



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

AROMATIZACE VÍN POMOCÍ RŮZNÝCH DRUHŮ DŘEVA

AROMATISATION OF WINE BY DIFFERENT TYPES OF WOOD

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Monika Hrošíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1923/2023 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Monika Hrošíková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a technologie
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Aromatizace vín pomocí různých druhů dřeva

Zadání bakalářské práce:

- Zpracovat rešerši oblasti výroby vín zrajících v kontaktu s různými druhy dřeva, jako jsou například vína barikovaná. Zaměřit se na technologii a analýzu takto obohacených vín.
- Zajistit a analyzovat modelové víno.
- Realizovat maceraci látek z dřevěných chipsů do vína.
- V čase odebírat vzorky a provádět analýzu těkavých látek pomocí GC, organických kyselin pomocí iontové chromatografie a prvkovou analýzu pomocí ICP–OES.
- Zhodnotit senzorické vlastnosti vyrobených vzorků.
- Definovat závěry práce.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

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

Monika Hrošíková
studentka

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato závěrečná práce se zabývá aromatizovanými červenými víny za použití různých druhů dřev jako alternativní metodu barikování. Zaměřuje se na fenolický profil vína, přesněji na látky extrahované ze dřeva do vína, organické kyseliny a celkový sensorický charakter vín zrajících v kontaktu se dřevem.

Teoretická část popisuje technologii výroby červeného vína, jeho chemické složení, metodu barikování a jeho alternativy a s tím spojená úprava a změna chemického složení dřeva. Dále se zaměřuje na extrahované fenolické látky a změny sensorického profilu v průběhu zrání vína v kontaktu se dřevem a možnosti stanovení chemického a sensorického profilu těchto aromatizovaných vín.

Experimentální část se soustředí na chemickou a sensorickou analýzu změn referenčního vína Merlot v průběhu zrání s různými druhy dřeva ve dvoutýdenní a dvouměsíční maceraci. Byly sledovány změny koncentrací celkových fenolických látek pomocí metody Folin–Ciocalteu, organických kyselin pomocí iontové chromatografie, vybraných fenolických látek pomocí LCxMS, furfuralů pomocí GC–FID a barevných parametrů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Červené víno, aromatizace, barikování, fenolické látky, sensorická analýza LCxMS, GC–FID, Folin–Ciocalteu, IC

ABSTRACT

This thesis deals with aromatized red wines using different woods as an alternative method of colouring. It focuses on the phenolic profile of the wine, more specifically on the substances extracted from the wood into the wine, the organic acids and the overall sensory character of the wines aged in contact with the wood.

The theoretical part describes the technology of red wine production, its chemical composition, the method of colouring and its alternatives and the associated treatment and modification of the chemical composition of the wood. It also focuses on the phenolic substances extracted and the changes in the sensory profile during the ageing of wine in contact with wood and the possibilities of determining the chemical and sensory profile of these aromatised wines.

The experimental part focuses on the chemical and sensory analysis of the changes of a reference Merlot wine during ageing with different types of wood in a two-week and two-month maceration. Changes in the concentrations of total phenolic compounds by Folin–Ciocalteu method, organic acids by ion chromatography, selected phenolic compounds by LCxMS, furfural compounds by GC–FID and colour parameters were monitored.

KEYWORDS

Red wine, aromatisation, barrique, phenolic compounds, sensory analysis, LCxMS, GC–FID, Folin–Ciocalteu, IC

HROŠÍKOVÁ, Monika. *Aromatizace vín pomocí různých druhů dřeva* [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-05-19]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/158310>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Ing. Jaromír Pořízka, PhD.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
Monika Hrošíková

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu práce Ing. Jaromírovi Pořízkovi, PhD. za konzultace, ochotu, trpělivost, odborné cenné rady, které mi usnadnily realizaci této závěrečné práce. Zároveň bych ráda poděkovala panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, PhD. a Ing. Michalovi Grossovi za pomoc, trpělivost a cenné rady.

OBSAH

1 Úvod	9
2 Teoretická část	10
2.1 Výroba červeného vína	10
2.1.1 Nejdůležitější vlivy ovlivňující jakost vína	10
2.1.2 Zrání a sklizeň hroznů	10
2.1.3 Zpracování hroznů	10
2.1.4 Ošetření rmutu	11
2.1.5 Kvašení rmutu	11
2.1.6 Lisování rmutu	11
2.1.7 Odkalení	11
2.1.8 Alkoholové kvašení	12
2.1.9 Jablečno – mléčná fermentace (JMF)	12
2.1.10 Školení vína	13
2.1.10.1 Stáčení	13
2.1.10.2 Číření	13
2.1.10.3 Filtrace	13
2.1.11 Lahvování	13
2.2 Chemické složení červeného vína	14
2.2.1 Voda	14
2.2.2 Alkoholy	14
2.2.2.1 Methanol	14
2.2.2.2 Ethanol	14
2.2.2.3 Vyšší alkoholy (přiboudlina)	14
2.2.2.4 Glycerol	14
2.2.3 Sacharidy	15
2.2.4 Primární produkty kvašení	15
2.2.4.1 Acetaldehyd	15
2.2.4.2 Kyselina pyrohroznová	15
2.2.4.3 Kyselina 2–ketoglutaorvá	15
2.2.5 Kyseliny	15
2.2.5.1 Kyselina vinná	16
2.2.5.2 Kyselina jablečná	16
2.2.5.3 Kyselina mléčná	16
2.2.5.4 Kyselina octová	16
2.2.5.5 Kyselina citronová	16
2.2.5.6 Kyselina jantarová	16

2.2.6	Minerální látky (popeloviny)	16
2.2.7	Polyfenoly	17
2.2.8	Dusíkaté látky	17
2.2.9	Bílkoviny	17
2.2.10	Aromatické látky	17
2.2.11	Anthokyany	17
2.3	Aromatizace vín	18
2.3.1	Druhy dřeva	18
2.3.2	Barikování	18
2.3.2.1	Barikové sudy	18
2.3.2.2	Legislativa	18
2.3.3	Alternativy dřevěných sudů	18
2.3.4	Vypalování dřeva (toasting)	19
2.3.5	Látky obsažené ve dřevě	19
2.3.6	Víno vhodné k aromatizaci	20
2.3.7	Bílé víno	20
2.3.7.1	Odrůdy bílého vína	20
2.3.8	Červené víno	20
2.3.8.1	Odrůdy červeného vína	20
2.4	Chemické látky přecházející z dřeva do vína	21
2.4.1	Procesy zrání vína v kontaktu s dřevem	21
2.4.1.1	Mikrooxygenace/mikrooxidace	21
2.4.1.2	Vliv taninů	21
2.4.2	Fenolové sloučeniny	22
2.4.3	Těkavé fenolové sloučeniny	22
2.4.3.1	Eugenol	22
2.4.3.2	Guajakol	22
2.4.4	Fenolové kyseliny	22
2.4.4.1	Kyselina p-hydroxybenzoová	22
2.4.4.2	Kyselina protokatechová	22
2.4.4.3	Kyselina ferulová	22
2.4.4.4	Kyselina syringová	23
2.4.4.5	Kyselina vanilová	23
2.4.5	Fenolické aldehydy	23
2.4.5.1	Vanilin	23
2.4.5.2	Syringaldehyd	23
2.4.6	Hydrolizovatelné taniny	23

2.4.6.1	Gallotaniny	23
2.4.6.2	Elagitaniny	24
2.4.7	Kondenzované taniny	24
2.4.7.1	Flavonoly	24
2.4.7.2	Katechiny	24
2.4.7.3	Proantokyanidy	24
2.4.7.4	Kyselina ellagová,	25
2.4.7.5	Kyselina gallová	25
2.4.8	Furfuraly	25
2.4.9	Laktony	25
2.5	Analýza vína	26
2.5.1	Stanovení fenolických sloučenin	26
2.5.1.1	Stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin (CFL)	26
2.5.1.2	Kapalinová chromatografie	26
2.5.1.3	Plynová chromatografie	29
2.5.2	Stanovení organických kyselin	31
2.5.2.1	Iontová chromatografie (IC)	31
2.5.3	Stanovení barvy vína	31
2.5.4	Senzorická analýza vína	32
2.6	Statistická analýza dat	33
2.6.1	Analýza rozptylu (ANOVA)	33
2.6.2	Analýza hlavních komponent (PCA)	33
2.6.3	Korelační analýza	33
3	Experimentální část	34
3.1	Laboratorní vybavení	34
3.1.1	Chemikálie	34
3.1.2	Použité přístroje	34
3.2	Macerace vína dřevěnými chipsy	34
3.2.1	Použité dřevěné chipsy	34
3.3	Použité víno	34
3.4	Příprava vzorků pro maceraci	34
3.5	Stanovení celkových fenolických látek (CFL)	35
3.5.1	Příprava kalibrační řady kyseliny gallové	35
3.6	Stanovení organických kyselin	35
3.7	Stanovení furfuralů pomocí plynové chromatografie	35
3.7.1	Příprava vzorků	35
3.7.2	Analýza GC–FID	35

3.8 Stanovení fenolických sloučenin pomocí kapalinové chromatografie.....	36
3.9 Stanovení barvy vína.....	36
3.10 Senzorická analýza.....	37
4 Výsledky a diskuze.....	38
4.1 Obsah celkových fenolických látek (CFL).....	38
4.2 Obsah organických kyselin v aromatizovaném víně.....	39
4.3 Obsah vybraných fenolických látek pomocí LCxMS.....	43
4.4 Obsah furfuralů.....	45
4.5 Stanovení barvy vína.....	46
4.6 Senzorická analýza vína.....	47
4.7 Celkové zhodnocení.....	51
5 Závěr.....	53
6 Zdroje.....	54
7 Seznam použitých zkratk.....	61
8 Seznam příloh.....	62

1 ÚVOD

Z historického hlediska se víno již od Starověku uchovává v dřevěných nádobách, kvůli jejich nepropustnosti, ale zároveň pro jejich vliv na chemické složení podporující sensorické vnímání vín [83]. Víno samotné je již od starověkých impérií, jako byl Řím nebo Egypt, považováno za nápoj vykoupení a oběti, tato symbolika přetrvává do současného křesťanství [84].

Barikování vín je historická záležitost čím dál více zkoumána pomocí moderních technik. Sudy kvůli svojí propustnosti kyslíku obohacují pomocí mikrooxidace víno a stabilizují její sensorické a organoleptické vlastnosti [25, 38].

Moderní době zaměřující se na šetření času a životního prostředí obecně se nevyhnula ani optimalizace technologie výroby a zrání vína. Právě zrání červeného vína v barikových sudech je velmi náročná technologie po ekonomické, ekologické a časové stránce. Proto začali vinaři využívat alternativní metody, a to maceraci dřevěných fragmentů ve víně. Z legislativního pohledu nelze touto alternativní metodou označit víno jako barikované. Většina zemí označuje tuto alternativní metodu barikování vína jako „zrání v kontaktu se dřevem“. Ovšem chemické a sensorické změny vín uzrálých v dřevěných sudech nebo se dřevěnými chipsy jsou téměř totožné [16, 19].

Nejvíce studovanými chemickými látkami jsou fenolické sloučeniny, které se ze dřeva extrahují v procesu zrání do vína. Ty se ve dřevě ocitnou pomocí tepelné úpravy, při které termodegradují makromolekuly (celulózy, hemicelulózy a převážně ligninu) a přeměňují se na fenolické sloučeniny, které ovlivňují organoleptické vnímání vína. Víno díky těmto fenolickým látkám dozrává obohacené o různé chuťové a aromatické prekurzory. Nejvýznamnějšími fenolickými sloučeninami jsou ellagitaniny, které nejen že snižují svíravost vína, ale také stabilizují barvu a antioxidační aktivitu vína. Mezi další významné sloučeniny spadá vanilin, který je prekurzorem nejoblíbenějšího deskriptoru pro červené víno – vanilku, a další fenolické látky, jako jsou oktalaktony, eugenoly a další taniny, které tento deskriptor podporují a dodávají dřevité podtóny [30].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Výroba červeného vína

Technologie výroby červeného vína závisí na fenolické zralosti hroznů. Právě ve slupce bobulí hroznů se nacházejí důležité polyfenoly (barviva, třísloviny a taniny), které při narušení buněk přechází do moštu a tím dodávají výslednému vínu specifickou barvu [2].

2.1.1 Nejdůležitější vlivy ovlivňující jakost vína

Vinná réva je teplomilná rostlina, která pro své vegetační období vyžaduje nejméně 2500 °C úhrnné tepelné sumy, tj. součet denních teplot pro jeden vegetační cyklus. Nejideálnější je pro zrání hroznů slunečný teplý podzim bez delších srážek (optimum je 675 mm ročních srážek), hlavně pro poslední fázi zrání [1].

Půda vinic pro zrání vinné révy musí mít dobré fyzikální vlastnosti, které zajistí rostlině dostatek spodní vody, vhodnou barvu pro lepší prohřívání a zároveň musí být dostatečně pórovitá pro dostatečné provzdušnění. Nejvhodnější půda je tedy kamenitá nebo šterkovitá, kvůli dobré kumulaci tepla. Na těchto půdách je úroda chudší ale zároveň kvalitnější než na hlinitých, kde je bohatá úroda díky dostatku živin, nicméně hrozny jsou méně cukernaté a chudší na buketní látky [1].

2.1.2 Zrání a sklizeň hroznů

Při zrání se zvyšuje cukernatost a hustota šťávy z bobulí, zároveň se snižuje obsah kyselin. Bobule získávají při zrání svou specifickou barvu a měkkost a stopky dřevnatí [2].

Rozlišujeme 3 stádia zrání:

Buketní zralost – rozvíjí se aroma hroznů a zvyšuje se obsah cukru.
Plná (fyziologická) zralost – cukernatost vzroste na maximum, hrozny obsahují veškeré živiny, barviva, bobule změknou a jádérka jsou vyzrálé.
Přezrálost – bobule vysychá, obsah hroznu houstne a částečně se odbourává [2].

Doba sklizně závisí na několika faktorech (vyzrálost hroznů, zdravotní stav hroznů, požadovaný typ vína) [2]. Hrozny ranějších odrůd se sklízí na začátku září. Hlavní sklizeň probíhá podle počasí od konce září do začátku listopadu [1].

2.1.3 Zpracování hroznů

Nejdůležitější je rychlé a zároveň šetrné zpracování. Nejprve se hrozny odstopkují (oddělení bobulí od třapin), tento krok není nutný, jelikož dřevité třapiny usnadňují odtok moštu [1]. Naopak nedozrálé zelené třapiny dodávají moštu nepříjemnou chuť trávy [2].

Pro odzrnění a drcení hroznů musí nejprve hrozny projít drticími válci. Zde se bobule lisují a vytéká šťáva. Nesmí ovšem dojít k narušení jáderek. Rmut se dále šíří oxidem siřičitým pro stabilizaci oxidačních enzymů a kvasinek, stabilizují se jeho oxidační procesy pomocí oxidu uhličitého a následně se rmut nechá uležet. Dále se můžou přidat pektolytické enzymy pro štěpení pektinu a tím se zvýší vylisnost a zkrátí doba uležení rmutu [2].

Při výrobě červeného vína prochází rmut ohřevem za účelem kvašení a vyššího uvolnění barviva. Rmut se na několik dnů ochladí na 5 °C a tím se rozvine jeho aroma [2].

Následně se mošt scedí. Nejprve se nechá volně odtéct, díky čemuž získává mošt nižší oxidační charakter. Scezování je prováděno hned před lisováním, aby nedošlo k vyššímu nárůstu mikroorganismů ve zbylém rmutu [2].

2.1.4 Ošetření rmutu

Typickým a zásadním krokem je přidavek SO₂, který potlačí oxidační enzymy způsobující hnědnutí, aktivitu divokých kvasinek a bakterií. Také sníží vaznost vzdušného kyslíku a podpoří extrakci polyfenolů. Část oxidu zůstane ve víně volně, ale část se naváže a tvoří nové substance [3]. Rmut je nutno kontrolovat i teplotně, jelikož množení divokých kvasinek může probíhat i za nižších teplot (18 °C) [6].

U červených vín se obsah alkoholu pohybuje kolem 13 %. Aby bylo toto množství dosaženo, musí mít kvasinky dostatek cukru při kvašení. Zvýšením cukernatosti se sice zvýší obsah alkoholu, ale víno už nebude mít zaoblené a harmonické tělo [6].

Aby se zastavila aktivita nežádoucích mikroorganismů, musí se rmut rychle zakvasit, což je nevhodnější čistými kulturami, které podle výběru nabízí i různé vlastnosti. Pomocí mikroorganismů, které mají nízkou glykosidickou enzymatickou činnost, se stabilizuje a udržuje barva. Kvasinky, které mají vysokou enzymatickou aktivitu, podporují rozvinutí aroma, což je zároveň nežádoucí jev, protože kvůli těkavým látkám ztrácí víno barvu. Dále lze použít kvasinky pro nízkou tvorbu SO₂. Ty ovlivňují jablečno–mléčnou fermentaci. Pokud je potřeba podpořit charakter typické odrůdy, používají se kvasinky odrůdové, které jsou izolovány z hroznů nebo vín požadované odrůdy [6].

2.1.5 Kvašení rmutu

Rmut z bílých hroznů se nechává kvasit pouze při výrobě vínovice. Tento biotechnologický krok je tedy typický pro výrobu červeného vína. Během kvašení je potřeba, aby se vytvořil „matolinový klobouk“ (pevné částice rmutu, které nadnáší CO₂). Toho lze docílit buď otevřeným kvašením s ručním ponořováním klobouku, což je jednodušší postup, ale obnáší ztráty aroma a alkoholu, nebo uzavřeným kvašením za použití mechanickými technikami k pohybu rmutu a matolinového klobouku (míchací tank, ponořování, sprchování matolinového klobouku moštem nebo proplyňování) [2].

2.1.6 Lisování rmutu

Proces musí být pomalý a nesmí být vyvinut příliš vysoký tlak, aby měl mošt možnost volně odtéct. Ze 100 kg hroznů lze získat 75–80 l moštu. Ze samovolného volného scezení moštu lze očekávat 40–60 % výlisnost, kdy je mošt světlejší a méně koncentrovaný. Lisování se získá také 40–60 % moštu, který se směšuje s cezeným moštem. Dolisováním vyšším tlakem lze docílit 10 % výlisnosti, narušuje se zde slupka a jádérka, lze tedy očekávat vyšší obsah tříslovin, barviv a minerálních látek [2].

2.1.7 Odkalení

Díky tomuto kroku je zabráněno rozvinutí postranních nežádoucích senzoricke aktivních látek, za které jsou zodpovědné pecky, slupky, dužina a případně zbylé pesticidy. Odkalení rmutu lze provést jednoduchou sedimentací, nebo různými separačními technikami, jako je odstředění. Je důležité dbát na stabilitu rmutu [2]. U výroby červeného vína lze mošty odkalit až po kvašení. Neodkalené mošty kvasí rychleji, bouřlivěji a díky tomu dosahují vyššího obsahu alkoholu [34].

2.1.8 Alkoholové kvašení

Pro samotný začátek procesu je potřeba cca 10 milionů buněk/ml kvasinek. Kvasinky jsou obsaženy i v samotné slupce bobule, ale to jsou pouze 1–3 % požadovaného množství buněk. V tomto procesu je velmi důležité, aby nedošlo ke kontaminaci (např. z lisů a dalších strojů), jelikož se poté může zvýšit počet buněk až stonásobně [2].

Působení kvasinek způsobuje přeměnu cukru na ethanol a oxid uhličitý, ale také jiné produkty. Během kvašení se kromě alkoholu a oxidu uhličitého tvoří charakteristické aroma vína – sekundární (kvasný) buket, který způsobují kvasinky. Pro alkoholové kvašení jsou vhodné zpravidla různé druhy kvasinky rodu *Saccharomyces* [2].

Ze 100 g cukru tedy lze získat 47–48 g alkoholu. Oxid uhličitý působí jako kvasný plyn a musí být ze sklepních prostor mechanicky nebo samospádem odstraňován, aby se předešlo možné otravě člověka [2].

K dosažení požadovaného počtu buněk se používají dvě metody kvašení – spontánní nebo přidání čistých kultur. Při spontánním kvašení se kvasinky nechávají množit s využitím kyslíku až do požadovaných hodnot. Tento způsob je velmi náhodný a nelze zaručit, že se namnoží požadovaný druh kvasinky. Touto „náhodou“ se divoké kvasinky zakvášejí rychleji, zvyšují obsah glycerolu, tvoří se více vyšších alkoholů (přiboudlin), těkavých kyselin a také roste spotřeba oxidu siřičitého. Divoké kvasinky ale špatně snášejí alkohol a při 4 % obj. odumírají. Nezpracují tedy veškerý cukr a samovolným ukončením kvašení zanechají tzv. zbytkový cukr. Přidáním čistých kultur je zajištěno požadované množství buněk a vývin kvašení je jasně definován. Pro počátek kvašení se nejčastěji používají tyto druhy: *Kloeckera apiculata* a *Metschnikowia pulcherrima*, při hlavním kvašení již byly zmíněny druhy *Saccharomyces cerevisiae* a jejich poddruhy: *cerevisiae*, *uvarum* a *bayanus*. Závěrečné dokvašení zaručují kvasinky *Saccharomyces* c., poddruh *cerevisiae* nebo *bayanus* [2].

2.1.9 Jablečno – mléčná fermentace (JMF)

Bakterie začnou přeměňovat výrazně kyselou kyselinu jablečnou na jemnější kyselinu mléčnou a oxid uhličitý pomocí mléčných bakterií. Tento proces se také nazývá bakteriální/biologické odbourávání kyselin nebo malolaktické kvašení [1, 2].

Přeměněná kyselina mléčná dodává vínu plnější chuť, červené víno je mikrobiologicky stabilnější a mění se celkově vinné aroma. Pokud JMF trvá příliš dlouho, víno ztrácí na svěžesti a plnosti. U nevyzrálých vín získává víno kyselejší chuť (po kyselém zelí), u lehčích červených vín bez silného zabarvení dochází k vyblednutí [1, 2].

Počátek JMF může přirozeně začít po ukončení kvašení, kde se začnou množit bakterie, přidáním kvasnic z vína po JMF nebo přidáním čistých kultur, což je finančně náročnější, ale spolehlivější. Mezi nejčastější druhy patří: *Oenococcus oeni*, která se přidává již během dokvašení, ale při vyšším obsahu cukru (15 g/l) brzdí činnost mikroorganismů a může vzniknout ocet a další vedlejší aromatické látky. Kvůli své nesnášenlivosti na alkohol se před zahájením alkoholového kvašení přidávají mléčné kultury *Lactobacillus plantarum*. Při JMF pak nevznikají nepříjemné tóny. Pokud nedojde k úplnému odbourání kyseliny mléčné, víno může být mikrobiologicky nestabilní. Pro zahájení aktivity mléčných bakterií je ideální teplota 14–18 °C, nízká koncentrace kyseliny siřičité a vyšší obsah dusíkatých látek pro výživu bakterií [1, 2].

Ukončení JMF se provádí kontrolou obsahu kyseliny jablečné. Víno se nechá týden až dva bez úprav, aby se zredukovalo aroma vzniklé JMF, ale nesmí začít oxidovat [1, 2].

2.1.10 Školení vína

Tato část výroby vína obsahuje několik menších kroků, které upravují víno ke kvalitnímu a delšímu zrání v lahvích. V této fázi se upravuje složení, čistota a stabilita vína ke konečnému lahvování, a tedy i zrání [2].

2.1.10.1 Stáčení

Po ukončení kvašení je nutno víno oddělit od zbylých kalů a nečistot, tudíž se víno přelije do jiné čisté nádoby. Během tohoto kroku dochází víno do styku s kyslíkem. Pro červené víno je tento styk žádoucí, jelikož přispívá ke zrání a stabilizaci barvy vína [2].

2.1.10.2 Čiření

Čiření napomáhá stabilizovat víno a lze jej použít namísto filtrace a odstředování. Tímto procesem lze odstranit sensorické vady. Čiření může být provedeno pomocí bentonitu, což jsou silikáty vápníku, sodíku a hliníku a jsou schopny na sebe navázat nežádoucí bílkoviny a zajišťují následnou termostabilitu bílkovin [2, 6].

Dále se provádí tzv. modré čiření hyxakvanoželeznanem draselným, který odstraňuje vyšší obsah mědi, železa a dalších kovů. Tyto kovy narušují sensorický profil vína a podporují oxidaci vína. Vyšší obsah sloučenin železa spolu s tříslovinami tvoří černý zákal a spolu s fosfáty tvoří šedý až bílý zákal. Pokud je potřeba stabilizovat železo a další kovy ve víně, přidává se komplexon. Tato sloučenina na bázi arabské gumy a kyseliny citronové vytváří ochranný obal, který zabráňuje vysrážení železa a mědi [2, 6].

2.1.10.3 Filtrace

Po kvašení je nutno odstranit zbylé nečistoty pomocí filtrace. Díky tomuto kroku se odstraní pevné nečistoty. Filtrace probíhá pomocí celulózy a křemeliny, kterou doprovází rotační čerpadla, filtrační části a zásobník křemeliny s dávkovacím čerpadlem. Postupně se snižuje průtok a pórovitost filtračních technik z hrubé a jemné filtrace až k mikrobiální. Nejvyužívanější membránová filtrace má dvě složky, první část je hrubší a druhá jemnější. Tato metoda umožňuje i separaci kvasinek a bakterií [6].

2.1.11 Lahvování

Před samotným naplněním vína do láhve je nutno provést několik kontrolních bodů. Je důležité provést kritickou sensorickou analýzu a upravit obsah SO₂ kvůli stabilitě vína. Dále se provádí zkouška stability bílkovin, což je tepelný proces, u kterého se sleduje po časovém úseku množství usazenin. Následně se usazeniny vyčeří bentonitem. Také se testuje obsah kovů, které by mohly způsobit zákal, který se čirí modrým čiřením. Při lahvování se může objevit vinný kámen. Tomuto se předchází přidáním kyseliny metavinné anebo zchlazením vína. Po odkyselení se vinný vápenatý může vysrážet, pokud je víno příliš brzy lahvováno. Probíhá také kontrola obsahu vápníku, který je zákonem omezen na 220 mg/l. Nejdůležitějším faktorem spojeným se sensorickou analýzou je samotná čistota vína bez zákalu [2, 6].

Víno dosahuje svého vrcholného dozrání právě v láhvi. Stáčí se do zelených nebo hnědých skleněných lahví, které chrání červené víno před UV zářením, to podporuje oxidaci a stárnutí. Po stočení vína do lahví se nechává víno uzrát. Je nutno nechat víno ve stabilních podmínkách. Pro červená vína je typické teplejší a méně vlhké prostředí do 15 °C. Pokud je teplota příliš nízká, začíná srážení vinného kamene, ale naopak čím teplejší prostředí, tím rychleji víno stárne [2, 6].

2.2 Chemické složení červeného vína

2.2.1 Voda

Voda je největší částí bobulí, moštu a samotného vína. V konečné fázi výroby vína je obsah vody 80–92 % [3].

2.2.2 Alkoholy

Ve víně jsou přítomny hlavně jednoduché alkoholy s jednou hydroxylovou skupinou, ale i dioly, polyalkoholy a fenoly, které taky mohou obsahovat jednu nebo vína -OH skupin [5].

2.2.2.1 Methanol

Methanol je jedna z vedlejších složek při výrobě vína a nijak zvlášť neovlivňuje senzorický profil konečného produktu. Vzniká rozkladem pektinu, který je převážně obsažen ve slupkách, a celulózy. Methylové skupiny se po degradaci pektinu pomocí enzymů přeměňují na daný alkohol. U červeného vína se obsah methanolu zvyšuje při kvašení rmutu. Při rozkladu methanolu vzniká formaldehyd a následně kyselina mravenčí, což je zdraví nebezpečné pro centrální nervovou soustavu člověka. V malém množství způsobuje slepotu, ve vyšším množství smrt [3, 5].

2.2.2.2 Ethanol

Vzniká kvašením glukózy a fruktózy [3]. Obsah ethanolu ve víně se pohybuje mezi 9–13 % obj. a podporuje rozvinutí aroma [2]. Zvýšení obsahu ethanolu lze docílit postupným přidáváním cukru v průběhu alkoholového kvašení. Během kvašení je rozpouštěcí charakter ethanolu výhodou kvůli možnému úniku aromatických sloučenin společně s CO₂ [5].

Ethanol ovlivňuje kyselost vína, dokáže ji zaoblit do méně trpké a vyrovnanější chuti. Zároveň dokáže snižovat obsah taninů a tím i svíravost vína, což naopak zvyšuje jeho hořkost [5].

2.2.2.3 Vyšší alkoholy (přiboudlina)

Nižší obsah vyšších alkoholů má vysoký vliv na celkovou vůni i chuť. Vznikají při kvašení jako sekundární produkty při odbourávání cukrů. Na jejich celkový obsah má vliv i množství aminokyselin v moštu, které vznikly z prokvašeného cukru. Mezi ně patří například butanol a amylalkohol. Ve vyšších koncentracích mají hořkou chuť a mohou kazit celkovou kvalitu vína [1, 2].

2.2.2.4 Glycerol

Tento alkohol je považován za tzv. tělo vína. Vzniká jako primární produkt začátkem kvašení převážně divokými kvasinkami. Obsah glycerolu je v červených vínech vyšší, což lze pozorovat v porovnání s bílými víny na viskozitě. Obecně má glycerol sladkou chuť, která ale nemá vliv na chuť sladších vín. Sekundárně ovlivňuje sušší vína a jejich senzorický práh sladkosti. Ethanol s glycerolem lze porovnat v tzv. glycerolovém faktoru, což je jejich vzájemný poměr. V prokvašeném stavu jsou látky v poměru 10:1. V procesu výroby vína lze rozlišovat kvasný a moštový glycerolový faktor [2, 5].

2.2.3 Sacharidy

Nejdůležitější roli hrají hlavně při kvašení cukry D–glukóza a D–fruktóza, které jsou v poměru 1:1. Tyto dva cukry se ale přeměňují různě rychle, pokud se kvašení zastaví, bude ve víně převažovat fruktóza. Cukry ovlivňují celkový charakter vína – texturu, plnost a extrakt. Pokles cukru způsobí hořkost a celkovou trpkost konečného produktu [2, 3].

Hexózy (glukóza, fruktóza) tvoří cca 99 % obsahu cukrů ve víně. V malých koncentracích se ve víně objevují i pentózy, které jsou nezkrasitelné a ovlivňují hodnoty při stanovení cukru. Mezi ně se řadí hlavně sacharóza a další, jako je arabinóza, xylóza, galaktóza a manóza [2, 3].

2.2.4 Primární produkty kvašení

Tyto produkty závisí vzájemně na sobě, ale také na nich závisí následná spotřeba oxidu siřičitého. Při plynulém kvašení jsou kvasinky schopny dál zpracovávat část těchto produktů [2].

2.2.4.1 Acetaldehyd

Acetaldehyd je předstupeň při vzniku ethanolu, vzniká z kyseliny pyrohroznové. Při vyčerpání enzymu alkoholdehydrogenázy se acetaldehyd už nepřemění na ethanol a jeho přítomnost zvyšuje spotřebu oxidu siřičitého. Pokud při kvasném procesu je vysoký obsah acetaldehydu, při dokvašení se jeho koncentrace snižuje [2].

U červeného vína se acetaldehyd zpětně přeměňuje z ethanolu, protože je nezbytný pro zrání vína, vývin aroma a stabilizace barvy. Tvoří nové pigmenty jako jsou visitin B a pyroanthokyany [11].

2.2.4.2 Kyselina pyrohroznová

Jak bylo zmíněno, kyselina pyrohroznová je předstupeň acetaldehydu. Přeměna probíhá pomocí enzymu pyruvátdehydrogenázy společně s thiaminem (vitamin B1), který zde hraje roli koenzymu. Pokud jsou hrozny napadeny šedou hnilobou, bobule mají nedostatek thiaminu a kvašení probíhá pomaleji [2].

2.2.4.3 Kyselina 2–ketoglutaorvá

Tato kyselina nehraje roli při samotném procesu kvašení, ale podporuje kvasinky, které jsou součástí procesu kvašení, k vytváření vlastních mikrobiálních složek [2].

2.2.5 Kyseliny

Hlavní kyseliny jsou vinná, jablečná, citronová, mléčná a deriváty kyseliny octové. Obsah kyseliny jablečné se zvyšuje, pokud nejsou hrozny a víno dostatečně dozrálé. U zralých ročníků je přítomna ve vyšší koncentraci kyselina vinná. Co se týče anorganických kyselin, jedny z nejdůležitějších jsou kyseliny siřičitá a uhličitá jako deriváty jejich oxidů. Samotné kyseliny nemají vliv na konečné pH a kyselost vína, důležitější jsou jejich oxidy [2, 5].

Celkovou kyselost a pH nejvíce ovlivňuje směs těkavých a stabilních kyselin. Ve víně je žádoucí obsah kyselin v intervalu 5,5–8,5 mg/l. U červených vín je typická hodnota pH mezi 3,3 až 3,6. Bílá vína jsou typicky kyslejší než červená [2, 5].

2.2.5.1 Kyselina vinná

Jak již z názvu vyplývá – tato kyselina je nejvíce zastoupená v samotných hroznech. Zajišťuje kyselost a ostrost bobulí i hotového vína. Zrání na obsah kyseliny nemá vliv, ale pokud začne její koncentrace kolísat, je to způsobeno nízkým množstvím draslíku, tudíž špatným transportem z kořenů [3, 29].

Kyselina je mikrobiálně i metabolicky stabilní. Díky těmto vlastnostem se může v průběhu procesu výroby vína přidávat. Kvasinky během kvašení nemají vliv na obsah kyseliny vinné, ale kvůli alkoholu a při odkyselení vína uhličitánem vápenatým se kyselina vinná vysráží jako vinný kámen (vinan draselný/vápenatý). Pokud klesne pH v přítomnosti mléčných bakterií nebo plísně *Botrytis cinerea*, koncentrace kyseliny klesne také [3, 29].

2.2.5.2 Kyselina jablečná

Její nejhojnější množství v bobuli je před změknutím plodu. Má velmi kyselou a ostrou chuť. Poskytuje bobulím i vínu tzv. „zelenou chuť“, což je charakteristická chuť „škrablavých“, ostrých a kyselých tónů. Kyselinu jablečnou mikroorganismy při kvašení přeměňují na alkoholy [2].

V hroznech se kyselina jablečná přeměňuje na glukózu a fruktózu, které nezůstávají v bobuli, ale transportují se do keřovité části rostliny k metabolické výživě [3].

2.2.5.3 Kyselina mléčná

Převážně vzniká při JMF z kyseliny jablečné. Kvasinky při kvašení přeměňují kyselinu pyrohroznovou na kyselinu mléčnou. Oproti kyselině jablečné je kyselina mléčná jemnější a oblejší pro konečný charakter vína [2, 3].

2.2.5.4 Kyselina octová

Při anaerobním kvašení jsou kvasinky schopné vytvořit až 0,6 g/l kyseliny octové. V aerobním prostředí se ethanol oxiduje na kyselinu octovou. Řadí se do skupiny těkavých kyselin (společně s např. kyselinou mravenčí). Celkově je její přítomnost kvůli možné mikrobiologické aktivitě nežádoucí. Pokud její koncentrace ve víně stoupne nad 0,8 g/l, znamená to, že jsou ve víně přítomny octové nebo mléčné bakterie [2, 3].

2.2.5.5 Kyselina citronová

Obecně se kyselina citronová v hroznech vyskytuje v koncentraci 50–300 mg/l. Při JMF může být enzymaticky odbourána na diacetyl, který způsobuje máselnou pachutí. Kyselina citronová stabilizuje víno proti kovovým zákalům za vzniku chelátů [2].

2.2.5.6 Kyselina jantarová

Tato kyselina není ve víně přítomna kvůli vlastnímu metabolismu hroznů, ale je substituována jako vedlejší produkt při anaerobním metabolismu kvasinek a ve víně se potom stává stabilní kyselinou. Může se do vína přidat za účelem okyselení. Je typická svým ostře trpkým charakterem [5].

2.2.6 Minerální látky (popeloviny)

Kořeny vinné révy přijímají podzemní vodu, která obsahuje i minerální látky, převážně fosforečnany, sírany, chloridy, uhličitany a jejich sloučeniny se sodíkem, vápníkem a draslíkem. V menších koncentracích přijímají hrozny i bór, křemík, mangan a zinek [2].

V moštu se dále vyskytují i kovy železa a mědi, ale tyto koncentrace se zvyšují důsledkem kontaktu s kovovými tanky a nástroji použité při výrobě vína [2].

2.2.7 Polyfenoly

Obecně je lze označit jako třísloviny a barviva. Tyto látky jsou ve víně důležité kvůli svým antioxidačním a protizánětlivým účinkům. Koncentrace a interakce polyfenolů mezi sebou ovlivňují oxidační procesy, stabilitu, barvu a chuť červeného vína – hořkost, svíravost. Jejich obsah se zvyšuje, pokud je rmut naležený a při lisování je vyvinuta vyšší vnější síla. Oproti bílému vínu je v červeném vínu až desetkrát více polyfenolů [2, 32].

2.2.8 Dusíkaté látky

Jedná se o aminokyseliny, amoniakové sloučeniny a bílkoviny. Jejich role spočívá převážně ve výživě kvasinek k prokvašení. Volné aminokyseliny jsou prekurzory aromatických látek a díky nim vzniká sekundární (kvasný) buket [2].

2.2.9 Bílkoviny

Množství bílkovin je různorodé v závislosti na vinné odrůdě. Jejich koncentrace se snižuje v průběhu kvašení reakcí s tříslovinami a v průběhu číření. Pokud termolabilní bílkoviny nejsou bentonitem odstraněny, mohou způsobit zákal vína v láhvi [2].

Z hroznů jsou nejdůležitější proteiny chitinázy a glukánázy, přičemž chitinázy jsou velmi odolné vůči číření [47].

2.2.10 Aromatické látky

Do této skupiny se řadí alifatické, aromatické, hydroaromatické estery, alkoholy, acetaldehydy, mastné kyseliny, dusíkaté sloučeniny, terpeny, laktony, thioly a heterocyklické sloučeniny. Nejvyšší obsah aromatických látek je uložen ve slupkách bobulí a jejich intenzita stoupá s rostoucí zralostí. Celkový obsah i vlivnost aromatických látek na výsledné víno výrazně ovlivňuje plíseň *Botrytis cinerea*. Ta využívá aromatické látky a dusíkaté sloučeniny pro vlastní metabolismus [1, 2].

2.2.11 Anthokyan

Z řečtiny anthos=květ a kyanos=modrá, lze usoudit, že jsou příčinou modrých a růžových barev cévnatých rostlin. Chemická struktura těchto aglykonů je 2-fenyl-1-benzopyrylium, na které se dále vážou substituenty hydroxy- nebo methoxy- skupin, ty společně s dalšími faktory (jako je pH, přítomnost kovových iontů) ovlivňují výslednou barvu bobulí [8].

V červeném víně je obsažen malvidin-3-O-glukosid, který je extrahován z bobulí během výroby vína. Tato sloučenina dále interaguje s acetaldehydem, kyselinou pyrohroznovou a dalšími taniny za vzniku nových sloučenin, které se podílí na stabilizaci barvy vína. Celkový obsah anthokyanů při aromatizaci důsledkem oxidačních, polymerizačních a kondenzačních procesů klesá za přeměny na jiné sloučeniny ovlivňující barvu vína [8].

2.3 Aromatizace vín

Víno díky styku se dřevem během procesu zrání získává plnější, kulatější i nové aroma a chuť. Dřevo jednak předává vínu těkavé a fenolické sloučeniny ovlivňující aroma a svíravost a zároveň skrz dřevo prochází kyslík, který ovlivňuje barvu a trpkost vína [18].

Extrakce probíhá dvěma ději. První děj je přestup látek ze dřeva do vína pomocí alkoholu obsaženého ve víně a následnou oxidací. Vznikají „vlastní fenolické látky“. Druhou cestou je oxidace „vlastních fenolických látek“ již v samotném dřevě, které se rozpouští v alkoholu [4].

2.3.1 Druhy dřeva

Nejpoužívanějšími typy dřeva jsou různé druhy dubů. Nejoblíbenějšími druhy je dub letní (*Quercus robur*), který lze jinak pojmenovat jako dub francouzský, dub zimní (*Quercus petraea*) a dub bílý (*Quercus alba*) [16]. Dalšími nejpoužívanějšími druhy dřeva jsou například třešňové, morušové, kaštanové a akátové [18].

Akátové dřevo rozvíjí dřevité aroma podpořené furfuraly oproti dubovému, které nejvíce demonstruje dubově hutné až kokosové aroma whisky laktonů. Používá se spíše pro aromatizaci bílých vín [18]. Třešňové dřevo podporuje spíše sladké aroma demonstrující červené ovoce, to se využívá spíše pro aromatizaci destilátů [31].

2.3.2 Barikování

Metoda „barrique“ je založena na zrání vína v sudech větších objemů (225–350 l). Sudy bývají zpravidla vyrobené z různých druhů dubů. Při skladování vína v barikovém sudu není potřeba vysokého dávkování SO₂. Zrání v barikových sudech napomáhá ke stabilizaci a obohacení sensorického charakteru vína díky vzniku nových sloučenin převážně fenolického charakteru [4, 41].

2.3.2.1 Barikové sudy

Výroba takových sudů je velmi časově i finančně náročná. Lamely dřeva se přirozeně nebo mechanicky vysouší, opékají a průběžně ohýbají do požadovaných tvarů. Přirozeným sušením a mechanickým opékáním dochází k chemickým degradacím a maximálně se snižuje obsah drsných hořčin (taninů). Tento proces trvá 12–24 měsíců. Umělé sušení je rychlejší než přirozené (dny až týdny), ale obsah hořčin není tak nízký a dřevo poté dodává vínu hrubší a hořčejší charakter [2, 4].

2.3.2.2 Legislativa

Definice barikovaného vína je v české legislativě zapsána takto: „Víno, lze označit slovem "barrique", pokud víno zrálo nejméně 3 měsíce v dubovém sudu o objemu větším než 210 litrů a menším než 250 litrů, který nebyl používán pro výrobu vína déle než 36 měsíců. Toto označení lze doplnit údajem o době zrání vína v měsících nebo rocích.“ podle vyhlášky 323/2004 sb. zákona o vinohradnictví a vinařství v §9 odstavci [35].

2.3.3 Alternativy dřevěných sudů

Levnějšími možnostmi, jak vnést do vína obohacený charakter získaný ze dřeva, jsou alternativní dřevěné produkty, jako jsou hranoly, hoblinky, segmenty, kostky, tyčinky atd. Tato varianta zároveň urychluje procesy zrání, které probíhají v kontaktu se dřevem a zvyšuje jejich kontaktní plochu [16, 19].

2.3.4 Vypalování dřeva (toasting)

Tento proces patří k tzv. kořenění, kdy se dřevo uměle nebo přirozeně upraví za účelem snížení obsahu vody ve dřevě a rozvinutí aromatického profilu a senzory aktivních látek [26]. Lze využít metodu „sušení na vzduchu“, nebo mechanicky pomocí pece [33]. Teplem se dřevěné složky degradují a vytváří hodně aromatických sloučenin jako jsou furany, fenoly a jejich sloučeniny. Bez tepelné úpravy by dřevo extrahovalo do vína pouze taniny [9].

Jeden z nejdůležitějších procesů je termodegradace ligninu. Touto reakcí vznikají fenoly jako je eugenol, guajakol a vanilin. Aroma a chuť může být příjemně vanilková, kouřová, ale také negativní (např. aroma po koňské ohánce). Hemicelulóza a celulóza se termodegradací přemění na furanové deriváty, které způsobuje karamelové aroma. Hydrolizovatelné taniny také pomocí tepla degradují a snižují „škrablavý“ charakter [30].

Aplikují se tři typy opěčení: lehké, střední a těžké [30]. Lehkým opálením získává víno lehčí dřevěné aroma a příjemně hořkou chuť. Střední opálení vína dodává těžší aroma po dřevu, kulatější a méně hořkou chuť. Aroma ze silného opálení není tak dřevité jak střední a lehké, ale více kouřové až pražené. Chuť vína je podobná vůni – hořká, pražená až dráždivá. Dále se rozděluje ožehnutí „medium plus“ nebo „medium minus“ a celkově je proces a podmínky opalování individuální podle potřeby a technologie vinařů a samotných výrobců [2, 38].

2.3.5 Látky obsažené ve dřevě

Dřevo se obecně skládá z celulózy, hemicelulózy, ligninu a dalších fenolických látek. Začíná degradovat od 200 °C, ale obecně je úplně degradováno kolem 300–375 °C. Celulózová vlákna tvoří 40–50 % suchého podílu dřeva a jejich degradace začíná při 370 °C. Opékání dřeva nerozkládá celulózu, ale díky její krystalické struktuře má dřevo požadované vlastnosti např. vysokou pevnost v tahu pro výrobu sudů [17].

Celulóza je o něco více odolná než hemicelulóza, která se začne rozkládat při 225 °C. Její počáteční rozklad začíná již na 120 °C. Z celého suchého objemu dřeva tvoří hemicelulóza 25–35 % hmoty. Rozklad hemicelulózy nastává jak při opékání dřeva, kdy dřevo začíná karamelizovat, tak při stárnutí vína. Díky tomuto rozkladu získává víno „tělo“, což symbolizuje plnost a jednotnost vína [17].

Lignin je nejméně odolná složka dřeva, jelikož degraduje již při hraničních 200 °C. Obsah ve dřevě se pohybuje kolem 16–33 %. Vyšší hodnoty patří listnatým stromům. Díky ligninu je dřevo odolné jak mechanicky, tak biochemicky. Během opékání je lignin zdrojem mnoha sloučenin ovlivňující senzory vlastnosti vína, zejména víno obohacují o aroma a chuť sladké vanilky [17].

Z ligninu je odvozených několik látek, jako je sinapaldehyd, syringaldehyd, koniferaldehyd, vanilin, kyselina syringová a vanilová. Z těchto látek se dále odvozují fenolické sloučeniny [40]. Mezi fenolické látky se řadí nízkomolekulární sloučeniny např. hydrolizovatelné taniny a kumariny. Tyto frakce jsou hlavní extrakční látky zodpovědné za specifickou chuť vyzrálého produktu po kontaktu se dřevem [36].

2.3.6 Víno vhodné k aromatizaci

Víno by mělo být hutné a výrazné, aby dřevo nepřekonalo charakter samotného vína [2]. Množství přeměněných sloučenin anthokyanů a barviv ovlivňující barvu závisí na množství přidaného SO₂, které má bělicí účinky a ovlivňuje výsledné pH vína [38]. Kontakt se dřevem prospívá vínům s vyšším obsahem fenolických látek a extraktivních složek, jako je ethanol, které lépe snášejí a integrují s extrahovanými složkami dřeva [5]. Co se týče sensorického charakteru vína, nejvhodnější jsou s ovocným, krémovým nebo kořenitým charakterem, která se doplňuje s aroma extrahované ze dřeva, jako jsou vanilkové, karamelové či kořenitější tóny [51].

2.3.7 Bílé víno

Bílé vína jsou kvašená při kontaktu se dřevem a kvasí za přítomnosti kalů. Aktivně rostoucí kvasinky mění společně s těkavými látkami dřeva sensorický profil vína [20]. U bílých vín probíhá zrání dvěma různými způsoby. Metoda sur-lie využívá redukční síly kvasinek, které předávají vínu aminokyseliny a jednodušeji se pak odbourávají kyseliny. Víno se stáčí před ukončením kvašení a zrání probíhá s čistými jemnými kvasnicemi [4].

Druhou metodou je kvašení s promícháváním kvasnic („batonage“). Díky průběžnému promíchávání se kvasinky udržují v celém objemu vína a víno neoxiduje. Promícháváním získává bílé víno hladší chuť [4].

2.3.7.1 Odrůdy bílého vína

Jednou z odrůd vhodné ke zrání v kontaktu se dřevem patří Chardonnay. To bývá charakteristické plnou, extraktivní strukturou s dobrým tělem. Zároveň má charakterní ovocné, krémové aroma, které dobře ladí s vanilkovými a dřevitými tóny [5, 51].

Další typickou odrůdou je Ryzlink rýnský, který má charakteristickou dobrou strukturu, plnost a vysoký obsah extraktivních látek, které kladně korelují s fenolickými sloučeninami obsaženými ve dřevě. Zároveň se Ryzlink vyjímá dobrou kyselostí, která udržuje svěžest vína i po aromatizaci [5, 51].

Sauvignon Blanc má intenzivní a výrazné přírodní aroma bylinek a citrusů, která dobře koreluje především s dřevitými tóny získanými ze dřeva. Pokud jsou hrozny Savignonu více vyzrálé, víno má vyšší plnost a lépe interaguje s fenolickými sloučeninami a taniny dřeva [5, 51].

2.3.8 Červené víno

Červené víno dochází do styku se dřevem až po veškerých kvasných procesech – tedy ve fázi zrání, kdy probíhá extrakce, mikrooxidace, stabilizace barev a dochází k obohacení vína o nové sloučeniny (především taniny a další fenolické sloučeniny) [4]. Zejména v suchých červených vínech s kyselejší pH podporuje aromatizace s prostupem kyslíku stabilizaci barvy díky tvorbě proanthokyanových skupin [38]. Zároveň je aromatizace vhodná pro vína s vyšším obsahem tříslovin [48].

2.3.8.1 Odrůdy červeného vína

Jednou z nejpoužívanějších odrůd je Cabernet Sauvignon kvůli jeho hutné taninové struktuře, která napomáhá komplexní vyzrání během kontaktu se dřevem [46, 48].

Naopak Merlot obsahuje jemnější třísloviny. Ty dodávají vínu ovocné aroma, které dřevo při zrání ještě více podpoří. Stejně jako Merlot i Pinot Noir má jemnou strukturu tříslovin s výrazně ovocným aroma, které je aromatizací podpořeno v kontaktu se dřevem [49].

2.4 Chemické látky přecházející z dřeva do vína

Nejdůležitější z rozkladu dřevěných biopolymerů je degradace ligninu, který vytváří těkavé fenoly, které se postupem času extrahují z dřeva do vína [20]. Celkově se děje několik reakcí, jako je oxidace, esterifikace, polymerace, Mailliardova reakce, polykondenzace a zároveň se odpařují těkavé látky anebo se jejich koncentrace zvyšují [27]. Ve víně při zrání se dřevem klesají koncentrace terpenových alkoholů, esterů, aldehydů a norisoprenoidů. Tyto ztráty souvisí s rozdílnými kyselými a zásaditými polárními charakteristikami dřeva a vína [29].

2.4.1 Procesy zrání vína v kontaktu s dřevem

Během macerace probíhá několik důležitých reakcí, které silně ovlivňují výsledný sensorický profil vína. Díky těmto reakcím se zvyšuje komplexnost aroma, zjemnění chuti extrakcí fenolických látek a oxidace díky pórovitosti dřeva, která stabilizuje barvu a zjemňuje svíravost. Zároveň se zvyšuje antioxidační kapacita vína [37].

2.4.1.1 Mikrooxygenace/mikrooxidace

Při zrání vína se dřevem probíhá samovolné čiření a neustálá difúze kyslíku skrz dřevěné póry spojené s extrakcí aromatických látek ze dřeva do vína [25].

Během zrání mají oxidační reakce při kontaktu dřeva s vínem vliv na organoleptické vlastnosti vína. Kyslík reaguje s fenolickými sloučeninami ve víně, kde dochází k polymeraci a tvorbě pigmentů. Tento přesun kyslíku pomáhá vínu stabilizovat barvu, snižovat svíravost vína a odstraňuje nepříjemné travnaté dochutě. Působením kyslíku na ethanol vzniká acetaldehyd, který dále reaguje s flavonoly [10, 11].

Barikové sudy, ve kterých víno zraje, mají neustálý přísun kyslíku před póry lamel. Pokud jsou použity alternativní produkty, je nutno do vína doplnit obsah kyslíku mechanicky. Tato technika je nazývána mikrooxygenace. Takto lze kontrolovat obsah a rychlost přestupu kyslíku. Pokud je difúze urychlena, kyslík podporuje rychlejší proces oxidace polyfenolů, ale negativně ovlivňuje tvorbu stabilních barevných pigmentů [25, 38].

2.4.1.2 Vliv taninů

Při konzumaci vína má kombinace ellagitaninů s kondenzovanými taniny, které v ústech interagují se slinnými proteiny, vliv na svíravou chuť vína. Při vyšších teplotních úpravách ellagitaniny snadno oxidují a tím neumožňují kondenzovaným taninům oxidovat [9].

Při působení kyslíku za vzniku acetaldehydu vznikají taninové a tanino-anthokyanové komplexy, které tvoří stabilnější pigmenty [15].

2.4.2 Fenolové sloučeniny

Fenolové sloučeniny mají vliv na barvu, trpkost, hořkost a aroma vín při maceraci se dřevem. Je také kladen důraz na jejich biologickou aktivitu, která má vliv na antioxidační vlastnosti výsledného vína [13, 14].

2.4.3 Těkavé fenolové sloučeniny

Společně s guajakolem se eugenol řadí mezi těkavé fenolové sloučeniny. Jejich množství ve dřevě závisí na způsobu kořenění a teplotou jejich ožehnutí. Tyto těkavé fenoly jsou společně furfuraly nejvíce koncentrované ve dřevě, které ještě nebylo v kontaktu s vínem [33].

2.4.3.1 Eugenol

Eugenol se řadí do skupiny těkavých fenypropenů, které jsou v bobulích vázány na glykosidy. Obsah eugenolu roste při zrání vína v kontaktu se dřevem a jeho obsah závisí na degradaci ligninu. Společně s vanilinem a jeho sloučeninami je eugenol deskriptor sladkých tónů vína. Sám o sobě je charakter eugenolu ve víně vnímán jako pikantní až hřebíčkový [24, 30].

2.4.3.2 Guajakol

Obecně je připisováno guajakolu kouřové aroma. Guajakol (2-metoxyfenol) a jeho deriváty (4-methylguajakol a ethylguajakol) vznikají dekarboxylací fenolových kyselin způsobené kvasinkami. Koncentrace všech guajakových derivátů je závislá na jejich prekurzorech (kyselina p-kumarová a kyseliny ferulové) a na množství kvasinek a jejich aktivitě. Množství kvasinek roste se stářím použitého dřeva. Ethylguajakol společně s ethyfenolem je prekurzorem koňského nebo zvířecího aroma [39].

2.4.4 Fenolové kyseliny

Typické sensorické rysy aromatizovaných vín mají na starost převážně fenolové deriváty kyseliny benzoové a skořicové [14]. Fenolové kyseliny vznikají oxidací jednotlivých alkoholů vzniklých z ligninu [40]. Mezi takové kyseliny patří také hydroxybenzoové kyseliny, jako je kyselina p-hydroxybenzoová, protokatechová, gallová, vanilová a syringová [15].

2.4.4.1 Kyselina p-hydroxybenzoová

Stejně jako ostatní fenolové kyseliny odvozené od hydroxybenzoové i kyselina p-hydroxybenzoová je závislá na množství přísunu kyslíku a stupni opálení. S vyšší teplotou opečením dřeva koncentrace kyseliny p-hydroxybenzoové klesá. Její aldehydy mohou způsobit namodralou barvu vína kvůli interakci s athokyany [15].

2.4.4.2 Kyselina protokatechová

Kyselina protokatechová je jednoduchá fenolická kyselina odvozená od katecholu. Přirozeně se vyskytuje v různých rostlinách, bobulích, ořechách, ovoci a zelenině [46]. Tato kyselina také vzniká konverzí kyseliny vanilové nebo oxidací kyseliny p-hydroxybenzoové [40]. S rostoucí teplotou opékání roste její obsah [15]. A zároveň roste antioxidační kapacita vína, stejně jako u kyseliny ellagové, gallové a vanilové [37].

2.4.4.3 Kyselina ferulová

Tato kyselina vzniká mírnou oxidací koniferaldehydu původem z ligninu [40]. Kyselina ferulová se vyskytuje v semenech a listech zeleniny nebo ovoci, volně je obsažena v buněčných stěnách dřeva [42]. Jako fenolická sloučenina vykazuje kyselina ferulová antioxidační aktivitu, což může chránit víno před oxidací a stárnutím [43]. Zároveň je prekurzorem syntézy vanilinu [44].

2.4.4.4 Kyselina syringová

Kyselina syringová může přispívat k celkovému aroma a chuti vín svými kořenitými, dřevitými a zemitými tóny. Ve vyšších koncentracích může dodávat i mírnou hořkou příchut' a spolu s dalšími fenolickými sloučeninami může kyselina syringová ovlivňovat také stabilitu barevných pigmentů a antioxidační aktivitu vín. Stejně jako kyselina vanilová a vanilin i koncentrace kyseliny syringové narůstá v průběhu zrání [40, 45]

2.4.4.5 Kyselina vanilová

Kyselina vanilová, jak již z názvu vyplívá, je zodpovědná za charakteristické vanilkové aroma. Ve vzájemné interakci s jinými aromatickými látkami z dubu přispívá k celkovému "dubovému" buketu vína [18]. Její syntéza může vést přes kyselinu ferulovou. Kyselina vanilová může reagovat s vinnými taniny (převážně s kondenzovanými) a ovlivňovat tak strukturu, plnost a trpkost vína [44]. Stejně jako ostatní deriváty kyseliny hydroxybenzoové působí jako antioxidant [15].

2.4.5 Fenolické aldehydy

Tyto fenolické sloučeniny mají hlavní podíl na senzorický charakter vína. Mezi fenolické aldehydy se řadí převážně aldehydy temrodegradované z ligninu, jako je syringaldehyd a vanilin, a mají výrazný vliv na organoleptické vnímání aromatizovaného vína [30].

2.4.5.1 Vanilin

Stejně jako kyselina vanilová je vanilin hlavní prekurzor vanilkového aroma. Vanilkový charakter je podporován více látkami (syringaldehyd, laktony whisky a další těžké sloučeniny). Vanilin vzniká tepelnou degradací ligninu přes kyselinu vanilovou a jeho obsah je tedy přímo závislý na stupni opečení dřeva [18]. Z organoleptického hlediska je tento aldehyd nejvýznamnější nízkomolekulární sloučenina. Jeho práh vnímání je 60 µg/l [15]. Syntéza vanilinu vede přes několik sloučenin, jako je kyselina hydroxyskořicová, benzaldehydy a jejich konjugovaných derivátů [44].

2.4.5.2 Syringaldehyd

Podobně jako vanilin, je také syringaldehyd tepelně degradován z ligninu. Oproti vanilinu má tento fenolický aldehyd vyšší práh organoleptického vnímání (15 mg/l), ovšem jeho typické aroma je spíše negativně zapáchající [18].

2.4.6 Hydrolizovatelné taniny

Mezi tyto sloučeniny se řadí převážně deriváty kyseliny gallové a ellagové. Jsou získávány během procesu macerace. Tyto taniny a jejich deriváty společně s kyselinou ellagovou mají při biologických procesech antioxidační, antimikrobiální, protirakovinné, protizánětlivé, kardioprotektivní, gastroprotektivní a neuroprotektivní účinky. Tyto zdraví prosperující látky jsou ale stále přítomny v lihovinách, kde naopak působí ethanol, který je zdraví škodlivý [27].

2.4.6.1 Gallotaniny

Z chemického hlediska jsou gallotaniny polyfenolické sloučeniny odvozené od glukózy esterifikované kyselinou gallovou (např. penta-O-galloyl-β-D-glukóza). Z gallotaninů jsou v rámci tepelného zpracování dřeva produkovány bioaktivní látky, jako jsou glykosidy a esterové deriváty. Tyto deriváty mají různou reaktivitu vůči kyslíku a interakce s kyslíkem může způsobit následnou degradaci gallotaninů během stárnutí [27].

2.4.6.2 Elagitaniny

Patří mezi nejvíce zastoupené uvolněné fenolické sloučeniny a jsou odvozené od kyseliny ellagové [21]. Tyto látky nejsou těkavé, a mají velký vliv na texturu a chuť vína [11]. Z celkové hmotnosti dřevěného jádra tvoří až 10 % a přispívají k vysoké odolnosti dřeva před vnějšími faktory [12]. Ellagitaniny mohou být degradovány při opékání dřeva a extrahují se do vína prostřednictvím kondenzace, hydrolyzy a dalších oxidačních reakcí [25]. Tzn., že se koncentrace ellagitaninů snižuje s rostoucím stupněm opékání dřeva [30].

Při vyšším obsahu ellagitaninů v červeném víně se barva vína mění v kontaktu se dřevem pomaleji, pomaleji se degradují anthokyany a pomaleji se tvoří pigmentové taniny [8]. Díky jejich reaktivitě s kyslíkem působí ellagitaniny jako přírodní antioxidanty a chrání víno před oxidací [27].

Mezi ellagitaniny se především řadí izomery castalagin a vescalagin, které jsou nejhojnějšími v této kategorii [27]. Dále se do této skupiny řadí i lyxózy a xylózy, jako jsou grandinin a roburin E společně jeho dalšími formami roburinu A, B, C a D [12].

2.4.7 Kondenzované taniny

Stejně jako hydrolizovatelné taniny i kondenzované taniny mají pozitivní vliv na zdraví kvůli svým antioxidačním, protizánětlivým a kardioprotektivním vlastnostem [50]. V červeném víně ovlivňují kondenzované taniny především svíravost a hořkost v ústech. Tyto sloučeniny se skládají z různých forem flavan-3-olu, epikatechinu, katechinu, epigallokatechinu, epikatechinu-3-O-gallátu a jejich následných oligomerů nebo polymerů. Reakcí s anthokyany se podílejí na stabilizaci barvy červených vín. Jejich společná kondenzace v reakci tanin–anthokyanin zároveň snižují pocit svíravosti [9].

2.4.7.1 Flavonoly

Flavonoly jsou jednou z hlavních skupin flavonoidů nacházejících se ve víně, spolu s flavanoly, anthokyaniny a fenolickými kyselinami. Hlavními zástupci flavonolů jsou glykosidy kvercetin, myricetin a kaempferol [50]. S flavonoly reaguje sekundární acetaldehyd za vzniku karbokationtu, který je vysoce reaktivní. Nastává tak řetězová reakce s dalšími flavonoly nebo anthokyany za vzniku flavanolových nebo flavanol-anthokyanových polymerů, které mají na starost stabilizaci barvy vína [11]. Zároveň se jejich obsah v průběhu mikrooxidace kvůli jejich reaktivitě s kyslíkem snižují [15]. Oproti bílým vínům mají červená vína nižší hladiny flavonolů. To je způsobeno sraženinami během fermentace a stárnutí [50].

2.4.7.2 Katechiny

Katechiny se řadí mezi bezbarvé polyfenoly, které interagují s antokyany a podílí se na stabilizaci barvy [32]. Se zvyšujícím stupněm opečení roste i koncentrace katechinu, jelikož je stejně jako jiné ostatní fenolové sloučeniny degradován z ligninu [38].

2.4.7.3 Proantokyanidy

Tyto sekundární metabolity se vyskytují v hroznech, ale i kůře stromů a keřů. Jde o polymerizované fenoly z flavan-3-olů (katechiny a epikatechiny) spojené ve vazbách 4-8 nebo 4-6. Extrahují se z oplodí a jader hroznů. Společně s anthokyany stabilizují barvu červeného vína [23].

2.4.7.4 Kyselina ellagová,

V průběhu termodegradace při opékání dřeva se kyselina ellagová společně s kyselinou gallovou extrahuje do vína. Tato reakce probíhá kvůli redoxnímu charakteru molekul [27]. Zároveň snižuje oxidační hnědnutí vín, jelikož rychle absorbuje rozpuštěný kyslík a podporuje tvorbu acetaldehydu [31].

2.4.7.5 Kyselina gallová

Kyselina gallová je jedna z nejdůležitějších nízkomolekulárních složek hlavně pro zrání s dubovým dřevem. Obsah kyseliny gallové se zvýší v důsledku hydrolýzy ellagitaninů uvolněných ze dřeva. Vliv na obsah kyseliny má hlavně stupeň opečení dřeva, jelikož kyselina gallová je citlivá na teplo a její koncentrace je nepřímě úměrná ke stupni opečení dřeva [38]. Hladina kyseliny gallové také závisí na mikrooxidaci v rámci reaktivity kyslíku v průběhu zrání vína [27].

2.4.8 Furfuraly

Obecně furanové sloučeniny vznikají tepelnou degradací ligninu. Jsou tedy podobně jako ostatní sloučeniny z ligninu přímo závislé na stupni opékání a druhu kořenění [18].

Oproti vanilinu, který má sám silný vliv na vnímání aroma, furfural a 5-methylfurfural ovlivňují spíše vnímání aroma oktalaktonů než své vlastní. Furfuraly také podporují samotné aroma dřeva [30].

2.4.9 Laktony

Laktony migrují z dřeva ve formě cis a trans izomerů b-methyl-C-oktalaktonů, jinak také nazývané jako whisky laktony [22]. Laktony vznikají, na rozdíl od ostatních sloučenin původem z ligninu nebo celulózy, z lipidů a jsou přítomny již před opékáním dřeva. Ale stejně jako ostatní sloučeniny jsou ovlivněny dobou zrání a úrovní opečení dřeva [28].

Co se týče sensorického vnímání, laktony demonstrují kokosové až dřevité aroma [22]. Koncentrace laktonů se zároveň s vanilinem podílí na vanilkovém aroma a chuti vína [30].

2.5 Analýza vína

2.5.1 Stanovení fenolických sloučenin

2.5.1.1 Stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin (CFL)

Tato spektrofotometrická metoda je založena na redukci Folin–Ciocalteuova (F–C) činidla fenolickými sloučeninami za vzniku modře zbarveného komplexu, jehož intenzita je úměrná celkovému obsahu fenolů ve vzorku bez bližší specifikace fenolických látek. F–C činidlo je směs fosfowolframové ($H_3PW_{12}O_{40}$) a fosfomolybdenové kyseliny ($H_3PMo_{12}O_{40}$), které jsou používány jako oxidační činidlo a jeho absorpční rozmezí je 725–765 nm. Touto metodou lze stanovit obecný obsah fenolických antioxidantů.

Tato metoda je vhodná pro stanovení celkových fenolických sloučenin ve víně, díky jeho antioxidační aktivitě. Lee a kol. (2014) optimalizovali podmínky pro stanovení fenolických sloučenin ve víně pomocí Folin–Ciocalteuovy metody jak manuálně, tak instrumentálně pomocí HPLC. Obojí stanovení provedli podle kalibrační křivky kyseliny gallové. 80 μ l desetkrát zředěného vína nebo kalibrační řady zředili s 4,5 ml vody a přidali 50 μ l F–C činidla. Tato směs byla po 5 minutách smíchána s 0,75 ml Na_2CO_3 o koncentraci 0,2 mg/l, se kterým se nechala reagovat po dobu 120 minut a následně byly vzorky proměřeny spektrofotometricky při vlnové délce 760 nm.

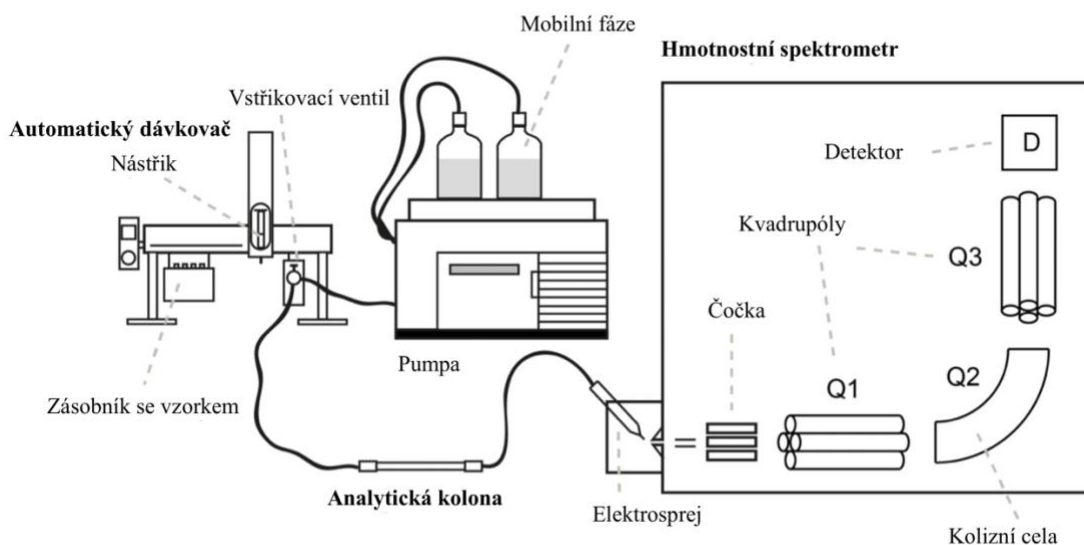
Směs F–C činidla s Na_2CO_3 vytváří ideální zásadité prostředí pro barevné oxidované formy wolframu a molybdenu. Stanovení celkového obsahu fenolických sloučenin závisí na mnoha faktorech, jako je odrůda vína, ročník, původ vinné révy [52–55].

2.5.1.2 Kapalínová chromatografie

Kapalínová chromatografie využívá rozdíly afinit jednotlivých sloučenin obsažených ve vzorku, který je injektován do vyhovující mobilní fáze (např. směs voda a acetonitril). Vzorek byl nastříknut a pumpou přenesen mobilní fází do kolony, která obsahuje stacionární fázi (nejčastěji C18 chemicky vázaný na křemičitý nosič). Zde dochází k separaci jednotlivých složek obsažených ve vzorku na základě rozdílných afinit se stacionární fází. Separované složky jsou následně unášeny mobilní fází z kolony a jsou transportovány do tandemové techniky, která je propojena s LC systémem. Transport probíhá přes rozhraní, které upravuje stav separovaných složek pro následnou detekci [56].

Vhodných tandemových technik pro kombinaci s LC je několik. Mezi takové techniky se řadí nukleární magnetická rezonance (NMR), která charakterizuje strukturu a čistotu separovaných složek, nebo lze využít infračervenou spektrometrii (IR), která identifikuje funkční skupiny separovaných látek pomocí infračervených spekter. Dále lze použít UV/VIS spektrometrii, která detekuje a kvantifikuje látky absorbující ultrafialové a viditelné záření. Nejpoužívanější tandemovou technikou s kombinací s kapalínovou chromatografií je hmotnostní spektrometrie (MS), která dokáže identifikovat a charakterizovat separovanou látku i její strukturu [71]. Do hmotnostního spektrometru se separované látky přemísťují mobilní fází pomocí iontového zdroje, kde dochází k ionizaci elektrosprejem (ESI), nebo chemickou ionizací za atmosférického tlaku (ACPI). Tyto ionizované analyty putují do vakuové části hmotnostního spektrometru – hmotnostního analyzátoru [56].

Hmotnostní analyzátor (např. kvadrupól, TOF, iontová past) separuje ionty na základě jejich poměru m/z (hmotnost/náboj), což následně detektuje a vysílá signál úměrný množství iontů do hmotnostního spektra. Jednotlivé zobrazení (chromatogramy) intenzit signálů (m/z) se zaznamenávají v určitých retenčních časech. Tímto lze identifikovat jednotlivé sloučeniny a také určit jejich koncentraci ve vzorku díky plochám píků podle kalibrovaných standardů [56].



Obrázek 2.5.1.1 – Schéma LCxMS s elektrosprejem a kvadrupólem – upraveno [68]

Touto metodou lze realizovat komplexní analýzu organických látek ve víně, jako jsou sacharidy, fenolické sloučeniny, anthokyany, aromatické látky, organické kyseliny, aminokyseliny, sacharidy nebo také kontaminanty (pesticidy a mykotoxiny) [56]. Nejvhodnější ionizační technika je ESI nebo APCI a pro lepší citlivost je vhodná detekce v negativním módu, kdy se stabilizují ionty deprotonací (odštěpení H^+ z hydroxylových skupin) a tím se zvyšuje citlivost a odezva [58]. Spektrum využívaných analytických režimů v rámci organické analýzy vín je značně široké. Pro tyto účely se využívá chromatografie jak v konfiguraci s normální, tak i reverzní fází [57].

Pro analýzu fenolických látek je možno využít různé typy chromatografických kolon naplněné porézními silikagelovými nebo polymerními částicemi (s reverzními fázemi C18, C8, C4 nebo s chemicky vázanými polárními funkčními skupinami amino-, kyano-, -dioly) [70]. Pro identifikaci fenolických látek je nejčastěji volena vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s reverzní fází C18 a jako mobilní fáze gradient vody s methanolem/acetonitrem nebo kyselinou mravenčí/octovou [57].

Pomocí retenčních časů a UV/VIS spektra lze určit prvotní skupinu sloučenin a následně pomocí hmotnostního spektra molekulových iontů a fragmentů určit přesnou strukturu. Koncentrace jednotlivých sloučenin se následně zjišťuje z kalibračních křivek jednotlivých standardů o známé koncentraci – jejich kalibračních řad s plochami píků na chromatogramu [57].

V rámci dostupné literatury lze usoudit, že LCMS je vhodná technika pro analýzu aromatizovaných vín. Jaitz a kol. (2010) studovali pomocí LS–MS fenolické sloučeniny červeného vína podle jejich původu. Mezi tyto fenoly patřily např. kyselina gallová, kávová, p-kumarová, ferulová nebo katechin a epikatechin. Kvantifikace vybraných fenolů byla provedena pomocí LC–MS/MS v režimu negativní ionizace na hmotnostním spektrometru 6410 s trojitým kvadrupólem od Agilent Technologies (USA) vybaveném rozhraním elektrosprejové ionizace (ESI). Jako desolvatační a srážkový plyn byl použit plynný dusík. Hmotnostní spektrometr byl připojen k systému kapalinové chromatografie (1200 série, Agilent). Systém se skládal z čerpadla kvartérního gradientu, autosampleru, odplyňovače a kolonového termostatu. Separace reverzní fáze C-18 byla provedena na koloně Rapid Resolution HT 2.1x50 mm s průměrem částic 1,8 μm (Agilent). Pro ovládání přístroje a zpracování dat byl použit software Mass Hunter [73].

Směsí A byl roztok 1 % acetonitrilu a 0,1 % kyseliny mravenčí ve vodě a směs B byl roztok 1 % vody a 0,1 % kyseliny mravenčí v acetonitrilu. Průtok byl nastaven na 0,4 ml/min, teplota kolony byla nastavena na 20 °C a vstříkovaný objem byl 2 μl. Časový průběh gradientu byl nastaven následovně: 2 % směsi B do 1,5 min, 45 % směsi B do 11,25 min, do 12,75 min 70 % směsi B a při 12,82 min se směs B vrátila na původní podmínky 2 % [73].

Slaghenauří a kol. (2016) studovali chemické sloučeniny jako prekurzory pro chuť vanilky při zrání brandy v dubových sudech. Mezi takové sloučeniny byly zařazeny sloučeniny vanilinu a galloylglukosidů, které byly v brandy identifikovány pomocí LC–ESI–MS analýzy. Autoři tuto metody optimalizovali pomocí kapalinového chromatografu Agilent 1260 (USA), který se skládá z autosampleru vybaveným termostatem, odplyňovače, binárního čerpadla a automatického injektoru s nahřívacem Agilent 1290 [72].

10 μl vzorku bylo injektováno pomocí kolony Zorbax Eclipse plus C18 (délka 100 mm, průměr 4,6 mm a tloušťka filmu 3,5 μm). Teplota kolony byla nastavena na 40 °C. Binární gradient byl roztok 0,1 % kyselinou mravenčí ve vodě (směs A) a roztok 0,1 % kyseliny mravenčí v acetonitrilu (směs B). Průtok byla nastaven na 0,4 ml/min s následujícím programem: počínaje 10 % směsi B na 2 minuty, stoupáním na 45 % po dobu 18 minut a na 100 % za 5 minut. Kolona byla znovu ekvilibrována 6 minut před další injekcí [72].

HPLC byla propojena s hmotnostním spektrometrem Agilent 6340 Triple Quadrupol. MS analýza byla nastavena v negativním módu. Jako nebulizér a kolizní plyn byl použit plynný dusík. Iontový zdroj byl nastaven na -400 V, plynný nebulizér na 40 ψ a teplota zdroje na 350 °C [72].

González–Centeno a kol. (2016) studovali obsah ellagitaninů a volatilní látky vína zrajícího v různě vypálených dubových sudech pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie v kombinaci s UV/VIS a hmotnostním spektrometrem. Mezi studované ellagitaniny patří castalagin, vescalagin, grandini a roburiny A–E [74].

Před analýzou bylo 120 μl vzorku nastříknuto na kolonu (55 mm x 25 mm), která byla naplněna pryskyřicí TSK WH 50F a ekvilibrována s 50 ml 0,4 % kyseliny mravenčí ve vodě. K vymytí kyseliny vinné a sacharidů ze vzorku bylo použito 50 ml kyselého rozpouštědla a poté bylo použito 100 ml kyselého roztoku kyseliny mravenčí, vody a methanolu (4/298/698), aby byly odstraněny neelagické polyfenoly. Ellagitaniny byly eluovány pomocí 100 ml směsi acetonu s kyselinou mravenčí a vodou (698/4/298) a za sníženého tlaku se směs odpařila. Zbylá krystalická složka byla rozpuštěna v 1 ml směsi 0,4 % kyseliny mravenčí ve vodě a přefiltrován přes filtr s 0,45 μm pórovitostí [74].

Pro identifikaci ellagitaninů byla použita kolona LiChrospher 100 RP18 (délka 250 mm, průměr 4,6 mm a vrstva filmu 5 μm) v reverzní fázi. Analýza byla provedena v systému Termo–Finigan Surveyor HPLC systém ve spojení s UV–VIS detektorem (Surveyor PDA Plus), autosampleru (Surveyor autosampler Plus) a kvartérního čerpadla (Surveyor MS pump Plus). Tento HPLC systém byl spojen s hmotnostním spektrometrem Termo–Finnigan LCQ Advantage s hmotnostním analyzátozem v iontové pasti [74].

Byl použit binární gradient s mobilními fázemi A a B. Směs A byla složena z 0,4 % kyseliny mravenčí ve vodě a směs B z 0,4 % kyseliny mravenčí v methanolu. Tok mobilní fáze byl nastaven na 1 ml/min a lineární gradient probíhal následovně: 0 % směsi B po dobu 5 minut, v průběhu 20 minut 3 % směsi B, růst na 20 % směsi B po dobu 50 minut, během 12 minut 100 % směsi B pro promytí kolony a zpět na 0 % B za 7 minut před další injekcí. Každá jednotlivá sloučenina byla identifikována a kvantifikována pomocí kalibrovaných molekulárních iontů standardů [74].

2.5.1.3 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je separační technika, vhodná pro uhlíkaté sloučeniny a jejich deriváty, které musí být tepelně stabilní a dostatečně těkavé [59].

Vzorek se přes nástřikový ventil nanese do vstupní části kolony, kde je okamžitě odpařen. Tyto páry putují mobilní fází (nejčastěji helium, dusík), kde dochází k opakované sorpci a desorpci jednotlivých složek na stacionární fázi v koloně. Separované složky následně různou rychlostí podle jejich vazebné interakce se stacionární fází putují ven z kolony do detektoru, ze kterého jsou signály separovaných analytů následně přeneseny do čitelné formy – chromatogramů. Ty zobrazují sílu signálu (koncentraci) v závislosti na retenčním čase (časová jednotka, ve kterém opouští separované analyty kolonu) [59].

Klíčovými parametry GC jsou účinnost separace (struktura kolony), rychlost analýzy (průtok plynu, teplota) a vlastnosti stacionární fáze (typ, polarita, tloušťka vrstvy) [59].

Kromě základních částí (zdroj plynu, nástřikový ventil, termostat, kolona, detektor) GC systémy obsahují řadu přídatných zařízení pro optimalizaci dávkování, detekce, regulaci průtoku a řízení experimentu [59].

Pro detekci separovaných složek slouží několik typů detektorů. Termoionizační detektor (TID), který využívá pro ionizaci organických látek žhavení kovového tělesa. Tato technika má účinnou citlivost pro uhlovodíkové analyty. Organické látky lze detekovat také pomocí tandemové techniky MS, která umožňuje identifikaci separovaných látek bez kalibrace standardů. Nejpoužívanějším detektorem je plamenově–ionizační detektor (FID) [75].

FID je jedním z nejběžnějších a univerzálních detektorů používaných v plynové chromatografii. Díky této metodě lze identifikovat organické sloučeniny a jejich koncentrace. Jeho princip spočívá ve vzniku iontů organických sloučenin během spalování v průtočném vodíkovém plameni. Analyt je přenášen z kolony do difúzního vodíkového plamene společně se zhášecím plynem (nejčastěji vzduch nebo O₂). Sloučeniny jsou v plameni ionizovány pomocí odtržení náboje od uhlíkových radikálů, které se uvolňují během spalování. Ionty putují v elektrickém poli k elektrodám a tím je měřen proud, který odpovídá množství ionizovaných látek [59].

K analýze vína touto metodou je nejprve potřeba vzorek podrobit extrakci (kapalina–kapalina) nebo mikroextrakci tuhou fází (SPME), která slouží k zakoncentrování těkavých sloučenin [52]. Koncentrace jednotlivých separovaných těkavých látek se odvíjí od retenčních časů a plochy píků v porovnání s kalibrovanými standardy [60].

Rubio-Bretón a kol. (2018) podrobili červená vína zrající s dubovými fragmenty nebo sudy s mikrooxygenací nebo bez plynové chromatografii s plynově ionizačním detektorem za účelem zjistit vývoj furfuralů, vanilinu, syringaldehydu a oktalaktonů. 5 ml vína se nejprve odstředilo 4000 ot/min při teplotě 0 °C po dobu 10 minut, aby se víno zbavilo pevných částic a nečistot. Následně bylo přidáno 9,5 ml nasyceného roztoku síranu amonného a 15 µl roztoku 2-oktanolu a 3,4-dimethylfenolu, což představovalo vnitřní standardy o koncentraci 50 mg/l, a 0,2 ml dichlormethanu. Tato směs byla ručně a následně horizontálně protřepána při 400 r/min na 60 minut. Směs byla odstředěna při teplotě 0 °C na 10 minut při 2500 ot/min. Poté byla vodná fáze odebrána a organická fáze byla přesunuta do mikrozkušavky a odstředěna při 0 °C na 5 minut při 13000 ot/min, aby se zrušila a oddělila veškerá vodná fáze. Organická fáze byla podrobena analýze GC s automatickým injektorem a FID [60].

Separace a detekce probíhala na plynovém chromatografu HP-6890 II s kolonou DB-WAX s délkou 50 m a průměrem 0,2 mm a 0,2 µm tlustou vrstvou stacionární fáze. Jako nosný plyn byl použit dusík s průtokem 0,6 ml/min. Nástřik byl proveden ve splitless režimu (30 sekund), kde bylo nastříknuto 2 µl vzorku. Teploty teplotního programu byly následovné: teplota injektoru: 250 °C, teplota detektoru: 275 °C (průtok H₂ byl 40 ml/min, vzduchu 450 ml/l, podpurného plynu – N₂ 40 ml/l). Teplotní průběh stoupal od počátečních 75 °C po dobu 5 minut po 3,7 °C/min až na 240 °C, což trvalo 15 minut, a následně se tato teplota držela 10 minut. Podle retenčních časů v porovnání se standardy byly identifikovány jednotlivé sloučeniny a podle kalibračních standardů byly zjištěny jejich koncentrace ve vzorcích vína. Vzorky vín byly změřeny před macerací a následně po 1, 2, 4, 6, 12 a 24 měsících [60].

Ortega-Heras a kol. (2007) analyzovali vliv procesu zrání a odrůdy na těkavost vína. Analyzovaly sloučeniny oktalaktonů (cis- a trans- izomery), furfuralů (furfural a 5-methylfurfural), vanilin, syringaldehyd, eugenol a guajakol. Tyto těkavé látky analyzovali pomocí metody GC-FID. Vzorek vína nejprve extrahovali metodou kapalina-kapalina, kdy použili 200 ml vína a 5 ml dichlormethanu a 50 µl vnitřního standardu. Celá extrakce probíhala bez přístupu kyslíku. Směs byla umístěna do ledové lázně a míchána 500 ot/min po dobu 3 hodin. Poté byla odseparována organická fáze a skladována při -80 °C [63].

Analýza probíhala pomocí plynové chromatografie za použití plamenově-iontového detektoru. Byla použita kolona 50 m x 0,25 mm karbowax BTR s 0,33 µm vrstvou filmu. Teplota vstřiku byla konstantních 220 °C a FIDu 250 °C. Jako nosný plyn zvolili tok 1,3 ml/min helia. Teplotní program byl zvolen následovně: 40 °C po dobu 8 minut, poté zvýšení na 85 °C po 10 °C/min po dobu 1 minuty, další zvýšení na 110 °C po dobu 2 minut se zvyšováním po 2 °C/min a nakonec po 3 °C/min zvýšení na 200 °C po dobu 40 minut [63].

Izolované píky byly porovnány podle retenčních časů se standardy, které byly předem analyzovány v MS a identifikovány podle knihovny Wiley 275. Jejich koncentrace byly určeny podle plochy píků jednotlivých kalibračních koncentrací standardů a měřených vzorků [63].

Koussissi a kol. (2009) studovali vliv opékání dubových chipsů na zrání červeného vína (odrůda Aghiorghitiko, Recko 2004). Vzorky vín byly podrobena analýze GC na pevné fázi v headspace (HS-SPME-CGC). Ke 13 ml vína bylo přidáno 2 g NaCl a magnetické míchadlo. Po dobu 30 minut při 30 °C byly vzorky míchány při 300 ot/min. Do horní vrstvy bylo ponořeno vlákno Stableflex Divinylbenzen/Carboxen/Polydimethylsiloxan v držáku vláken Supelco. Těkavé látky byly adsorbovány 30 minut. Vlákno bylo okamžitě desorbováno při 230 °C po dobu 5 minut ve splitless injektoru (s SPME) [19].

Analýzy pomocí GC (Hewlett Packard, HP 6890 s FID) probíhala pomocí kapilární kolony potažené DB–WAX (délka 30 m a průměr 0,251 mm s vnitřním filmem 0,25 µm, JW Scientific, USA) s injektorem a detektorem při 230–250 °C. Nosným plynem byl zvolen dusík s průtokem 1,5 ml/min. Teplotní program byl zvolen následovně: Po dobu 4 minut byla teplota 54 °C a dál rostla po 6 °C/min až na 195 °C na 3 minuty. Po 2 °C/min stoupala teplota na 230 °C, kde se držela 10 minut [19].

Byly analyzovány celkem čtyři sloučeniny – furfural, guajakol, cis a trans izomery oktalaktonů, které byly identifikovány pomocí kalibrace standardů v rozsahu 40–500 µg/l ve vodném ethanolu [19].

2.5.2 Stanovení organických kyselin

2.5.2.1 Iontová chromatografie (IC)

Iontová chromatografie se používá pro separaci a stanovení anorganických iontů a nízkomolekulárních organických kyselin jako jsou např. vinná, jablečná, citronová kyselina. Díky tomu lze sledovat změny obsahu organických kyselin při JMF. Iontovou chromatografií lze také stanovit obsah siřičitanů ve víně [62].

Příprava vzorku pro měření obsahuje pouze případnou filtraci a ředění. Jako mobilní fáze se pro organické kyseliny používá zředěná kyselina sírová. Jako detekční technika byla použita vodivostní detekce, která umožňuje citlivé stanovení iontových analytů díky jejímu dynamickému rozsahu a citlivé detekce. Je vhodná pro stanovení kationtů i aniontů. Pro stanovení pouze organických kyselin bez stanovení anorganických iontů je vhodnější UV detekce [61].

2.5.3 Stanovení barvy vína

Touto spektrofotometrickou metodou lze stanovit polymerní pigmenty vína a jeho stáří (taniny a anthokyany). Díky tomu lze odhadnout i způsob výroby vína (podle přídatku SO₂). Metoda se zakládá na rozlišení barevných kategorií podle vlnových délek: 420 nm (žlutá), 520 nm (červená) a 620 nm (modrá/fialová) [38].

Martínez-Gíl a kol. (2022) studoval evoluci červeného vína v 8 různě vypálených dřevěných sudech z francouzského dubu s různou rychlostí mikoroxigenace a změnu fenolických sloučenin a barvy vína spektrofotometricky. Barevné parametry byly měřeny při vlnových délkách 420, 520, 620 nm v kyvetě z křemenného skla pomocí spektrofotometru PerkinElmer LAMBA 25 UV/VIS. Studovali intenzitu barvy vína, jeho odstín a procentuální zastoupení volných nebo kombinovaných iontů anthokyanů [38].

2.5.4 Senzorická analýza vína

Senzorická analýza vína je vědecká disciplína závislá na 3 smyslových vjemech – zrak, chuť a čich. Touto metodou lze určit širokou charakteristiku vína od jeho doby zrání, typu odrůdy, původu až po harmonii vůní a chutí a jejich cizorodé podtóny [64].

Víno lze zhodnotit podle bodovacího řádu O.I.V. (z franc. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin – Mezinárodní organizace pro révu a víno). Tento bodovací systém má čtyři kategorie. Vzhledově se hodnotí čírost, hustota a barva (sytnost nebo zákal) oproti bílému pozadí. Vůně se posuzuje podle její intenzity, jemnosti a kvality a stejně tak se hodnotí i chuť. Poslední kategorií je celkový dojem z vína [64].

Cano-Lopez a kol. (2007) aktualizovali postup senzorické analýzy červeného vína zrajícího s dubovými štěpkami v nerezové nádrži nebo použitých dubových sudů. Použili dvě různé cesty podle norem Španělské asociace pro normalizaci a certifikaci [39].

První byla použita rozhodovací analýza (DA – decision analysis) pro profilaci barvy vína, vůně a chuti, které se zúčastnilo osm odborníků v ideálním podmínkách. V rámci vůně byla hodnocena intenzita aroma, jeho kvalita a cizorodost – vanilka, dřevo, koření, kouř, byliny a koňské aroma. Na chuti hodnotili odborníci intenzitu chuti, její harmonii, plnost, perzistenci, hořkost a svíravost. Veškeré faktory byly hodnoceny na stupnici od 0 do 9 podle intenzity – 0 = nebyl vnímán deskriptor, 9 = vysoká intenzita [39].

Jako druhá analýza byl použit trojúhelníkový test podle normy ISO 4120. Při použití této metody nemusí být hodnotitelé odborně vyškolení. Principem této metody bylo nechat hodnotitele, aby ze tří vzorků rozpoznali, který je odlišný a podle toho byla vyhodnocena statická analýza správných úsudků a veškerých úsudků [39].

Ana M. a kol. (2018) studovali odrůdu vína Carménère s dubovými lupínky po dobu 90 dnů. Jejich senzorická analýza probíhala podle norem ISO 8589 (2007) se účastnilo 10 odborníků (8 mužů a 2 ženy). Všechny degustace byly provedeny se 30 ml vína v průhledných sklenicích podle normy ISO 3591 (1977). Mezi každým vzorkem si hodnotitelé vypláchli ústa, snědli několik obyčejných sušenek po dobu 45 sekund a dalších 30 sekund proplachovali ústa vodou [16].

Hodnocení bylo založeno na 15 atributech nebo deskriptorech a rozděleno do dvou kategorií. Každá hodnocená vlastnost byla hodnocena na škále od 1 do 7. První kategorií byly čichové znaky (intenzita aroma, fermentace, odrůdový charakter a podtóny: ovocný, dřevitý, kořenitý, hřebíčkový, kouřový, vanilkový, mandlový, kokosový nebo více než dřevitý). Do druhé kategorie spadala chuťová charakteristika – svíravost, perzistence a harmonie [16].

2.6 Statistická analýza dat

2.6.1 Analýza rozptylu (ANOVA)

Analýza rozptylu (ANOVA – z angl. Analysis Of Variance) je statistická metoda, která slouží k porovnání středních hodnot dvou a více skupin najednou. Lze ji využít v technické praxi jako samostatnou analytickou techniku, nebo díky ní zjistit výchyly (a jejich původ) v lineárních statistických modelech. Jde tedy o určení významnosti faktorů ovlivňující linearitu výsledných dat, jako je lidský faktor, vliv měřicí techniky, příprava vzorku nebo laboratorní podmínky (teplota, čas, tlak atd.). Tyto faktory se poté testují hypotézou určující významnost faktorů ovlivňující linearitu a následně se rozděluje jejich vliv do jednotlivých složek [69].

Principem celé techniky je nulová hypotéza, kdy se testuje, zdali si jsou skupinové průměry rovny bez odchylek. Pokud je tato hypotéza zamítnuta, je potvrzeno, že jsou jednotlivé průměry od sebe odchýleny. Celková variabilita je dána součtem čtverců odchylek od celkového průměru. Analýzu rozptylu lze rozdělit podle faktorů ovlivňující hodnoty na jednofaktorovou (ANOVA) a vícefaktorovou analýzu (MANOVA) [65].

2.6.2 Analýza hlavních komponent (PCA)

PCA (Principal Component Analysis Essentials) je statistická analýza, která zjednodušuje zpracování dat pomocí identifikace skrytých vzorů a zvýraznění hlavních zdrojů variací dat. PCA zahrnuje hledání jednodušší kombinace k redukci faktorů ovlivňující linearitu dat. Data jsou transformována do nových lineárních kombinací (hlavní komponent – PC). PC jsou vzájemně nekorelované a seřazené podle variability. První PC definuje maximum variability a druhý PC maximum zbývajících variabilit. Využívá se pro redukci šumu např. pro vizualizaci a identifikaci vzorků a shluků v datech [66].

Jde tedy o linearizaci původních proměnných s maximalizovaným rozptylem podle PC. Konečný výsledek je tedy redukce nekorelovaných hlavních složek a shrnutí dat podle prvního hlavního komponenta do lineární kombinace [66].

2.6.3 Korelační analýza

Tato statistická metoda využívá korelační koeficienty, které zjišťuje sílu lineárního vztahu mezi dvěma a více proměnnými. Je nutno uvést další statistické faktory, jako je velikost, hladina významnosti a interval spolehlivosti. Korelační analýza ukazuje existenci lineární závislosti a může být nepřesná kvůli odlehlým hodnotám či vychýlením třetí proměnné [67].

Nejčastěji se k této korelační analýze využívá Pearsonův korelační koeficient pro data s normálním rozdělením, který pracuje s indexem lineárního vztahu mezi dvěma proměnnými v rozptylu $\langle -1; 1 \rangle$, což symbolizuje dokonalý záporný nebo kladný vztah hodnot. V případě odlehlých případů, které korelaci vychylují, je vhodné využít jiné korelační koeficienty jako je Spearmanův a Kendallův [67].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení

Laboratorní sklo (Simax), automatické pipety, plastové zkumavy, vialky s plastovým uzávěrem a septy, květy, plastové špičky, stříkačky s mikrofiltry, parafilm, průhledné plastové kelímky, mikrozkuhavky

3.1.1 Chemikálie

p-hydroxybnezoová kyselina, gallová kyselina, syringová kyselina, protokatechová kyselina, ellagová kyselina, vanilin, vanilová kyselina, síran sodný, dichlormethan, furfural, 5-methylfurfural, 2-hydroxy-5-methylfurfural, uhličitan sodný, Folin-ciocalteuovo činidlo, methanol, kyselina mravenčí

3.1.2 Použité přístroje

Analytické váhy, automatické pipety, třepačka GFL 3006, centrifuga BOECO C-28-A, centrifuga Eppendorf minispin plus, plynový chromatogram TRACE GC (ThermoQuest Italia S.p.A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, Specord 250, iontový chromatograf 850 Professional IC 1, Agilent Technologie 1260 InfinityLab, (LC/MSD Series, USA)

3.2 Macerace vína dřevěnými chipsy

3.2.1 Použité dřevěné chipsy

Tabulka 3.2.1.1 – seznam použitých dřevěných chipsů, jejich klasifikace a označení

Název	Stupeň opečení	Latinský název	Země původu	Ozn.
Akát chips	Nepražené	Robinia pseudoacacia	Německo	AK
Morušové dřevo	Nepražené	Morus Alba	Německo	MO
Santalové dřevo	Nepražené	Santalum Album	Německo	SA
Cedrové třísky	Nepražené	Cedrela odorata	Španělsko	CE
Francouzský dub Vanila	Střední	Quercus alba	Německo	DV
Quassiové dřevo řezané	Nepražené	Quassia Amara	Jamajka	QU
Guajak dřevo řezané	Nepražené	Guaiacum officinale	Mexiko	GU
Dubový chips medium	Střední	Q. alba, Robur, Patrea	Francie	DM
Dubová drť heavy	Silné	Q. Alba, Robur, Patrea	Francie	DH

3.3 Použité víno

Pro maceraci bylo použito víno Merlot od společnosti VINECO s.r.o. Chomutov, ČR, země původu: Španělsko. Víno obsahuje 13,0 % alkoholu.

3.4 Příprava vzorků pro maceraci

Vzorky vína se dřevem byla paralelně macerována po dobu dvou týdnů a dvou měsíců. Do 250 ml titračních baněk bylo nasypáno 1 g dřevěných chipsů a 150 ml vína. Baněky byly paralelně popsány zkratkou použitého dřeva pořadovým číslem pro dvoutýdenní nebo dvouměsíční odběr. Například vzorky s akátovým dřevem byly označeny pro dvoutýdenní maceraci jako AK 1A a AK 1B a pro dvouměsíční maceraci AK 2A a AK 2B. Hrdla baněk byla poté potažena dvěma vrstvami parafilmu a uchovány v lednici při teplotě 4 °C.

3.5 Stanovení celkových fenolických látek (CFL)

Celkový obsah fenolických látek v jednotlivých vzorcích byl stanoven pomocí Folin–Ciocalteuovy metody. 80 µl desetkrát naředěného vína, nebo kalibrační řady bylo smícháno s 4,5 ml destilované vody. Následně bylo přidáno 200 µl F–C činidla a vzorek byl po promíchání ponechán 5 minut v laboratorní teplotě. Po 5 minutách bylo přidáno 0,75 ml 0,2 g/ml Na₂CO₃ a takto připravené vzorky byly ponechány při laboratorní teplotě 2 hodiny. Po uplynulé době byly vzorky měřeny pomocí přístroje Specord 250 při vlnové délce 760 nm. Celkový obsah fenolických látek ve vzorcích vína byl stanoven jako ekvivalent koncentrace kyseliny gallové.

3.5.1 Příprava kalibrační řady kyseliny gallové

Pro kalibrační řadu bylo připraveno 5 roztoků kyseliny gallové o koncentracích 10, 20, 30, 40 a 50 mg/l. Tato kalibrační řada byla společně se vzorky proměřena podle stanovení fenolických látek.

3.6 Stanovení organických kyselin

Vzorky včetně standardního vína Merlot byly pětkrát naředěny a podrobeny analýze pomocí iontového chromatografu 850 Professional IC 1 s vodivostním detektorem. Jednotlivé měření trvalo 35 minut pomocí kolony Metrosep Organic Acids – 250/7.8 v toku 0,6 ml/min při tlaku 5,95 MPa a teplotě 30 °C. Takto byly také proměřeny standardní roztoky o koncentracích 20 mg/l.

3.7 Stanovení furfuralů pomocí plynové chromatografie

3.7.1 Příprava vzorků

Jednotlivé vzorky prošly extrakcí kapalina–kapalina. 3 ml vína byly smíchány s nasyceným roztokem Na₂SO₄ a 500 µl dichlormethanu do 10 ml zkumavky. Takto připravený vzorek byl horizontálně protřepán na třepačce GFL 3006 na 300 r/min po dobu 60 minut. Následně bylo víno odstředěno pomocí centrifugy BOECO C-28-A na 2500 ot/min na 10 minut. Po odstředění byla odebrána organická fáze do mikrozkušavky eppendorf a vložena na 5 minut do centrifugy Eppendorf minispin plus při 13000 ot/min. 250 µ organické fáze bylo odpipetováno od nečistot a vodné fáze do 1,5 ml vialky, naředěna 1:1 dichlormethanem a uzavřena víčkem s teflonovým septem.

3.7.2 Analýza GC–FID

Extrahované vzorky a standardy byly podrobeny analýze na plynovém chromatografu TRACE GC (Thermoquest S.p.A, Itálie) s plamenově ionizačním detektorem (FID), který byl nastaven na teplotu 275 °C, a s kapilární kolonou DB–23 (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Přístroj byl předehřát během 120 minut na 240 °C. Průtok vzduchu byl nastaven na 300 ml/min, průtok vodíku na 30 ml/min a makeup dusíku 30 ml/min. Nástřík byl nastaven na splittless režim (1 min) a teplota byla nastavena na 150 °C s průtokem 40 ml/min. Dávkování bylo provedeno autosamplrem bez děliče toku (1 µl) a ventil byl uzavřen na 5 minut.

Teplotní program byl nastaven následovně: 50 °C po dobu 2 minut, následně byla teplota konstantě zvyšována po 2 °C po dobu 30 minut, dokud nebylo dosaženo 200 °C. Tato teplota byla držena do konce analýzy po dobu 13 minut. Jedno měření trvalo 45 minut. Poté byla teplota zvýšena na 250 °C po dobu 9,5 minut.

3.8 Stanovení fenolických sloučenin pomocí kapalinové chromatografie

Pro analýzu fenolických sloučenin byl použit kapalinový chromatograf s hmotnostním spektrometrem Agilent Technologie 1260 InfinityLab, (LC/MSD Series, USA) s technikou ESI. Vzorky vín byly 2x naředěny methanolem do vialek s teflonovým septem.

Byla použita kolona Kinetex EVO C18 (250 m x 4,6 mm x 5 µm). Směsí A byl použit 90 % roztok kyseliny mravenčí (1 %) a směs B byl 10 % methanol. Měření probíhalo v negativním módu následovně: Bylo nastříknuto 5 µl vzorku a jeho průtok byl zvolen na 1 ml/min. Teplota kolony byla nastavena na 35 °C. Nosný plyn byl zvolen dusík při teplotě 325 °C s průtokem 10 ml/min. Napětí na kapiláře byla nastaveno na 3500 V. Celá analýza trvala 30 minut.

3.9 Stanovení barvy vína

Vzorky vín byly spektrofotometricky měřeny pomocí přístroje Specord 250 v sérii vlnových délek 420, 520 a 620 nm. Následně byla vyhodnocena jejich intenzita podle rovnice (1), odstín podle rovnice (2) a zákal podle rovnice (3). Podle odpovídajících tabulek 2.9.1 a 2.9.2 byly vyhodnoceny jejich parametry.

$$IC = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad (1)$$

Tabulka 3.9.1– vyhodnocení intenzity barvy červených vín

	IC [au]*
Světlá	3–5
Střední	5–8
Tmavá	8–12

*au – absorbance unit

$$H = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad (2)$$

Odstín červeného vína (H) by měl dosahovat hodnoty maximálně 0,8. Pokud jsou hodnoty odstínu vyšší, víno prošlo oxidativním stresem, při kterém dochází ke hnědnutí nebo oranžovění vína.

$$T = (23,4 \cdot A_{620}) + 1,43 \quad (3)$$

Tabulka 3.9.2 – vyhodnocení zákalu červeného vína

	T
Jiskřivý	<2
Čirý	2–4
Zamlžený	4–8

3.10 Senzorická analýza

Byly provedeny dva termíny senzorické analýzy, jeden po 14 dnech macerace vína a druhý po 2 měsících, kdy bylo vybráno celkem 10 hodnotitelů ve věku 18–44 let bez zkušeností, znalostí či odborné kvalifikace k hodnocení vína. Hodnotitelé hodnotili celkem 10 vzorků vína po 200 ml. Vzorky byly vytemperovány na pokojovou teplotu a nality do plastových průhledných kelímků, které byly následně přikryty jednou vrstvou parafilmu.

Celkem bylo hodnoceno 6 atributů. Vůně jednotlivých vzorků se hodnotila podle její výraznosti a cizorodosti, do které spadalo vanilkové, kouřové, ovocné, kávové, pepřové nebo žádné aroma. Do hodnocení chuti vína byla zahrnuta jeho plnost (neboli tělo), svíravost, perzistence a také cizorodost se stejnými atributy jako u aroma.

Hodnocení atributů bylo odvozeno od standardního vína Merlot, ze kterého byly všechny vzorky připraveny. Parametry standardního vína byly zvoleny jako hodnoty 5 a aromatizovaná vína byly hodnoceny na škále 1–10 podle odlišnosti v porovnání se standardem. U cizorodosti byl zvolen jeden atribut, který byl ve vzorku nejvíce výrazný. Nakonec hodnotitelé seřadili aroma, chuť a celkový dojem jednotlivých vzorků od 1–10.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Vliv aromatizace na CFL ve víně

Stanovení celkové koncentrace fenolických sloučenin bylo měřeno spektrofotometricky při vlnové délce 760 nm pomocí Folin–Ciocalteuovo činidla podle kalibrační řady kyseliny gallové. Výsledný obsah CFL jednotlivých vzorků jsou uvedeny v *tabulce 3.1.1*.

Tabulka 4.1.1–p–hodnoty a koncentrace celkových fenolických látek [mg/l]

Vzorek	Celkové fenolické látky [mg/l]*
Ref	486,566 ^{b,c} ± 0
AK 1	552,2017 ^d ± 4,0987
AK 2	476,5928 ^{b,c} ± 1,5671
SA 1	466,7901 ^{b,c} ± 35,6825
SA 2	468,1539 ^{b,c} ± 9,6439
MO 1	512,3941 ^{b,c} ± 11,2111
MO 2	474,0356 ^{b,c} ± 33,8743
CE 1	400,1315 ^{a,b} ± 38,8168
CE 2	406,1836 ^{a,b} ± 32,6688
QU 1	404,3936 ^{a,b} ± 3,1343
QU 2	308,2416 ^a ± 54,0060
GU 1	455,2825 ^{c,d} ± 46,4114
GU 2	424,0843 ^{a,b} ± 38,2141
DM 1	471,8193 ^{b,c} ± 51,4745
DM 2	441,9849 ^{b,c} ± 24,2304
DV 1	470,1997 ^{b,c} ± 14,9481
DV 2	436,5295 ^{b,c} ± 13,8632
DH 1	454,7711 ^{b,c} ± 47,6169
DH 2	431,1593 ^{a,b,c} ± 5,5809
p	0,0005

*Celkové množství fenolických látek [mg/l] je definováno jako ekvivalentní koncentrace kyseliny gallové
a,b,c – rozdílné indexy indikují signifikantní rozdíly $\alpha=0,05$, kombinace značí rozhraní hodnot

Obecně by měl fenolický profil vína vzrůstat, jelikož při maceraci dochází k extrakci fenolických látek ze dřeva. Tento nárůst lze pozorovat u dvoutýdenních macerací akátového a morušového dřeva. Zbytek aromatizovaných vzorků vykazoval pokles jak v prvním čase, tak ve druhém. To zaviňuje kyslík, jelikož fenolické látky se vlivem kyslíku rozkládají nebo depolymerizují.

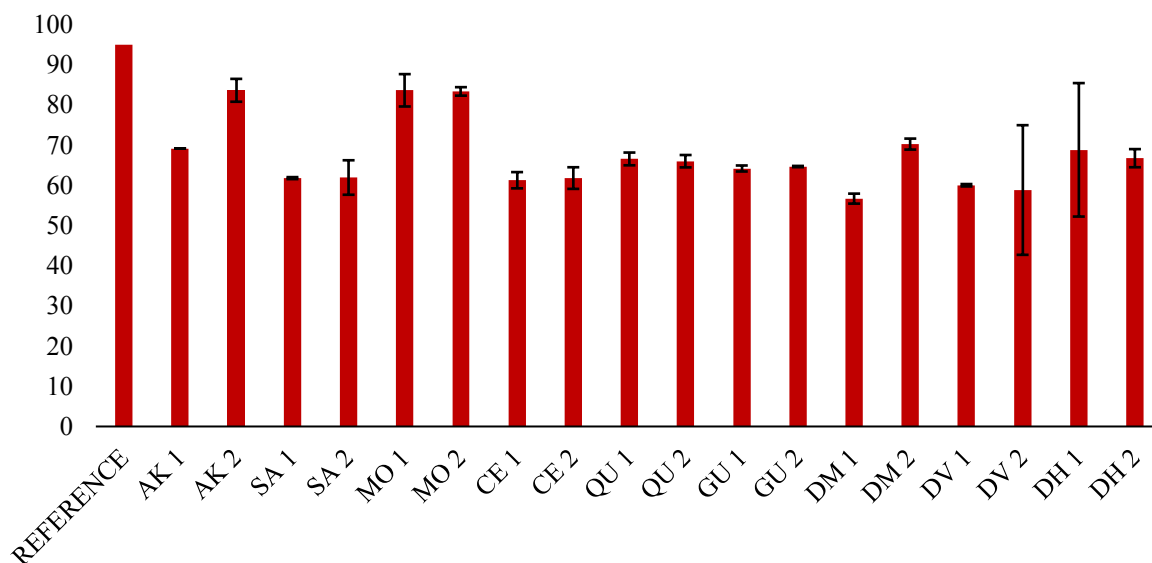
4.2 Vliv aromatizace na obsah organických kyselin ve víně

Obsah organických kyselin vzorků a p hodnoty z analýzy rozptylu aromatizovaných vín jsou uvedeny v *tabulce 4.2.1*. Jednotlivé koncentrace jsou graficky porovnány v *grafech 4.2.1–4.2.4*.

Tabulka 4.2.1. –p–hodnoty a koncentrace organických kyselin ve vzorcích [mg/l]

Vzorek	Kyselina jablečná	Kyselina jantarová	Kyselina mléčná	Kyselina octová
Ref	94,9011 ^d ± 0	403,5523 ^{a,b,c} ± 0	1259,1269 ^{a,b,c} ± 0	339,8425 ^{a,b} ± 0
AK 1	69,1319 ^{a,b,c,d} ± 0,0155	478,9963 ^{b,c,d} ± 3,0668	1530,7441 ^{b,c,d} ± 8,6342	417,3848 ^{c,d} ± 3,2368
AK 2	83,5934 ^{c,d} ± 2,8440	359,7274 ^a ± 1,9861	1109,7899 ^a ± 11,9737	240,1999 ^a ± 25,0988
SA 1	61,7582 ^{a,b,c} ± 0,2487	467,4515 ^{b,c,d} ± 0,7010	1489,3662 ^{b,c,d} ± 31,8676	415,1278 ^{c,d} ± 0,7798
SA 2	61,9121 ^{a,b,c} ± 4,2893	483,9736 ^{c,d} ± 23,4242	1573,0021 ^{c,d} ± 99,4432	429,4286 ^{c,d} ± 15,3085
MO 1	83,5934 ^{c,d} ± 4,0251	486,4106 ^{c,d} ± 0,5841	1515,0313 ^{b,c,d} ± 36,9646	422,1566 ^{c,d} ± 0,4422
MO 2	83,3187 ^{b,c,d} ± 1,0568	493,1433 ^{c,d} ± 4,6732	1576,1224 ^{c,d} ± 13,6214	428,0851 ^{c,d} ± 3,8328
CE 1	61,2308 ^{a,b,c} ± 2,0203	467,9471 ^{b,c,d} ± 6,0751	1462,9874 ^{b,c,d} ± 10,8203	422,5735 ^{c,d} ± 1,1302
CE 2	61,7692 ^{a,b,c} ± 2,6886	486,4106 ^{c,d} ± 21,9638	1640,8729 ^d ± 31,7020	442,0911 ^{c,d} ± 19,5900
QU 1	66,5257 ^{a,b,c,d} ± 1,5852	478,3767 ^{b,c,d} ± 7,5063	1513,0107 ^{b,c,d} ± 41,4465	440,6285 ^{c,d} ± 3,3906
QU 2	65,9670 ^{a,b,c} ± 1,5385	479,4093 ^{b,c,d} ± 8,2072	1541,4013 ^{b,c,d} ± 51,2805	443,4445 ^{c,d} ± 4,9630
GU 1	64,1538 ^{a,b,c} ± 0,7460	476,6419 ^{b,c,d} ± 1,1391	1506,6180 ^{b,c,d} ± 11,3805	444,7533 ^{c,d} ± 4,4225
GU 2	64,6374 ^{a,b,c} ± 0,1554	485,9562 ^{c,d} ± 2,1029	1585,3814 ^d ± 11,7540	455,4436 ^{c,d} ± 4,5799
DM 1	56,6693 ^a ± 1,2433	457,7447 ^{b,c,d} ± 10,5146	1451,8254 ^{b,c,d} ± 60,5459	457,2620 ^{c,d} ± 10,6567
DM 2	70,2198 ^{a,b,c,d} ± 1,3676	519,9711 ^d ± 0,4381	1624,5145 ^d ± 53,8706	486,5863 ^d ± 17,2805
DV 1	59,9890 ^{a,b} ± 0,2953	467,1210 ^{b,c,d} ± 1,1683	1517,2286 ^{b,c,d} ± 1,4381	444,2720 ^{c,d} ± 0,7535
DV 2	58,8022 ^a ± 16,1158	500,8674 ^d ± 10,0473	1570,2021 ^{c,d} ± 48,2673	456,6669 ^{c,d} ± 10,3519
DH 1	68,7912 ^{a,b,c,d} ± 16,5976	410,3470 ^{a,b} ± 64,7524	1443,1645 ^{a,b} ± 0,8238	392,7364 ^{c,d} ± 105,6256
DH 2	66,7143 ^{a,b,c,d} ± 2,2534	490,1694 ^{c,d} ± 13,1432	1540,4070 ^{b,c,d} ± 6,6659	483,3333 ^d ± 10,6959
p	0,0005	<0,0001	<0,0001	<0,0001

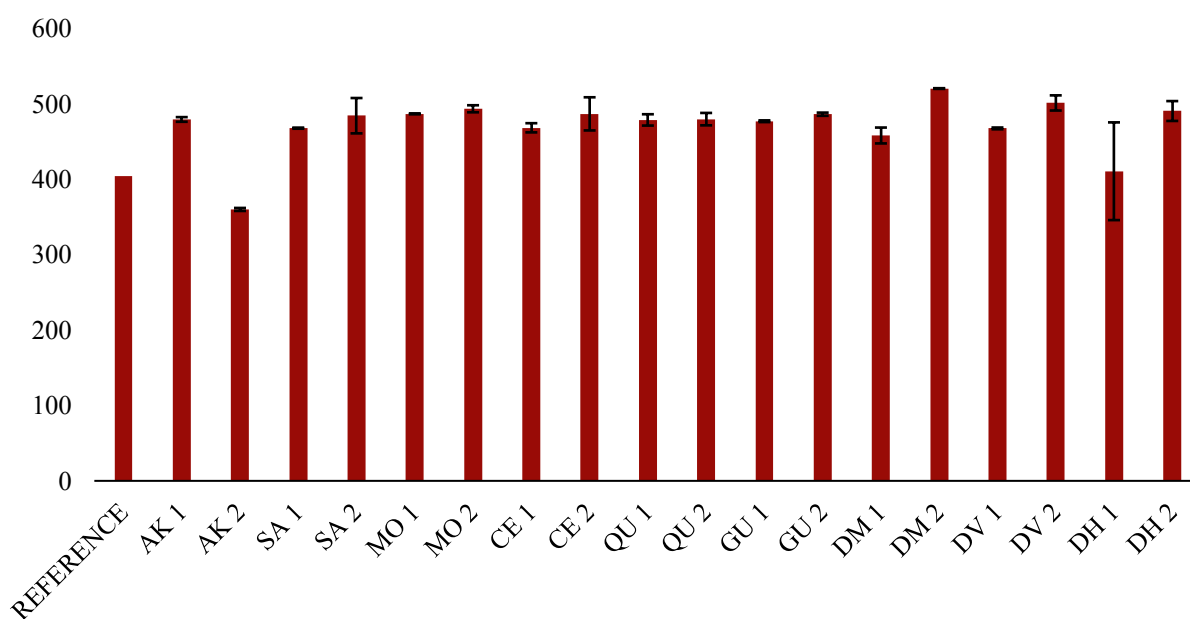
a, b, c, d– rozdílné indexy indikují signifikantní rozdíly $\alpha=0,05$, kombinace indexů značí rozhraní



Graf 4.2.1 – srovnání obsahu kyseliny jablečné ve vzorcích

Koncentrace kyseliny jablečné klesala po dvou týdnech od referenčního vzorku ve všech aromatizovaných vzorcích téměř identicky ke koncentraci ± 60 mg/l. Tento pokles mohl být způsoben zvýšenou prvotní oxidací, kdy kyselina jablečná dekarboxyluje na kyselinu jantarovou. V porovnání s referenčním vínem lze podle grafu 4.2.1 usoudit, že nejvyšší pokles koncentrace kyseliny jablečné bylo vidno u vzorku DM 1.

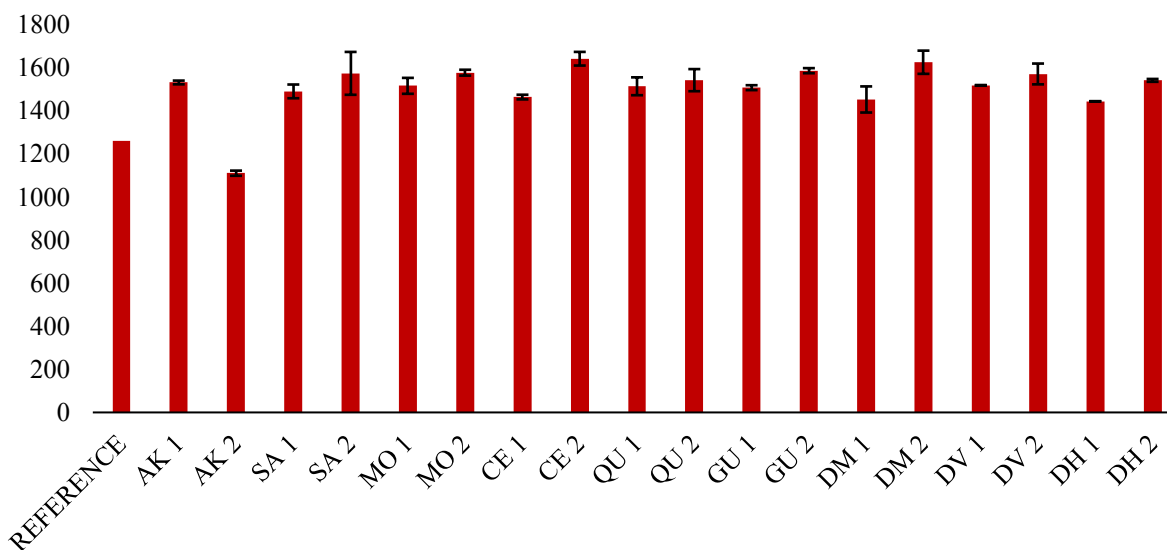
Martínez Gil a kol. (2022) studovali vývoj fenolických látek a barvy červeného vína během zrání v dubových sudech s různými mírami propustnosti pro kyslík. Zde obsah kyseliny jablečné ve všech vzorcích během zrání v sudech postupně klesal, ale bez ohledu na míru propustnosti dubu pro kyslík. Největší pokles kyseliny jablečné nastal v prvních 6 měsících zrání, poté byla rychlost poklesu nižší. Později vlivem biochemických přeměn a zbytkových kvasinek a bakterií klesala koncentrace kyseliny jablečné pomaleji [15].



Graf 4.2.2 – srovnání obsahu kyseliny jantarové ve vzorcích

Obsah kyseliny jantarové u většiny vzorků během zrání vzrostl. To může být způsobeno metabolickou aktivitou kvasinek a oxidačními procesy. Jediný pokles koncentrace v porovnání s referenčním vínem a dvoutýdenním vzorkem byl pozorován u vzorku AK 2, což mohlo způsobit nedostatečné uzavření systému, jelikož kyselina jantarová může sama degradovat za přítomnosti kyslíku. Také může kyselina jantarová tvořit vazby s fenolickými látkami (hlavně třísloviny) a tím se snižuje její samotná detekovatelnost [75].

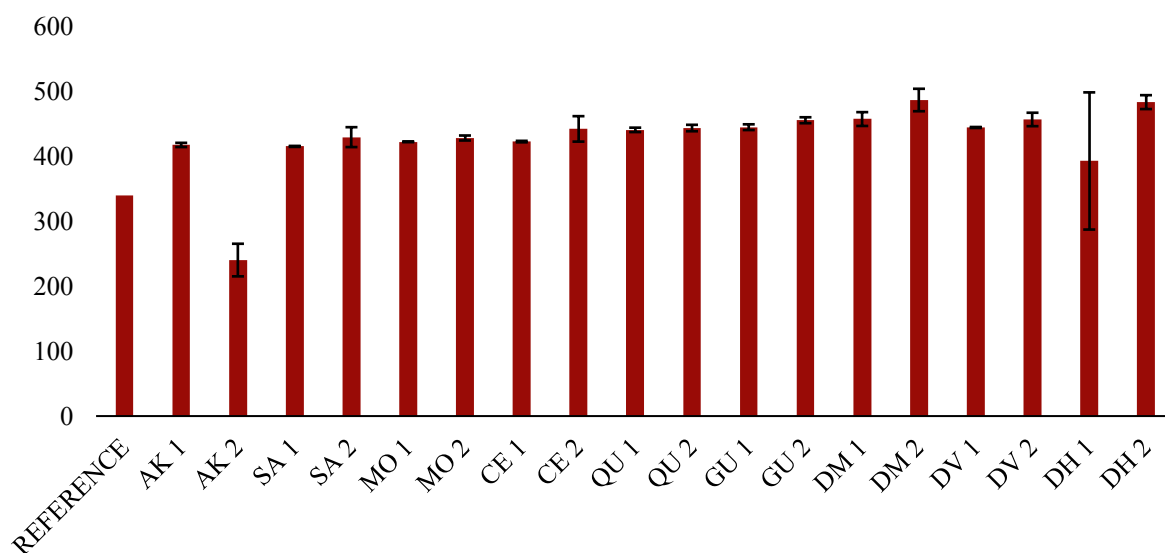
Nejvyšší nárůst koncentrace kyseliny jantarové byl u dvouměsíčního vzorku aromatizovaným dubovým dřevem, které bylo středně opečené (DM 2). Tento nárůst lze vysvětlit dekarboxylací kyseliny jablečné, která měla podle *grafu 4.2.1* u vzorku DM 1 velmi výrazný a zároveň největší pokles.



Graf 4.2.3 – srovnání kyseliny mléčné ve vzorcích

Koncentrace kyseliny mléčné téměř ve všech vzorcích viditelně stoupal oproti referenčnímu vínu. Tento nárůst může být způsoben zbytkovými reziduálními kvasinkami, které přeměnily zbytkové cukry na kyselinu mléčnou [75]. Během dvoutýdenní macerace u všech vzorků koncentrace kyseliny mléčné výrazně vzrostla. Nejvýraznější nárůst byl v aromatizovaném vzorku s cedrovým dřevem (CE 1).

U dvouměsíčních vzorků byl vidno v *grafu 4.2.3* mírný pokles v porovnání s dvoutýdenními vzorky, který může být způsoben, stejně jako u kyseliny jantarové, oxidačními procesy a interakcí s fenolickými látkami. Obsah kyseliny mléčné ve vzorku AK 2 klesl až pod původní hodnotu kyseliny mléčné.



Graf 4.2.4 – srovnání kyseliny octové ve vzorcích

Během stárnutí vína je nárůst koncentrace kyseliny octové běžný. Nejvyšší nárůst od počátku macerace byl podle *grafu 4.2.4* pozorován u dvouměsíční macerace vzorku DM 2. U většiny vzorků koncentrace kyseliny octové vzrůstala konstantně – dvouměsíční vzorky mají vyšší koncentraci kyseliny octové než dvoutýdenní. Průběžný nárůst kyseliny octové může být zaviněn oxidací ethanolu a dalších organických sloučenin ve víně, nebo aktivitou reziduálních kvasinek produkující kyselinu octovou jako sekundární metabolit [75].

4.3 Obsah vybraných fenolických látek pomocí LCxMS

Vzorky aromatizovaných vín byly analyzovány pomocí LCxMS, kde bylo detekováno několik fenolických látek. Koncentrace fenolických látek ve vzorcích jsou uvedeny v *tabulce 3.3.1*. Byla také provedena analýza rozptylu, díky které byly vyhodnoceny p–hodnoty a Tukeyho test rozdělovací hodnoty do jednotlivých skupin podle rozptylu a průměrných hodnot.

Tabulka 4.3.1–p–hodnoty a koncentrace fenolických sloučenin [mg/l]

Vzorek	Kyselina syringová	Kyselina ellagová	Vanilin
Reference	178,2700 ^a ± 0	2,6200 ± 0,000	21,6500 ^{ab} ± 0
AK 1	429,3101 ^b ± 2,3940	1,0553 ± 0,0186	45,9770 ^c ± 1,0776
AK 2	178,5988 ^a ± 2,6543	2,2743 ± 0,3051	16,8013 ^a ± 3,3250
SA 1	411,5803 ^b ± 7,9755	1,4446 ± 0,4043	45,6275 ^c ± 4,2092
SA 2	178,6934 ^a ± 2,6670	0,8001 ± 0,0991	19,2922 ^{ab} ± 0,6308
MO 1	438,2166 ^{b,c} ± 6,4128	1,4653 ± 0,2456	74,2980 ^e ± 6,4609
MO 2	180,2500 ^a ± 3,5587	1,2930 ± 0,2525	29,5233 ^b ± 0,6109
CE 1	429,8559 ^b ± 12,5875	1,8906 ± 0,1602	45,2844 ^c ± 0,7181
CE 2	173,0168 ^a ± 2,5973	0,3332 ± 0,2850	17,0864 ^a ± 0,4483
QU 1	426,1457 ^b ± 5,0604	0,8090 ± 0,2274	45,8750 ^c ± 0,0132
QU 2	177,6168 ^a ± 2,5062	<DL	18,4745 ^a ± 0,1439
GU 1	461,8802 ^c ± 0,3639	2,1976 ± 0,2274	58,9255 ^d ± 3,2714
GU 2	177,7059 ^a ± 3,6991	<DL	20,6779 ^{ab} ± 0,3699
DM 1	438,8544 ^{b,c} ± 13,2220	1,5365 ± 0,1651	45,7155 ^c ± 1,1528
DM 2	188,3172 ^a ± 7,4172	7,5064 ± 0,4369	19,2055 ^a ± 0,1785
DV 1	431,4056 ^b ± 7,7658	1,1078 ± 0,1845	49,3525 ^c ± 0,6064
DV 2	201,0579 ^a ± 15,2074	3,7071 ± 0,0184	20,6254 ^{ab} ± 3,2015
DH 1	433,0195 ^{b,c} ± 4,6601	1,1816 ± 0,1004	46,6080 ^c ± 1,2562
DH 2	188,6368 ^a ± 0,9019	6,5487 ± 0,1008	18,0870 ^a ± 0,2450
p	<0,0001	–	<0,0001

a, b, c–indexy indikují signifikantní rozdíly $\alpha=0,05$, kombinace značí hodnoty na rozhraní

<DL – pod detekční limit

Koncentrace kyseliny syringové během prvních dvou týdnů vzrostla cca dvounásobně. Nejvyšší nárůst byl detektován u dvoutýdenního vzorku s guajakovým dřevem (GU 1). Během dvou měsíční macerace se koncentrace kyseliny syringové zvyšovala pomaleji. Celkový nárůst koncentrace kyseliny syringové ve vínech je běžný jev vlivem stárnutí, ale samotná kyselina syringová se ve víně oxiduje na syringaldehyd [76]. Lze tedy usoudit, že u dvoutýdenních vzorků se extrahovala z dřeva kyselina syringová, která ještě neoxidovala na její aldehyd, ale u dvouměsíčních vzorků oxidační přeměna proběhla.

Obsah kyseliny ellagové v průběhu macerací konstantě klesal. V detekovatelné hladině poklesla nejvýrazněji koncentrace kyseliny ellagové ve vzorku CE 2. Některé vzorky ovšem klesly až pod detekční limit. U dubových vzorků (DM, DV, DH) koncentrace kyseliny ellagové konstantě vzrůstala. Dubové dřeva totiž obsahují vyšší koncentrace kyseliny ellagové oproti ostatním použitým dřevinám [78].

Extrakce vanilinu by měla narůstat v průběhu zrání. Očekávaný nárůst byl převážně v dubových vzorcích, převážně ve vzorku DV, jelikož výrobce uvádí charakter vanilky přímo v názvu a koncentrace vanilinu je v dubových dřevěch výrazně vyšší než v ostatních použitých dřevinách.

Největší nárůst koncentrace vanilinu byl ve dvoutýdenním vzorku s morušovým dřevem (MO 1). Všechny dvouměsíční vzorky vykazovaly výrazný pokles koncentrace vanilinu. Nejvíce klesla koncentrace vanilinu u vzorku AK 2. Pokles koncentrace vanilinu může být způsobena oxidačními procesy nebo polymerizací vanilinu na jiné sloučeniny přítomny ve víně [77].

Tabulka 4.3.2–*p*–hodnoty a koncentrace fenolických sloučenin [mg/l]

Vzorek	Kyselina p-hydroxybenzoová	Kyselina gallová	Kyselina ferulová
Reference	7,2400 ^{a,b} ± 0	13,3100 ^a ± 0	3,9100 ± 0
AK 1	13,0357 ^c ± 0,1727	37,8543 ^{b,c,d} ± 1,3836	<DL
AK 2	8,3553 ^b ± 0,5633	13,9728 ^a ± 0,0201	3,8781 ± 0,0123
SA 1	15,6735 ^{d,e,f} ± 0,4107	36,7118 ^b ± 0,5028	<DL
SA 2	6,7208 ^a ± 0,0190	13,9022 ^a ± 0,2073	3,9199 ± 0,0219
MO 1	14,4922 ^d ± 0,3594	36,1491 ^b ± 0,2264	4,3002 ± 0,0147
MO 2	6,7206 ^a ± 0,0641	13,7889 ^a ± 0,2469	3,8981 ± 0,0023
CE 1	15,5606 ^{d,e,f} ± 0,3897	39,7102 ^d ± 0,5372	<DL
CE 2	6,3210 ^a ± 0,1806	13,7841 ^a ± 0,1360	3,8864 ± 0,0156
QU 1	16,2776 ^{d,e,f} ± 0,1915	36,2371 ^b ± 0,6929	<DL
QU 2	6,6226 ^a ± 0,1304	13,3439 ^a ± 0,1758	3,8889 ± 0,132
GU 1	18,6048 ^g ± 0,0137	39,2676 ^{c,d} ± 0,2357	<DL
GU 2	7,2714 ^{a,b} ± 0,1139	13,5922 ^a ± 0,2903	3,9014 ± 0,0041
DM 1	15,9571 ^{d,e,f} ± 0,4006	37,0808 ^{b,c} ± 0,1418	<DL
DM 2	7,6092 ^{a,b} ± 0,5541	15,0748 ^a ± 0,6151	3,9213 ± 0,0058
DV 1	17,0692 ^f ± 0,5898	38,1131 ^{b,c,d} ± 1,0451	<DL
DV 2	8,5113 ^b ± 0,6173	13,7432 ^a ± 1,2778	3,9168 ± 0,0122
DH 1	16,8506 ^{e,f} ± 0,2041	37,0594 ^{b,c} ± 0,4599	<DL
DH 2	7,4818 ^{a,b} ± 0,3605	13,9802 ^a ± 0,3223	3,9378 ± 0,0110
p	<0,0001	<0,0001	–

a, b, c, d, e, f–indexy indikují signifikantní rozdíly $\alpha=0,05$, kombinace značí hodnoty na rozhraní <DL – pod detekční limit

Koncentrace kyseliny p-hydroxybenzoové v prvních dvou týdnech vzrostla a následně klesala zpět k referenční hodnotě. Nejvýraznější nárůst byl u vzorku s vanilkovým dubem (DV 1). Pokles u dvouměsíčních vzorků je zaviněn vlivem kyslíku, jelikož kyselina p-hydroxybenzoová podléhá oxidačním a hydrolytickým reakcím v průběhu stárnutí [79].

Kyselina gallová stejně jako kyselina p-hydroxybenzoová zprvu vzrostla a následně klesla zpět k referenční hodnotě. Nejvyšší nárůst byl detekován u vzorku s cedrovým dřevem (CE 1). Kyselina gallová je přirozeně obsažena ve dřevinách a její pokles v průběhu zrání je korelace kyseliny gallové s jinými fenolickými sloučeninami a stabilizace pigmentu [80].

Kyselina ferulová ve většině vzorcích klesla pod detekční limit a následně vzrostla zpět k referenční hodnotě. Výjimkou byl vzorek s morušovým dřevem, kde koncentrace kyseliny ferulové vzrostl a poté klesl. Kyselina ferulová podléhá oxidačním a kondenzačním reakcím, ale také se může vázat na makromolekuly (proteiny, polysacharidy) [81].

4.4 Vliv aromatizace na obsah furfuralů ve víně

Tabulka 4.4.1–p–hodnoty a naměřené koncentrace furfuralů [mg/l]

Vzorek	Furfural	5-methylfurfural	2-hydroxy-5methylfurfural
Ref	0,5370 ^{a,b} ± 0	0,2548 ^{a,b} ± 0	0,2187 ^a ± 0
AK 1	0,5771 ^a ± 0,1290	0,1641 ^{a,b} ± 0,0801	0,2147 ^a ± 0,0712
AK 2	0,2806 ^a ± 0,0832	0,1712 ^{a,b} ± 0,0113	0,2822 ^a ± 0,0438
SA 1	0,2791 ^a ± 0,0591	0,1287 ^a ± 0,0525	0,2031 ^a ± 0,0113
SA 2	0,2132 ^a ± 0,1210	0,1101 ^a ± 0,0378	0,2104 ^a ± 0,0928
MO 1	0,2330 ^a ± 0,1279	0,1719 ^{a,b} ± 0,0599	0,1935 ^a ± 0,1303
MO 2	0,1428 ^a ± 0,0269	0,1112 ^a ± 0,0093	0,2428 ^a ± 0,0458
CE 1	0,2919 ^a ± 0,0863	1,1223 ^d ± 0,3685	0,2617 ^a ± 0,0203
CE 2	0,2636 ^a ± 0,0062	1,1419 ^d ± 0,0050	0,2683 ^a ± 0,0211
QU 1	0,2390 ^a ± 0,0070	0,1435 ^a ± 0,0209	0,3112 ^a ± 0,0110
QU 2	0,2131 ^a ± 0,0149	0,1073 ^a ± 0,0182	0,2501 ^a ± 0,0087
GU 1	0,2089 ^a ± 0,0268	0,1367 ^a ± 0,0222	0,2439 ^a ± 0,0033
GU 2	0,1303 ^a ± 0,0804	0,1118 ^a ± 0,0697	0,1705 ^a ± 0,0612
DM 1	4,3556 ^b ± 0,1605	0,4501 ^{a,b,c} ± 0,0209	0,2438 ^a ± 0,0228
DM 2	4,8762 ^b ± 0,1736	0,5513 ^{b,c} ± 0,0103	0,2704 ^a ± 0,0079
DV 1	1,9641 ^{a,b} ± 0,1839	0,1934 ^{a,b} ± 0,0198	0,1756 ^a ± 0,0543
DV 2	2,2001 ^{a,b} ± 0,5499	0,1187 ^a ± 0,0296	0,2448 ^a ± 0,0541
DH 1	21,4727 ^c ± 2,3903	0,9703 ^d ± 0,0393	0,2748 ^a ± 0,0530
DH 2	15,9863 ^b ± 2,7444	0,7654 ^{c,d} ± 0,1321	0,2813 ^a ± 0,0496
p	<0,0001	<0,0001	0,47

a, b, c, d–indexy indikují signifikantní rozdíly $\alpha=0,05$, kombinace značí hodnoty na rozhraní

Jak již bylo zmíněno, obsah furfuralů v aromatizovaných vínech roste v závislosti na tepelném ošetření dřeva – tedy množství degradovaného ligninu [18]. Podle *tabulky 3.2.1.1* jsou všechny použité dřeva kromě dubových tepelně neopracované. Tudíž je jejich koncentrace v porovnání s referenčním vzorkem téměř neměnná, ne-li nižší. Nejvyšší nárůst furfuralu vykazoval vzorek DH, který je ze všech vzorků nejvíce opálený. U ostatních nedubových vzorků obsah furfuralů s průběhem času klesal kvůli možnému vyčerpání furfuralů ze dřeva, nebo oxidačními reakcemi.

4.5 Stanovení barvy vína

Barevné parametry vína byly stanoveny a vyhodnoceny podle postupů v kapitole 3.9 spektrofotometricky při vlnových délkách 420, 520 a 620 nm. Výsledky jsou uvedeny v *tabulce 4.5.1*.

Tabulka 4.5.1 – naměřené hodnoty intenzity, odstínu a zákalu aromatizovaných vzorků

Vzorek	IC [au]	H	T
Ref	7,229	0,878	3,248
AK 1	8,009	0,898	3,452
AK 2	7,980	0,895	3,413
SA 1	8,067	0,864	3,660
SA 2	7,652	0,848	3,262
MO 1	7,698	0,860	3,403
MO 2	7,737	0,863	3,344
CE 1	7,854	0,863	3,448
CE 2	7,828	0,858	3,408
QU 1	6,268	0,827	2,923
QU 2	6,536	0,798	2,889
GU 1	6,853	0,812	3,046
GU 2	6,867	0,799	2,974
DM 1	7,192	0,842	3,156
DM 2	7,090	0,828	3,053
DV 1	6,971	0,836	3,063
DV 2	7,214	0,838	3,056
DH 1	6,904	0,839	3,071
DH 2	7,275	0,839	3,100

Intenzita barvy vína (IC) se podle *tabulky 3.9.1* dělí na světlou, střední a tmavou. Většina vzorků spadá do střední intenzity. Ovšem dva vzorky (AK 1 a SA 1) jsou již nad krajní hodnotou 8 a jejich intenzita je kategorizována jako tmavá. Tato vyšší intenzita je nejspíše způsobena vysokou pigmentací santalového dřeva a přítomností karotenoidů v akátovém dřevě [82].

Odstín vzorků by neměl být vyšší než 0,8. Kromě vzorku GU 1 všechny vzorky překročily tuhle hranici. To znamená, že všechny vzorky podlely oxidačnímu stresu.

Zamlžený zákal vína hraničí podle *tabulky 3.9.2* hodnotami nad 4. K této hodnotě se žádný ze vzorků nepřiblížil. Naopak všechny vzorky spadají do intervalu 2–4, který charakterizuje zákal vína jako „čirý“. Tudíž použité dřeva nijak víno nekalí.

4.6 Senzorická analýza vína

V tabulce 4.6.1 a 4.6.3 jsou uvedeny výsledky sensorických analýz. Atributy cizorodosti jsou uvedeny podle preferencí hodnotitelů. Byla také provedena korelační analýza a její matice je uvedena v tabulce 4.6.2.

Tabulka 4.6.1 – vyhodnocení sensorické analýzy

	Výraznost aroma	Cizorodost aroma	Plnost chuti	Trpkost chuti	Perzistence chuti	Cizorodost chuti
Ref 1	5,0 ^a ± 0,0	–	5,0 ^{a,b} ± 0,0	5,0 ^a ± 0,0	5,0 ^a ± 0,0	–
Ref 2	5,0 ^a ± 0,0	–	5,0 ^a ± 0,0	5,0 ^a ± 0,0	5,0 ^a ± 0,0	–
AK 1	5,3 ^a ± 1,9	Červené ovoce, vanilka	6,0 ^{a,b} ± 1,2	4,8 ^a ± 1,2	5,6 ^a ± 1,6	Červené ovoce, kouř
AK 2	5,0 ^a ± 2,5	Kouř, červené ovoce	4,9 ^a ± 2,1	6,3 ^a ± 2,5	6,0 ^a ± 1,5	Kouř, káva
SA 1	5,8 ^a ± 1,8	Červené ovoce, kouř	4,9 ^a ± 2,1	5,1 ^a ± 2,2	5,5 ^a ± 1,5	Červené ovoce, kouř
SA 2	5,2 ^a ± 2,3	Kouř, červené ovoce	5,9 ^a ± 2,0	6,2 ^a ± 2,7	7,3 ^a ± 2,4	Kouř, pepř
MO 1	5,7 ^a ± 1,6	Červené ovoce, kouř	6,2 ^{a,b} ± 1,9	5,4 ^a ± 1,9	5,7 ^a ± 1,8	Kouř, červené ovoce
MO 2	6,2 ^a ± 1,6	Červené ovoce, kouř,	5,5 ^a ± 2,0	5,8 ^a ± 1,6	5,9 ^a ± 2,1	Červené ovoce, kouř
CE 1	6,9 ^a ± 2,0	Kouř, pepř	5,8 ^{a,b} ± 2,0	6,1 ^a ± 2,5	5,9 ^a ± 2,2	Kouř, červené ovoce
CE 2	6,0 ^a ± 2,5	Kouř, červené ovoce	6,1 ^a ± 2,6	6,7 ^a ± 2,5	7,4 ^a ± 1,8	Kouř, pepř
QU 1	5,9 ^a ± 2,6	Vanilka, červené ovoce	7,7 ^b ± 2,7	9,9 ^b ± 0,3	9,8 ^b ± 0,3	Kouř, pepř
QU 2	–	–	–	–	–	–
GU 1	6,3 ^a ± 2,2	Kouř, červené ovoce	5,7 ^{a,b} ± 2,4	4,9 ^a ± 2,2	6,9 ^a ± 2,5	Kouř, červené ovoce
GU 2	5,2 ^a ± 2,0	Kouř, červené ovoce	5,6 ^a ± 2,0	5,9 ^a ± 2,2	6,4 ^a ± 2,1	Kouř, červené ovoce
DM 1	5,3 ^a ± 2,2	Vanilka, červené ovoce	5,1 ^{a,b} ± 1,4	4,8 ^a ± 1,0	6,5 ^a ± 1,6	Vanilka, pepř
DM 2	5,5 ^a ± 2,0	Červené ovoce, kouř	6,7 ^a ± 1,3	6,3 ^a ± 2,1	6,7 ^a ± 1,6	Červené ovoce, kouř
DV 1	6,7 ^a ± 2,2	Vanilka, kouř	6,3 ^{a,b} ± 2,0	5,6 ^a ± 2,4	5,9 ^a ± 2,0	Kouř, vanilka
DV 2	5,7 ^a ± 2,3	Kouř, červené ovoce	5,5 ^a ± 2,1	5,0 ^a ± 2,5	6,8 ^a ± 1,5	Červené ovoce, kouř
DH 1	6,7 ^a ± 1,6	Vanilka, kouř	6,3 ^{a,b} ± 1,7	5,6 ^a ± 2,5	5,9 ^a ± 1,6	Kouř, vanilka
DH 2	5,9 ^a ± 1,7	Vanilka, káva	6,2 ^a ± 2,3	5,2 ^a ± 2,6	7,2 ^a ± 1,7	Vanilka, červené ovoce

a, b – rozdílné indexy indikují signifikantní rozdíly $\alpha=0,05$, kombinace značí hodnoty na rozhraní

Tabulka 4.6.2 – matice korelační analýzy pro sensorickou analýzu

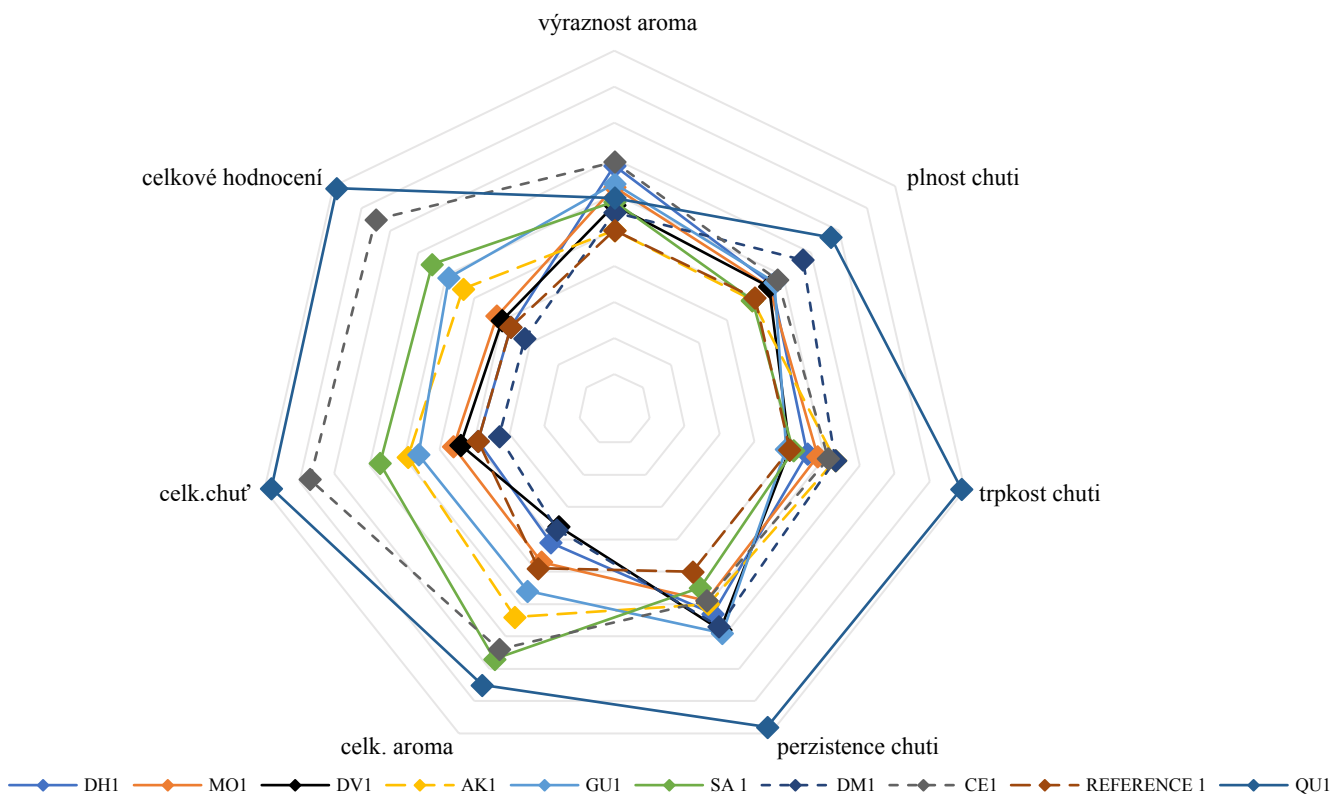
	Výraznost aroma	Plnost chuti	Trpkost chuti	Perzistence chuti	Celkové aroma	Celková chuť	Celkové hodnocení
Výraznost aroma	1,000000	0,587138	0,458350	0,496128	0,073993	0,058896	0,063871
Plnost chuti	0,587138	1,000000	0,541496	0,578182	-0,047138	0,002314	0,033401
Trpkost chuti	0,458350	0,541496	1,000000	0,702504	0,181499	0,246372	0,276120
Perzistence chuti	0,496128	0,578182	0,702504	1,000000	0,169391	0,263129	0,270778
Celkové aroma	0,073993	-0,047138	0,181499	0,169391	1,000000	0,727402	0,671458
Celková chuť	0,058896	0,002314	0,246372	0,263129	0,727402	1,000000	0,873620
Celkové hodnocení	0,063871	0,033401	0,276120	0,270778	0,671458	0,873620	1,000000

Tabulka 4.6.3 – zhodnocení hlavních atributů a celkových preferencí

Vzorek	Celkové hodnocení aroma	Celkové hodnocení chuti	Celkové hodnocení
Ref 1	3,6 ^a ± 2,5	3,5 ^a ± 2,5	4,4 ^a ± 2,9
Ref 2	4,9 ^{a,b} ± 3,1	3,9 ^a ± 2,5	3,7 ^{a,b} ± 2,7
AK 1	4,2 ^{a,b} ± 2,0	4,0 ^{a,b} ± 1,7	4,1 ^a ± 1,8
AK 2	6,4 ^a ± 1,1	5,9 ^a ± 2,0	5,4 ^{a,b,c} ± 2,4
SA 1	7,7 ^{c,d} ± 2,0	6,7 ^{b,c} ± 2,2	6,5 ^{a,b} ± 2,3
SA 2	6,8 ^a ± 2,3	6,0 ^a ± 3,0	7,1 ^c ± 2,1
MO 1	3,1 ^a ± 1,8	3,4 ^a ± 2,1	4,1 ^a ± 2,0
MO 2	4,7 ^{a,b} ± 1,8	4,6 ^a ± 1,8	4,2 ^{a,b,c} ± 1,8
CE 1	7,4 ^{b,c,d} ± 3,4	8,7 ^{c,d} ± 1,0	8,5 ^{b,c} ± 2,3
CE 2	6,2 ^a ± 3,0	6,6 ^a ± 2,8	6,7 ^{b,c} ± 2,8
QU 1	8,5 ^d ± 2,5	9,8 ^d ± 0,4	9,9 ^d ± 0,3
QU 2	–	–	–
GU 1	5,6 ^{a,b,c,d} ± 2,4	5,6 ^{a,b} ± 2,0	5,9 ^{a,b} ± 2,1
GU 2	6,4 ^a ± 2,1	5,8 ^a ± 2,6	6,1 ^{a,b,c} ± 2,2
DM 1	6,0 ^{a,b,c,d} ± 2,6	5,2 ^{a,b} ± 2,6	4,2 ^a ± 2,5
DM 2	3,7 ^{a,b} ± 2,3	3,3 ^a ± 2,6	3,2 ^a ± 2,7
DV 1	4,8 ^{a,b,c} ± 2,4	4,2 ^{a,b} ± 2,6	3,7 ^a ± 2,9
DV 2	3,6 ^{a,b} ± 2,1	4,4 ^a ± 2,4	4,0 ^{a,b,c} ± 1,8
DH 1	4,1 ^{a,b} ± 1,8	3,9 ^{a,b} ± 2,3	3,7 ^a ± 2,1
DH 2	2,5 ^b ± 2,1	4,5 ^a ± 2,4	4,2 ^{a,b,c} ± 2,2

Data hodnocení sensorické analýzy všech aromatizovaných vzorků a referenčního vína jsou graficky znázorněny podle délky macerace v *grafech 4.6.1 a 4.6.2*. Hodnotitelé označily číselně atributy jednotlivých vzorků podle porovnání s referenčním vínem. To mělo atributy aroma a chuti označeno střední hodnotou – 5. Tyto hodnoty jsou uvedeny v *tabulce 4.6.1*. Celkové hodnocení vzorků (*tabulka 4.6.3*) a referenčního vína bylo hodnoceno na škále od 1 do 10 školním systémem.

Byla také provedena korelační analýza (*tabulka 4.6.2*), která poukazuje, jaké prekurzory měly na konečné celkové hodnocení vzorků vliv. Hodnocení bylo nastaveno na školní systém (1–nejlepší, 10–nejhorší). Proto tedy lze usoudit, že celkové hodnocení vzorku silně korelovalo s nízkou hodnotou koeficientu trpkosti (0,276120) a perzistence (0,270778).

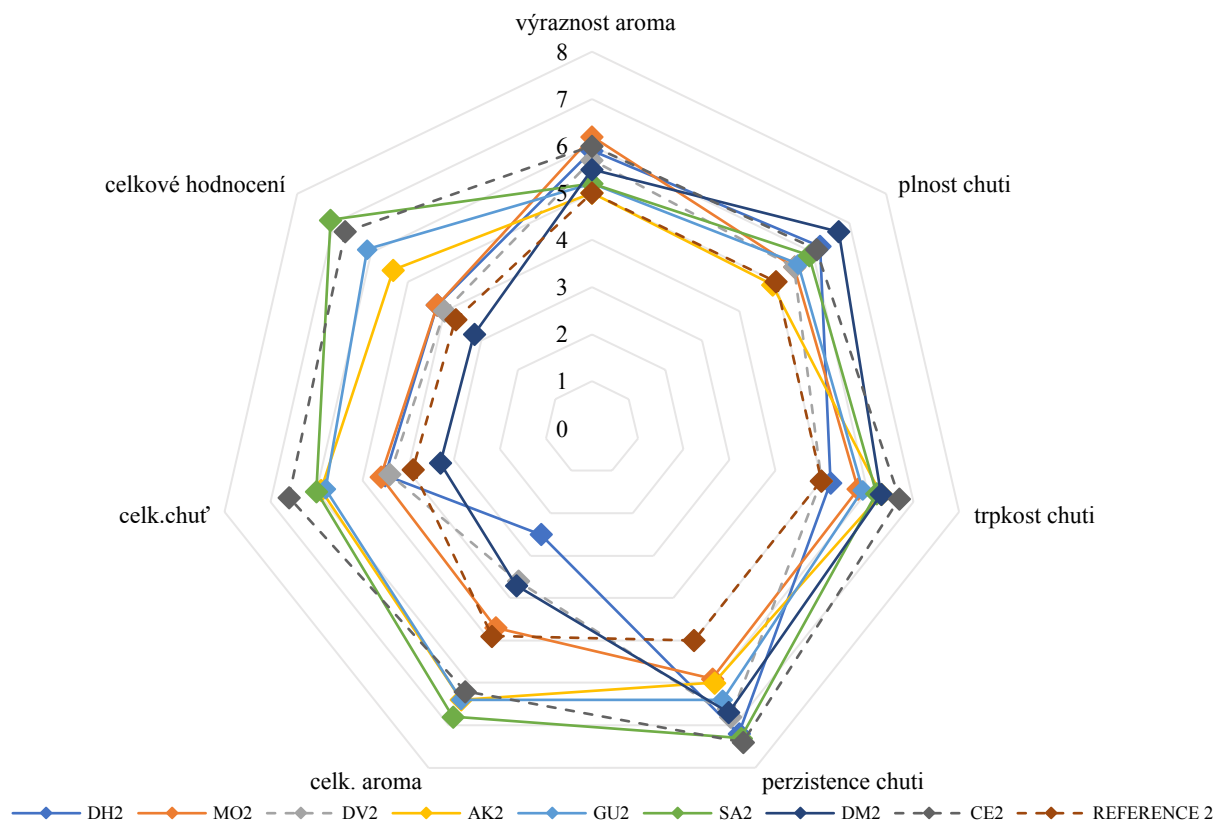


Graf 4.6.1 – výsledky senzoričké analýzy vzorků aromatizovaných vín po dvoutýdenní maceraci

V prvním termínu senzoričké analýzy bylo nejlépe hodnoceno aroma aromatizovaného vzorku s morušovým dřevem. Podle hodnotitelů tedy morušové dřevo dodávalo vínu prekurzor červeného ovoce a kouře. Jediná moruše byla v této kategorii lepší než referenční víno. Vůně vzorku s cedrovým dřevem byla hodnotiteli okomentována jako sladká, ale plastová. Aromatizovaný vzorek se santalovým dřevem naopak podle komentářů hodnotitelů vykazovalo aroma syrové zeleniny, pepře a červeného ovoce, což na jeho celkovém hodnocení aroma vykazovalo horší výsledky. Vzorky s dubovými dřevy měly aroma vanilkového prekurzoru, jak bylo očekáváno. U nejhoršího vzorku – QU 1 podle hodnotitelů byla cítit aroma travnaté vůně, plísňě a spáleniny.

U celkového hodnocení chuti byl hodnotiteli opět vybrán nejlepší vzorek s morušovým dřevem. U tohoto vzorku byly hodnotiteli zvoleny prekurzory kouřové a ovocné chuti. Vzorek s cedrovým dřevem byl hodnotiteli srovnáván se vzorkem quassiového dřeva, ovšem se sladší charakteristikou. Quassiový vzorek byl hodnocen jako úplně nejhorší. Perzistence tohoto vzorku byla silná a nepříjemná. Hodnotitelé uvedli k jeho chuti tyto atributy: pelyněk, hořkost a spálenina. Vzorek s cedrovým dřevem se umístil těsně za quassiovým vzorkem. Tento vzorek hodnotitelé okomentovali chutí po hroznovém cukru, ovoci a celkovou svěžest, nicméně nejvíce byla volena chuť spáleniny.

Celkové hodnocení vzorků jasně ukázalo, že quassiový vzorek byl úplně nejhorší. Referenční víno se umístilo na 6. místě. A celkově byly lépe hodnoceny vzorky s dubovým, akátovým a morušovým dřevem.



Graf 4.6.2 – výsledky sensorické analýzy aromatizovaných vín po dvouměsíční maceraci

U sensorické analýzy dvouměsíčních vzorků byli všichni hodnotitelé ve věku 18–25 a žádný z nich nezvolil červené víno jako nejoblíbenější alkoholický nápoj. Hodnocení dvouměsíčních vzorků aromatizovaných vín jsou graficky znázorněny v grafu 4.6.2. Jelikož vzorek vína s quassiovým dřevem byl podle hodnotitelů velmi nepříjemný, pro druhou sensorickou analýzu byl dvouměsíční vzorek (QU 2) vynechán.

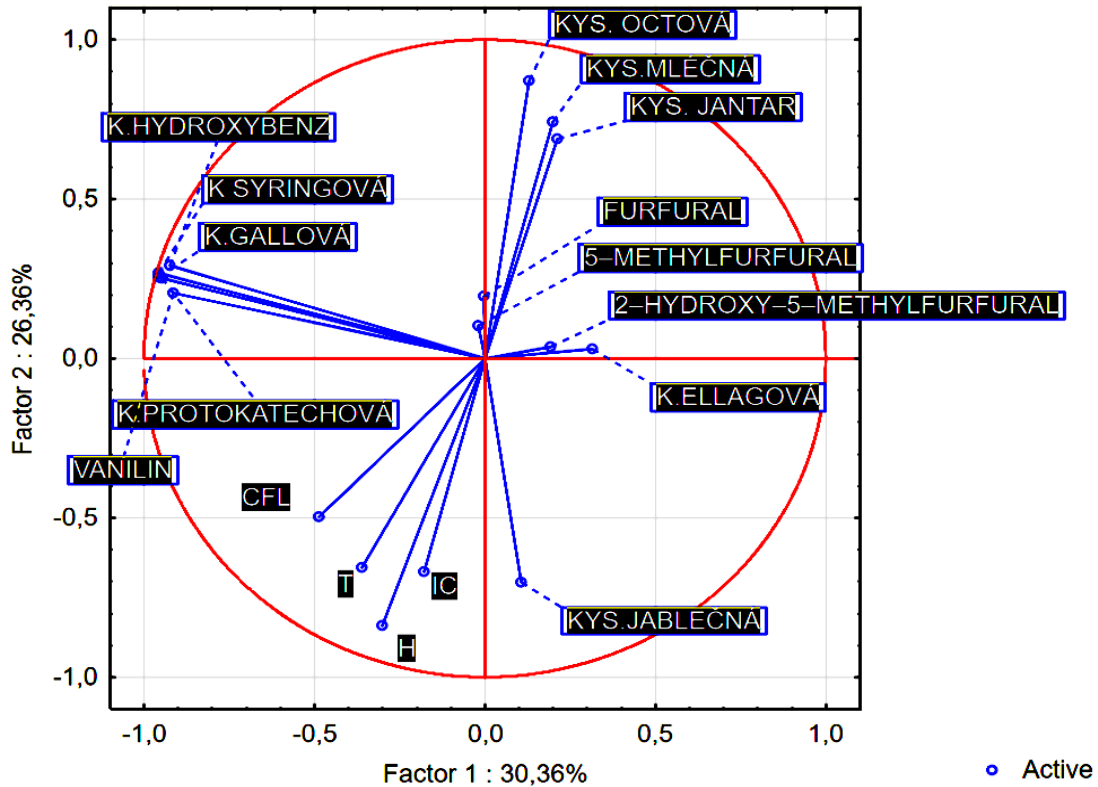
Aroma bylo v porovnání s referenčním vínem u většiny vzorků výraznější. Podle celkového hodnocení vůně byly hodnotiteli preferovány všechny vzorky aromatizované dubovým dřevem (DM 2, DV 2, DH 2). K těmto vzorkům byly nejčastěji přiřazovány prekurzory kouřového, ovocného a vanilkového aroma. Hodnotitelé také okomentovali aroma těchto vzorků jako dřevité a svěží. Nejhorší bylo hodnoceno aroma vzorku se santalovým dřevem. Zde hodnotitelé uváděli nejčastěji kouřový prekurzor. Aromatizovaný vzorek s cedrovým dřevem hodnotitelé komentovali jako nepříjemné až zemité aroma.

V porovnání chuti s referenčním vínem bylo hodnotiteli zvoleno pouze víno se středně opečeným dubem (DM 2), které bylo sice trpčí a jeho perzistence byla výraznější, ale oproti referenčnímu vínu měl tento vzorek výrazněji plnější chuť. Podle hodnotitelů měl tento vzorek svěží, ovocnou chuť. Další kladně hodnocené vzorky byly opět vzorky s dubovým dřevem, kdy u vzorku DH 2 byla preferována chuť vanilky a whisky. U vzorku s cedrovým dřevem, které bylo hodnoceno jako nejhorší a nejtrpčí, hodnotitelé uvedli ostrou citrusovou chuť.

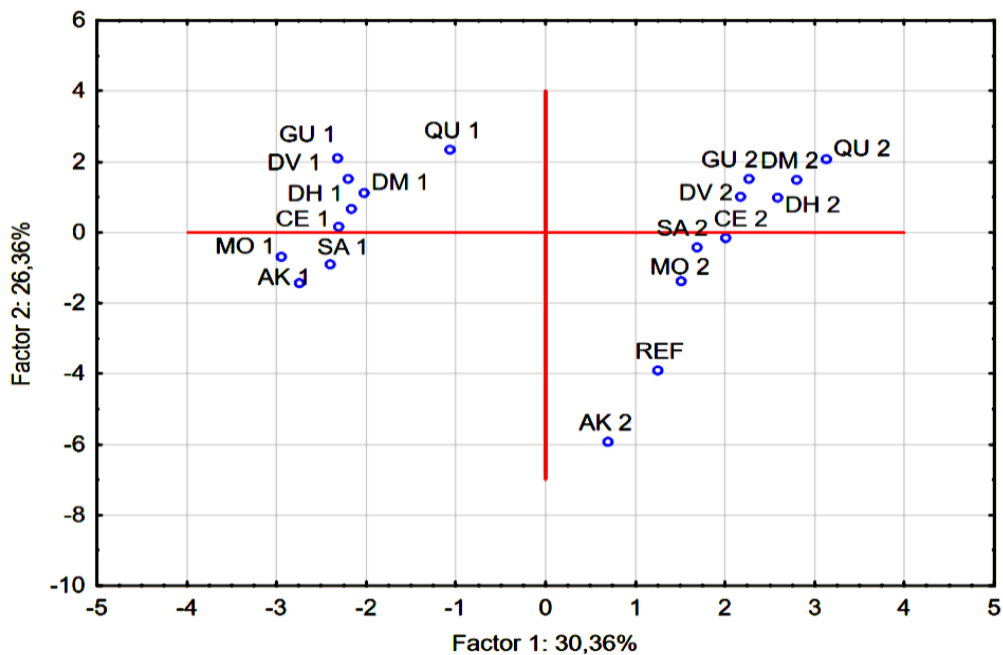
Celkové hodnocení dopadlo pořadově stejně jako hodnocení chuti. Hodnotitelé preferovali před referenčním vínem opět vzorek DM 2. Nejhorším vzorkem podle hodnocení byl vzorek se santalovým dřevem, které bylo společně s cedrem nejtrpčí a mělo nejvýraznější perzistenci.

4.7 Celkové zhodnocení

Analyzované chemické sloučeniny v aromatizovaných vzorcích byly podrobena analýza hlavní komponent a graficky znázorněny (graf 4.7.1 a 4.7.2).



Graf 4.7.1 – Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 analyzovaných chemických látek a barevné parametry aromatizovaných vín



Graf 4.7.2 – Graf analýzy hlavní komponent 1 a 2 pozorování aromatizovaných vzorků vín

Podle PCA *grafů 4.7.1 a 4.7.2* lze vidět, že většina vzorků spolu koreluje podle délky macerace. Výjimkou se stává dvouměsíční vzorek s akátovým dřevem (AK 2), který i podle *tabulky 4.2.1* má nižší koncentraci kyseliny jantarové, mléčné a octové. Lze tedy usoudit, že vzorek AK 2 měl vyšší přístup kyslíku a díky tomu kyseliny degradovaly. Vzorky macerované s cedrovými, quassiovými a guajakovými chipsy měly nejmenší změny koncentrací organických kyselin. V těchto vzorcích neproběhly tak bouřlivé oxidační reakce jako v ostatních vzorcích.

Z *grafů 4.7.1 a 4.7.2* lze usoudit, že dvoutýdenní vzorky měly vyšší koncentrace CFL než dvouměsíční. Nejvíce vzrostl CFL ve vzorcích s akátovým, morušovým a santalovým dřevem. Dřeva v těchto vzorcích mají vysokou pigmentaci a obsahují karotenoidy. Díky tomuto faktoru dosahovaly vzorky AK, MO, SA i vyšších hodnot barevných parametrů. Vyšší obsah CFL mohl být tedy způsoben polymerizací anthokyanů, taninů nebo fenolových kyselin v průběhu zrání a stabilizace barvy. Naopak pokles obsahu CFL byl pozorován u vzorků cedrového a quassiového dřeva, které byly hodnoceny v senzorické analýze jako nejhorší. Společně s aromatizovaným vzorkem s guajakovým dřevem mají tyto vzorky také nižší koncentraci kyseliny ellagové. S kyselinou ellagovou nejvíce koreloval dvouměsíční vzorek s morušovým dřevem. Kyselina ellagová je prekurzorem ellagitaninů, které společně se slinnými proteiny snižují pocit svíravosti vína. Lze uvážit, že by tyto ellagitaniny byly přítomny i v morušovém vzorku dvoutýdenní macerace, senzorická analýza potvrdila korelační analýzu (*tabulka 4.6.2*) a nižší svíravost měla tedy kladný vliv na celkové hodnocení vzorků.

Dvouměsíční vzorky se oproti dvoutýdenním odchylují od některých fenolických sloučenin, jako je kyselina p-hydroxybenzoová, gallová syringová, protokatechinová nebo vanilin. Koncentrace těchto fenolických sloučenin u dvoutýdenních vzorků oproti referenčnímu vínu vzrostla kvůli prvotní bouřlivé extrakci. Dvouměsíční vzorky se přibližují naopak fenolickým sloučeninám kyseliny ellagové a furfuralům. To je způsobeno konstantním uvolňováním těchto sloučenin ze dřeva.

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo provést aromatizaci vína Merlot pomocí dřevěných chipsů různých druhů, chemicky a senzorycky tyto aromatizované vzorky zhodnotit a srovnat podle délky macerace. Pro aromatizaci byly použity tři různé druhy dubových chipsů, které měly různý stupeň opálení, akátové, cedrové, morušové, santalové, quassiové a guajakové chipsy. Celkový obsah fenolických látek v aromatizovaných vzorcích byl stanoven spektrofotometricky pomocí F–C metody, následně bylo vybráno několik fenolických látek, které byly stanoveny pomocí LCxMS a GC–FID. Obsah vybraných organických kyselin byl v aromatizovaných vzorcích stanoven pomocí IC. Spektrofotometricky byly stanoveny barevné parametry vína. Aromatizované vína byla senzorycky zhodnocena ve dvou termínech podle délky jejich macerace.

V teoretické části byla zpracována výroba červeného vína, chemické látky obsažené v hotovém červeném víně i během jeho výroby, aromatizace vína jakožto alternativní metoda barikování a vinné odrůdy vhodné pro tuto technologii, složení dřeva a chemické látky extrahovatelné do vína v kontaktu se dřevem. Dále byly okomentovány metody použité pro analýzu aromatizovaného vína a pro zpracování dat.

Aromatizace vína Merlot byla provedena v paralelních vzorcích pro dva časové úseky – dvoutýdenní a dvoměsíční macerace. Vzorky byly po určitém čase separovány od dřevěných fragmentů a podrobeny jednotlivým analýzám.

Při spektrofotometrickém stanovení CFL pomocí F–C metody byl u většiny aromatizovaných vzorků pozorován pokles koncentrace fenolických látek, což zaviňují oxidační procesy. Zvýšenou oxidační reaktivitu vína v kontaktu s dřevěnými fragmenty potvrzuje spektrofotometrické stanovení barevných parametrů vína, kde většina vzorků dosahuje při stanovení barvy červeného vína hodnoty nad 8,0, což je hranice značící hnědnutí vína, které je způsobeno oxidativním stresem.

Pomocí LCxMS byl analyzován obsah vybraných fenolických sloučenin: kyselina syringová, kyselina ellagová, vanilin, kyselina p-hydroxybenzoová, gallová a ferulová. Tyto fenolické látky mezi sebou vzájemně korelovaly, jelikož většina kyselin je odvozena od kyseliny hydroxybenzoové (p-hydroxybenzoová, gallová, vanilová, syringová).

GC–FID byla použita pro stanovení obsahu furfuralů (furfural, 5-methylfurfural, 2-hydroxy-5methylfurfural). Nejvyšší koncentrace těchto sloučenin dosahovaly vzorky s dubovými dřevy, jelikož tyto jediné fragmenty byly tepelně ošetřeny – proběhla termodegradace ligninu a s tím narůstal i obsah furfuralů v dřevě.

V aromatizovaných vzorcích se také výrazně měnil obsah vybraných organických kyselin (kyselina jablečná, jantarová, mléčná a octová). Ty byly stanoveny pomocí IC. Obsah organických kyselin mezi sebou koreloval také v závislosti oxidačních procesů, kdy vzorky s akátovým dřevem měly nejvýraznější změnu koncentrací.

Senzoryká analýza potvrdovala trend využívání dubového dřeva pro aromatizaci/barikování vín. Ovšem hodnotitelé preferovali také vzorky s morušovým dřevem, které není až tak oblíbené jako dubová dřeva.

Celkově tato závěrečná práce přispívá k detailnější charakterizaci aromatizovaných vín za použití různých druhů dřeva. Objasnila fenolický profil extrahovaných látek a senzorycky zhodnotila charakter aromatizovaných vín. Výsledky této práce potvrdili historický trend používání dubového dřeva pro zrání vína. Ovšem potvrdily i potenciál méně používaného morušového dřeva. Zároveň byla vyvrácena aromatizace quassiovým a cedrovým dřevem, které senzoryký profil vína výrazně zhoršil.

6 ZDROJE

- [1] KUTTELVAŠER, Zdeněk. Abeceda vína. Vyd. 2. Praha: Radix, 2003. ISBN 80-86031-43-8.
- [2] STEIDL, Robert a SCHÖDL, Herbert. Sklepní hospodářství. Valtice: Národní salon vín, 2002. ISBN 80-903201-0-4.
- [3] FIC, Vlastimil. Víno: analýza, technologie, gastronomie. Český Těšín: 2 THETA, 2015. ISBN 978-80-86380-77-3.
- [4] STEIDL, Robert a LEINDL, Georg. Zrání vína v sudech barrique: [základy, možnosti, varianty]. Valtice: Národní salon vín, 2003. ISBN 80-903201-1-2.
- [5] JACKSON, Ronald S. Wine Science: Principles and Applications. Third Edition. Burlington: Academic Press, 2008, 776 s. ISBN 978-0-12-373646-8.
- [6] STEIDL, Robert a RENNER, Wolfgang. Moderní příprava červeného vína. 2. vyd. Valtice: Národní vinařské centrum, 2006. ISBN 80-903201-7-1
- [7] TAO, Yang, Zhihang G a Da-wen SUN. Experimental and modeling studies of ultrasound-assisted release of phenolics from oak chips into model wine. Ultrasonics sonochemistry [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2014, 21(5), 1839-1848 [cit. 202-07-13]. ISSN 1350-4177. Dostupné z: doi: 10.1016/j.ultsonch.2014.03.016
- [8] WATRELOT, Aude A. a Andrew L. WATERHOUSE. Oak barrel tannin and toasting temperature: Effects on red wine anthocyanin chemistry. Food science & technology [online]. AMSTERDAM: Elsevier, 2018, 98, 444-450 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2018.09.025
- [9] WATRELOT, Aude A., Marie-laure BADET-MURAT a Andrew L. WATERHOUSE. Oak barrel tannin and toasting temperature: Effects on red wine condensed tannin chemistry. Food Chemistry [online]. 2018, 264, 71-79 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.002>
- [10] RUDNITSKAYA, A., L.M. SCHMIDTKE, I. DELGADILLO, A. LEGIN a G. SCOLLARY. Study of the influence of micro-oxygenation and oak chip maceration on wine composition using an electronic tongue and chemical analysis. Analytica chimica acta [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2009, 642(1), 235-245 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2008.12.034
- [11] NAVARRO, María, Nikolaos KONTOUDAKIS, Thomas GIORDANENGO, et al. Oxygen consumption by oak chips in a model wine solution; Influence of the botanical origin, toast level and ellagitannin content. Food chemistry[online]. OXFORD: Elsevier, 2016, 199, 822-827 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.12.081
- [12] NAVARRO, María, Nikolaos KONTOUDAKIS, Sergio GÓMEZ-ALONSO, Esteban GARCÍA-ROMERO, Joan Miquel CANALS, Isidro HERMOSÍN-GUTIÉRREZ a Fernando ZAMORA. Influence of the botanical origin and toasting level on the ellagitannin content of wines aged in new and used oak barrels. Food research international[online]. AMSTERDAM: Elsevier, 2016, 87, 197-203 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2016.07.016
- [13] MATĚJÍČEK, D., O. MIKEŠ, B. KLEJDUS, D. ŠTĚRBOVÁ a V. KUBÁŇ. Changes in contents of phenolic compounds during maturing of barrique red wines. Food chemistry[online]. OXFORD: Elsevier, 2005, 90(4), 791-800 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2004.05.057
- [14] MATĚJÍČEK, D., B. KLEJDUS, O. MIKEŠ, D. ŠTĚRBOVÁ a V. KUBÁŇ. Application of solid-phase extraction for determination of phenolic compounds in barrique wines. Analytical and bioanalytical chemistry [online]. BERLIN: Springer Nature, 2003, 377(2), 340-345 [cit. 2023-07-13]. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-003-2097-5

- [15] MARTÍNEZ-GIL, Ana, Maria DEL ALAMO-SANZA a Ignacio NEVARES. Evolution of red wine in oak barrels with different oxygen transmission rates. Phenolic compounds and colour. Food Chemistry [online]. 2022, 384, 132571 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113133>
- [16] ANA M. Martínez-Gil, María del Alamo-Sanza, Gastón Gutiérrez-Gamboa, Yerko Moreno-Simunovic, Ignacio Nevares, Volatile composition and sensory characteristics of Carménère wines macerating with Colombian (*Quercus humboldtii*) oak chips compared to wines macerated with American (*Q. alba*) and European (*Q. petraea*) oak chips, Food Chemistry [online], Volume 266, 2018, Pages 90-100, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.123>.
- [17] LE FLOCH, Alexandra, Michael JOURDES a Pierre-louis TEISSEDRE. Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays. Carbohydrate research [online]. OXFORD: Elsevier, 2015, 417, 94-102 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0008-6215. Dostupné z: doi:10.1016/j.carres.2015.07.003
- [18] KOZLOVIC, Gianfranco, Ana JEROMEL, Luna MASLOV, Alan POLLNITZ a Sandi ORLIĆ. Use of acacia barrique barrels – Influence on the quality of Malvazija from Istria wines. Food chemistry [online]. OXFORD: Elsevier, 2010, 120(3), 698-702 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2009.10.065
- [19] KOUSSISSI, E., V.G. DOURTOGLOU, G. AGELOUSSIS, Y. PARASKEVOPOULOS, T. DOURTOGLOU, A. PATERSON a A. CHATZILAZAROU. Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis. Food chemistry [online]. OXFORD: Elsevier, 2009, 114(4), 1503-1509 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.003
- [20] HERJAVEC, S., A. JEROMEL, A. DA SILVA, S. ORLIC a S. REDZEPOVIC. The quality of white wines fermented in Croatian oak barrels. Food chemistry [online]. OXFORD: Elsevier, 2007, 100(1), 124-128 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2005.09.034
- [21] LE GROTTAGLIE, L., I. GARCÍA-ESTÉVEZ, R. ROMANO, N. MANZO, J.C. RIVAS-GONZALO, C. ALCALDE-EON a M.T. ESCRIBANO-BAILÓN. Effect of size and toasting degree of oak chips used for winemaking on the ellagitannin content and on the acutissimin formation. Food science & technology [online]. AMSTERDAM: Elsevier, 2015, 60(2), 934-940 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2014.10.046
- [22] GONZÁLEZ-CENTENO, M.R., K. CHIRA a P.-L. TEISSEDRE. Ellagitannin content, volatile composition and sensory profile of wines from different countries matured in oak barrels subjected to different toasting methods. Food chemistry [online]. OXFORD: Elsevier, 2016, 210, 500-511 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2016.04.139
- [23] FUJIMAKI, Takahiro; MORI, Shoko; HORIKAWA, Manabu a FUKUI, Yuko. Isolation of proanthocyanidins from red wine, and their inhibitory effects on melanin synthesis in vitro. Online. Food chemistry. 2018, roč. 248, s. 61-69. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.024>. [cit. 2024-03-28].
- [24] FRANC, Céline, Laurent RIQUIER, Xavier HASTOY, et al. Highlighting the varietal origin of eugenol in Armagnac wine spirits from Baco blanc, a hybrid grape variety. Food chemistry [online]. England: Elsevier, 2023, 426, 136405-136405 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2023.136405
- [25] FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B.; MARTÍNEZ, J.; SANZ, M.; CADAHÍA, E.; ESTERUELAS, E. et al. Volatile compounds and sensorial characterisation of red wine aged in cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood barrels. Online. Food chemistry. 2014, roč.

- 147, s. 346-356. [cit. 2024-03-28]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.158>.
- [26] FERNÁNDEZ DE SIMÓN, B., E. CADAHÍA, M. DEL ÁLAMO a I. NEVARES. Effect of size, seasoning and toasting in the volatile compounds in toasted oak wood and in a red wine treated with them. *Analytica chimica acta* [online]. AMSTERDAM: Elsevier B.V, 2010, 660(1), 211-220 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2009.09.031
- [27] FERNANDES, Tiago A., Alexandra M.M. ANTUNES, Ilda CALDEIRA, et al. Identification of gallotannins and ellagitannins in aged wine spirits: A new perspective using alternative ageing technology and high-resolution mass spectrometry. *Food chemistry* [online]. England: Elsevier, 2022, 382, 132322-132322 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2022.132322
- [28] DUMITRIU, Georgiana-diana, Nieves LÓPEZ DE LERMA, Cătălin-ioan ZAMFIR, Valeriu V. COTEA a Rafael A. PEINADO. Volatile and phenolic composition of red wines subjected to aging in oak cask of different toast degree during two periods of time. *Food science & technology* [online]. AMSTERDAM: Elsevier, 2017, 86, 643-651 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.08.057
- [29] COELHO, Eduardo; DOMINGUES, Lucília; TEIXEIRA, José António; OLIVEIRA, José Maria a TAVARES, Teresa. Understanding wine sorption by oak wood: Modeling of wine uptake and characterization of volatile compounds retention. *Online. Food research international*. 2019, roč. 116, s. 249-257. [cit. 2024-03-28]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.025>.
- [30] CHIRA, Kleopatra a Pierre-louis TEISSEBRE. Extraction of oak volatiles and ellagitannins compounds and sensory profile of wine aged with French winewoods subjected to different toasting methods: Behaviour during storage. *Food chemistry* [online]. OXFORD: Elsevier, 2013, 140(1-2), 168-177 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2013.02.049
- [31] CHINNICI, Fabio, Nadia NATALI, Attilio BELLACHIOMA, Andrea VERSARI a Claudio RIPONI. Changes in phenolic composition of red wines aged in cherry wood. *Food science & technology* [online]. AMSTERDAM: Elsevier, 2015, 60(2), 977-984 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2014.10.029
- [32] WANG, C.; Wang, C.; Tang, K.; Rao, Z.; Chen, J. Effects of Different Aging Methods on the Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Red Wine. *Fermentation* 2022, 8, 592. <https://doi.org/10.3390/fermentation8110592>
- [33] CASASSA, L. Federico, Gabriel M. CEJA, Armando VEGA-OSORNO, Fintan DU FRESNE a David LLODRÁ. Detailed chemical composition of Cabernet Sauvignon wines aged in French oak barrels coopered with three different stave bending techniques. *Food chemistry* [online]. England: Elsevier, 2021, 340, 127573-127573 [cit. 2023-07-13]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127573
- [34] PAVLOUŠEK, Pavel. *Výroba vína u malovinařů. 2. aktualizované a rozšířené vydání*. Praha: Grada publishing, 2010. ISBN 978-80-247-3487-3.
- [35] ČESKO. Vyhláška č. 323/2004 Sb. ze dne 5. května 2004, kterou se provádějí některá ustanovení zákona o vinohradnictví a vinařství. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2004, částka 105/2004, s. 6521. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/ws_content?contentKind=regulation§ion=1&id=58038&name=323/2004
- [36] CANAS, Sara, Ilda CALDEIRA, Tiago A. FERNANDES, Ofélia ANJOS, António Pedro BELCHIOR a Sofia CATARINO. Chapter 14 - Sustainable use of wood in wine spirit production. In: *Improving Sustainable Viticulture and Winemaking Practices*. Elsevier, 2022, s. 259-280. ISBN 0323851673. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-85150-3.00013-X

- [37] ALAÑÓN, M.E., L. CASTRO-VÁZQUEZ, M.C. DÍAZ-MAROTO, I. HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, M.H. GORDON a A. PÉREZ-COELLO. Antioxidant capacity and phenolic composition of different woods used in cooperage. *Food Chemistry* [online]. 2011, 129(4), 1584-1590 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0308-8146.
- [38] MARTÍNEZ-GIL, Ana M., Maria DEL ALAMO-SANZA, Ignacio NEVARES, Rosario SÁNCHEZ-GÓMEZ a Laura GALLEGO. Effect of size, seasoning and toasting level of *Quercus pyrenaica* Willd. wood on wine phenolic composition during maturation process with micro-oxygenation. *Food Research International* [online]. 2020, 128, 108703 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108703>
- [39] CANO-LÓPEZ, Marta; BAUTISTA-ORTÍN, ANA B.; PARDO-MÍNGUEZ, Francisco; LÓPEZ-ROCA, JOSE M. a GÓMEZ-PLAZA, Encarna. SENSORY DESCRIPTIVE ANALYSIS OF A RED WINE AGED WITH OAK CHIPS IN STAINLESS STEEL TANKS OR USED BARRELS: EFFECT OF THE CONTACT TIME AND SIZE OF THE OAK CHIPS. Online. *Journal of food quality*. 2008, roč. 31, č. 5, s. 645-660. [cit. 2024-04-06] ISSN 0146-9428. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2008.00226.x>.
- [40] CERNÎȘEV, Serghei. Analysis of lignin-derived phenolic compounds and their transformations in aged wine distillates. Online. *Food control*. 2017, roč. 73, s. 281-290. [cit. 2024-04-06]. ISSN 0956-7135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.015>.
- [41] DE ROSSO, Mirko; PANIGHEL, Annarita; DALLA VEDOVA, Antonio; STELLA, Laura a FLAMINI, Riccardo. Changes in Chemical Composition of a Red Wine Aged in Acacia, Cherry, Chestnut, Mulberry, and Oak Wood Barrels. Online. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2009, roč. 57, č. 5, s. 1915-1920. [cit. 2024-04-06]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf803161r>.
- [42] CHAUDHARY, Ashun, Sachin KUMAR, Isha SAGAR, Rohit KUMAR, Ravi Kumar CHHOKER, Sayeed AHMAD a Divya MEHROTA. Ferulic Acid: A Promising Therapeutic Phytochemical and Recent Patents Advances. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery* [online]. 2019, 13(2), 115-123 [cit. 2023-05-22]. ISSN 2212-2728.
- [43] HASHIMOTO, Takashi, Shuhei HIBI, Chiaki KUROKI, Takeshi OHORI, Toru ISHIKAWA, Takahiko YOKOI, Yoshinori TANI, Nobuhiko MIWA a Ken-ichi MIYAZAWA. Preventive effects of food components on caspase-8-mediated apoptosis induced by dietary carcinogen, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole. *Journal of Nutritional Biochemistry* [online]. 2005, 16(5), 308-317 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0955-2863. Dostupné z:
- [44] WALTON, Nicholas J., Melinda J. MAYER a Arjan NARBAD. Vanillin. *Phytochemistry* [online]. 2003, 63(5), 505-515 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0031-9422. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00149-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00149-3)
- [45] LISZT, Kathrin Ingrid, Andrea DEL ALAMO, Christina LANGHORST, Ulrike DENZER, Heidrun SCHULTZE, Hendrik ABELAS STEINHART a Thorsten CREUTZFELDT. Identification of catechin, syringic acid, and procyanidin B2 in wine as stimulants of gastric acid secretion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2015, 63(35), 7775-7783 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02462>
- [46] HANG, Shijun, Xiaoying YU, Huafeng FANG, Wenbin CHEN, Qiang WANG, Zhengxiang ZHANG a Yueqing ZHENG. Antioxidant Effects of Protocatechuic Acid and Protocatechuic Aldehyde: Old Wine in a New Bottle. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [online]. 2021, 2021 [cit. 2023-05-22]. ISSN 1741-427X. Dostupné z:
- [47] WATERS, E. J., Zheyang PENG, K. F. POCOCK a P. J. WILLIAMS. Proteins in white wine, II: Their resistance to bentonite fining. *American Journal of Enology and Viticulture* [online]. 1995, 46(3), 314-320 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0002-9254.

- [48] DE CONINCK, G., et al. Evolution of phenolic composition and sensory properties in red wine aged in contact with Portuguese and French oak wood chips. *OENO One*, 2006, 40.1: 25-34. [cit. 2024-04-06]. Dostupné z: <https://oeno-one.eu/article/view/881>.
- [49] CEJUDO-BASTANTE, María Jesús; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, Isidro a PÉREZ-COELLO, María Soledad. Micro-oxygenation and oak chip treatments of red wines: Effects on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. Part II: Merlot wines. Online. *Food chemistry*. 2011, roč. 124, č. 3, s. 738-748. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.064>. [cit. 2024-05-15].
- [50] FERNANDES, Iva, Andreia FARIA, Susana CALHAU, Valentina DE FREITAS a Narcisa MATEUS. Wine flavonoids in health and disease prevention. *Molecules* [online]. 2017, 22(2), 292 [cit. 2023-05-22]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules22020292>
- [51] RIBÉREAU-GAYON, Pascal, et al. (ed.). *Handbook of enology, Volume 1: The microbiology of wine and vinifications*. John Wiley & Sons, 2006.
- [52] STRATIL, Pavel, Bořivoj KLEJDUS a Vlastimil KUBÁŇ. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2006, 54(3), 607-616 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0021-8561.
- [53] RIBÉREAU-GAYON, Pascal, et al. *Handbook of Enology, volume 2: The chemistry of wine stabilization and treatments*. John Wiley & Sons, 2021.
- [54] LEE, Eun Jin, Avishek MAHONEY, Damian C. FRANKLIN, David C. MUDDIMAN a James W. CLARK JR. Measurement of total phenolic content in wine using an automatic Folin–Ciocalteu assay method. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. 2014, 49(11), 2364-2372 [cit. 2023-05-22]. ISSN 1365-2621.
- [55] EVERETTE, Jace D., Quideau QIZHEN, Anuradha GUDA, Keith R. MARTIN, Babu HAYTOWITZ a Stuart K. JACKSON. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2010, 58(14), 8139-8144 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf1005935>
- [56] ARDREY, Robert E. *Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction*. John Wiley & Sons, 2003.
- [57] FLAMINI, Riccardo. Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part I: Polyphenols. *Mass spectrometry reviews*, 2003, 22.4: 218-250
- [58] FLAMINI, Riccardo; TRALDI, Pietro. *Mass spectrometry in grape and wine chemistry*. John Wiley & Sons, 2009.
- [59] GROB, Robert L.; BARRY, Eugene F. (ed.). *Modern practice of gas chromatography*. John Wiley & Sons, 2004.
- [60] RUBIO-BRETÓN, Pilar; GARDE-CERDÁN, Teresa a MARTÍNEZ, Juana. Use of Oak Fragments during the Aging of Red Wines. Effect on the Phenolic, Aromatic, and Sensory Composition of Wines as a Function of the Contact Time with the Wood. Online. *Beverages* (Basel). 2018, roč. 4, č. 4, s. 102. ISSN 2306-5710. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/beverages4040102>. [cit. 2024-04-12].
- [61] PRUSISZ, B.; MULICA, K.; POHL, P. Ion Exchange and Ion Exclusion Chromatographic Characterization of Wines Using Conductivity Detection. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2008, Vol. 16, No. 2, s. 95-103. Dostupné z: <https://www.jfda-online.com/journal/vol16/iss2/13/>. [cit. 2024-04-12].

- [62] KOCH, Matthias, Caroline DIETRICH, Klaus G. HEUSSNER a Ulrich S. SCHOENHALS. Determination of total sulfite in wine by ion chromatography after in-sample oxidation. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 2010, 58(17), 9463-9467 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0021-8561.
- [63] ORTEGA-HERAS, Miriam; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M a Luisa a GONZÁLEZ-HUERTA, Carlos. Consideration of the influence of aging process, type of wine and oenological classic parameters on the levels of wood volatile compounds present in red wines. *Online. Food chemistry*. 2007, roč. 103, č. 4, s. 1434-1448. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.060>. [cit. 2024-04-17].
- [64] LAŠTINCOVÁ, Jarmila; KALAS, Jozef. Senzorické hodnotenie jako súčasť analýzy vína. *Chem. listy*, 2010, 453-454.
- [65] RAMÍK, Jaroslav; KRKOŠKOVÁ, Radmila. *Statistické zpracování dat: Pro kombinovanou formu studia*. Slezská univerzita v Opavě, Obchodně podnikatelská fakulta v Karviné, 2013.
- [66] PCA - Principal Component Analysis Essentials - Articles - STHDA. 301 Moved Permanently [online]. Dostupné z: <http://www.sthda.com/english/articles/31-principal-component-methods-in-r-practical-guide/112-pca-principal-component-analysis-essentials/>
- [67] URBÁNEK, T., 2007. K PREZENTACI VÝSLEDKU STATISTICKÝCH ANALÝZ - 1. ČÁST. *Československa Psychologie*, vol. 51, no. 6, pp. 601-609 ProQuest Central. ISSN 0009062X.
- [68] ÖSTMAN, Marcus. *Antimicrobials in sewage treatment plants: Occurrence, fate and resistance*. 2018. PhD Thesis. Umeå universitet.
- [69] MELOUN, Milan a Jiří MILITKÝ. *Statistická analýza experimentálních dat*. Vyd. 2., upr. a rozš. Praha: Academia, 2004. ISBN 80-200-1254-0.
- [70] MAJORS, Ronald E.; BARTH, Howard G.; LOCHMUELLER, Charles H. Column liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 1984, 56.5: 300-349.
- [71] SNYDER, Lloyd R.; KIRKLAND, Joseph J.; DOLAN, John W. *Introduction to modern liquid chromatography*. John Wiley & Sons, 2011.
- [72] SLAGHENAUFU, Davide; FRANC, Céline; MORA, Nathalie; MARCHAND, Stéphanie; PERELLO, Marie-claire et al. Quantification of three galloylglucoside flavour precursors by liquid chromatography tandem mass spectrometry in brandies aged in oak wood barrels. *Online. Journal of Chromatography A*. 2016, roč. 1442, s. 26-32. ISSN 0021-9673. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.03.007>. [cit. 2024-04-26].
- [73] JAITZ, Leonhard; SIEGL, Kathrin; EDER, Reinhard; RAK, Gabor; ABRANKO, Laszlo et al. LC-MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic origin, grape variety and vintage. *Online. Food chemistry*. 2010, roč. 122, č. 1, s. 366-372. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.053>. [cit. 2024-04-26].
- [74] GONZÁLEZ-CENTENO, M.R.; CHIRA, K. a TEISSEDE, P.-L. Ellagitannin content, volatile composition and sensory profile of wines from different countries matured in oak barrels subjected to different toasting methods. *Online. Food chemistry*. 2016, roč. 210, s. 500-511. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.139>. [cit. 2024-04-26].
- [75] POOLE, Colin F. *Gas Chromatographic Analysis of Wines: Current Applications and Future Trends*. In: POOLE, Colin F. (ed). *Gas Chromatography*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier, 2012, s. 251-289. ISBN 978-0-12-385540-4.
- [76] ZHANG, Xin-Ke et al. Changes in monosaccharides, organic acids and amino acids during Cabernet Sauvignon wine ageing based on a simultaneous analysis using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2018, 98(1), 104-112 [cit. 2023-04-17]. ISSN 1097-0010.

- [77] PUECH, Jean-Louis. Extraction of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak barrels. *American Journal of Enology and Viticulture* [online]. 1987, 38(3), 236-238 [cit. 2023-04-12]. Dostupné z: <https://www.ajevonline.org/content/38/3/236>
- [78] CERDÁN, Teresa Garde, Sara Rodríguez MOZAZ a Carmen Ancín AZPILICUETA. Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak. *Food Research International* [online]. 2002, 35(7), 603-610 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00173-9](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00173-9)
- [79] DE SIMÓN, B. Fernández, et al. Polyphenolic compounds as chemical markers of wine ageing in contact with cherry, chestnut, false acacia, ash and oak wood. *Food chemistry* [online]. 2014, 143, 66-76 [cit. 2023-04-20]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.102>
- [80] RAPOSO, R., J. GUEDES DE PINHO, P. SANTOS, H. SILVA FERREIRA a P. GUEDES DE PINHO. Behaviour and Stability of Antioxidant Phenolic Compounds During Alcoholic Fermentation of Wine. *European Food Research and Technology* [online]. 2016, 242(5), 715-730 [cit. 2023-04-20]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2576-0>
- [81] ZHANG, Xin-Ke et al. The effect of prefermentative addition of gallic acid and ellagic acid on the red wine color, copigmentation and phenolic profiles during wine aging. *Food Research International* [online]. 2018, vol. 106, s. 568-579 [cit. 2023-04-06]. ISSN 0963-9969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.018>
- [82] Food Chemistry: Copigmentation and Aging Study of Red Wine Blends Using Anthocyanin and Copigment Analysis. ISSN 0308-8146.
- [83] CARPENA, Maria, Gregorio MUÑOZ-BERNAL, Alfredo AMIGO-BENAVENT a Blaøca DEL RÌOMERA. Wine aging technology: Fundamental role of wood barrels. *Foods* [online]. 2020, 9(9), 1160 [cit. 2023-06-08]. ISSN 2304-8158.
- [84] NORRIE, Phillip A. The history of wine as a medicine. In: SANDLER, Mendel a Roger PINDER, ed. *Wine: A Scientific Exploration*. New York: CRC Press, 2002, s. 21-55. ISBN 0-415-28240-5.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

JMF – jablečno–mléčná fermentace
CFL – celkové fenolické látky
F–C – Folin–Ciocalteu
HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LC – kapalinová chromatografie
MS – hmotnostní spektrometr
NMR – nukleární magnetická rezonance
IR – infračervená spektrometrie
ESI – elektrosprejová ionizace (elektrosprej)
ACPI – chemická ionizace za atmosférického tlaku
TOF – time of flight
MS/MS – tandemová hmotnostní spektrometrie
GC – plynová chromatografie
TID – termoionizační detektor
FID – plamenově–ionizační detektor
SPME – mikroextrakce tuhou fází
HS – headspace
IC – iontová chromatografie
O.I.V. – Mezinárodní organizace pro révu a víno
DA – decision analysis (rozhodující analýza)
PCA – analýza hlavních komponent
PC – hlavní komponent
Ref. – reference
DL – detekční limit
PCA – analýza hlavní komponent
PC – hlavní komponent

8 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1 Ukázka dotazníku pro sensorickou analýzu vína*
- Příloha 2 Ukázka chromatogramu referenčního vzorku iontové chromatografie*
- Příloha 3 Ukázka chromatogramu referenčního vzorku plynové chromatografie s FID*
- Příloha 4 Ukázka chromatogramu referenčního vzorku kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem*

senzorická analýza aromatizovaných vín

Vína macerována s různými typy dřeva mění své organoleptické vlastnosti. Díky tepelné úpravě dřevěných štěpků, se termodegradovaný lignin a další dřevěné látky ve styku s vínem přeměňují na fenolické látky, které dodávají vínu plnější barvu, obohacuje aroma a chuť především do vanilkových, kouřových a celkově zemitějších tónů.

1 Vyberte pohlaví

Nápověda k otázce: *Vyberte jednu odpověď*

- žena muž

2 Vyberte věkové rozmezí

Nápověda k otázce: *Vyberte jednu odpověď*

- 18-25 26-44 45-60 60+

3 Jak často pijete červené víno?

Nápověda k otázce: *Vyberte jednu odpověď*

- Při každé příležitosti Občas, když mám chuť Jen pokud není na výběr jiná možnost Nepiju červené víno

Hodnocení je založeno na porovnávání každého vzorku se standardem a nakonec porovnání všech vzorků celkově. Standardní hodnoty jsou u každé kategorie 5 hvězdiček, víno je nutno tedy porovnávat, zda-li je např. více sladší (6 a více hvězd) nebo méně (4 a méně hvězd).

10 Výraznost

Nápověda k otázce: *1=lehká, svěží - 10=silná, hutná*

☆☆☆☆☆☆☆☆☆☆ / 10

11 Cizorodost

Nápověda k otázce: *Vyberte jednu odpověď*

- Vanilka Kouř/spálenina Červené ovoce Káva Pepř
 Jiná

Hodnocení chuti vína DV

12 Plnost vína

Nápověda k otázce: 1=lehké, svěží – 10=plné až hutné

☆☆☆☆☆☆☆☆ / 10

13 Trpkost

Nápověda k otázce: 1=žádná – 10=silná

☆☆☆☆☆☆☆☆ / 10

14 Dochut'

Nápověda k otázce: 1=slabá – 5=normální – 10=silný 'ocas'

☆☆☆☆☆☆☆☆ / 10

15 Cizorodost

Nápověda k otázce: Vyberte jednu odpověď

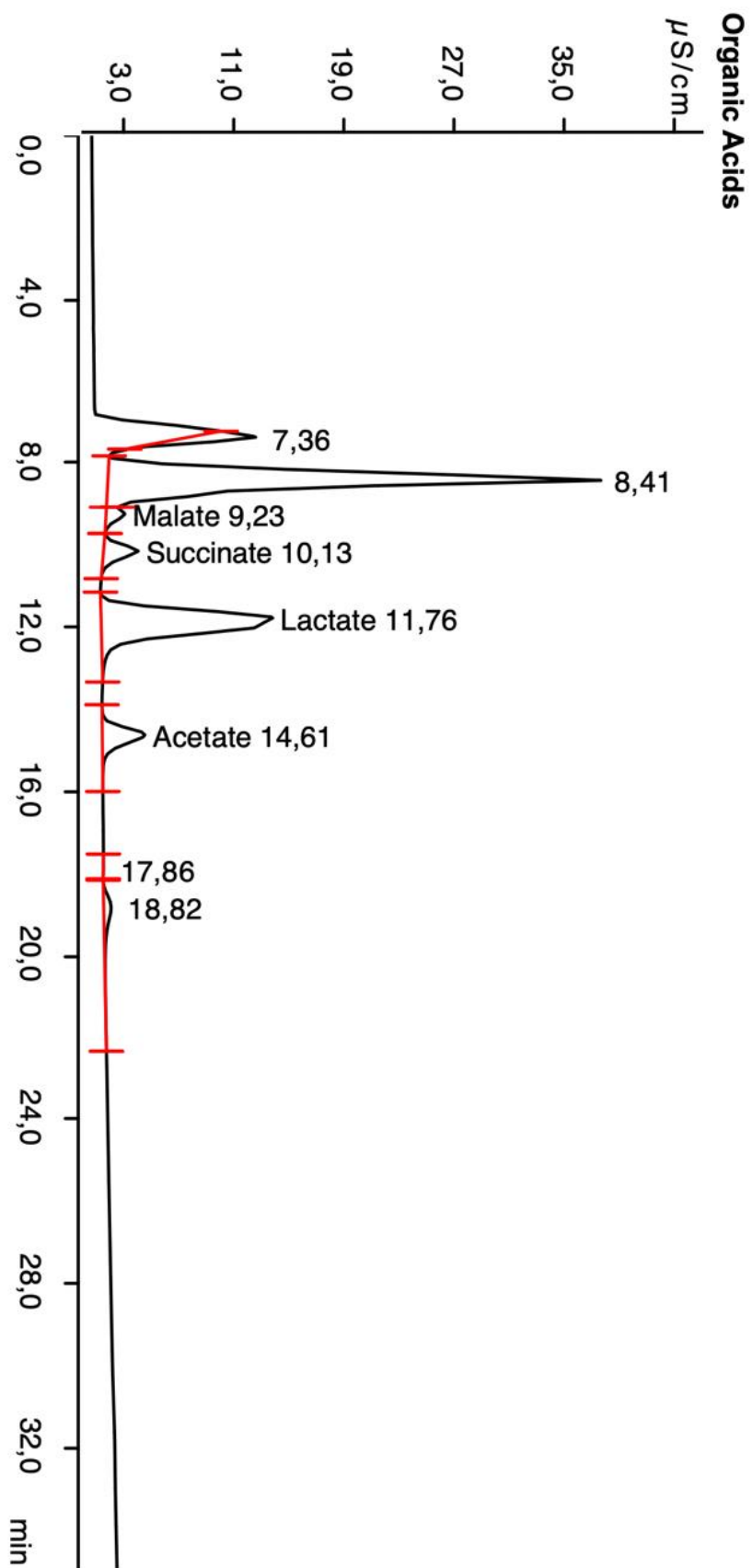
- Vanilka Kouř Červené ovoce Káva Pepř Nic
 Jiná

54 Celkové zhodnocení

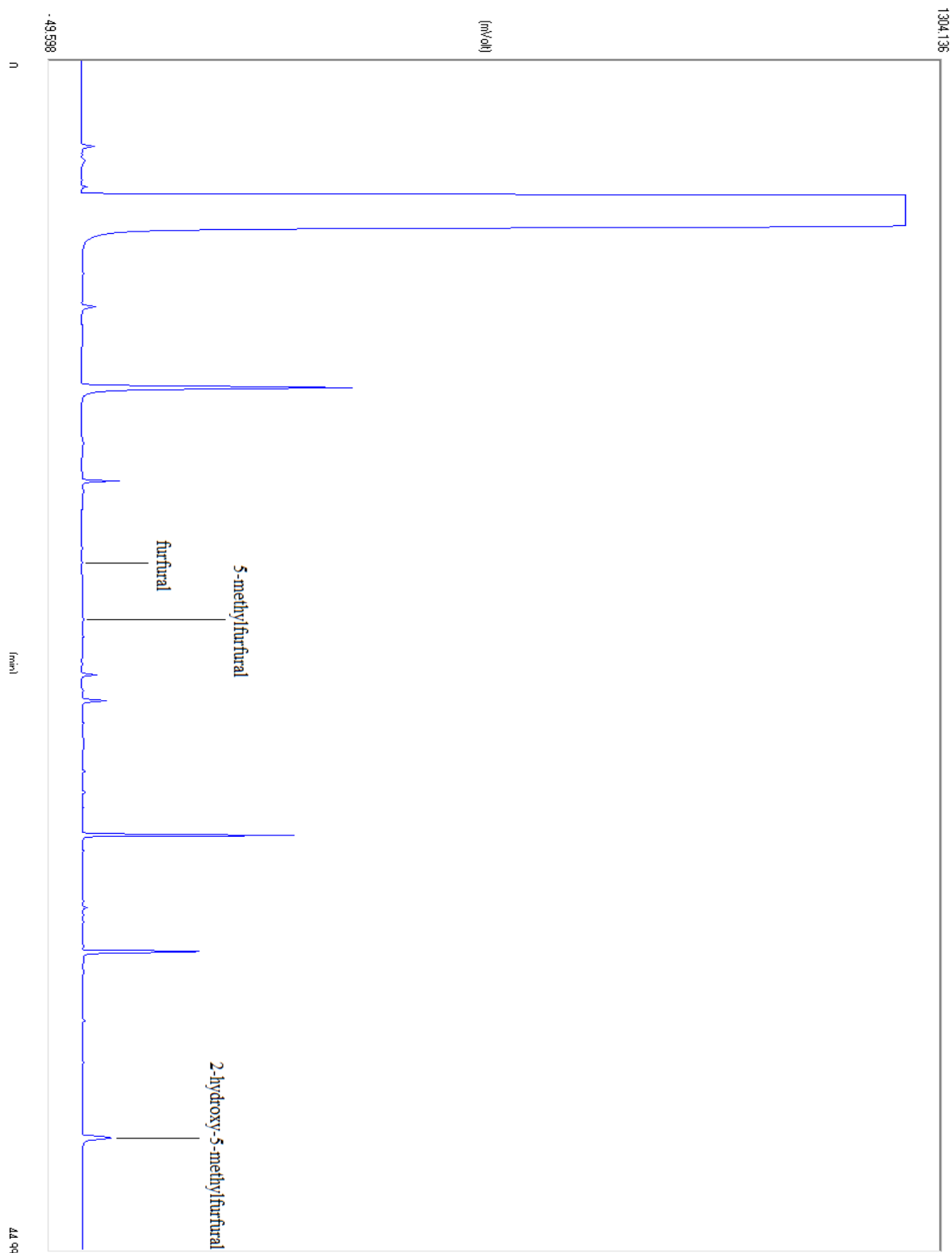
Nápověda k otázce: Seřadte vína od celkově nejlepšího vzorku po nejhorší

STANDARD	<input type="text"/>
MO	<input type="text"/>
DV	<input type="text"/>
AK	<input type="text"/>
DM	<input type="text"/>
DH	<input type="text"/>
CE	<input type="text"/>
GU	<input type="text"/>
SA	<input type="text"/>

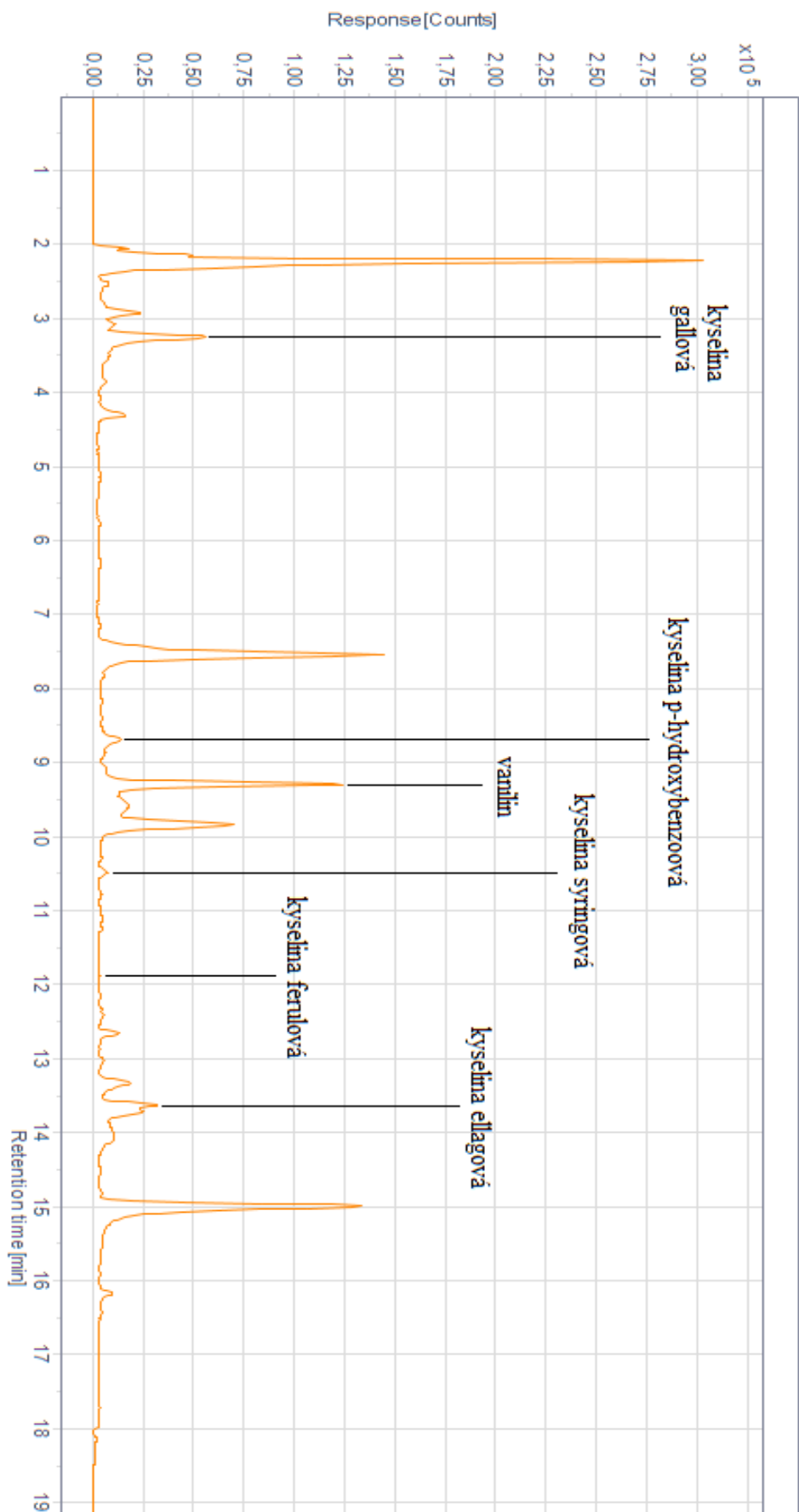
Příloha 1 – příklad dotazníku pro senzoryckou analýzu aromatizovaných vín



Příloha 2–ukázka chromatogramu referenčního vzorku iontové chromatografie



Příloha 3 – Ukázka chromatogramu referenčního vzorku plynové chromatografie s FID



Příloha 4 – Ukázka chromatogramu referenčního vzorku kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem