm 1,52$
medián	3,71	0,18	0,16	0,41	1,57
minimum	1,12	0,14	0,13	0,00	0,30
maximum	34,99	2,40	1,80	1,94	4,04
normalita dat ( $p$ -hodnota)	0,0048	0,0132	0,0111	0,0326	0,4512

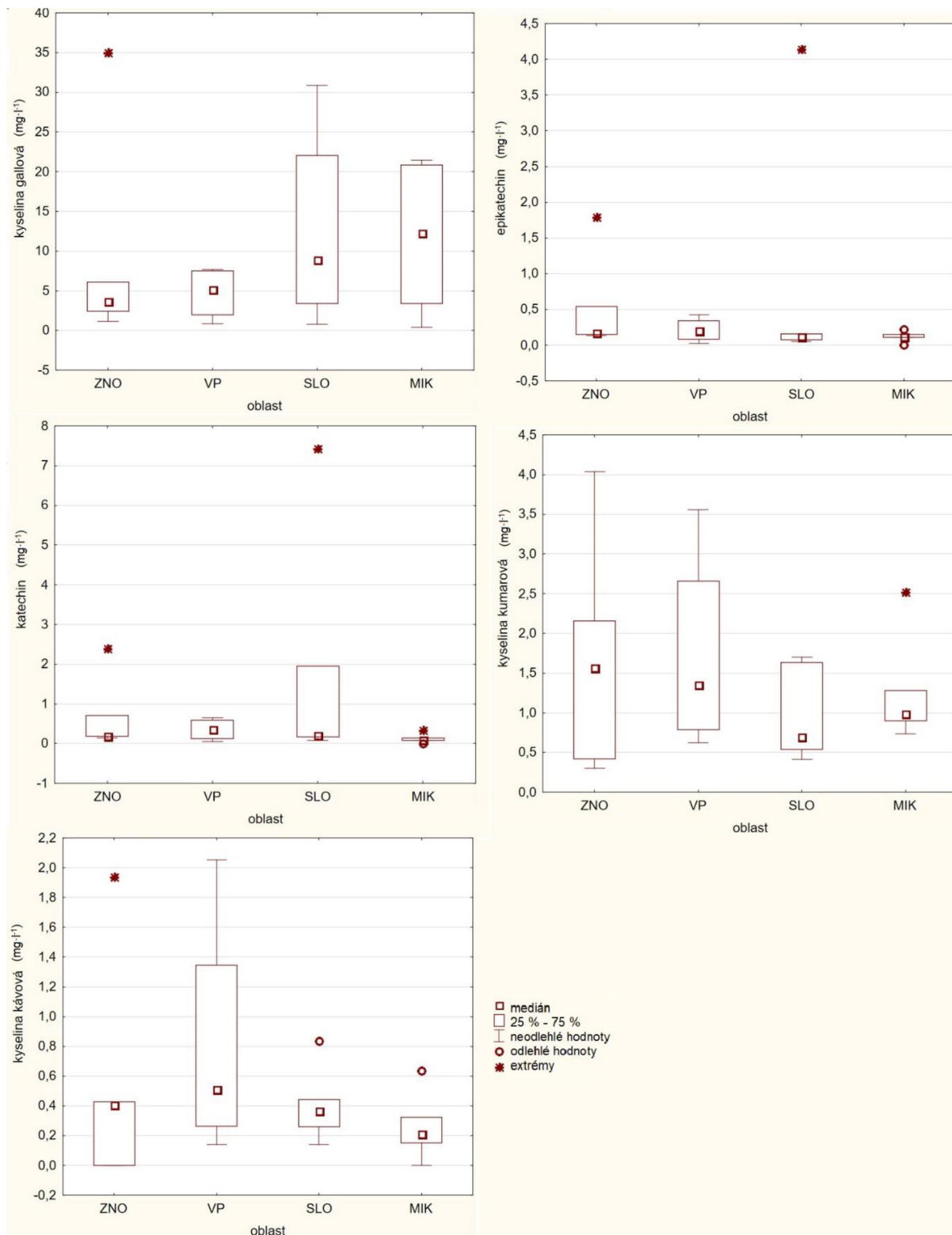
#### 4.3.1 Parametrické a neparametrické testy pro fenolické látky

Podle literatury bílá vína obecně nevykazují vysoký podíl fenolických látek, oproti červeným vínům je jejich obsah podstatně nižší [42]. Na rozdíl od červených vín, kde jsou vhodnými parametry anthokyanidy, kterých je obsaženo dostatek, jsou bílá vína poněkud problematická pro kvantifikaci [66], což bylo potvrzeno i v této diplomové práci.

Celkově byly výsledky této metody poměrně nekonzistentní a data všech proměnných měly nenormální rozložení kromě kyseliny kumarové, která měla ale rozložení nehomogenní. Mezi daty se také nacházelo množství odlehklých výsledků, jak lze vidět i v boxových grafech (Obrázek 14). Použita byla neparametrická verze analýzy rozptylu, Kruskal-Wallisův test. Na základě tohoto testu nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi obsahy fenolických sloučenin podle oblasti původu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  (kyselina gallová  $p = 0,7980$ , katechin  $p = 0,2190$ , epikatechin  $p = 0,3192$ , kyselina kávová  $p = 0,6147$ , kyselina kumarová  $p = 0,7528$ ).

U této metody ovšem byla zjištěna statisticky významná korelace 77,76 % mezi TPC (celkovým obsahem fenolických látek) a kyselinou gallovou, což souvisí i s faktem, že tato spektrofotometrická metoda se pro kyselinu gallovou kalibruje, a také potvrzuje doporučené použití obou metod (spektrofotometrické a chromatografické) společně, jak je uváděno v literatuře [95]. Významné korelace byly také nalezeny u epikatechinu a katechinu (96,19 %), protože se jedná o izomery, které byly stanovovány i podle stejné hmoty, jen v různých retenčních časech. Další korelace byly zjištěny mezi kyselinou kávovou a kumarovou (84,84 %), které se od sebe odlišují pouze jednou hydroxy skupinou.

Kupsa a kol. [24] použili fenolické látky i pro PCA analýzu. Ve své studii analyzovali 34 vzorků Ryzlinku rýnského z České republiky a byli schopni rozdělit Ryzlinky do pěti shluků podle oblastí původu, oproti této diplomové práci zde byla navíc podoblast litoměřická. Kupsa a kol. měli více vzorků a také více parametrů (11 fenolických sloučenin), pravděpodobně proto byla jejich vícerozměrná analýza úspěšná. Z výsledků měření spektra vzorků v této práci nebyly fenolické sloučeniny stanoveny jako statisticky významné markery pro ověření autenticity původu. Fenolické látky proto nebyly ani využity pro vícerozměrovou analýzu.



Obrázek 14: Boxové grafy pro fenolické sloučeniny obsažené ve vínech odrůdy Ryzlink rýnský (podoblasti ZNO – znojemská, VP – velkopavlovická, SLO – slovácká, MIK – mikulovská)

#### 4.4 Elementární složení vín

Prvkové složení vín odrůdy Ryzlink rýnský bylo měřeno pomocí metod ICP-OES pro prvky Ca, K, Mg, Na, P a Al a ICP-MS pro mikroprvky a stopové prvky V<sup>51</sup>, Cr<sup>52</sup>, Mn<sup>55</sup>, Fe<sup>56</sup>, Co<sup>59</sup>, Ni<sup>60</sup>, Cu<sup>63</sup>, Zn<sup>66</sup>, Sr<sup>88</sup>, Mo<sup>95</sup>, Cd<sup>111</sup> a Pb<sup>207</sup>. Následující tabulka shrnuje základní deskriptivní analýzu (Tabulka 12).

Tabulka 12: Výsledky deskriptivní statistiky pro identifikované prvky podle vinařských oblastí

		znojemská oblast (ZNO)			velkopavlovická oblast (VP)		
		průměr	min.	max.	průměr	min.	max.
μg·l <sup>-1</sup>	V <sup>51</sup>	6,08 ± 1,94	4,8	9,5	31,81 ± 41,94	5,7	94,0
	Cr <sup>52</sup>	35,77 ± 3,80	29,6	39,1	38,02 ± 4,46	32,3	42,3
	Mn <sup>55</sup>	898,02 ± 213,40	545,5	1086,5	978,37 ± 340,92	651,3	1443,5
	Fe <sup>56</sup>	1 035,16 ± 323,70	771,2	1519,4	1 610,90 ± 820,61	884,6	2749,4
	Co <sup>59</sup>	5,02 ± 2,21	3,4	8,9	4,05 ± 0,94	2,9	5,1
	Ni <sup>60</sup>	39,64 ± 10,07	25,4	51,7	33,94 ± 4,13	30,9	39,9
	Cu <sup>63</sup>	48,89 ± 16,18	33,7	73,9	45,29 ± 19,56	26,7	72,8
	Zn <sup>66</sup>	1 154,64 ± 355,98	726,7	1669,6	789,09 ± 275,28	490,4	1041,5
	Sr <sup>88</sup>	627,80 ± 144,54	519,4	872,1	710,90 ± 277,25	482,6	1113,2
	Mo <sup>95</sup>	2,12 ± 1,85	0,1	4,5	3,41 ± 3,08	0,0	7,1
	Cd <sup>111</sup>	0,32 ± 0,19	0,1	0,6	0,10 ± 0,06	0,0	0,2
Pb <sup>207</sup>	17,92 ± 5,16	11,7	24,6	15,48 ± 8,07	7,6	25,4	
mg·l <sup>-1</sup>	Ca	75,13 ± 11,23	66,8	94,2	70,77 ± 9,99	58,3	82,3
	K	404,93 ± 138,49	214,8	598,8	326,10 ± 41,70	285,0	382,6
	Mg	77,86 ± 10,00	68,2	89,1	73,84 ± 7,02	68,3	84,0
	Na	66,71 ± 25,66	44,6	102,2	46,88 ± 9,42	39,9	60,8
	P	110,05 ± 46,82	57,4	182,2	101,94 ± 12,92	86,3	114,5
	Al	5,35 ± 1,33	3,6	6,7	4,74 ± 1,06	3,6	6,2
		slovácká oblast (SLO)			mikulovská oblast (MIK)		
		průměr	min.	max.	průměr	min.	max.
μg·l <sup>-1</sup>	V <sup>51</sup>	6,34 ± 6,15	2,5	17,1	58,30 ± 129,23	1,7	322,0
	Cr <sup>52</sup>	38,41 ± 5,23	30,7	43,3	39,26 ± 0,95	37,9	40,4
	Mn <sup>55</sup>	959,23 ± 387,52	575,7	1543,7	862,94 ± 211,83	621,4	1142,8
	Fe <sup>56</sup>	1 216,26 ± 338,71	873,5	1746,0	2 169,82 ± 1 077,08	1098,7	4105,6
	Co <sup>59</sup>	3,15 ± 0,80	2,2	4,2	3,95 ± 1,05	2,5	5,0
	Ni <sup>60</sup>	49,93 ± 9,76	37,8	59,7	56,06 ± 7,15	45,9	63,5
	Cu <sup>63</sup>	62,59 ± 43,66	28,9	135,7	366,44 ± 709,14	35,5	1811,5
	Zn <sup>66</sup>	637,17 ± 140,09	479,0	807,6	1 179,31 ± 543,56	595,2	2129,1
	Sr <sup>88</sup>	578,56 ± 183,03	391,4	866,9	686,81 ± 182,37	413,5	970,8
	Mo <sup>95</sup>	0,94 ± 1,23	0,0	2,8	10,73 ± 23,03	0,0	57,7
	Cd <sup>111</sup>	0,15 ± 0,09	0,1	0,3	0,17 ± 0,11	0,0	0,4
Pb <sup>207</sup>	17,95 ± 4,46	13,7	23,1	15,51 ± 4,78	9,9	22,8	
mg·l <sup>-1</sup>	Ca	68,77 ± 5,85	60,0	74,2	71,68 ± 13,91	49,1	90,3
	K	410,21 ± 104,07	282,5	543,3	391,21 ± 88,42	259,9	512,3
	Mg	70,85 ± 7,10	64,4	80,8	73,91 ± 8,12	64,0	86,9
	Na	50,88 ± 10,67	44,7	69,7	48,38 ± 3,97	41,0	52,7
	P	104,56 ± 31,04	73,9	152,8	111,71 ± 37,43	59,6	147,9
	Al	4,34 ± 0,83	3,4	5,3	5,50 ± 2,09	3,2	8,4

V koncentracích nad  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  se nacházely makroprvky v pořadí  $\text{K} > \text{P} > \text{Mg} > \text{Ca} > \text{Na}$ , draslík a fosfor ve stovkách  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , hořčík, vápník a sodík v desítkách  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Dále vysoce zastoupené mikroprvky byly Al a Fe v jednotkách  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Mezi mikroprvky v koncentračním rozmezí  $0,1\text{--}10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  lze zařadit  $\text{Al} > \text{Fe} > \text{Zn} > \text{Mn} > \text{Sr} > \text{Cu}$  a mezi stopové prvky v koncentracích  $0,0001\text{--}1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  patřily  $\text{Ni} > \text{Cr} > \text{V} > \text{Pb} > \text{Mo} > \text{Co} > \text{Cd}$ . Zařazení prvků souhlasí s literaturou [59].

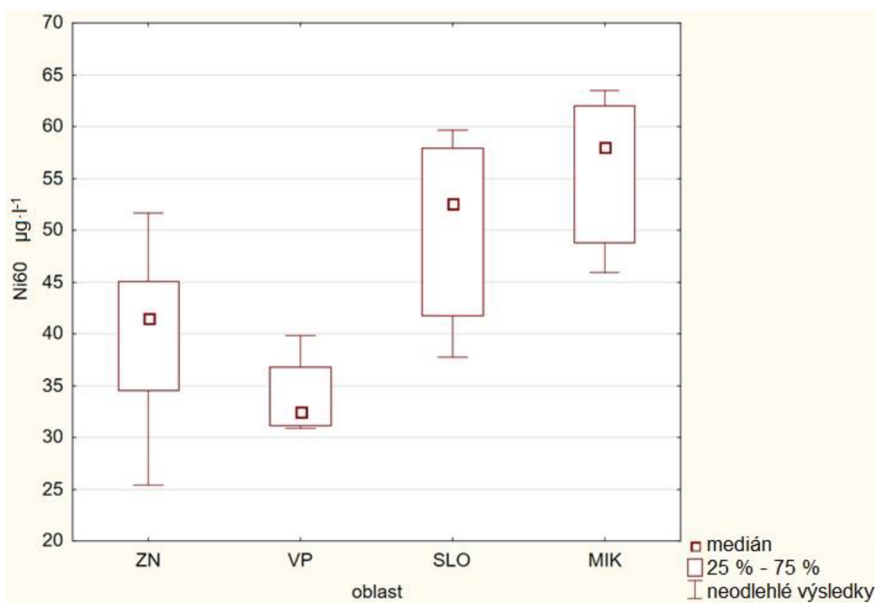
Nejvíce zastoupeným prvkem ve všech vínech byl draslík (průměrná hodnota  $386,37 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ), který je důležitým substrátem pro kvasinky a kvasinky jsou jím dokrmovány při kvašení [36]. Ve studii Florin-Dumitra a kol. [75] pro Ryzlink pocházející z Rumunska byl obsah draslíku také nejvyšší ze všech prvků ( $176,09 \pm 3,09\text{--}514,03 \pm 0,72 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Draslík a vápník jsou také součástí solí s kyselinami vinnou a jablečnou, které se slouží k číření vína [37]. Podle korelační analýzy lze také konstatovat, že množství vápníku rostlo s draslíkem (korelace 60,94 %). Měď je prvkem, který pochází z velké části z hnojiv a ve vínech pěstovaných s pesticidy se mědi nachází až trojnásobně více oproti vínům pěstovaným organicky [72]. Vína pěstovaná organicky a pěstovaná s pesticidy lze od sebe pomocí obsahu mědi oddělit pomocí statistické analýzy, jak uvádí Pořízka a kol. [72]. Měď ve vínech v této diplomové práci měla průměrnou koncentraci  $146,86 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Víno pěstované organicky bez postřiků bylo v sadě vzorků pouze jedno, pod kódem SLO1, ovšem jeho koncentrace mědi se nelišila od ostatních vzorků ze slovácké oblasti. V diplomové práci byl také naměřen průměrný obsah sodíku  $53,29 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , což se pohybuje v rozmezí obsahu sodíku typickému pro vína z České republiky ( $2\text{--}62 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  [74]), kde není vliv mořské vody.

Z prvků, které jsou ve vínech nežádoucí (kontaminanty), byly naměřeny průměrné koncentrace  $0,19 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  Cd,  $16,72 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  Pb a  $46,0 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  Ni. Ve studii vín odrůdy Ryzlink rýnský z českých oblastí byly tyto hodnoty naměřeny vyšší (Cd  $0,055\text{--}3,37 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  a Pb  $10,9\text{--}1253 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ), pravděpodobně kvůli většímu znečištění ovzduší českých oblastí průmyslem.

#### 4.4.1 Parametrické a neparametrické testy pro prvky

Na základě univariétní analýzy rozptylu pro hladinu významnosti  $\alpha = 0,05$  bylo zjištěno, že jediný prvek z 18ti proměnných ovlivněných oblastí původu byl izotop niklu 60 ( $p = 0,0029$ ). Ostatní prvky ( $p > 0,05$ ) nebyly vyhodnoceny jako typické markery původu vína pro odrůdu Ryzlink rýnský. Dále byly blízko této hranici prvky  $\text{Fe}^{56}$  ( $p = 0,0902$ ),  $\text{Zn}^{66}$  ( $p = 0,0882$ ) a  $\text{Cd}^{111}$  ( $p = 0,0802$ ). Výsledky Tuckeyho t-testu ukazují, že nejvíce se od sebe v obsahu niklu 60 lišily oblasti slovácká a velkopavlovická ( $p = 0,0480$ ), velkopavlovická a mikulovská ( $p = 0,0039$ ), znojemská a mikulovská ( $p = 0,0221$ ) a znojemská a velkopavlovická ( $p = 0,0039$ ). Odlišnosti lze vidět i v boxovém grafu pro nikl 60 (Obrázek 15). Oblasti se nejméně lišily v obsahu  $\text{Mn}^{55}$ ,  $\text{Sr}^{88}$ , Ca, K, P a Al ( $p > 0,90$ ). Toto zjištění je překvapivé zejména pro  $\text{Sr}^{88}$  a také  $\text{Pb}^{207}$  (Florin-Dumitra a kol. [75]) a také  $\text{Mn}^{55}$  (Ferreti a kol. [19]), které jsou často ve studiích používány jako markery typické pro odlišení původu vína. Tato skutečnost je pravděpodobně opět ovlivněna menším počtem analyzovaných vzorků jedné odrůdy ze čtyř oblastí, které se nacházejí blízko sebe a jejich geologické podloží může být velice podobné.

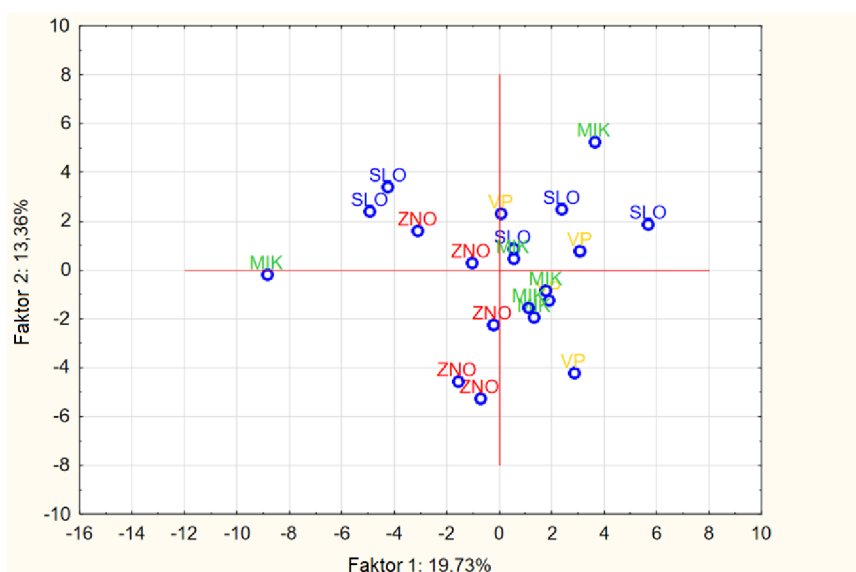
Na podobný problém narazila studie Kmenta a kol. [74], kde z 27 prvků obsažených ve víně byl jediným staticky významným prvkem, který byl ovlivněn geologickým prostředím, hořčík. Na obsahu minerálů ve víně se podílí několik faktorů, není to jen geografický původ a půda, na které roste réva, ale patří sem i exogenní faktory, jako je náčiní pro manipulaci a hnojení, vliv má i počasí, protože při dešti rostlina přijímá minerály ve větším množství [36]. To je pravděpodobně jeden z dalších důvodů, proč byl v této práci nalezen pouze jeden signifikantní parametr pro rozdělení oblastí původu, vzorky se totiž mohou lišit i mezi ročníky (2019–2021).



Obrázek 15: Boxový graf pro prvek  $\text{Ni}^{60}$  obsažený ve větech odrůdy Ryzlink rýnský (podoblasti ZN – znojenská, VP – velkopavlovická, SLO – slovácká, MIK – mikulovská)

#### 4.5 Analýza hlavních komponent

Analýza hlavních komponent (PCA) byla provedena nejprve hromadně pro všech 57 parametrů ze všech 5 instrumentálních technik (Obrázek 16). Rozdělení proměnných ovšem nebylo úspěšné. Poté byly další PCA provedeny odděleně pro skupiny prvků, aromatických sloučenin a fenolické sloučeniny spolu s TPC. Výstupem všech těchto analýz ovšem nebylo žádné zřetelné oddělení vín do clusterů podle vinařské podoblasti. Toto zjištění potvrzuje i literatura, kde je uvedeno, že je často potřeba kombinace parametrů [100]. Nejvíce překvapivé bylo toto zjištění pro prvky, které jsou obecně považovány literaturou za vhodné parametry pro odlišení vinařských regionů díky jejich rozdílnému obsahu v půdách [18; 58]. Hromadná PCA analýza ve skupinách nebyla úspěšná, jak již bylo několikrát zmíněno, pravděpodobně kvůli menšímu počtu vzorků.



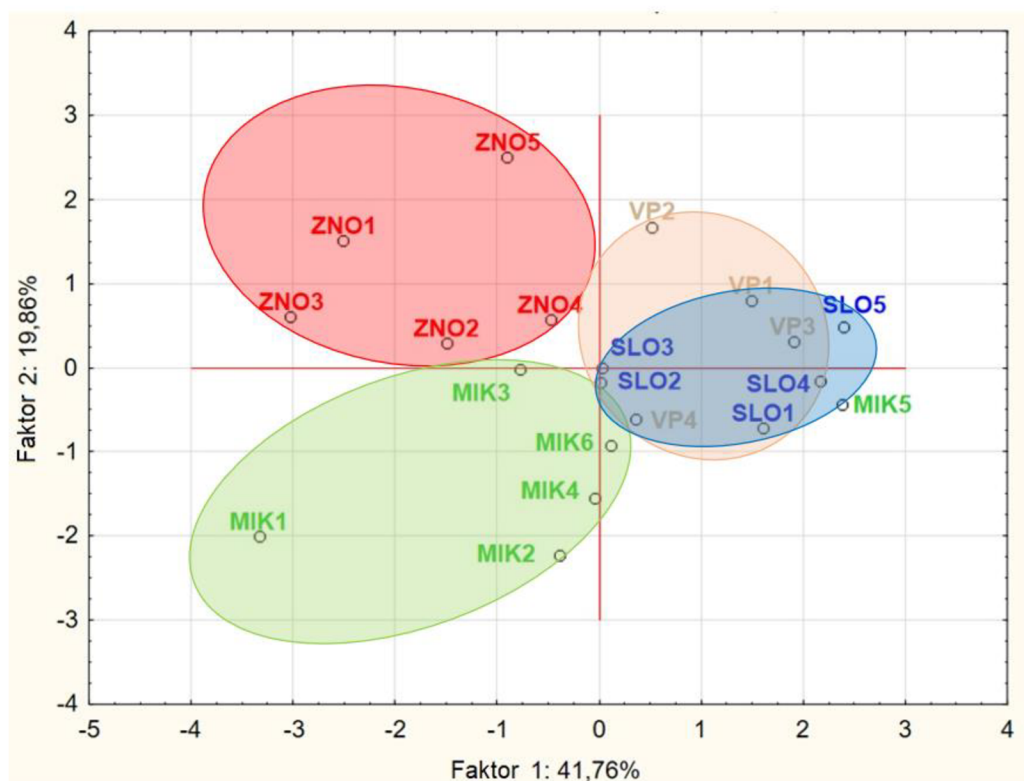
Obrázek 16: Projekce pozorování vzorků vín do faktorové roviny hlavních komponent 1 a 2 pro všech 57 proměnných. Z obrázku lze vidět, že rozdělení vín do skupin podle oblasti původu nebylo úspěšné.

Proto byly proměnné posouzeny jednotlivě a vybrány pouze parametry z různých skupin chemických sloučenin, které byly pomocí univariální analýzy rozptylu označeny za statisticky významné pro  $p < 0,10$ . Pro výběr parametrů byla použita spolehlivost 90 %, protože v intervalu spolehlivosti 95 % nebylo zjištěno dostatečné množství parametrů pro úspěšnou PCA analýzu (pouze 3 proměnné). Proměnné, které byly použity na rozšířené hladině významnosti  $\alpha = 0,1$ , se také nacházely těsně nad hranicí 0,05, proto byly vybrány jako významné faktory. Z celkově 57 parametrů jich bylo vybráno 7 (Tabulka 13).

Tabulka 13:  $p$ -hodnoty univariální analýzy rozptylu pro vybrané sloučeniny ( $p < 0,1$ )

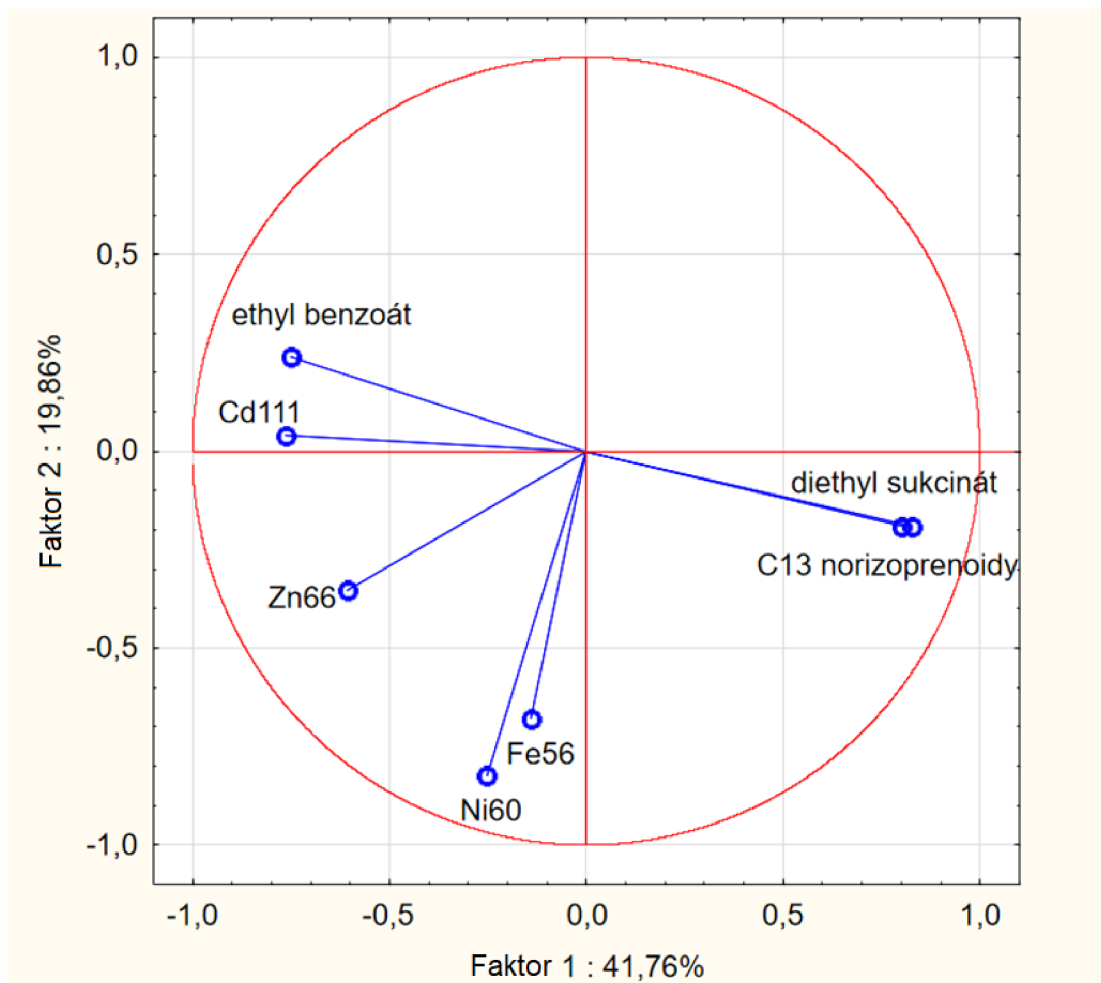
proměnné	$p$ hodnoty
Fe <sup>56</sup>	0,0555
Ni <sup>60</sup>	0,0097
Zn <sup>66</sup>	0,0670
Cd <sup>111</sup>	0,0802
ethyl-benzoát	0,0148
diethyl-sukcinát	0,0247
C <sub>13</sub> norisoprenoidy	0,0744

Pro PCA analýzu s vybranými proměnnými byly v dvourozměrném zobrazení sledovány faktor 1, který obsahoval 41,76 % proměnných, a faktor 2 s 19,86 % proměnných (Obrázek 17 a Obrázek 18).



Obrázek 17: Projekce pozorování vzorků vín (označení vzorků viz. Tabulka 3) do faktorové roviny hlavních komponent 1 a 2 pro 7 vybraných statisticky významných proměnných (viz. Tabulka 13)

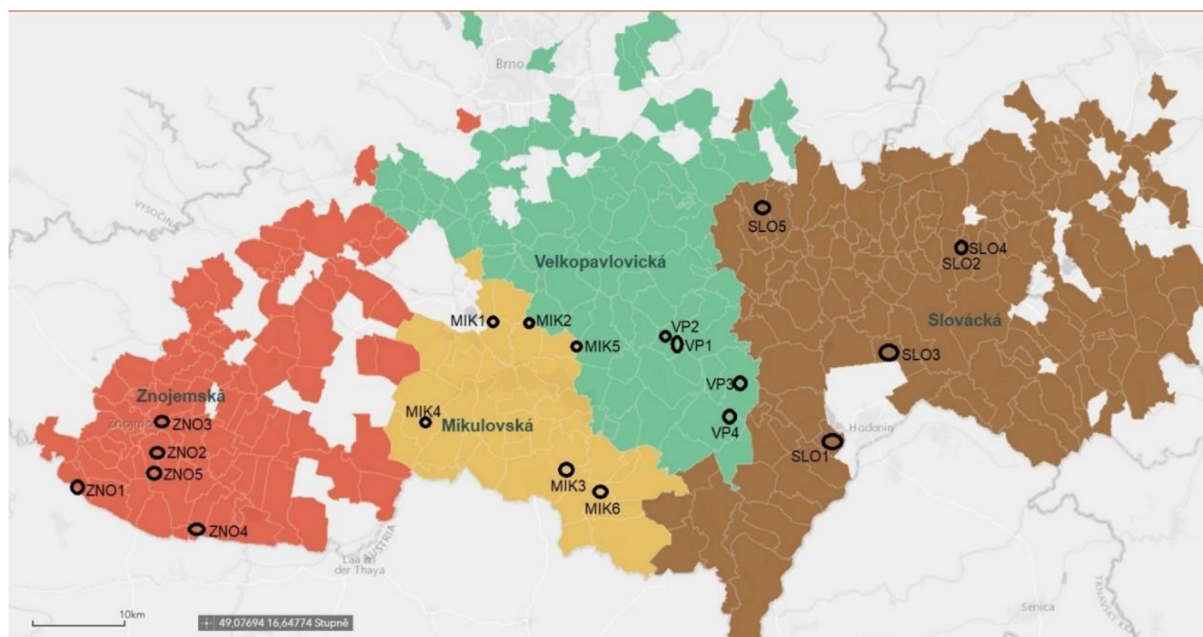




Obrázek 18: 2D graf hlavních komponent  $F_1$  a  $F_2$  a rozložení 7 proměnných

Z grafů 17 a 18 lze vidět, že vína Ryzlink ze znojemské oblasti jsou charakteristické vyšším obsahem ethyl-benzoátu a také kontaminujícího kadmia 111 a naopak nižším obsahem diethyl-sukcinátu a  $C_{13}$  norisoprenoidů, mikulovská vína jsou charakteristická vyšším obsahem izotopů zinku 66, niklu 60 a železa 56. Znojemská oblast vytvořila zřetelný cluster v kladném kvadrantu faktoru 2, je to pravděpodobně díky odlišnému půdnímu podloží této oblasti. Naopak vína z těsně sousedících oblastí velkopavlovická a slovácká se ani zde nepodařilo od sebe úplně oddělit, což může signalizovat velkou podobnost jejich složení. Obě tyto skupiny jsou charakteristické pro vyšší obsah  $C_{13}$  norisoprenoidů a diethyl-sukcinátu.

Z hlediska jednotlivých vzorků vín je zajímavý vzorek MIK5, odlehlý od ostatních vzorků z mikulovské oblasti a mající charakteristiky spíše velkopavlovické nebo slovácké oblasti. Tento vzorek se podle geografické mapy viničních tratí a obcí (Obrázek 19) nachází na hranicích s velkopavlovickou oblastí, což může být jeden z důvodů odlehlosti, ale mnohem pravděpodobnějším důvodem je fakt, že jako jediný ze 6 vzorků z mikulovské oblasti je ročník 2019 oproti ostatním ročníkům 2020. Podobně se od sebe liší vzorek SLO2 a SLO4, přestože oba vzorky pocházejí ze stejné viniční tratě (Syrovín, Lysiny), ale jsou jiného ročníku. Stejně jako odlehlý mikulovský vzorek MIK5 se nacházejí další odlehlé vzorky VP4 a SLO5 v pohraničí oblastí (velkopavlovické a slovácké), kde na rozdělení vzorků může mít vliv geologické podloží.



Obrázek 19: Mapa použitých vzorků vín odrůdy Ryzlink rýnský z moravských vinařských podoblastí (seznam vzorků viz. Tabulka 3). Mapa byla vytvořena podle online interaktivní mapy vinařských obcí a tratí Moravy [101].

Podobný přístup kombinace proměnných z různých technik pro výslednou PCA zvolili i Charlton a kol. [76], kteří použili pro autentifikaci původu vína pomocí vícerozměrných statistických metod prvky, těkavé látky a kyseliny. Na podobný problém u rozdělení vín Ryzlink rýnský jako v této diplomové práci narazila i skupina Fikselové a kol. [100], kteří ve své studii nedokázali pomocí PCA analýzy odlišit odrůdu Ryzlink na základě země původu (Slovensko, Rakousko, Maďarsko), zatímco u ostatních odrůd se analýza povedla. V této studii bylo také použito kombinace různých parametrů (cukry, kyseliny, celkový obsah fenolických látek a antioxidační aktivita).

Celkově lze výsledek analýz zhodnotit tak, že vína odrůdy Ryzlink rýnský bylo možné autentifikovat podle původu pouze částečně a pouze podle vybraných proměnných. Tento fakt je způsoben pravděpodobně v první řadě menším počtem vzorků pro statistické zpracování (4 až 6) a dále blízkostí a geologickou podobností podoblastí v moravském vinařském regionu. A především byla analyzována pouze jedna odrůda, u které lze očekávat podobné chemické složení.

## 5 ZÁVĚR

Předložená diplomová práce je dílčí studií zaměřenou na možnosti autentifikace vín, resp. jejich klasifikace podle geografického původu na základě měření vybraných chemických parametrů.

Celkem bylo analyzováno 20 vzorků vín odrůdy Ryzlink rýnský pocházejících ze 4 moravských vinařských podoblastí (znojemské, mikulovské, velkopavlovické a slovácké). Z instrumentálních metod bylo použito 5 technik, konkrétně HS-SPME-GC-MS pro charakterizaci aromatických látek, molekulová absorpční spektrofotometrie pro celkový obsah fenolických látek, HPLC-MS pro konkrétní fenolické látky a ICP-MS a ICP-OES pro prvkové složení. Pro statistické vyhodnocení byly vybrány metody Grubbsův test pro odlehlé hodnoty, Shapiro-Wilkův test pro normalitu dat, Leveneho test pro homogenitu dat, univariální analýza rozptylu (ANOVA), Tuckeyho t-test, korelační analýza a analýza hlavních komponent (PCA) pro celkové dvourozměrné zobrazení dat. Kromě výběru parametrů pro PCA byly statistické metody provedeny na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Identifikováno bylo 36 aromatických látek, za nejvýznamnější pro aromatický profil vín lze považovat estery, terpeny a norisoprenoidy  $C_{13}$ . Celkový obsah fenolických látek byl naměřen nejvyšší pro vzorky ze slovácké oblasti  $380,96 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  a nejnižší pro vzorky z oblasti mikulovské  $174,22 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Fenolických látek bylo identifikováno 5 (kyselina gallová  $0,41\text{--}34,99 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , katechin  $0,05\text{--}7,44 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , epikatechin  $0,03\text{--}4,14 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , kyselina kávová  $0,14\text{--}2,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  a kyselina kumarová  $0,30\text{--}4,04 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Prvků bylo změřeno 18 a nejvíce obsaženým byl draslík v koncentraci průměrně pro všechny vzorky  $386,37 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Prvky klesaly podle koncentrace v řadě  $K > P > Mg > Ca > Na > Al > Fe > Zn > Mn > Sr > Cu > Ni > Cr > V > Pb > Mo > Co > Cd$ . Nejnižší koncentrace byla naměřena pro kadmium ( $0,19 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Výsledkem analýzy rozptylu byly pouze 3 statisticky významné parametry, které byly ovlivněny původem vín, a to  $\text{Ni}^{60}$  ( $p = 0,0029$ ), ethyl-benzoát ( $p = 0,0060$ ) a diethyl-sukcinát ( $p = 0,0247$ ) pro hladinu významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Analýza hlavních komponent pro všechny parametry byla neúspěšná, proto bylo vybráno z celkem 57 parametrů jen 7 ( $\text{Fe}^{56}$ ,  $\text{Ni}^{60}$ ,  $\text{Zn}^{66}$ ,  $\text{Cd}^{111}$ , ethyl-benzoát, diethyl-sukcinát a  $C_{13}$  norisoprenoidy), které byly pomocí univariální analýzy rozptylu označeny jako sloučeniny, které jsou statisticky významně ovlivněny geografickým původem vína ( $p < 0,1$ ). V tomto případě se vzorky vín z jednotlivých podoblastí podařilo poměrně dobře rozdělit.

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že aplikace vícerozměrných statistických metod je vhodnou technikou pro ověření autenticity původu vín a pro PCA analýzu je vhodné zvolit kombinaci parametrů z různých skupin chemických sloučenin.

Pro další ověřování autenticity původu by bylo vhodné zahrnout do experimentu více vzorků z jednotlivých podoblastí, aby byly výsledky statisticky přesnější, a ideálně i další vinařské podoblasti České republiky (litoměřickou a mělnickou) a sledovat, jestli budou mít vliv na rozdělení vzorků u PCA analýzy. Tyto oblasti jsou vzdálenější od moravské oblasti a lze předpokládat, že budou vykazovat větší odlišnosti v chemickém složení oproti porovnávání 4 moravských podoblastí, obzvláště pokud se jedná pouze o autentifikaci jedné odrůdy vína.

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] PAVLOUŠEK, Pavel a Michal KUMŠTA. Profiling of primary metabolites in grapes of interspecific grapevine varieties: sugars and organic acids. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2011, **29**(4), 361-372 [cit. 2023-01-19]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/257/2010-CJFS
- [2] XIA, En-Qin, Gui-Fang DENG, Ya-Jun GUO a Hua-Bin LI. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2010, **11**(2), 622-646 [cit. 2022-11-04]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms11020622
- [3] KUTTELVAŠER, Zdeněk. *Abeceda vína*. 2. vydání. Praha: Radix, 2003. ISBN 80-860-3143-8.
- [4] HAUFT, Jindřich. *Nový breviř o víně*. Vydání druhé. Praha: Svěpomoc, 1989. ISBN 80-706-3034-5.
- [5] ALEIXANDRE, Jose, Victoria LIZAMA, Inmaculada ALVAREZ a María GARCÍA. Varietal Differentiation of Red Wines in the Valencian Region (Spain). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2002, **50**(4), 751-755 [cit. 2023-01-19]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf010712o
- [6] TOMŠÍK, P. a J. SEDLO. Adaptation of the Czech viticulture to the conditions of the European Union. *Agricultural Economics (Zemědělská ekonomika)* [online]. 2005, **51**(11), 509-520 [cit. 2023-01-18]. ISSN 0139570X. Dostupné z: doi:10.17221/5146-AGRICECON
- [7] TOMŠÍK, Pavel a Martin PROKEŠ. New strategic alliances of wine producers in the Czech Republic. *Agricultural Economics (Zemědělská ekonomika)* [online]. 2011, **57**(12), 573-579 [cit. 2023-01-18]. ISSN 0139570X. Dostupné z: doi:10.17221/183/2011-AGRICECON
- [8] *Vinice (strukturální šetření): Počet pěstitelů vinné révy a výměra vinic podle právních forem, druhu produkce, specializace, odrůd a stáří výsadby v členění podle krajů*. [online]. Brno: Český statistický úřad, 2021 [cit. 2023-04-22]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/vinice-strukturalni-setreni-2020#>
- [9] NAVRÁTILOVÁ, Miroslava, Markéta BERANOVÁ, Lucie SEVEROVÁ, Karel ŠRÉDL, Roman SVOBODA a Josef ABRHÁM. The Impact of Climate Change on the Sugar Content of Grapes and the Sustainability of their Production in the Czech Republic. *Sustainability* [online]. 2021, **13**(1) [cit. 2023-01-18]. ISSN 2071-1050. Dostupné z: doi:10.3390/su13010222
- [10] CHLÁDKOVÁ, H., P. TOMŠÍK a J. SEDLO. Changes of the varietal structure of vineyards in the Czech Republic. *Agricultural Economics (Zemědělská ekonomika)* [online]. 2012, **58**(12), 557-565 [cit. 2022-10-17]. ISSN 0139570X. Dostupné z: doi:10.17221/96/2012-AGRICECON

- [11] CHLÁDKOVÁ, H., Z. POŠVÁŘ a P. ŽUFAN. Consumer habits in the Czech wine market. *Agricultural Economics (Zemědělská ekonomika)* [online]. 2012, **50**(7), 323-330 [cit. 2022-10-14]. ISSN 0139570X. Dostupné z: doi:10.17221/5210-AGRICECON
- [12] KUMŠTA, Michal. Use of Anthocyanin Profiles When Differentiating Individual Varietal Wines and Terroirs. *Food Technology and Biotechnology* [online]. 2014, **52**(4), 383-390 [cit. 2023-01-17]. ISSN 13309862. Dostupné z: doi:10.17113/ftb.52.04.14.3650
- [13] PAVLOUŠEK, Pavel a Michal KUMŠTA. Authentication of Riesling wines from the Czech Republic on the basis of the non-flavonoid phenolic compounds. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2013, **31**(5), 474-482 [cit. 2023-01-18]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/40/2013-CJFS
- [14] CYNKAR, Wies, Robert DAMBERGS, Paul SMITH a Daniel COZZOLINO. Classification of Tempranillo wines according to geographic origin: Combination of mass spectrometry based electronic nose and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2010, **660**(1-2), 227-231 [cit. 2023-01-18]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2009.09.030
- [15] LAMPÍŘ, Lubomír a Pavel PAVLOUŠEK. Influence of locality on content of phenolic compounds in white wines. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2013, **31**(6), 619-626 [cit. 2023-01-17]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/337/2013-CJFS
- [16] KUMŠTA, Michal, Pavel PAVLOUŠEK a Jan KUPSA. Phenolic profile in Czech white wines from different terroirs. *Food Science and Biotechnology* [online]. 2012, **21**(6), 1593-1601 [cit. 2023-01-18]. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-012-0212-0
- [17] KHALAFYAN, A., Z. TEMERDASHEV, A. KAUNOVA, A. ABAKUMOV, V. TITARENKO, V. AKIN'SHINA a E. IVANOVETS. Determination of the Wine Variety and Geographical Origin of White Wines Using Neural Network Technologies. *Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2019, **74**(6), 617-624 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1061-9348. Dostupné z: doi:10.1134/S1061934819060042
- [18] DIVIŠ, Pavel, Jaromír POŘÍZKA a Miloš DVOŘÁK. Elemental analysis as a tool for classification of Czech white wines with respect to grapevine varieties. *Journal of Elementology* [online]. 2018, **23**(22018), 709-727 [cit. 2023-01-20]. ISSN 16442296. Dostupné z: doi:10.5601/jelem.2017.22.4.1379
- [19] FERRETTI, Carlo a Stefano FEBBRONI. Terroir Traceability in Grapes, Musts and Gewürztraminer Wines from the South Tyrol Wine Region. *Horticulturae* [online]. 2022, **8**(7) [cit. 2023-01-20]. ISSN 2311-7524. Dostupné z: doi:10.3390/horticulturae8070586
- [20] ATKIN, Thomas a Ray JOHNSON. Appellation as an indicator of quality. *International Journal of Wine Business Research* [online]. 2010, **22**(1), 42-61 [cit. 2023-01-18]. ISSN 1751-1062. Dostupné z: doi:10.1108/17511061011035198

- [21] REGNER, F., E. WIEDECK a A. STADLBAUER. Differentiation and identification of White Riesling clones by genetic markers. *VITIS* [online]. 2000, **39**(3), 103-107 [cit. 2023-02-04]. ISSN 0042-7500. Dostupné z: <https://ojs.openagrar.de/index.php/VITIS/index>
- [22] JACKSON, Ronald S. *Wine Science (Third Edition): Principles and Applications*. 3rd edition. Spojené státy americké: Academic Press, 2008. Agricultural, Biological, and Food Sciences 2008. ISBN 978-0-12-373646-8.
- [23] Databáze odrůd - detail odrůdy: Ryzlink rýnský. In: *Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský* [online]. Brno [cit. 2022-11-23]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/app/sok/odrudyNouVF.do>
- [24] KUPSA, Jan, Pavel PAVLOUŠEK, Michal KUMŠTA a Lubomír LAMPÍŘ. Phenolic profiles of Riesling wines originating from different terroirs of the Czech Republic. *Mitterilungen Klosterneuburg* [online]. 2017, **67**(3), 182-193 [cit. 2022-11-20]. ISSN 0007-5922. Dostupné z: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20183002730>
- [25] SECHRIST, Robert Paul. The Origin, Diffusion, and Globalization of Riesling. *Planet of the Grapes Textbook* [online]. 2014 [cit. 2023-02-01]. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-007-0464-0-11
- [26] RAPP, Adolf, Matthias GÜNTERT a Werner HEIMANN. Characterization of the Grape Variety White Riesling I.: Investigation of the Volatiles of Foreign White Wines with the Name Riesling, but not Actually Produced from the Variety White Riesling. Beitrag zur Sorten charakterisierung der Rebsorte Weißer Riesling. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* [online]. 1985, **181**(5), 357-361 [cit. 2022-11-02]. ISSN 0044-3026. Dostupné z: doi:10.1007/BF01027397
- [27] COZZOLINO, D. Metabolomics in Grape and Wine: Definition, Current Status and Future Prospects. *Food Analytical Methods* [online]. 2016, **9**(11), 2986-2997 [cit. 2022-10-10]. ISSN 1936-9751. Dostupné z: doi:10.1007/s12161-016-0502-x
- [28] DIEZ-SIMON, Carmen, Roland MUMM a Robert HALL. Mass spectrometry-based metabolomics of volatiles as a new tool for understanding aroma and flavour chemistry in processed food products. *Metabolomics* [online]. 2019, **15**(3) [cit. 2022-10-10]. ISSN 1573-3882. Dostupné z: doi:10.1007/s11306-019-1493-6
- [29] BURNS, Jennifer, Peter GARDNER, Jennifer O'NEIL et al. Relationship among Antioxidant Activity, Vasodilation Capacity, and Phenolic Content of Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2000, **48**(2), 220-230 [cit. 2023-01-19]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf9909757
- [30] WATERHOUSE, Andrew, Gavin SACKS a David JEFFERY. *Understanding Wine Chemistry*. 1st. Wiley, 2016. ISBN 9781118627808.
- [31] RIBÉREAU-GAYON, P., Y. GLORIES, A. MAUJEAN a D. DUBOURDIEU. *Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*. 2nd Edition. Wiley, 2006. ISBN 978-0-470-01037-2.

- [32] MATEO, J.J a M JIMÉNEZ. Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography A* [online]. 2000, **881**(1-2), 557-567 [cit. 2023-01-17]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9673(99)01342-4
- [33] *Zákon č. 321/2004 Sb.: Zákon o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o vinohradnictví a vinařství)*. In: . Dostupné také z: <http://eagri.cz/public/web/vinarsky-zakon/>
- [34] 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* [online]. 2015, **69**, 26-37 [cit. 2022-11-17]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2014.12.010
- [35] ROBLES, Alicia, Magdalena FABJANOWICZ, Tomasz CHMIEL a Justyna PIOTKA-WASYLKA. Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2019, **120** [cit. 2023-01-18]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2019.115630
- [36] FIC, Vlastimil. *Víno: analýza, technologie, gastronomie*. Český Těšín: 2 THETA, 2015. ISBN 978-80-86380-77-3.
- [37] ZHAO, Qinghao, Guorong DU, Shengnan WANG et al. Investigating the role of tartaric acid in wine astringency. *Food Chemistry* [online]. 2023, **403** [cit. 2023-01-26]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2022.134385
- [38] MATO, Inés, Silvia SUÁREZ-LUQUE a José HUIDOBRO. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines. *Food Research International* [online]. 2005, **38**(10), 1175-1188 [cit. 2023-01-26]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2005.04.007
- [39] CAPPELLO, Maria, Giacomo ZAPPAROLI, Antonio LOGRIECO a Eveline BARTOWSKY. Linking wine lactic acid bacteria diversity with wine aroma and flavour. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2017, **243**, 16-27 [cit. 2023-01-22]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.025
- [40] GAJEK, Magdalena, Aleksandra PAWLACZYK a Malgorzata SZYNKOWSKA-JOZWIK. Multi-Elemental Analysis of Wine Samples in Relation to Their Type, Origin, and Grape Variety. *Molecules* [online]. 2021, **26**(1) [cit. 2023-01-22]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26010214
- [41] GALANAKIS, Charis M. *Polyphenols - Properties, Recovery, and Applications* [online]. Elsevier, 2018 [cit. 2021-01-25]. ISBN 978-0-12-813572-3.
- [42] WATERHOUSE, ANDREW L. Wine Phenolics. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2002, **957**(1), 21-36 [cit. 2023-01-17]. ISSN 00778923. Dostupné z: doi:10.1111/j.1749-6632.2002.tb02903.x

- [43] FERNANDES, Iva, Rosa PÉREZ-GREGORIO, Susana SOARES, Nuno MATEUS a Victor DE FREITAS. Wine Flavonoids in Health and Disease Prevention. *Molecules* [online]. 2017, **22**(2) [cit. 2023-01-18]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22020292
- [44] IVANIŠOVÁ, Eva, Margarita TERENTJEVA, Attila KÁNTOR, Helena FRANČÁKOVÁ a Miroslava KAČÁNIOVÁ. Phytochemical and Antioxidant Profile of Different Varieties of Grape from the Small Carpathians Wine Region of Slovakia. *Erwerbs-Obstbau* [online]. 2019, **61**(1), 53-59 [cit. 2022-11-04]. ISSN 0014-0309. Dostupné z: doi:10.1007/s10341-019-00452-2
- [45] RENAUD, S. a M. DE LORGERIL. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet* [online]. 1992, **339**(8808), 1523-1526 [cit. 2023-01-18]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22020292
- [46] TRELIA, Brent a Andrew WATERHOUSE. Resveratrol: Isomeric Molar Absorptivities and Stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 1996, **44**(5), 1253-1257 [cit. 2023-01-18]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf9504576
- [47] KUMŠTA, M., P. PAVLOUŠEK a J. KUPSA. Influence of terroir on the concentration of selected stilbenes in wines of the cv. Riesling in the Czech Republic. *Horticultural Science* [online]. 2012, **39**(1), 38-46 [cit. 2023-01-18]. ISSN 0862867X. Dostupné z: doi:10.17221/126/2010-HORTSCI
- [48] HORNEDO-ORTEGA, Ruth, María REYES GONZÁLEZ-CENTENO, Kleopatra CHIRA, Michaël JOURDES a Pierre-Louis TEISSEDRE. Phenolic Compounds of Grapes and Wines: Key Compounds and Implications in Sensory Perception. *Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging* [online]. IntechOpen, 2021, 1-27 [cit. 2023-01-19]. ISBN 978-1-83962-575-6. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.93127
- [49] BOWEN, Amy a Andrew REYNOLDS. Odor Potency of Aroma Compounds in Riesling and Vidal blanc Table Wines and Icewines by Gas Chromatography–Olfactometry–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2012, **60**(11), 2874-2883 [cit. 2022-11-18]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf203314j
- [50] KOMES, D., D. ULRICH a T. LOVRIC. Characterization of odor-active compounds in Croatian Rhine Riesling wine, subregion Zagorje. *European Food Research and Technology* [online]. 2006, **222**(1-2), 1-7 [cit. 2022-10-17]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-005-0094-y
- [51] DONEVA-SAPCESKA, D., W.R. SPONHOLZ a I. TASEV. Analysis of volatile components in riesling wines with and without enzyme treatment by sbse-gc/ms technique. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* [online]. 2011, **46**(4), 409-418 [cit. 2022-11-01]. ISSN 1314-3859. Dostupné z: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84872834821&partnerID=40&md5=9a7ed759cce9006bbae0c547f114a66>



- [52] LYTRA, Georgia, Sophie TEMPERE, Shiyu ZHANG, Stéphanie MARCHAND, Gilles DE REVEL a Jean-Christophe BARBE. Olfactory impact of dimethyl sulfide on red wine fruity esters aroma expression in model solution. *OENO One* [online]. 2016, **48**(1), 75-85 [cit. 2022-11-18]. ISSN 2494-1271. Dostupné z: doi:10.20870/oenone.2014.48.1.1660
- [53] LUO, Jiaqiang, Pangzhen ZHANG, Yit LOO, Jiayu MA, Shanshan WU, Philip MARRIOTT a Kate HOWELL. Can wine quality be predicted by small volatile compounds? A study based on performance of wine show entries and their volatile profiles. *Flavour and Fragrance Journal* [online]. 2022, **37**(6), 354-363 [cit. 2022-11-07]. ISSN 0882-5734. Dostupné z: doi:10.1002/ffj.3720
- [54] DOYLE, Michael a Robert BUCHANAN. *Food Microbiology - Fundamentals and Frontiers*. 4th edition. American Society for Microbiology, 2013. ISBN 978-1-62870-225-5.
- [55] KENNEDY, David a Emma WIGHTMAN. Herbal Extracts and Phytochemicals: Plant Secondary Metabolites and the Enhancement of Human Brain Function. *Advances in Nutrition* [online]. 2011, **2**(1), 32-50 [cit. 2020-10-11]. ISSN 2156-5376. Dostupné z: doi:10.3945/an.110.000117
- [56] ZALACAIN, A., J. MARÍN, G.L. ALONSO a M.R. SALINAS. Analysis of wine primary aroma compounds by stir bar sorptive extraction. *Talanta* [online]. 2007, **71**(4), 1610-1615 [cit. 2023-01-26]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2006.07.051
- [57] OLIVEIRA, José, Marta FARIA, Filomena SÁ, Filipa BARROS a Isabel ARAÚJO. C6-alcohols as varietal markers for assessment of wine origin. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2006, **563**(1-2), 300-309 [cit. 2023-01-26]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2005.12.029
- [58] PEPI, Salvatore, Pietro GRISENTI, Luigi SANSONE, Milvia CHICCA a Carmela VACCARO. Chemical elements as fingerprints of geographical origin in cultivars of *Vitis vinifera* L. raised on the same SO4 rootstock. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. 2018, **25**(1), 490-506 [cit. 2023-01-21]. ISSN 0944-1344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-017-0443-y
- [59] POHL, Pawel. What do metals tell us about wine?. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2007, **26**(9), 941-949 [cit. 2023-01-21]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2007.07.005
- [60] CADOT, Yves, Soline CAILLÉ, Alain SAMSON, Gérard BARBEAU a Véronique CHEYNIER. Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by Quantitative Descriptive Analysis, Just About Right analysis and typicality assessment. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2010, **660**(1-2), 53-62 [cit. 2023-01-22]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2009.10.006

- [61] SACKS, Gavin, Matthew GATES, Francois FERRY, Edward LAVIN, Anne KURTZ a Terry ACREE. Sensory Threshold of 1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) and Concentrations in Young Riesling and Non-Riesling Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2012, **60**(12), 2998-3004 [cit. 2022-10-14]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf205203b
- [62] MIKULÍKOVÁ, Renáta, Jan GOLIÁŠ a Vladimíra MRÁZOVÁ. SPME-GC-MS analysis of volatile compounds in Czech white wines from five grape varieties. *Mitteilungen Klosterneuburg* [online]. 2009, **59**(3), 159-165 [cit. 2023-01-26]. ISSN 0007-5922. Dostupné z: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103220694>
- [63] SONG, Mei, Claudio FUENTES a Elizabeth TOMASINO. Chemo-diversity of chiral monoterpenes in different styles of Riesling wine from different regions. *OENO One* [online]. 2022, **56**(3), 155-165 [cit. 2023-02-04]. ISSN 2494-1271. Dostupné z: doi:10.20870/oenone.2022.56.3.4834
- [64] VALÁŠEK, Pavel, Jiří MLČEK, Anna ADÁMKOVÁ, Milada KŘIVÁNKOVÁ, Pavel VALÁŠEK JR., Martin ADÁMEK a Eva SEDLÁČKOVÁ. Comparison of Contents of Selected Esters, Higher Alcohols and Total Content of Polyphenolic Substances in Wines of the Varieties 'Chardonnay' and 'Riesling' by vintage. *Mitteilungen Klosterneuburg* [online]. 2019, **69**(2), 115-123 [cit. 2023-02-04]. ISSN 0007-5922. Dostupné z: <https://www.weinobst.at/dam/jcr:7ea46460-ad52-4538-9698-2b8b1facdbbb/115-2019.pdf>
- [65] FAITOVÁ, K., A. HEJTMÁNKOVÁ, J. LACHMAN, V. PIVEC a J. DUDJAK. The contents of total polyphenolic compounds and trans-resveratrol in white Riesling originated in the Czech Republic. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2004, **22**(6), 215-221 [cit. 2023-01-18]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/3426-CJFS
- [66] MERKYTĚ, Vakarè, Edoardo LONGO, Giulia WINDISCH a Emanuele BOSELLI. Phenolic Compounds as Markers of Wine Quality and Authenticity. *Foods* [online]. 2020, **9**(12) [cit. 2023-01-19]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9121785
- [67] LAMPÍŘ, Lubomír. Varietal differentiation of white wines on the basis of phenolic compounds profile. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2013, **31**(2), 172-179 [cit. 2023-01-19]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/270/2012-CJFS
- [68] BALLUS, Cristiano, Adriana MEINHART, Raquel DE OLIVEIRA a Helena GODOY. Optimization of capillary zone electrophoresis separation and on-line preconcentration of 16 phenolic compounds from wines produced in South America. *Food Research International* [online]. 2012, **45**(1), 136-144 [cit. 2023-01-19]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2011.09.029

- [69] GODELMANN, Rolf, Fang FANG, Eberhard HUMPFER, Birk SCHÜTZ, Melanie BANSBACH, Hartmut SCHÄFER a Manfred SPRAUL. Targeted and Nontargeted Wine Analysis by <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy Combined with Multivariate Statistical Analysis. Differentiation of Important Parameters: Grape Variety, Geographical Origin, Year of Vintage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2013, **61**(23), 5610-5619 [cit. 2023-01-19]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf400800d
- [70] MAGDAS, Dana, Adrian PIRNAU, Ioana FEHER, Francois GUYON a Bogdan COZAR. Alternative approach of applying <sup>1</sup>H NMR in conjunction with chemometrics for wine classification. *LWT* [online]. 2019, **109**, 422-428 [cit. 2023-01-19]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2019.04.054
- [71] MAGDAS, Dana, Bogdan COZAR, Ioana FEHER, Francois GUYON, Adriana DEHELEAN a Simona CINTA PINZARU. Testing the limits of FT-Raman spectroscopy for wine authentication: Cultivar, geographical origin, vintage and terroir effect influence. *Scientific Reports* [online]. 2019, **9**(1) [cit. 2023-01-19]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-019-56467-y
- [72] POŘÍZKA, Jaromír, Pavel DIVÍŠ, Jaromír POŘÍZKA, Vaclav STURSA, Lenka PUNCOCHAROVA, Zuzana SLAVÍKOVÁ a Jakub KRIKALA. Impact of organic and integrated pest management on the elemental composition of wine and grapes in a season with high fungal pressure. *Journal of Elementology* [online]. 2021, **26**(42021), 871-891 [cit. 2023-01-20]. ISSN 16442296. Dostupné z: doi:10.5601/jelem.2021.26.3.2051
- [73] SUHAJ, Milan a Mária KOREŇOVSKÁ. Distribution of selected elements as wine origin markers in the wine-making products. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2006, **24**(5), 232-240 [cit. 2023-01-21]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/3319-CJFS
- [74] KMENT, Petr, Martin MIHALJEVIČ, Vojtěch ETTLER, Ondřej ŠEBEK, Ladislav STRNAD a Ladislava ROHLOVÁ. Differentiation of Czech wines using multielement composition – A comparison with vineyard soil. *Food Chemistry* [online]. 2005, **91**(1), 157-165 [cit. 2023-01-21]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2004.06.010
- [75] FLORIN-DUMITRU, ,, Alina DONICI, Anamaria CALUGAR a Bunea CLAUDIU-IOAN. Metal concentration and lead-strontium isotope characterization of italian riesling. *Carpathian Journal of Food Science and Technology* [online]. 2017, **9**(4), 5-22 [cit. 2023-01-21]. ISSN 2066-6845. Dostupné z: [https://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian\\_journal/index.html](https://chimie-biologie.ubm.ro/carpathian_journal/index.html)
- [76] CHARLTON, A., M. WROBEL, I. STANIMIROVA, M. DASZYKOWSKI, H. GRUNDY a B. WALCZAK. Multivariate discrimination of wines with respect to their grape varieties and vintages. *European Food Research and Technology* [online]. 2010, **231**(5), 733-743 [cit. 2023-01-22]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-010-1299-2

- [77] POLÁŠKOVÁ, Pavla, Julian HERSZAGE a Susan EBELER. Wine flavor: chemistry in a glass. *Chemical Society Reviews* [online]. 2008, **37**(11), 2478–2489 [cit. 2022-10-01]. ISSN 0306-0012. Dostupné z: doi:10.1039/b714455p
- [78] VILANOVA, Mar a José OLIVEIRA. Application of Gas Chromatography on the Evaluation of Grape and Wine Aroma in Atlantic Viticulture (NW Iberian Peninsula). In: DR. BEKIR, Salih. *Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications* [online]. InTech, 2012, s. 109-146 [cit. 2022-10-10]. ISBN 978-953-51-0127-7.
- [79] MANOLACHE, Mihail, Tiberia POPESCU, Anca BABEȘ, Iulia-Alexandra FARCAȘ, Maria MUNCACIU, Anamaria CĂLUGĂR a Emese GAL. Volatile Composition of Some Red Wines from Romania Assessed by GC-MS. *Studia Universitatis Babeș-Bolyai Chemia* [online]. 2018, **63**(2), 125-142 [cit. 2022-10-01]. ISSN 12247154. Dostupné z: doi:10.24193/subbchem.2018.2.12
- [80] FRANCIS, I.L. a J.L. NEWTON. Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. 2005, **11**(2), 114-126 [cit. 2022-11-19]. ISSN 1322-7130. Dostupné z: doi:10.1111/j.1755-0238.2005.tb00283.x
- [81] GC-MS and Spectrometric Detectors. In: MCNAIR, Harold, James MILLER a Nicholas SNOW. *Basic Gas Chromatography (3rd Edition)* [online]. 3rd edition. John Wiley & Sons, 2019, s. 157-175 [cit. 2022-10-14]. ISBN 978-1-5231-2792-4.
- [82] PANIGHEL, Annarita a Riccardo FLAMINI. Applications of Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (SPME-GC/MS) in the Study of Grape and Wine Volatile Compounds. *Molecules* [online]. 2014, **19**(12), 21291-21309 [cit. 2022-09-29]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules191221291
- [83] ARTHUR, Catherine a Janusz. PAWLISZYN. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry* [online]. 1990, **62**(19), 2145-2148 [cit. 2022-09-29]. ISSN 0003-2700. Dostupné z: doi:10.1021/ac00218a019
- [84] IVANOVA, Violeta, Marina STEFOVA, Borimir VOJNOSKI, Trajče STAFILOV, Ildiko BÍRÓ, Anita BUFA, Attila FELINGER a Ferenc KILÁR. Volatile Composition of Macedonian and Hungarian Wines Assessed by GC/MS. *Food and Bioprocess Technology* [online]. 2013, **6**(6), 1609-1617 [cit. 2022-10-05]. ISSN 1935-5130. Dostupné z: doi:10.1007/s11947-011-0760-y
- [85] IVANOVA, Violeta, Marina STEFOVA, Trajče STAFILOV, Borimir VOJNOSKI, Ildiko BÍRÓ, Anita BUFA a Ferenc KILÁR. Validation of a Method for Analysis of Aroma Compounds in Red Wine using Liquid–Liquid Extraction and GC–MS. *Food Analytical Methods* [online]. 2012, **5**(6), 1427-1434 [cit. 2022-10-10]. ISSN 1936-9751. Dostupné z: doi:10.1007/s12161-012-9401-y

- [86] GEFFROY, Olivier, Marie MORÈRE, Ricardo LOPEZ, Grégory PASQUIER a Jean-Stéphane CONDORET. Investigating the Aroma of Syrah Wines from the Northern Rhone Valley Using Supercritical CO<sub>2</sub>-Deaerated Wine as a Matrix for Reconstitution Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2020, **68**(41), 11512-11523 [cit. 2022-10-05]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.0c04328
- [87] LIU, Shuqin a Gangfeng OUYANG. Introduction of Solid-Phase Microextraction. *Solid Phase Microextraction* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2017, 1-16 [cit. 2022-10-02]. ISBN 978-3-662-53596-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-662-53598-1\_1
- [88] PATI, Sandra, Maria TUFARIELLO, Pasquale CRUPI, Antonio COLETTA, Francesco GRIECO a Ilario LOSITO. Quantification of Volatile Compounds in Wines by HS-SPME-GC/MS: Critical Issues and Use of Multivariate Statistics in Method Optimization. *Processes* [online]. 2021, **9**(4) [cit. 2022-10-03]. ISSN 2227-9717. Dostupné z: doi:10.3390/pr9040662
- [89] HAYASAKA, Yoji, Kevin MACNAMARA, Gayle BALDOCK, Randell TAYLOR a Alan POLLNITZ. Application of stir bar sorptive extraction for wine analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2003, **375**(7), 948-955 [cit. 2022-11-25]. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-003-1837-x
- [90] CAVEN-QUANTRILL, Darren a Alan BUGGLASS. Analysis of Volatile Components of Varietal English Wines Using Stir Bar Sorptive Extraction/Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Beverages* [online]. 2017, **3**(4) [cit. 2022-10-05]. ISSN 2306-5710. Dostupné z: doi:10.3390/beverages3040062
- [91] KROMIDAS, Stavros. *HPLC-MS Handbook for Practitioners*. John Wiley & Sons, 2017. ISBN 978-1-5231-1522-8.
- [92] MOEHRING, Michael a Peter HARRINGTON. Analysis of Wine and Its Use in Tracing the Origin of Grape Cultivation. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 2022, **52**(8), 1901-1912 [cit. 2023-02-02]. ISSN 1040-8347. Dostupné z: doi:10.1080/10408347.2021.1925082
- [93] PÉREZ-ÁLVAREZ, E.P., R. GARCIA, P. BARRULAS, C. DIAS, M.J. CABRITA a T. GARDE-CERDÁN. Classification of wines according to several factors by ICP-MS multi-element analysis. *Food Chemistry* [online]. 2019, **270**, 273-280 [cit. 2023-02-02]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.07.087
- [94] SPANGENBERG, Jorge, Maria VOGIATZAKI a Vivian ZUFFEREY. Gas chromatography and isotope ratio mass spectrometry of Pinot Noir wine volatile compounds ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and solid residues ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) for the reassessment of vineyard water-status. *Journal of Chromatography A* [online]. 2017, **1517**, 142-155 [cit. 2023-02-02]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2017.08.038

- [95] LEE, Eun, Noa NOMURA, Bhimanagouda PATIL a Kil YOO. Measurement of total phenolic content in wine using an automatic Folin-Ciocalteu assay method. *International Journal of Food Science and Technology* [online]. 2014, **49**(11), 2364-2372 [cit. 2023-04-09]. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.12557
- [96] CICCIO, Nunzia, Maria LANORTE, Margherita PARAGGIO, Mariassunta VIGGIANO a Vincenzo LATTANZIO. A reproducible, rapid and inexpensive Folin–Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchemical Journal* [online]. 2009, **91**(1), 107-110 [cit. 2021-02-10]. ISSN 0026-265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2008.08.011
- [97] PHILIPPIDIS, Aggelos, Emmanouil POULAKIS, Marianthi BASALEKOU, Argiro STRATARIDAKI, Stamatina KALLITHRAKA a Michalis VELEGRAKIS. Characterization of Greek Wines by Ultraviolet–Visible Absorption Spectroscopy and Statistical Multivariate Methods. *Analytical Letters* [online]. 2017, **50**(12), 1950-1963 [cit. 2023-04-09]. ISSN 0003-2719. Dostupné z: doi:10.1080/00032719.2016.1255748
- [98] JANČÁŘOVÁ, Irena, Luděk JANČÁŘ, Alice NÁPLAVOVÁ a Vlastimil KUBÁŇ. Changes of organic acids and phenolic compounds contents in grapevine berries during their ripening. *Open Chemistry* [online]. 2013, **11**(10), 1575-1582 [cit. 2023-04-09]. ISSN 2391-5420. Dostupné z: doi:10.2478/s11532-013-0288-2
- [99] YE, Zhijing, Yunxuan QIN, Roland HARRISON, Richard HIDER a Alaa BEKHIT. Characterization of Bioactive Compounds in Lees from New Zealand Wines with Different Vinification Backgrounds. *Antioxidants* [online]. 2022, **11**(12) [cit. 2023-04-09]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox11122335
- [100] FIKSELOVÁ, Martina, Marek ŠNIRC, Samuel RYBNIKÁR, Ján MEZEY, Silvia JAKABOVÁ, Lucia ZELENÁKOVÁ, Tomáš VLČKO a Michal BALÁŠKA. THE WINE QUALITY DESCRIPTION OF DIFFERENT ORIGIN EVALUATED BY MODERN CHEMOMETRIC APPROACH. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences* [online]. 2021, [cit. 2023-04-09]. ISSN 1338-5178. Dostupné z: doi:10.55251/jmbfs.9270
- [101] MIKLÍN, Jan a Kateřina GAJDOŠOVÁ. Víno a vinohrady na Moravě. In: *OU@alive: živý online magazín ostravské univerzity* [online]. Katedra fyzické geografie a geoekologie, Ostravská univerzita v Ostravě, 2016 [cit. 2023-04-21]. Dostupné z: <https://alive.osu.cz/archiv/interaktivni-mapa-vina-vinohradu-morave/>

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

3-MH – 3-merkaptohexanol

3-MMB – 3-merkapto-3-methylbutanol

3-SH – 3-sulfanylhexanol

4-MMP – 4-merkapto-4-methylpentan-2-on

4-MMPOH – 4-merkapto-4-methylpentan-2-ol

ANOVA – analýza rozptylu (*analysis of variance*)

APCI – chemická ionizace za atmosférického tlaku (*atmospheric pressure chemical ionization*)

API – ionizace za atmosférického tlaku (*atmospheric pressure ionization*)

APLI – laserová ionizace za atmosférického tlaku (*atmospheric pressure laser ionization*).

APPI – fotoionizace za atmosférického tlaku (*atmospheric pressure photoionization*)

CI – chemická ionizace (*chemical ionization*)

CV-AAS – atomová absorpční spektrometrie s technikou studených par (*cold vapour atomic absorption spectrometry*)

DAD – detektor diodového pole (*diode array detector*)

DI – přímé ponoření (*direct immersion*)

DMS – dimethylsulfid

DVB – divinylbenzen

ECD – elektrochemický detektor (*electro-chemical detector*)

EI – elektronová ionizace (*electron ionization* nebo *electron impact*)

ESI – elektrosprejová ionizace (*electrospray ionization*)

F-AAS – atomová absorpční spektrometrie s plamenem (*flame atomic absorption spectrometry*)

FID – plamenově-ionizační detektor (*flame-ionization detector*)

FPD – plamenový fotoionizační detektor (*flame photometric detector*)

GAE – ekvivalent kyseliny gallové (*gallic acid equivalent*)

GC-MS plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (*gas chromatography mass spectrometry*)

GCO – plynová chromatografie s olfaktometrickým detektorem (*gass chromatography olfactometry*)

GF-AAS – atomová absorpční spektrometrie s grafitovou pecí (*graphite furnace atomic absorption spectrometry*)

HPLC vysokoúčinná kapalinová chromatografie (*high performance liquid chromatography*)

HS – *head space*

IBMP – 2-methoxy-3-isobutylpyrazin

ICP-MS – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (*inductively coupled plasma mass spectrometry*)

ICP-OES – optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (*inductively coupled plasma optical emission spectrometry*)

IT – iontová past (*ion trap*)

LLE – extrakce kapaliny-kapalinou (*liquid-liquid extraction*)

$m/z$  – poměr hmoty ku náboji

MAS – molekulová absorpční spektrometrie (*molecular absorption spectrometry*)

MIK – mikulovská vinařská podoblast

MS – hmotnostní spektrometrie (*mass spectrometry*)

NADH – nikotinamidadenindinukleotid

NM – normalizovaný moštoměr

NMR – nukleární magnetická rezonance (*nuclear magnetic resonance*)

PA – polyakrylát

PCA – analýza hlavních komponent (*principal component analysis*)

PDMS – polydimethylsiloxan

PEG – polyethylenglykol

Q – kvadrupól (*quadrupole*)

QqQ – trojitý kvadrupól

RF – vysokofrekvenční (*radio frequency*)

RT – retenční čas (*retention time*)

$S/N$  – poměr signál/šum (*signal/noise*)

SBSE – sorpční extrakce na míchadélku (*stir bar sorptive extraction*)

SFE – superkritická fluidní extrakce (*supercritical fluid extraction*)

SIM – režim skenu jednoho/vybraných iontů (*single ion monitoring* nebo *selected ion monitoring*)

SLO – slovácká vinařská podoblast

SPE – extrakce tuhou fází (*solid phase extraction*)

SPME – mikroextrakce na tuhou fází (*solid phase microextraction*)

TDN – 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen

TIC – režim celkového skenu (*total ion chromatogram* nebo *total ion current*)



TOF – detektor doby letu (*time of flight detector*)

TPC – celkový obsah fenolických látek (*total phenolic content*)

UV-VIS – ultrafialovo-viditelný (*ultraviolet-visible*)

VP – velkopavlovická vinařská podoblast

XRF – rentgenová fluorescence (*X-ray fluorescence*)

ZNO – znojemská vinařská podoblast

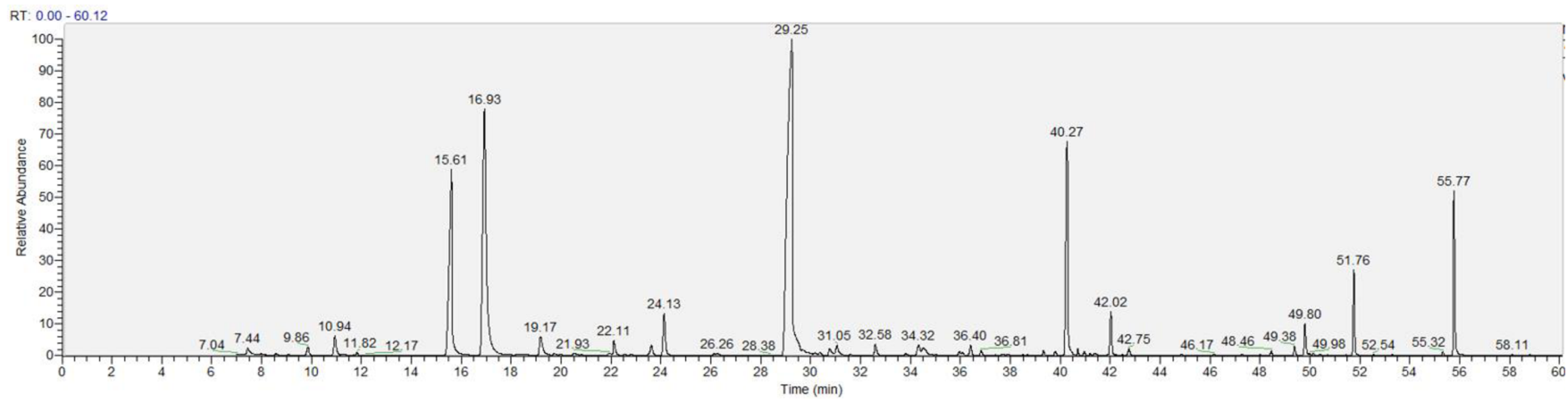
## **8 SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha č. 1: Příklad chromatogramu aromatických látek obsažených ve víně odrůdy Ryzlink rýnský

Příloha č. 2: Příklad chromatogramu fenolických látek obsažených ve víně odrůdy Ryzlink rýnský

## 9 PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Příklad chromatogramu aromatických látek obsažených ve víně odrůdy Ryzlink rýnský. Identifikace sloučenin viz. Tabulka 8



Příloha č. 2: Příklad chromatogramu fenolických látek obsažených ve víně odrůdy Ryzlink rýnský

