

Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně

Zahradnická fakulta v Lednici



Sekundární aromatické látky ve Svatomartinských vínech

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Michal Kumšta

Vypracovala:

Lucie Mamráková

Lednice 2015

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Lucie Mamráková**
Studijní program: Zahradnické inženýrství
Obor: Vinohradnictví a vinařství
Název tématu: **Sekundární aromatické látky ve Svatomartinských vínech**
Rozsah práce: 35 stran textu, tabulek, grafů a schémat

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte literaturu týkající se volatilních látek, které kvasinky tvoří nebo uvolňují z prekurzorů v průběhu kvašení.
2. Uveďte hlavní skupiny těchto látek. Popište, jakým způsobem tyto látky vznikají a vliv použitého kmene kvasinek na jejich koncentraci ve víně s přihlédnutím na technologii Svatomartinských vín.
3. Uveďte metody stanovení těchto látek a jejich koncentrace v mladém víně.

Seznam odborné literatury:

1. BRANCO, J M. – RIBÉREAU-GAYON, P. Handbook of enology. : The chemistry of wine stabilization and treatments. volume 2. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103962, 97804700103722. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010398>.
2. RIBÉREAU-GAYON, P. – BRANCO, J M. Handbook of enology. : The microbiology of wine and vinifications. volume 1. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103651, 97804700103411. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470010363>.
3. POLO, C M. – MORENO-ARRIBAS, V M. *Wine chemistry and biochemistry*. 1. vyd. New York: Springer, 2008. 735 s. ISBN 978-0-387-74116-1.

Datum zadání bakalářské práce: prosinec 2013

Termín odevzdání bakalářské práce: květen 2014

L. S.



Lucie Mamráková
Autorka práce



Ing. Michal Kumšta
Vedoucí práce



Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.
Vedoucí ústavu



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

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci s názvem *Sekundární aromatické látky ve Svatomartinských vínech* vypracovala samostatně. Veškeré použité prameny a informace jsou uvedeny v seznamu literatury. Souhlasím s tím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

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

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

V Brně dne:

.....

podpis

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce Ing. Michalovi Kumštovi za odborné vedení, cenné rady, připomínky a zodpovězené dotazy týkající se dané problematiky. Dále chci poděkovat své rodině a svým blízkým za psychickou podporu a nekonečnou trpělivost.

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	SVATOMARTINSKÉ VÍNO	10
2.1	ODRŮDY SVATOMARTINSKÝCH VÍN	10
2.1.1	<i>Müller Thurgau</i>	10
2.1.2	<i>Muškat moravský</i>	10
2.1.3	<i>Veltlínské červené rané</i>	11
2.1.4	<i>Zweigeltrebe</i>	11
2.1.5	<i>Svatovavřínecké</i>	11
2.1.6	<i>Modrý Portugal</i>	11
2.2	TECHNOLOGIE VÝROBY	12
2.2.1	<i>Řízená teplota kvašení</i>	12
2.2.2	<i>Karbonická macerace</i>	12
3	ZÁKLADNÍ SLOŽKY VÍNA	14
3.1	VODA	14
3.2	SACHARIDY	15
3.3	KYSELINY	15
3.3.1	<i>Kyselina vinná</i>	16
3.3.2	<i>Kyselina jablečná</i>	17
3.3.3	<i>Kyselina mléčná</i>	17
3.3.4	<i>Kyselina citrónová</i>	17
3.4	MINERÁLNÍ LÁTKY (POPELOVINY)	18
3.5	DUSÍKATÉ SLOUČENINY	18
3.6	FENOLYTICKÉ LÁTKY	18
3.7	ALKOHOLY	19
3.7.1	<i>Ethanol</i>	19
3.7.2	<i>Methanol</i>	19
3.7.3	<i>Glycerol</i>	20
4	AROMATICKÉ LÁTKY	21

4.1	ZÁKLADNÍ SKUPINY AROMATICKÝCH LÁTEK	22
4.1.1	<i>Primární aroma</i>	22
4.1.2	<i>Sekundární aroma</i>	23
4.1.3	<i>Terciální aroma</i>	23
4.2	VLIV KVASINEK NA AROMATICKÝ PROFIL VIN	23
4.3	NEJVÝZNAMNĚJŠÍ SEKUNDÁRNÍ AROMATICKÉ LÁTKY A JEJICH PREKURZORY	25
4.3.1	<i>Vyšší alkoholy</i>	25
4.3.2	<i>Těkavé kyseliny</i>	26
4.3.2.1	Kyselina octová	26
4.3.3	<i>Estery</i>	27
4.3.3.1	Ethyl-acetát	30
4.3.3.2	Isoamyl-acetát	30
4.3.3.3	Fenylethyl-acetát	30
4.3.4	<i>Karboxylové sloučeniny</i>	30
4.3.4.1	Aldehydy	30
4.3.4.1.1	Acetaldehyd	31
4.3.4.2	Ketony	31
4.3.4.2.1	Diacetyl	31
4.3.5	<i>Aminokyseliny</i>	32
5	VYBRANÉ METODY PRO STANOVENÍ VOLATILNÍCH SLOUČENIN	33
5.1	CHROMATOGRFIE	34
5.1.1	<i>Plynová chromatografie (GC)</i>	35
5.1.1.1	GC-MS spektrometrie	35
5.1.2	<i>Kapalinová chromatografie (LC)</i>	36
5.2	INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE	37
6	GC-MS STANOVENÍ JEDNOTLIVÝCH VOLATILNÍCH SLOUČENIN	38
6.1	PŘÍPRAVA VZORKU	40
6.2	STANDARD	40
6.3	NAMĚŘENÉ VOLATILNÍ LÁTKY	41
8	ZÁVĚR	42
9	SOUHRN	43

10	RESUME	43
11	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44
12	SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ	50
13	SEZNAM ZKRATEK.....	51
14	SEZNAM PŘÍLOH	51

1 ÚVOD

Svátek Svatomartinských vín, který se každoročně slaví 11. listopadu, patří k nejvýznamnějším událostem pro vinaře i širokou veřejnost, bez které si již podzim nedovede většina z nás představit. Během tohoto svátku se hodnotí úspěch zpracovaných hroznů i kvalita ročníku. Není město či vesnice, kde by se nekonaly Svatomartinské slavnosti, není člověk, jenž by sklenici mladého vína odolal. Tato vína jsou oblíbená pro svou lehkost a ovocné aroma.

Vůně je jedním z kvalitativních znaků při posuzování vína. Je tvořena stovkou těžkých látek různých koncentrací. Tyto koncentrace jsou často pod prahem lidského vnímání, jsou však významné pro posuzování vína jako celku. Pro určení stopových látek nám neposlouží pouze čichový vjem, ale je zapotřebí užití separačních metod. Ty spočívají v oddělení složek směsi na základě jejich rozdílných fyzikálních či chemických vlastností.

Rozlišujeme tři druhy aromat, kdy každý z těchto druhů má svoji charakteristiku. Primární aroma vytváří odrůdový charakter vína, sekundární vzniká při kvašení vína a je nejdůležitější složkou, proto se na něj tato práce bude zaměřovat. Terciální aroma se vytváří biochemickými reakcemi z předešlých skupin a vzniká při dlouhodobém zrání vína (proto v souvislosti s mladými víny není zmiňováno). Cílem této práce je popsat, co to Svatomartinské vína jsou, ale také zaměřit se na chemické složení těchto vín a objasnit, co se skrývá za tak oblíbenými ovocnými aromatickými tóny.

2 SVATOMARTINSKÉ VÍNO

Svatomartinské víno je značka mladého vína splňujícího požadavky Vinařského fondu, který značku spravuje. Pod touto značkou bychom měli najít mladé kvalitní víno určené pro rychlou spotřebu. Vína nového ročníku tradičně se tradičně otevírají 11. listopadu v 11 hodin. Tyto oslavy mladého vína jsou podobné oslavám ve Francii s názvem Beaujolais Nouveau a v Itálii pod názvem Vino Nuovo.

Mladá vína této značky jsou z raných odrůd: Müller Thurgau, Veltlínské červené rané, Muškát moravský, Modrý Portugal a Svatovavřínecké. Z modrých odrůd je možné vyrobit růžové víno. Povolené jsou i směsi dvou odrůd. Obsah alkoholu je povolený do 12,5 % obj. u bílých vín, u červených do 13 % obj. Hrozny pocházejí z České republiky a zde se vína musí také vyrábět. Poslední důležitou podmínkou je dosažení minimálně 75 bodů ve stobodovém systému u odborné komise, která hodnotí vzhled, vůni, chuť a celkový dojem vína.

2.1 Odrůdy Svatomartinských vín

2.1.1 Müller Thurgau

Německá moštová odrůda vzniklá křížením odrůd Ryzlink rýnský a Madlenka královská. Jde o oblíbenou odrůdu díky svému brzkému zrání, vysokému výnosu, u konzumentů je oblíbená zejména díky nízkému obsahu kyselin a příjemným aromatickým látkám. Zraje koncem září a nedosahuje vysoké cukernatosti, při redukované sklizni je průměrná cukernatost 15–20 °NM a acidita 5,6–7,0 g.l⁻¹ (ENCYKLOPEDIE VÍNA, ©2009).

Ve vůni i chuti můžeme poznat muškátové aroma, citrusové plody, angrešt, černý rybíz, broskev, grapefruit nebo travnaté tóny.

2.1.2 Muškát moravský

Česká mladá odrůda vzniklá křížením odrůd Muškát Ottonel a Prachttraube. Sběr hroznů nastává v první polovině září. Víno má většinou méně kyselin, je lehké, má typickou muškátovou chuť a vůni, a díky tomu se u konzumentů těší značné oblibě. Vinaři musí při zpracování tohoto vína (na vinici i ve vinném sklepě) prokázat své vinařské umění, aby chuť vína nebyla tenká, plochá, s nepříjemnými tóny kyseliny

mléčné. Proto je nutné zabránit odbourávání kyselin, popřípadě aciditu zvýšit. Průměrná cukernatost dosahuje 16–20 °NM, při redukci sklizně 18–22 °NM, průměrná acidita 7–9 g.l⁻¹ (ENCYKLOPEDIE VÍNA, ©2009).

2.1.3 Veltlínské červené rané

Původ této rané odrůdy není zcela doložen. Dle genetických studií je známo, že na vzniku této odrůdy se podílelo Sylvánské zelené a Veltlínské červené. Sběr hroznů probíhá v první polovině září. Průměrná cukernatost dosahuje 17–19 °NM, acidita 7–9 g.l⁻¹ (ENCYKLOPEDIE VÍNA, ©2009).

Chuť je jemně ovocná až kořenitá, širší a extraktivní, s jemnou kyselinkou a se středním až vyšším obsahem alkoholu. Ve vůni a chuti můžeme hledat směs zahradního ovoce, mandle, med a chlebnatost. U konzumentů je tato odrůda méně oblíbená.

2.1.4 Zweigeltrebe

Německá moštová odrůda, jejímiž rodiči jsou odrůdy Svatovavřínecké a Frankovka. Sběr nastává začátkem října. U konzumentů je toto víno vyhledáváno pro své výrazné ovocné aroma. Průměrná cukernatost dosahuje 16,5–19 °NM, acidita 7–9 g.l⁻¹ (ENCYKLOPEDIE VÍNA, ©2009).

V chuti objevíme třešně, višně či švestky, chuť u mladého vína může být hrubší a drsná, po vyzrání je pak velmi jemná, harmonická.

2.1.5 Svatovavřínecké

Přesný původ a vznik této odrůdy není možné zcela dohledat, zrod této odrůdy je však připisován Francii. Vznikla nejspíše křížením odrůdy Rulandské modré s blíže neurčenou odrůdou. Sběr probíhá začátkem října. Cukernatost dosahuje 17–19 °NM, acidita 9–12 g.l⁻¹ (ENCYKLOPEDIE VÍNA, ©2009).

Ve vůni i chuti nalezneme višně, černý rybíz či povidla.

2.1.6 Modrý Portugal

Ani u této odrůdy není zcela znám její původ. Některé zdroje uvádějí jako kolébku Modrého Portugalu Portugalsko, ale vzhledem k tomu, že se v této zemi nikdy nenalezala, je tato domněnka nejspíše mylná. Modrý Portugal dozrává v druhé polovině

září. Výnos je pravidelný a velmi dobrý, kolem 12–14 t na hektar. Cukernatost dosahuje 16–17 °NM, acidita 7–11 g.l⁻¹ (ENCYKLOPEDIE VÍNA, ©2009).

Vůně je jemná a květinová, chuť je příjemná, sametová, víno je lehčí s nižším obsahem kyselin, jemně natrpklé.

2.2 Technologie výroby

Výběrem správné technologie výroby vína můžeme do jisté míry ovlivnit parametry výsledného vína. Technologie pro výrobu Svatomartinských vín jsou představeny v následujících odstavcích.

2.2.1 Řízená teplota kvašení

Základem této metody je udržování teploty moštu po dobu kvašení na požadované hodnotě. Při teplotě přes 25 °C unikají aromatické látky, a proto je doporučovaná teplota kvašení pro mladá vína kolem 18–20 °C. Při teplotách pod 21 °C jsou ve vínech patrné vyšší koncentrace ethyl-acetátů, propyl-acetátů, isoamyl-acetátů a hexyl-acetátů (BALÍK, 2010). Kvasící nádoby mají podobu nerezových tanků s dvojitým obalem nebo s chladícími deskami uvnitř nádob, přes které prochází medium dopravované potrubím.

Výsledkem jsou vína s čistou chutí a vůní. Hromadí se estery, které dávají vínům charakteristické aroma tropického ovoce, zejména banánu a ananasu (STEIDL a SCHÖDL, 2002).

2.2.2 Karbonická macerace

Principem karbonické macerace je vytlačení vzduchu z nádob pomocí oxidu uhličitého, a následné vložení celých neporušených hroznů. Díky oxidu uhličitému je potlačen výskyt mikroorganismů, a probíhá tedy nemikrobiální kvašení. Dochází k intracelulárnímu kvašení. To je zastaveno vlivem vzniklého ethanolu a následnému poškození buněčných stěn bobule (YANG, KAKUDA a SUBDEN, 2006). Poté probíhá výroba standardním způsobem, dalším krokem je tedy lisování.

Díky přítomnosti tlaku se zamezí aktivitě polyfenoloxidáz a ztrátám barviv, které polyfenoloxidázy způsobují (STEIDL a SCHÖDL, 2002). Tato technologie se využívá při zpracovávání modrých odrůd, u nichž bývá problém s větším obsahem taninů,

kterým je nutné dát za použití běžných technologií více času, aby zjemnili a nepůsobili ve víně „drsně“. Vína vyrobená touto metodou mají výrazné aroma a jsou vhodná ke konzumaci krátce po kvašení.

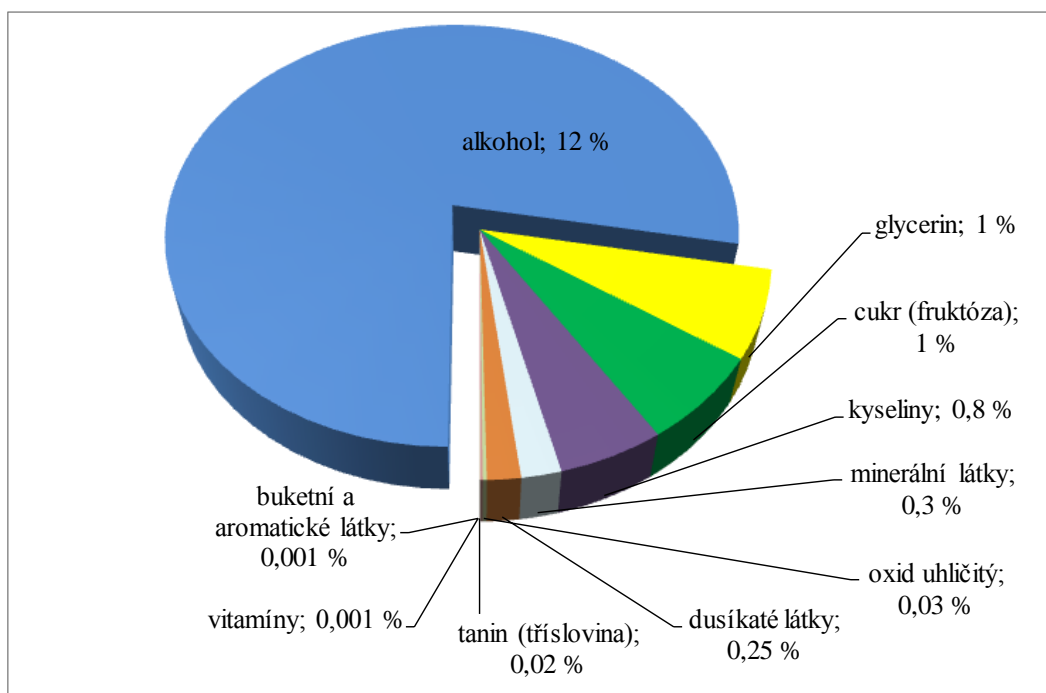
LÓPEZ *et al.* (2008) uveřejnili výsledky studie vlivu karbonické macerace na aromatický profil vína. Bylo zjištěno, že vína vyrobené karbonickou macerací vynikala oproti kontrolnímu vzorku vyšším obsahem zejména geraniolu, isoamyl-acetátu, isobutyl-acetátu, fenylethyl-acetátu, ethyl-dekanoátu, ethyl-propanoátu, kyseliny oktanové a kyseliny dekanové. Naopak kontrolní vzorek obsahoval více kyseliny octové, kyseliny isovalerové a isobutanolu.

3 ZÁKLADNÍ SLOŽKY VÍNA

Víno tvoří zhruba ze 73 % voda, zbytek je tvořen ostatními látkami, jejichž přehled je znázorněn v následujícím grafu (Graf č. 1). Za povšimnutí stojí obsah aromatických látek ve víně, který můžeme vůči ostatním látkám označit za stopový.

Červená vína se liší od bílých především vyšším obsahem tříslovin. To je dáno stykem moštu se slupkou bobulí během macerace.

Graf č. 1: Chemické složení bílého vína



3.1 Voda

Voda je nejvíce zastoupenou složkou ve víně, její obsah se pohybuje kolem 75 %, stejný obsah vody mají ve většině případu i bobule révy vinné. Ve víně je voda pouze organického původu, tedy z hroznů. 99 % vody v hroznech je přijímáno kořenem. Vodní deficit během růstu bobulí ovlivňuje složení budoucího vína. Voda slouží zejména jako rozpouštědlo těkavých a pevných chemických sloučenin. V rostlině je nezbytná pro metabolické procesy, ovlivňuje termoregulaci a rozvádí živiny a jiné látky.

3.2 Sacharidy

Sacharidy jsou nejrozšířenější přírodní látky. Slouží jako zdroj energie a mají stavební funkci (celulóza) a zásobní funkci (škrob).

Rostlina během fotosyntézy vytváří molekuly sacharózy, které se hromadí v hroznech. Během zrání je sacharóza hydrolyzována pomocí enzymu invertáza na glukózu a fruktózu, tedy na monosacharidy s šesti-uhlíkovým cyklem. Zpočátku se vytváří více glukózy než fruktózy, v průběhu zrání se poměr těchto cukrů vyrovnává. V České republice se k vyjádření cukernatosti používá jednotka zvaná normalizovaný moštoměr – °NM a vyjadřuje, kolik kilogramů cukru se nachází ve 100 litrech moštu.

V hroznech jsou dále přítomny i cukry s cyklem tří-, čtyř-, pěti- i sedmi-uhlíků. Tyto sacharidy se ve víně vyskytují méně nebo jen ve stopovém množství. Jedná se o sacharózu, ribózu, xylózu, galaktózu, stachyózu, rhamnózu, arabinózu, maltózu a další. Ne všechny tyto cukry jsou kvasitelné, jako např. pěti-uhlíkatá arabinóza, rhamnóza a xylóza, které jsou ve víně přítomny i po vykvašení. To je důvodem, proč víno není nikdy vykvašeno úplně, to znamená bez zbytkového cukru. Ve víně s vyšším zbytkovým cukrem převažuje fruktóza, protože kvasinky lépe zpracovávají glukózu (SEDLÁČEK, 2006–2015). Cukry hrají důležitou roli během fermentace, díky ní vzniká ethanol a další látky ovlivňující složení a kvalitu vína.

3.3 Kyseliny

Nejnovější výzkumy ukazují, že k tvorbě organických kyselin dochází na základě biochemických změn přímo v bobulích. Postupně tak ustupuje do pozadí tvrzení, že kyseliny se vytváří v listech a potom se transportují do bobulí. V období fenofáze růstu bobulí kyseliny přibývají, což je zapříčiněno intenzivním dýcháním, při zrání se pak jejich množství snižuje (PAVLOUŠEK, 2012a).

Běžně se setkáváme s pojmem titrovatelné kyseliny. Titrovatelné kyseliny představují nejčastěji měřený a také nejjednodušeji měřitelný kvalitativní parametr v hroznech, který hovoří o obsahu volných kyselin ve víně. Titrovatelné kyseliny jsou pojmem, pod který je zařazeno 70–80 % všech kyselin, a to jak anorganické kyseliny (jako je např. kyselina fosforečná), tak organické kyseliny (např. kyselina vinná, kyselina jablečná). V České republice se titrovatelné kyseliny vyjadřují jako g.l⁻¹ kyseliny vinné.

Titrovatelné kyseliny je možné stanovovat neutralizací roztokem hydroxidu sodného o známé normalitě (PAVLUŠEK, 2012a).

Organické kyseliny významně přispívají ke stabilitě a zlepšují organoleptické vlastnosti vín. Mladá bílá vína s vysokou kyselostí také obecně mají větší potenciál stárnutí. Červená vína jsou stabilní i při nižším obsahu kyselin, díky přítomnosti fenolů, které zvyšují kyselost a pomáhají udržovat stabilitu v průběhu stárnutí. Ve vínech se obsah kyselin pohybuje od 5 do 9 g.l⁻¹, v některých ročnících můžeme v mladých vínech nalézt i 15 g.l⁻¹. Největší podíl kyselin ve vínech tvoří kyselina vinná a jablečná.

Dalším pojmem, s kterým se můžeme setkat v souvislosti s kyselinami, jsou tzv. těkavé kyseliny. Tyto látky mají schopnost se vypařovat. Nepochází z hroznů jako kyselina vinná nebo jablečná, ale vznikají během fermentace nebo činností bakterií. Patří sem kyselina máslová, mravenčí, propionová a octová (VINARŠKÝ SLOVNÍK, 2014). O kyselině octové jako prekurzoru esterů blíže pojednává kapitola 4.3.2.1.

3.3.1 Kyselina vinná

Chemický název je kyselina dihydroxyjantarová. Má dva asymetrické uhlíky, které jsou rovnocenné, proto rozlišujeme podle ŠVEJCARA a MINÁRIKA (1976) čtyři formy:

- Kyselina L (+) vinná – v přírodě se vykytuje pouze v hroznech.
- Kyselina D (-) vinná – v přírodě se nevyskytuje, lze ji získat štěpením kyseliny hroznové.
- Kyselina hroznová (D, L vinná) – lze ji získat pouze synteticky.
- Kyselina mesovinná – získává se zahřátím kyseliny vinné nad její bod tání (170 °C).

Kyselina vinná je nejsilnější kyselina v hroznech a je zodpovědná za kyselou, ostrou chuť v hroznech a víně (PAVLUŠEK, 2012a). Jde o kyselinu mikrobiálně stálou. Ve fenofázi množství roste, při zrání hroznů se netvoří, ale váže na vápník nebo draslík ve formě těžko rozpustitelných vínanů, jako je vínan draselný, který se začíná usazovat hned po bouřlivém kvašení, a vínan vápenatý vznikající zejména při chemickém odkyselování. Vliv na množství kyseliny vinné v hroznech má výživa révy draslíkem. V mnoha viničních půdách je problémem nedostatek draslíku. Právě na takových

půdách mohou mít hrozny vysoký obsah kyselin. Je-li ve víně v nadbytku, dá se odstranit chemicky pomocí uhličitanu vápenatého.

3.3.2 Kyselina jablečná

Kyselina jablečná, neboli chemickým názvem kyselina monohydroxijantarová, má jeden asymetrický uhlík, proto rozlišujeme podle ŠVEJCARA a MINÁRIKA (1976) dvě formy kyseliny jablečné:

- Kyselina D (+) jablečná – připravuje se synteticky.
- Kyselina L (-) jablečná – vyskytuje se v hroznech a jiném ovoci.

Kyselina jablečná je kyselina, která poskytuje hroznům a vínu „zelenou chuť“, s ostrými, hrubými, nezralými tony. Proto vysoký obsah této kyseliny není ve víně žádoucí. Kvasinky ji při kvašení zpracovávají na alkohol, bakterie mléčného kvašení v procesu biologického odbourávání na kyselinu mléčnou. Vliv na snižování obsahu kyseliny jablečné má oslunění bobulí. Sluneční záření aktivuje činnost enzymu malátdehydrogenázy. Snižování obsahu kyseliny jablečné je možné ovlivnit odstraněním zálistků nebo listů v zóně hroznů. Její obsah lze snižovat i chemicky, avšak pouze podvojným odkyselováním obou těchto kyselin za vzniku podvojných solí (PAVLOUŠEK, 2011).

3.3.3 Kyselina mléčná

Vzniká jako vedlejší produkt při odbourávání kyselin během malolaktické fermentace. Také ji v malé míře produkují kvasinky při přeměně kyseliny pyrohroznové. Kyselina mléčná má antibakteriální a protizánětlivé účinky, a také zesiluje účinnost antioxidantů (ARNDT, 2009).

3.3.4 Kyselina citrónová

Kyselina citrónová je nejvýznamnějším zástupcem karboxylových hydrokyselin. Ve víně se přirozeně vyskytuje v množství 50–300 mg.l⁻¹, při malolaktické fermentaci může docházet k jejímu odbourávání na 100 mg.l⁻¹ a nižší hodnoty. Dokáže stabilizovat víno proti působení kovů (vznik chelátů). Podle legislativních předpisů její obsah ve víně nesmí překročit 1000 mg.l⁻¹ (SVAZ VINAŘŮ ČESKÉ REPUBLIKY, 2009).

3.4 Minerální látky (popeloviny)

Minerálními látkami obsaženými ve víně jsou vápník, draslík, hořčík, sodík, železo, sulfáty, a další. Z aniontů jsou nejvíce zastoupeny sulfáty i fosfáty. Sulfáty se dostávají do vína sířením. Do rostliny se dostávají z půdy kořenovým systémem. V sušších ročnících je minerálních látek ve víně méně. Ve víně se obvykle vyskytují v rozsahu 1,5–4,0 g.l⁻¹. V červených vínech se nachází vyšší množství minerálních látek než ve vínech bílých. Minerální látky jsou důležité pro růst a činnost kvasinek.

3.5 Dusíkaté sloučeniny

Hlavními dusíkatými sloučeninami jsou aminokyseliny, amonné soli, bílkoviny, vitamíny a polypeptidy. Ty, které jsou obsažené v moštu, jsou většinou spotřebovány kvasinkami (až 75 %).

Důležitým kvalitativním parametrem je asimilovatelný dusík, který zahrnuje amonné ionty a tzv. volné aminokyseliny. Asimilovatelný dusík je takový dusík, který jsou schopny kvasinky spotřebovat pro svoji činnost. Pro bezproblémové kvašení je zapotřebí 190–200 mg.l⁻¹. Jejich obsah je závislý na mnoho faktorech, jako je např. ročník, hnojení, podnož, odrůda a teplota macerace (BAROŇ, 2013).

Aminokyseliny jsou funkčními deriváty karboxylových kyselin a důležitými prekurzory aromatických látek, proto je této skupině věnována samostatná kapitola 4.3.5.

3.6 Fenolytické látky

Fenolytické látky rozdělujeme na dvě skupiny: flavonoidy a ne-flavonoidy. Flavonoidy obsahují flavonoly, antokyany, třísloviny a katechiny, které udávají barvu a chuť vína. Ne-flavonoidy obsahují stilbeny jako resveratrol a sloučeniny odvozené od kyseliny benzoové, kávové a skořicové. Především třísloviny poznáme díky svojí svíravé chuti a hořkosti (PAVLUŠEK, 2011).

Zdrojem je slupka bobule, semena nebo třápina. Jejich obsah je v bílých vínech v rozmezí 150–250 mg.l⁻¹, v červených vínech až do 450 mg.l⁻¹.

3.7 Alkoholy

Alkoholy jsou bezbarvé, hořlavé kapaliny, hydroxylové deriváty uhlovodíků. Jsou to látky, kterým můžeme připsat zásluhu za primární a sekundární vonné a chuťové vjemy rostlinného původu. Uplatnění jako aromatické látky mají hlavně vonné primární alkoholy a jejich estery. Přírodními vonnými látkami jsou především nižší alifatické nasycené a nenasycené alkoholy, zvláště pak monoterpenové a seskviterpenové alkoholy (VELÍŠEK a HAJŠLOVÁ, 2009, 160 s.).

Víno obsahuje např. tyto alkoholy: methanol, ethanol, 2-butanol, 3-butanol, vyšší alkoholy a glycerol. Vyšším alkoholům patřícím do této skupiny alkoholů je věnována kapitola 4.3.1.

3.7.1 Ethanol

Druhou nejvíce zastoupenou složkou ve víně je ethanol. Vzniká fermentací, přeměnou sacharidů, nejčastěji kvasinkami rodu *Saccharomyces cerevisiae* a jejich enzymy, na alkohol a oxid uhličitý za vzniku tepla.

Množství ethanolu se odvíjí od vstupního množství cukru v moštu, který se udává v °NM, tedy počet kilogramů cukru na sto litrů. Víno obsahuje 10,5–14 % obj. alkoholu, vyšší obsah alkoholu je pro kvasinky toxický a usmrtí je (RIBÉREAU-GAYON, DUBOURDIEU a DONÈCHE, 2006, 51–53 s.). I pro člověka je ve větších dávkách toxický, letální dávka orální spotřebou je 1,4 g na kilogram tělesné hmotnosti. Vyjadřuje se v % obj. nebo v g.l⁻¹.

Ve víně je důležitý zejména pro své konzervační účinky. Vína s nižším obsahem alkoholu snadno podléhají nemocím a vadám. Podporuje také plnost a extraktivnost vína.

3.7.2 Methanol

Dalším alkoholem zastoupeným ve víně je methanol. V rostlinných materiálech se nejčastěji vyskytuje ve formě esterů, např. esterů kyseliny benzoové, skořicové. Nevzniká alkoholovým kvašením jako ethanol, ale je výsledkem enzymatické hydrolýzy pektinů v průběhu kvašení (VELÍŠEK, 1999, 160 s.). Obsah methanolu je tedy závislý na obsahu pektinů. Největší koncentrace pektinů je v pokožce bobule,

červená vína mají vyšší koncentraci (152 mg.l^{-1}) než růžová (91 mg.l^{-1}), zatímco bílá vína mají ještě méně (63 mg.l^{-1}). Vína z hybridních odrůd vinné révy mají vyšší obsah methanolu v pokožce hroznů, než ta vyrobená z révy vinné. Použití pektolytických enzymů může usnadnit extrakci nebo vyčištění moštu, ale také způsobit zvýšení methanolu (RIBÉREAU-GAYON, DUBOURDIEU a DONÈCHE, 2006, s 53).

Metabolismy methanolu jsou pro člověka toxické. Methanol se vlivem enzymů alkoholdehydrogenázou mění na formaldehyd, a dále dalšími enzymy na kyselinu mravenčí, která působí jako silný jed. Minimální toxická dávka methanolu je asi $0,1 \text{ ml.l}^{-1}$. Proto bylo nezbytné zavedení bezpečných hranic pro obsah methanolu ve víně. U bílého a růžového vína bylo stanoveno 150 mg.l^{-1} , a 300 mg.l^{-1} u vína červeného. Bezpečnostní hranici stanovil Mezinárodní úřad pro vinnou révu a víno (PETR, 2012).

3.7.3 Glycerol

Glycerol je viskózní, hygroskopická bezbarvá kapalina bez zápachu, sladké chuti. Ve víně je hned po vodě a ethanolu nejvíce zastoupenou látkou. V některých publikacích je mu přisuzováno zvýšení jakosti, plnosti a textury vína, podle BARONĚ (2010) je tento přínos značně přeceňován. Za jeho vznikem je činnost kvasinek. Vzniká na počátku fermentace prokvašením prvních 50 g cukru, na konci fermentaci již nevzniká. Jeho koncentrace ve víně se pohybuje mezi $5\text{--}20 \text{ g.l}^{-1}$, u hroznů napadených *Botrytis cinerea* může být i vyšší. Podle experimentální práce ŠVEJCARA a PAPÚNA (1976) má vliv na zvýšení obsahu glycerolu zvýšení teploty při kvašení. Zvýšení teploty při kvašení na $20 \text{ }^\circ\text{C}$ zvýší obsah glycerolu průměrně o 56 %. Vyšší obsah glycerolu podmiňuje tvorbu vyšších alkoholů až dvakrát, ty jak známo jsou prekurzory aromatických látek (SOCHOR, 2013a).

Pro člověka je glycerol slabě jedovatý a může v krajních případech způsobit poškození jater. Nejnižší toxická dávka pro člověka podaná orálně činí přibližně 1,5 g glycerolu na kilogram živé hmotnosti, u průměrného člověka by to znamenalo požití dávku 90–120 g glycerolu, aby se u něho projevil symptomy otravy. Není dovoleno do vína přidávat syntetický glycerol.

4 AROMATICKÉ LÁTKY

Jako aromatické látky můžeme označit veškeré vonné a chuťové látky, které jsou sensoricky vnímatelné. Dávají vínům chuť, vůni a celkový odrůdový charakter, který má každá odrůda vinné révy jiný. V bobulích révy vinné se vytváří ve slupce a těsně pod ní. Rozlišujeme 600–800 aromatických sloučenin ve víně, ale pouze malý počet z nich přispívá k celkovému aromatu vína (STEIDL a SCHÖDL, 2002, 41 s.).

Celkový obsah aromatických látek ve vínech bývá 0,8–1,2 g.l⁻¹. Při kvašení vzniká více než 200 různých aromatických sloučenin v různých koncentracích. Aromatické látky jsou různorodé, od jednoduchých, jako jsou např. estery, po složitější, jako např. terpenoly (KRAUS, FOFFOVÁ a VURM, 2008, 60-62 s.). Mezi nejdůležitější aromatické sloučeniny patří vyšší alkoholy, estery, aldehydy, ketony a sirné sloučeniny. Na aroma mají bezpochyby největší vliv estery, nejvíce zastoupenými jsou pak ethyl-acetát, isoamil-acetát a ethyl-formiát. Koncentrace vybraných sensoricky významných esterů a alkoholů jsou zaznamenány v následující tabulce (Tab. č. 1).

Na tvorbu aromatických látek vzniklých fermentací, potažmo na celou fermentaci, má vliv nejen použitý kmen kvasinek, ale řada dalších faktorů jako například teplota fermentace, koncentrace cukru v moštu, stupeň odkalení, obsah asimilovatelného dusíku, obsah oxidu siřičitého, ethanolu a těkavých kyselin (PAVLOUŠEK, 2010, 46 s.).

Tab. č. 1: Alkoholy a estery ve víně, (FEDOR a FURDIKOVÁ, 2007)

	Látka	Koncentrace ve víně (mg.l⁻¹)	Aroma
Alkoholy	Propanol	9,0–68,9	drsné
	Butanol	0,5–8,5	banán, hruška
	Isobutanol	9,0–174,0	květinová, růže, ovocná
	Isoamylalkohol	6,0–490,0	banán, ovoce
	Hexanol	0,3–12,0	sladká
	2-fenylethylalkohol	4,0–197,0	květinová, růžová, ovocná
	Ethyl-acetát	22,5–63,5	kyselá, ovocná, lak na nehty
	Isoamyl-acetát	0,1–3,4	banán, hruška
	2-fenylethyl-acetát	0,0–18,5	květinová, růže, ovocná
Estery	Isobutyl-acetát	0,01–1,6	banán, ovoce
	Hexyl-acetát	0,0–4,8	sladká, parfémová
	Ethyl-butanoát	0,01–1,8	květinová, ovocná
	Ethyl-hexanoát	0,03–3,4	zelené jablko
	Ethyl-oktanoát	0,05–3,8	mýdlová
	Ethyl-dekonoát	0,0–2,1	květinová, mýdlová

4.1 Základní skupiny aromatických látek

Původ aromatických látek ve víně je různý, rozlišujeme však tři základní skupiny.

4.1.1 Primární aroma

Primární aroma neboli odrůdový buket je obsaženo v bobulích a je závislé zejména na odrůdě, jelikož pro každou odrůdu je charakteristické jiné složení a poměr aromatických látek. Primární aroma také závisí na dalších faktorech jako podnebí, půdní podmínky a agrotechnika ve vinici (STÁVEK, 2001b).

Rozlišujeme dva typy primárních aromatických sloučenin - volné aromatické látky a vázané aromatické látky. Vyskytují se v hroznech i v těkavé formě, a lze je tedy při hodnocení hroznů ve vinici vnímat. Mezi volné primární aromatické látky patří například mathoxypraziny (PAVLOUŠEK, 2011, 75 s.).

Větší množství primárních aromatických látek nalezneme ve vázané formě v podobě glykosidů, což jsou látky vázané na cukry. Po odštěpení cukru se stávají čichově aktivní. Mezi primární aromatické látky vázané patří např. terpeny a vonné thioly.

4.1.2 Sekundární aroma

Sekundární aroma neboli kvasný buket vzniká činností kvasinek při kvašení, při zpracování hroznů nebo dotváření vína vazbami vznikajících složek se složkami primárního aromatu. Tyto látky jsou velmi těkavé, proto je třeba dbát na pomalé kvašení při nízkých teplotách, kvašení při vyšších teplotách by způsobilo únik těchto látek.

Sekundární aroma vytváří především vyšší alkoholy (isobutanol, isoamylalkohol, n-hexylalkohol, isooktanol, geraniol), těkavé kyseliny (kyselina octová, kyselina mravenčí, kyselina propionová), karbonylové sloučeniny (formaldehyd, acetaldehyd, aceton, diacetyl, vanilin), estery (methyl-acetát, ethyl-acetát) apod. (STÁVEK, 2011b).

4.1.3 Terciální aroma

Terciální aroma, známé také jako ležácký buket, vzniká v průběhu zrání a archivace biochemickými reakcemi. Jednou z nich je esterifikace. Kvůli těmto reakcím mění víno během stárnutí své aroma. Nejlepším příkladem jsou vína odrůdy Sauvignon Blanc z Nového Zélandu z Marlborough, která se v mladém věku pyšní ovocnými tóny, zejména tóny angreštu, mučenky, papriky, ale ve stáří nabydou konzervativního charakteru s tóny hrachu či chřestu.

4.2 Vliv kvasinek na aromatický profil vín

Kvasinky jsou jedny z nejrozšířenějších mikroorganismů. S prvními důležitými poznatky o kvasinkách se setkáváme již v roce 1857. Louis Pasteur tvrdil, že organismy způsobující kvašení nemusí být živé, a že kvašení je „život bez kyslíku“. V dalších letech vydal studii o pivu a vínu, kde naznačoval, že kvasinky mají vliv na aromatický profil (KOPECKÁ, MATOULKOVÁ a NĚMEC, 2012). S pokusy Hermanna Müllera selektovat kvasinky podle jejich vlastností se setkáváme na konci 19. století (PAVLOUŠEK, 2010, 44 s.).

Velká část odrůdového charakteru vína se vyvíjí v průběhu fermentace a uvolňuje se z prekurzorů. Kvasinky dělíme na dvě skupiny dle jejich původu, a to na „divoké“ nebo také apikulátní, a selektované kmeny aktivních kvasinek neboli „ušlechtilé kvasinky“.

Apikulátní kvasinky jsou přirozenou mikroflórou hroznů. Nejznámějšími divokými kvasinkami jsou *Kloeckera apiculata*, *Candida*, *Hanseniaspora*. Tyto kvasinky

produkují alkohol pouze do 5 % obj. Fermentaci dále přebírá kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*, nazývaná někdy jako fermentační. Výhodou použití apikulátních kvasinek je široká enzymatická výbava, která má pozitivní vliv na aromatické vlastnosti. Nevýhodou pak je vyšší tvorba kyseliny octové, glycerolu, vyšších alkoholů a těkavých kyselin (SOCHOR, 2013a). Nativní druhy, jako jsou například *Hansenula anomala* nebo *Hanseniaspora uvarum*, produkují značné množství ethyl-acetátů v prvních fázích fermentace i isoamyl-acetátu (ZOECKLEIN *et al.*, 1995).

Se selektovanými kmeny kvasinek se ve vinařství můžeme setkat častěji. Nejznámější z těchto kvasinek jsou *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces beticus* či *Saccharomyces bayanus* (KOPECKÁ, MATOULKOVÁ a NĚMEC, 2012). Jsou oblíbené pro své bezproblémové prokvašení a nízkou nebo žádnou tvorbu vedlejších produktů. Tyto kvasinky jsou laboratorně namnoženými klony z jedné výchozí selektované mateční kvasinky. Aplikace čistých kultur kvasinek potlačuje původní mikroflóru a tedy je snížena tvorba těkavých kyselin a esterů (SOCHOR, 2013a). Dnes se nejvíce využívají směsi kvasinek nebo kmeny kvasinek šlechtěné „na míru“. V praxi to znamená, že můžeme do jisté míry ovlivnit aromatický charakter vína. To je běžně využíváno u vín aromaticky neutrálních, která jsou určena pro rychlou spotřebu, tedy i u Svatomartinských vín. To umí například kvasinky firmy Enartis, kvasinky Aroma White, Top Essence, ES 123 a ES 181 (VINAŘSKÉ POTŘEBY, 2014). Velice častým používaným kmenem pro mladá vína je 71B (MICHLOVSKÝ, 2014). Tento kmen kvasinek je vhodný pro vína s vyšší kyselinou, jelikož jsou tyto kvasinky schopny metabolizovat až 40 % kyseliny jablečné. V tabulce (Tab. č. 2) jsou zaznamenány aromaticky významné látky a jejich vliv na použitém kmenu kvasinek. Z tabulky lze vyhodnotit již zmiňovaný fakt, že nativní druhy kvasinek tvoří větší koncentrace kyseliny octové a tedy i větší koncentrace ethyl-acetátu – ester kyseliny octové a acetaldehydu – aldehyd kyseliny octové.

Tab. č. 2: Vliv kmene kvasinek na tvorbu aromaticky významných látek (MORENO-ARRIBAS M.: CARMEN POLO M., 2009)

Kmen	Ethyl- acetát (mg.l ⁻¹)	Isobutanol (mg.l ⁻¹)	Isoamyl- alkohol (mg.l ⁻¹)	Kyselina octová (g.l ⁻¹)	Acetaldehyd (mg.l ⁻¹)	Isoamyl- acetát (mg.l ⁻¹)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10–100	5–78	17–490	0,1–0,9	50–120	0,1–6
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	20–74	52–212	106–249	0,1–0,3	5–23,122	0,0–0,1
<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>	59–87	–	–	0,18– 0,45	15–24	3,0–8,0
<i>Candida stellata</i>	7–75	10–34	18–91	0,6–1,3	30–188	0,1–0,4
<i>Issatchenkia orientalis</i>	220– 730	38–106	22–119	0,3–1	41–73	< 0,1
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	62–676	9–123	0–243	0,1–0,4	23–73	0,1–0,8
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	25–650	4–38	4–115	0,2–2,5	6–260	0,3–5
<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	400	56	100	0,53	19	1,0
<i>Pichia anomala</i>	137– 2150	4–29	11–84	0,9–2	18	0,7–11
<i>Pichia fermentans</i>	52	4	0	–	101	–
<i>Issatchenkia terricola</i>	222	18	140	–	183	–

– hodnoty neměřený

4.3 Nejvýznamnější sekundární aromatické látky a jejich prekurzory

Všechny složky aromatu, které se běžně vyskytují v potravinách jako je ovoce, koření či káva, jsou tvořeny terpenovými uhlovodíky, které jsou chemickým základem aromatických látek.

4.3.1 Vyšší alkoholy

Alkoholy, mající pět a více uhlíků v řetězci, se nazývají vyšší alkoholy. Jedná se o těkavé látky. Jejich směsi s jinými látkami jako např. mastnými kyselinami či estery se nazývají přiboudlina. Vznikají činností kvasinek enzymem amidázou během alkoholového kvašení, a jsou štěpnými produkty aminokyselin. Obsah ve víně se

pohybuje mezi 150–500 mg.l⁻¹, u červených vín je obsah obvykle vyšší než u bílých. Při nízkých koncentracích pod 300 mg.l⁻¹ ovlivňuje víno pozitivně, při vyšších koncentracích má naopak negativní dopady. Vyšší alkoholy jsou prekurzory aromatických látek.

Syntéza vyšších alkoholů je podpořena hodnotou pH moštu, použitou výživou pro kvasinky, obsahem kalových částic, obsahem asimilovatelného dusíku v bobulích a macerací hroznů před kvašením. Obsah vyšších alkoholů podporuje i vyšší obsah glycerolu, cukrů, vitamínů jako např. thiamin, biotin, vitamin skupiny B (PAVLOUŠEK a BUREŠOVÁ, 2014, 62 s.). Důležitými vyššími alkoholy jsou 1-propanol, isobutylalkohol (2-methyl-1-propanol), 2-methyl-1-butanol a isoamylalkohol (3-methyl-1-butanol) (JACKSON, 2008, s 355).

4.3.2 Těkavé kyseliny

Těkavé kyseliny jsou prekurzory aromaticky významných esterů, a v organismech se vyskytují nejčastěji právě v této formě. Mezi jejich typickou vlastnost patří to, že se vypařují při pokojových teplotách. Nejdůležitější z těchto kyselin je kyselina octová, mimo ní ve víně nalezneme i kyselinu hexanovou a propionovou (VINARŠKÝ SLOVNÍK, 2014). Ve víně se vyskytují v koncentraci 500–1000 mg.l⁻¹, což představuje zhruba 15 % z celkových kyselin a jsou produkty metabolismu mastných kyselin (FEDOR a FURDIKOVÁ, 2007, 215–220 s.).

Během kvašení se mění produkce mastných kyselin v závislosti na kmeni kvasinek, teplotě fermentace a aeraci. Koncentrace se značně liší i u jednotlivých typů vína. Suchá bílá vína obsahují obvykle nejnižší koncentrace, sladká vína obsahují koncentrace vyšší, zvláště vína napadená šedou plísní (*Botrytis cinerea*).

Zákon upravuje maximální koncentrace těkavých kyselin ve víně. Její maximální množství činí u bílých vín 1,1 g.l⁻¹ a u červených vín 1,3 g.l⁻¹.

4.3.2.1 Kyselina octová

Kyselina octová je druhá nejjednodušší jednosytná karboxylová kyselina. Tvoří 90 % těkavých kyselin ve víně. Obvykle se ve víně nachází 0,2–0,7 g.l⁻¹ kyseliny octové. Ve vyšších koncentracích velmi negativně ovlivňuje kvalitu vína, a proto je důležité jim předejít. Kyselina octová vzniká při alkoholovém kvašení, malolaktické fermentaci

nebo působením divokých kvasinek, ale větší koncentrace vznikají činností octových bakterií. Hlavní z těchto bakterií jsou *Acetobacter ascendent*, *Acetobacter mesooxidans* a *Acetobacter sub oxidans*, jejichž zárodky se nachází na hroznech, se kterými přecházejí do moštu a vína. Proto je v každém víně přítomno alespoň nějaké množství kyseliny octové (MORENO a POLO, 2009). Octové bakterie způsobují oxidaci ethanolu. Octové bakterie jsou aerobní organismus a bez přístupu vzduchu poměrně rychle odumírají, vůči působení oxidu siřičitého jsou značně rezistentní.

Kmen *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* je schopen vyprodukovat až 2 g.l⁻¹ kyseliny octové, která je produkována kvasinkami jako meziprodukt glykolýzy. Divoké kvasinky jsou schopné produkovat větší koncentrace kyseliny octové, oproti tomu kvasinky *Saccharomyces bayanus* var. *Cerevisiae* a *Saccharomyces cerevisiae* var. *Uvarum* produkují podstatně méně kyseliny octové než *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* (FEDOR a FURDÍKOVÁ, 2007, 215–220 s.).

Kyselinu octovou můžeme nalézt ve víně ve formě esteru či ethyl-acetátu (octan etylnatý). Je-li jeho obsah ve víně vyšší (nad 0,15 g.l⁻¹), mluvíme o vadě vína, která se projevuje octovým zápachem. V případě, že jsou přítomny i těkavé kyseliny, hovoříme o nemoci - naoctění vína. Ethyl-acetát je vnímán jako nepříjemná octová vůně, naoctění vína je doprovázeno i nepříjemným škrábáním v krku (SOCHOR, 2013b). Kyselina octová má 200× vyšší vjemovou hodnotu než ethyl-acetát (MORENO a POLO, 2009).

4.3.3 Estery

Estery patří k nejvýznamnějším aromatickým a buketním látkám vín. Jde o organické sloučeniny, ve kterých je vodík v -OH skupině kyslíkaté kyseliny nahrazen organickým zbytkem.

Estery jsou buď cyklické, nebo alifatické s rozvětveným řetězcem. Cyklické estery mají nízkou těkavost a nemají zásadní smyslový vliv, proto jsou z pohledu aromatického vnímání důležité alifatické estery. Ty tvoří tři skupiny (mono-, di-, nebo tri-karboxylové a hydroxylové skupiny, nebo oxoestery kyseliny).

Konkrétně ve víně vznikají estery dvěma cestami, enzymatickou esterifikací během alkoholového kvašení či během malolaktické fermentace působením kvasinek a bakterií, nebo chemickou esterifikací stárnutím (RIBÉREAU-GAYON, DUBOURDIEU a DONÈCHE, 2006).

Během kvašení dochází k reakci alkoholů s karboxylovými kyselinami za vzniku esteru a vody. Tato chemická reakce se nazývá esterifikace. Jedná se o nestabilní proces a je katalyzován enzymy esterázami. Mimo esterifikace mohou vznikat acidolýzou (reakce esterů s kyselinami) nebo např. alkoholýzou (reakcí estrů s alkoholy).

Existují dva typy esterů ve víně – estery vyšších alkoholů a kyseliny octové, estery mastných kyselin a ethanolu. První skupina je syntetizována z acetylkoenzymu A (acetyl-CoA) a vyšších alkoholů. Tyto estery mají různé pachy jako je pach lepidla (ethyl-acetát), banánu (isoamyl-acetát), který je typický pro červená mladá vína, nebo pach růže (fenylethanol-acetát). V případě druhé skupiny jsou estery syntetizovány z acylkoenzymu A (acyl-CoA) a ethanolu (např. ethyl-butaonát, ethyl-hexanoát) (MORENO a POLO, 2009).

Obsah acetátů vyšších alkoholů a etylestery mastných kyselin hydrolyzují během prvních měsíců stárnutí (EGGERS, 2004). Proto můžeme předpokládat, že mezi mladými víny a staršími víny budou značné rozdíly v koncentracích esterů (Tab. č. 3). Je prokázáno, že acetáty vyšších alkoholů jsou pro vnímání vůně vína důležitější než estery mastných kyselin. Intenzita vůně ze směsi esterů je vyšší, než je intenzita každého komponentu zvlášť (MORENO a POLO, 2009).

Tab. č. 3: Rozdíly koncentrací vybraných esterů závislé na stáří vína (FRANCIS a NEWTON, 2005)

Ester	Aroma	μg.l ⁻¹		
		Mladé červené víno	Staré červené víno	Práh vnímání*
Ethyl-hexanoát	Jablko, ovocné	153,0–633,0	255,0–2556,0	5,0–14,0
Ethyl-oktanoát	Ovocné	138,0–783,0	162,0–519,0	2,0–5,0
Ethyl-butykrát	Jablko	69,2–371,0	20,0–1118,0	20,0
Isoamyl-acetát	Banán	118,0–4300,0	248,0–3300,0	30,0

* v 11 % ethanolu při pH 3,2

Během stárnutí vína dochází ke zvýšení koncentrace vodíkových iontů v nízkém pH vína, což slouží jako katalyzátor při tvorbě esterů kyselin a alkoholů přítomných ve víně. Estery se také mohou přeměnit zpět na své reaktanty, stárnutí tedy může kvalitu vína změnit pozitivně i negativně (MEGGIATO, 2012). Tento proces se nazývá

hydrolyza. V následující tabulce (Tab. č. 4) jsou znázorněny estery mastných kyselin a jejich vývoj závislý na stáří při teplotě 25 °C. Hodnoty tabulky ukazují, že většina esterů mastných kyselin je v průběhu stárnutí hydrolyzována. Během stárnutí estery pozvolna hydrolyzují, dokud nedosáhnou rovnováhy s odpovídajícími kyselinami a alkoholy. Tento úbytek bývá u mladých vín zodpovědný za ztrátu svěžesti a ovocného aroma. Jde o přirozený proces navození rovnováhy ve víně (RAPP, 1995, 1703–1722 s.).

Tab. č. 4: Vybrané estery a jejich vývoj v závislosti na čase, při 25 °C, v mg.l⁻¹ (EGGERS, 2004).

		Měsíce			
		0	2	5	29
Složky	Isobutyl-acetát	0,16	0,09	0,00	0,00
	Hexyl-acetát	0,44	0,28	0,00	0,00
	Isoamyl-acetát	8,49	3,09	0,72	0,09
	Fenyl-acetát	2,55	0,56	0,11	0,12
	Ethyl-hexanoát	2,83	2,02	1,48	1,00
	Ethyl-octanoát	2,15	2,08	1,72	1,48
	Ethyl-dekaonát	0,62	0,79	0,74	0,46

Tvorba esterů je závislá jak na stáří, tak i na dalších faktorech, jako je například použitý kmen kvasinek. „Ne-sacharomycetních“ druhy kvasinek, zejména apikulátní kvasinky druhu *Apiculatus*, mají velmi dobrý vliv na produkci esterů (PAVLOUŠEK a BUREŠOVÁ, 2015, 63 s.). Dále se na obsahu esterů podílí obsah kalových částic moštu, kyslíku, lipidů a teplota fermentace. Nižší teploty kolem 10 °C podporují vytrvalost ovocných esterů zejména u mladých vín (isoamyl-acetát, isobutyl-acetát, ethyl-butyrát, hexyl-acetát), naopak aromatictější estery s vyšším bodem varu zůstávají vázány při vyšších teplotách fermentace.

Celkové množství esterů závisí i na stáří vína, u mladého vína se pohybuje v rozmezí 4–6 mg·l⁻¹, u staršího vína 9–10 mg·l⁻¹ (FARKAŠ, 1983).

4.3.3.1 Ethyl-acetát

Nejrozšířenějším esterem ve víně je ethyl-acetát, ester kyseliny octové. Nízký obsah vyrobí kvasinky během fermentace, větší obsahy jsou produkovány octovými bakteriemi. Bakterie jablečno-mléčného kvašení nejsou schopny tento ester vyrobit.

Při nízkých koncentracích má charakteristickou sladkou ovocnou vůni, při vyšších koncentracích může připomínat zápach rozpouštědla či odlakovače, což už není žádoucí. Ethyl-acetát je rozeznatelný při koncentracích asi 200× nižších než je vjemová hodnota kyseliny octové (RIBÉREAU-GAYON, DUBOURDIEU a DONÈCHE, 2006).

4.3.3.2 Isoamyl-acetát

Tento ester typický pro mladá vína můžeme ve víně najít v koncentracích 0,5–2 mg.l⁻¹. Vyznačuje se vůní podobné zralým banánům. Přítomnost tohoto esteru je důsledkem použití kvasinky 71B (MICHLOVSKÝ, 2014).

Společně s fenylethyl-acetátem mohou isoamyl-acetáty překrýt odrůdové aroma. Vznikají především při pomalém kvašení za nízkých teplot.

4.3.3.3 Fenylethyl-acetát

Podle vývoje vína můžeme tento ester ve víně nalézt v koncentraci až 5 mg.l⁻¹, a to především v mladém víně (MICHLOVSKÝ, 2014).

4.3.4 Karbonylové sloučeniny

Karbonylové sloučeniny, které spadají do skupiny derivátů uhlovodíků, jsou především organickými sloučeninami obsahujícími karbonylovou skupinu, která se skládá z uhlíkového atomu vázaného dvojnou vazbou ke kyslíkovému atomu. Karbonylovou skupinu mají ve svých molekulách navázanou aldehydy a ketony. Ty se liší umístěním karbonylové skupiny v řetězci. Těkavé aldehydy a ketony patří k důležitým vonným a chuťovým látkám v potravinách. Nejdůležitější karbonylovou sloučeninou je acetaldehyd.

4.3.4.1 Aldehydy

Aldehydy mají karbonylovou skupinu vázanou na konci nebo začátku řetězce, ke karbonylové skupině mají navázaný atom vodíku a uhlovodíkový zbytek. Ve víně vznikají během alkoholového kvašení z aminokyselin (např. z glycinu vzniká

formaldehyd) nebo jsou extrahovány z dubových sudů. Nejvýznamnějším aldehydem ve víně je acetaldehyd (ethanal), který má značný vliv na organoleptické vlastnosti vína. Dále najdeme ve víně například benzaldehyd.

4.3.4.1.1 Acetaldehyd

Acetaldehyd ve víně vzniká jako vedlejší produkt alkoholového kvašení, následuje hydrogenace na ethanol. Na vzduchu snadno oxiduje na kyselinu octovou. Jeho obsah se pohybuje mezi 50–100 mg.l⁻¹, u červených vín je nižší než u bílých (SOCHOR, 2013b). U červených vín má pozitivní vliv na stabilizaci barviv a zjemnění a harmonizaci tříslovin.

Acetaldehyd se ve víně váže na volný oxid siřičitý, tím z něj vzniká vázaná síra, důsledkem čehož ztrácí svoje pozitivní vlastnosti (PAVLOUŠEK, 2012b). Ve vyšších koncentracích najdeme v aromatu vína zápach nahnilých jablek či travnaté tóny, v nižších vytváří příjemné ovocné aroma.

4.3.4.2 Ketony

Ketony na rozdíl od aldehydů obsahují karbonylovou skupinu navázanou uprostřed řetězce, ke karbonylové skupině jsou vázány dva uhlovodíkové zbytky. Převážná část ketonů je produkována během fermentace, většina z nich však je sensoricky nevýznamná. Nejvýznamnějším ketonem ve víně je diacetyl, ale najdeme v něm i další jako β -damascenon, pro který je typická vůně růží, a β -ionin vonící ostružinami (JACKSON, 2008, 386 s.).

4.3.4.2.1 Diacetyl

Ve víně se vyskytuje se v malých koncentracích, obvykle mezi 1,3–2,8 mg.l⁻¹. Sensoricky významný obsah tohoto ketonu je až při koncentraci 2–4 mg.l⁻¹. Ve větších koncentracích snižuje kvalitu vína, a je označován jako chuťově nepříjemný. Vyznačuje se typickou vůní másla, mléka, karamelu nebo lískových oříšků. Podobnou skupinou aromat se vyznačuje i další keton – acetoin. Acetoin, stejně jako butandiol, jsou látky odvozené od diacetylu. Diacetyl překrývá odrůdové a ovocné aroma vín, ale v červených vínech bývá vítaný. Při nízkých koncentracích přispívá ke komplexnosti vína.

Oenococcus oeni, bakterie zodpovědná za malolaktickou fermentaci, je největším producentem tohoto typu aromatu (nebo-li diacetylu). Naopak kvasinky jsou schopny

vyprodukovat pouze několik desetin mg (BAROŇ, 2013). Některé bakterie jsou schopny produkovat větší koncentrace než *Oenococcus oeni*, například *Lactobacillus* nebo *Pediococcus* (FUGELSANG a EDWARDS, 2007, 41–43 s.).

4.3.5 Aminokyseliny

Aminokyseliny jsou funkčními deriváty karboxylových kyselin. Ve víně lze nalézt 22 aminokyselin, jejichž koncentrace se během kvašení výrazně mění. Některé aminokyseliny jsou během kvašení spotřebovány úplně.

Ve víně jsou aminokyseliny volné, nebo vázané ve formě peptidů a proteinů. Primárně pochází z hroznů, v nichž se jich nachází až 65 %. Vznikají však také při autolýze kvasinek (PAVLOUŠEK, 2011, 71 s.).

Důležitou roli hrají aminokyseliny v tvorbě aromatických látek, jelikož se jedná o jejich důležité prekurzory (SOCHOR, 2013a). Svou přeměnou na vyšší alkoholy mají také značný vliv na sekundární aroma (STÁVEK, 2001a). Přeměna aminokyselin na alkoholy probíhá deaminací neboli odstraněním aminoskupiny ($-NH_2$) od molekuly, např. z valinu vzniká isobutanol, z leucinu isoamylalkohol, a z isoleucinu amylalkohol (GERALD a TILAK, 1991).

5 VYBRANÉ METODY PRO STANOVENÍ VOLATILNÍCH SLOUČENIN

Analýza vína je prováděna za účelem stanovení koncentrací daných sloučenin. Tyto analýzy mohou sloužit ke kontrole autentičnosti vína a zákonem limitujících koncentrací některých jeho složek. Analýza provází celý průběh výroby vína. Pomocí analýz lze kontrolovat obsah ethanolu a sacharidů v průběhu alkoholového kvašení, nebo stanovovat obsah kyselin ve víně v procesu malolaktické fermentace. Mezi další důležité analýzy patří stanovení dusíkatých látek nezbytných pro činnost kvasinek, stanovení zbytkových cukrů, pH, fenolických a třekavých látek zodpovědných za barvu, vůni a chuť vína, nebo stanovení oxidu siřičitého.

Rozlišujeme dva základní druhy analýzy vína – analýzu senzoricou a analýzu analytickou. Senzorickou analýzu provádí většina konzumentů vína. Jedná se o analýzu prováděnou pouze subjektivním smyslovým posouzením. Nepodává informace o obsahu ani složení látek ve víně. Posuzuje se pouze vůně, barva a chuť.

Oproti tomu analytická analýza podává objektivní informace o složení vína a o látkách ve víně obsažených. Měření je ve většině případů postaveno na rozdílných chemických nebo fyzikálních vlastnostech. Výsledky chemických analýz jsou zdrojem informací pro etikety na láhvích vína.

Fyzikálně-chemické vlastnosti důležité pro stanovení aromatických sloučenin jsou následující: bod varu, tlak nasycených par, rozměry molekuly, tvar molekuly, přítomnost funkčních skupin. Základem kvantitativních analýz jsou metody elektrogravimetrické, radiometrické, termické, optické, elektromagnetické, elektrochemické, potenciometrické, absorpčně-spektrální, gravimetrie. Nejznámějšími analytickými metodami jsou plynová a kapalinová chromatografie.

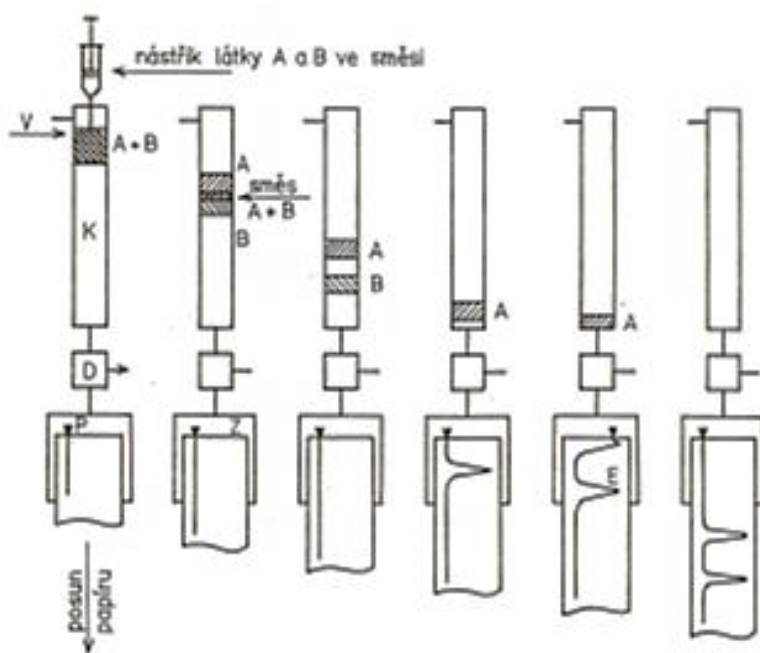
Celkové množství esterů je možno stanovit pomocí acidometrické titrace nebo spektrofotometrické metody. Acetaldehyd a aceton můžeme stanovit pomocí jodometrické titrace. Pro stanovení estrů, alkoholů a kyselin je možné použití superkritické fluidní extrakce, při které je využíváno vlastnosti oxidu uhličitého v nadkritickém tlaku a teplotě.

5.1 Chromatografie

Jde o nejčastěji využívanou fyzikálně-chemickou separační metodu, za kterou byla v roce 1952 vynálezci udělena Nobelova cena (ŠEVČÍK, PĚKNICOVÁ a KRUCINOVÁ, 1999). Využívaná je zejména pro její jednoduchou, rychlou a účinnou separaci. Využití této metoda najde v různých průmyslových odvětvích, např. v chemickém, farmaceutickém nebo potravinářském průmyslu.

Princip této metody spočívá v rozdílné rychlosti pohybu látek v soustavě mobilní a stacionární fáze. Vzorek, který obsahuje několik složek, je unášen mobilní fází. Podle toho, jak jsou jednotlivé složky poutány k stacionární a mobilní fázi, dochází k tomu, že některé složky se pohybují rychleji a jiné pomaleji. Látky vycházejí z kolony v pořadí rostoucích hodnot a poté vstupují do detektoru. Z detektoru vychází grafický záznam závislosti signálu detektoru na čase. Tento záznam se nazývá chromatogram. Podle počtu detekovaných složek v látce obsahuje i chromatogram stejný počet píků. Koncentrace detekované složky je přímo úměrná výšce a šířce píku (CHROMATOGRRAFIE, 2011).

Nejznámějšími a nepoužívanějšími metodami jsou plynová a kapalinová chromatografie. Kromě plynové chromatografie se můžeme setkat i s dalšími druhy chromatografických metod, jako např. s plazmovou nebo fluidní chromatografií (ŠTĚRBA, KARABÍN a DOSTÁLEK, 2011, 603–610 s.).

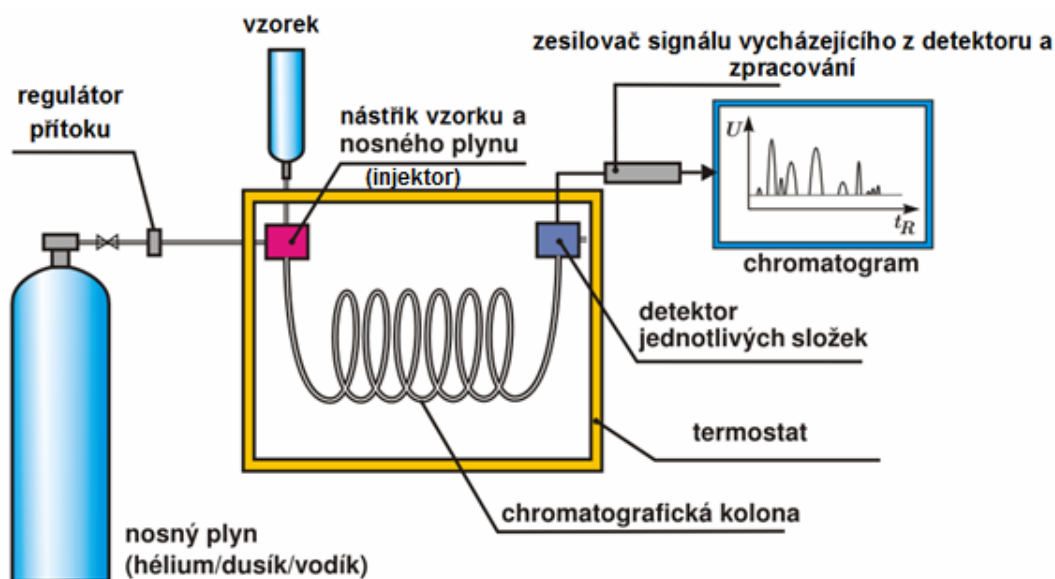


Obr. č. 1: Dělení složky A a B na chromatografu (GOLIÁŠ, 2013)

5.1.1 Plynová chromatografie (GC)

Metoda plynové chromatografie se používá pro analýzu směsi látek, které jsou teplotně stálé a zároveň těkavé. U látek s nižší těkavostí se používá derivatizace, tj. úprava vzorku převedením stanovovaných látek na deriváty.

Mobilní fází je plyn zvaný nosný plyn. Nejčastěji je používán argon, helium, vodík nebo dusík. Stacionární fáze u náplňových kolon je umístěna v chromatografické koloně. Tu představují pevné látky, jako je např. silikagel, oxid hlinitý, nebo vysoko vroucí kapalina v tenké vrstvě nanesená na pevném nosiči v podobě trubic ze skla nebo nerezové oceli. U kapilárních kolon je stacionární fáze nanesená v tenké vrstvě přímo na vnitřní stěnu křemenné kapiláry (ZACHAŘ a SÝKORA, 2008). Kapilární kolony se zhotovují z taveného křemene potaženého vrstvičkou polyamidu. Tato vrstvička odstraňuje křehkost křemene, a kolony jsou pak pružné. Z důvodu větší účinnosti jsou častěji využívány kapilární kolony (GOLIÁŠ, 2013).



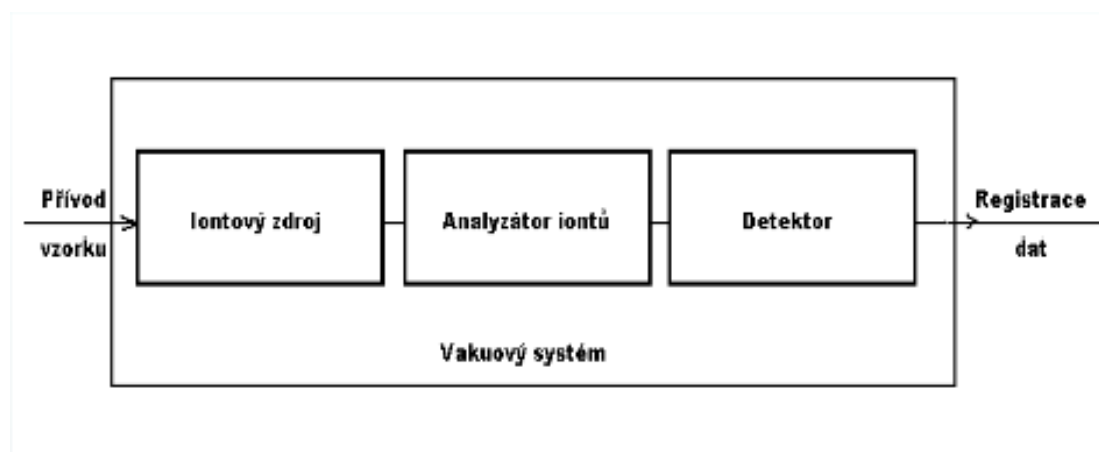
Obr. č. 2: Schéma plynového chromatografu (PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIA-WIKIPÉDIA, 2002)

5.1.1.1 GC-MS spektrometrie

V současné době je plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií běžnou analytickou metodou. Plynovou chromatografií je látka kvalitativně i kvantitativně detekována, a hmotnostní spektrometrie rozděljuje látku podle hmotnosti

iontů a udává informaci o struktuře neznámé látky spolu s její identifikací (KAČER a SYSLOVÁ, 2008).

Následující obrázek znázorňuje blokové schéma hmotnostní spektrometrie. Iontový zdroj převede látku do ionizovaného stavu. Hmotnostní analyzátor rozděljuje směs iontů produkovaných v iontovém zdroji. Na detektor je směřován proud iontů. Dle počtu dopadajících iontů vzniká signál, který je přenesen do počítače a pomocí softwaru poté převeden do podoby hmotnostních spekter (BALÍKOVÁ, 2012).



Obr. č. 3: Blokové schéma hmotnostní spektrometrie (BALÍKOVÁ, 2012)

5.1.2 Kapalinová chromatografie (LC)

Za základní princip separace látek kapalinovou chromatografií lze považovat různou afinitu složek vzorku k mobilní a stacionární fázi. Čím větší afinitu k stacionární fázi látka vykazuje, tím více je zdržován její pohyb chromatografickým systémem. Postupováním vzorku kolonou se vytvářejí rovnovážné stavy na základě různých interakcí (např. hydrofobní interakce, elektrostatické interakce, interakce dipól-dipól, interakce vodíkové vazby, aj.) mezi vzorkem a mobilní fází, vzorkem a stacionární fází, a rovněž mezi mobilní a stacionární fází (CHROMATOGRAFIE, 2011).

Mobilní fází u kapalinové chromatografie je kapalina – voda, methanol, acetonitril, a jejich směsi v různých vzájemných poměrech. Stacionární fází je pevná látka, nejčastěji silikagel, oxid hlinitý, porézní grafit, pryskyřice, deriváty celulózy a další (GOLIÁŠ, 2013).

5.2 Infračervená spektroskopie

U této metody je kladen důraz na rychlost a přesnost, proto je vhodná pro větší kvantitativní analýzy vzorků. Umožňuje určit obsahy více látek současně během jedné analýzy v krátkém čase (pod 2 minuty). Tato metoda je nedestruktivní, tedy vzorky nejsou znehodnocovány (MÍKA, KOHOUTEK a NERUŠIL, 2008, 7–8 s.). Touto metodou můžeme měřit tyto parametry – obsah ethanolu, methanolu, těkavých kyselin, celkové kyseliny, kyseliny vinné, kyseliny mléčné, kyseliny jablečné, kyseliny citronové, obsah kyseliny octové, fruktózy, glukózy, hustotu, celkové polyfenoly, glycerol, ethyl-acetát, pH, a další parametry (MILCOMSERVIS, [2008]).

Principem této metody je měření odraženého, popř. prošlého záření vzorkem. Infračervenou spektrometrii dělíme podle vlnových záření na dalekou (FIR), střední (MIR) a blízkou (NIR). Pro identifikaci a určování chemické struktury má největší význam střední spektrometrie (KANIA, 2007).

6 GC-MS STANOVENÍ JEDNOTLIVÝCH VOLATILNÍCH SLOUČENIN

Analyzováno bylo 6 vzorků Svatomartinských vín ročníku 2014. Vzorky vín byly následujících odrůd a výrobců:

- 1) Müller Thurgau, Vinařství Kubík
- 2) Muškát moravský, PATRIA Kobyly a.s.
- 3) Modrý Portugal klaret, Vinařství Kubík
- 4) Svatovavřínecké rosé, Vinařství Kubík
- 5) Zweigeltrebe rosé, Znovín Znojmo a.s.
- 6) Modrý Portugal, Vinařství Vaverka

K analýze byl použitý plynový chromatograf Shimadzu GC-17A. S parametry použitými při analýze blíže seznamuje následující tabulka (Tab. č. 5).

Tab. č. 5: Parametry použité při měření GC-MS

Parametr měření	Hodnota parametru
Autosampler	AOC-5000
Detektor	QP-5050A
Software	GCsolution
Kolona	DB-WAX
Délka kolony	30 m
Stacionární fáze	polyethylenglykol
Tloušťka filmu stacionární fáze	0,25 μm
Napětí detektoru	1,5 kV
Objem nástřiku vzorku	1 μl , split poměr 1:5
Nosný plyn	Helium
Průtok nosného plynu	1 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ (lineární rychlost plynu 36 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$)
Teplota nástřikového prostoru	180 $^{\circ}\text{C}$

Počáteční teplota kolonového prostoru 45 °C byla udržována 3,5 minuty, poté následoval gradient teploty:

- do 90 °C o 12 °C.min⁻¹, drženo 0,75 minut
- do 120 °C o 3 °C.min⁻¹
- do 252 °C o 6 °C.min⁻¹, drženo 5 minut

Celková délka analýzy byla 45 minut.

Detektor pracoval ve SCAN modu s intervalem 0,25 s v rozmezí 14–264. Jednotlivé látky byly identifikovány na základě MS spektra a retenčního času. Kvantifikace byla provedena porovnáním plochy píku vzorku a vnějšího standardu s korekcí na vnitřní standard.



Obr. č. 4: Shimadzu GC-17A (TRIAD SCIENTIFI, b. r.)

6.1 Příprava vzorku

Koncentrace jednotlivých volatilních látek ve víně byla stanovena dosud nepublikovanou metodou extrakce methyl-t-butyletherem. Do 25 ml odměrné baňky bylo odpipetováno 20 ml vína, 50 µl roztoku 2-nonanolu (500 mg.l^{-1}) a cyklopentanonu (25 g.l^{-1}) v ethanolu, sloužícího jako vnitřní standard a 5 ml nasyceného roztoku $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Poté byla baňka důkladně promýchána a přidáno 0,75 ml extrakčního rozpouštědla, kterým byl MTBE s přidavkem 1 % neohexanu. Po důkladném protřepání a oddělení fází byla vrchní organická vrstva i s podílem vzniklé emulze odebrána do mikrozkušavky, odstředěna a čirá organická fáze byla vysušena bezvodým síranem hořečnatým. Takto upravený extrakt byl dále použit k GC-MS analýze.

6.2 Standard

Methyl t-butyl ether (MTBE) a neohexan byly čistoty pro GC. V tabulce (Tab. č. 6) uvedené látky pocházely od firmy Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) a byly použity jako standardy. Ostatní použité chemikálie byly od lokálních dodavatelů (Lachema, Penta).

Tab. č. 6: Standardy od firmy Sigma chemical Co.

Ethyl-acetát	Ethyl-oktanoát	Nerol
Methanol	Kyselina octová	2-Phenylethyl-acetát
Diacetyl	Furfural	Beta-Damascenon
Isobutyl-acetát	2-Nonanol	Hexanová kyselina
Ethyl-butyřát	Propionová kyselina	Geraniol
1-Propanol	2,3-Butandiol	Benzylalkohol
1-Butylacetát	Linalool	2-Phenylethanol
Hexanal	Isomáselná kyselina	Beta-Ionon
Isobutylalkohol	Gama-butyrolakton	4-Ethylguaiacol
Isoamyl-acetát	Máselná kyselina	Furaneol
1-Butanol	Beta-Terpineol	Diethyl-malát
Isoamylalkohol	Ethyl-dekanoát	Oktanová kyselina
(E)-2-Hexenal	Furfurylalkohol	4-Ethylfenol
Ethyl hexanoát	Isovalerová kyselina	4-Vinylguaiacol
1-Hexyl-acetát	2-Methylbutanová kys.	2-Aminoacetophenon
Acetoin	Diethyl-sukcinát	Methyl-antranilát
Ethyl-laktát	Alfa-Terpineol	Dekanová kyselina
1-Hexanol	Methionol	4-Vinylfenol
(E)-2-Hexen-1-ol	Beta-Citronellol	Dodekanová kyselina

6.3 Naměřené volatilní látky

Tab. č. 7: Naměřené volatilní látky na GC-MS

Sloučenina	Jednotka	1-MT 14	2-MM 14	3-MP 14 klaret	4-Zw 14 rosé	5-Sv 14 rosé	6-MP 14
Ethyl-acetát	mg.l ⁻¹	74,70	72,80	73,30	50,50	73,50	62,80
Ethyl-propionát	µg.l ⁻¹	53,00	77,00	52,00	54,00	79,00	89,00
Ethyl-isobutyřát	µg.l ⁻¹	61,00	63,00	55,00	49,00	51,00	47,00
Ethyl-butyřát	µg.l ⁻¹	357,00	480,00	360,00	380,00	500,00	105,00
Ethyl-hexanoát	µg.l ⁻¹	564,00	855,00	665,00	997,00	1285,00	181,00
Ethyl-oktanoát	µg.l ⁻¹	912,00	1261,00	1029,00	1278,00	1713,00	228,00
Ethyl-dekanoát	µg.l ⁻¹	196,00	248,00	218,00	174,00	368,00	47,00
Ethyl-laktát	mg.l ⁻¹	6,43	12,23	7,07	10,49	8,00	105,13
Isoamyl-acetát	mg.l ⁻¹	4,43	2,20	5,22	1,14	2,49	0,18
2-Fenylethyl-acetát	µg.l ⁻¹	495,00	191,00	313,00	125,00	123,00	29,00
1-Propyl-acetát	µg.l ⁻¹	48,00	69,00	52,00	24,00	68,00	26,00
Isobutyl-acetát	µg.l ⁻¹	319,00	123,00	270,00	46,00	93,00	46,00
1-Butyl-acetát	µg.l ⁻¹	0,00	5,00	0,00	0,00	6,00	0,00
1-Hexyl-acetát	µg.l ⁻¹	284,00	120,00	242,00	196,00	233,00	5,00
Acetoin	mg.l ⁻¹	0,00	0,00	1,30	3,10	6,40	10,50

Sledovanými volatilními sloučeninami ve Svatomartinských vínech jsou isobutyl-acetát, 2-fenylethyl-acetát, 1-propyl-acetát, 1-butyl-acetát a 1-hexyl-acetát.

Hodnoty obsahů sloučenin obvyklých ve víně byly pro srovnání použity z knihy autorů NYKÄNEN a SUOMALAINEN (1983). Isoamyl-acetát se běžně ve vínech vyskytuje v koncentracích 0,5–2 mg.l⁻¹, u většiny vzorků můžeme pozorovat hodnoty vyšší. U vzorku č. 1 a vzorku č. 3 jsou hodnoty dvojnásobné oproti běžným hodnotám. U vzorku č. 6 (červené víno) je hodnota isoamyl-acetátu pod spodní hranici běžných hodnot. 1-Propyl-acetát vyznačující se vůní po hruškách se běžně ve vínech vyskytuje v koncentracích 3–40 µg.l⁻¹ pro bílá vína a do 80 µg.l⁻¹ pro vína červená. Výjma vzorku č. 4 a č. 6 jsou hodnoty vzorků vyšší než obvyklé. Ethyl-laktát vyskytující se ve vyšších koncentracích u vzorku č. 6 je spjat s jablečno-mléčným kvašením.

8 ZÁVĚR

Z práce zaměřené na sekundární aromatické látky ve Svatomartinských vínech mj. vyplývá, že důležitými látkami, jež určují aromatický profil vína, jsou estery. Tyto estery vznikají zejména při alkoholovém kvašení, a mohou být ovlivněny výběrem vhodné technologie výroby a vhodného kmene kvasinek.

V mladých vínech dominují zejména tyto estery – isobutyl-acetát, 2-fenylethyl-acetát, 1-propyl-acetát, 1-butyl-acetát a 1-hexyl-acetát. V podstatě se jedná o acetáty vyšších alkoholů. Tyto estery v závislosti na čase degradují, a proto jsou doménou mladých vín určených k rychlé spotřebě.

Ze zjištěných informací lze říct, že na aromatický profil vín mají vyšší vliv apikulární kvasinky než šlechtěné kmeny, zejména *Hansenula anomala* s *Kloeckera apiculata*. Pro bezproblémové kvašení bez vedlejších nežádoucích produktů se v praxi využívají selektované druhy kvasinek. Pro mladá aromatičticky neutrální vína se využívá kmen 71B, který vyniká tvorbou vyšších koncentrací esterů a také snížením kyselin.

Řízená teplota kvašení může také pozitivně přispět k tvorbě aromatických látek. Teploty mezi 18–20 °C podporují hromadění esterů. Řízená teplota kvašení je tedy vhodnou technologií pro Svatomartinská vína. Další vhodnou technologií je karbonická macerace, při níž probíhá intracelulární kvašení.

Při kombinaci vhodné technologie spolu s kvasinkami můžeme ve vínech nalézt tóny tropického ovoce, zejména banánů. Samozřejmě neméně podstatná je i kvalita vstupního materiálu, která závisí na mnohých faktorech.

9 SOUHRN

Tato bakalářská práce se zabývá vybranými látkami z chemické stavby vína. Větší pozornost je věnovaná menší skupině látek, které má pozitivní vliv na aroma vína. Popisuje jejich vznik i koncentrace ve víně. Nejdůležitějšími z těchto látek jsou estery.

Úvodní část pojednává o Svatomartinských vínech, jejich odrůdách i technologii vhodné pro výrobu těchto vín. V práci najdeme i zmínku o kvasinkách, jejichž vlastnosti mají vliv na výsledné aroma vína. V neposlední řadě v této práci najdeme i metody určování aromatických látek, z nichž nejznámějšími metodami jsou chromatografie spolu s hmotnostní spektrometrií.

Klíčová slova: Svatomartinská vína, mladé víno, sekundární aroma, estery, chromatografie

10 RESUME

This thesis deals with selected ingredients of the chemical structure of wine. Greater attention is given to a smaller group of substances which have a positive influence on the aroma of wine. It describes the creation and concentration in wine. The most important of these compounds are esters.

The first section describes "Svatomartinské víno", the varieties and technology suitable for the production of these wines. Trade brand name "Svatomartinské víno" may be used by any wine producer registered in the Czech Republic who is capable of meeting the criteria Wine fund Czech Republic. In this work we can find mention of yeasts, which have a bearing on the final aroma of wine. Finally, in this work we find methods for determining aromatics, of which the best known methods include chromatography coupled with mass spectrometry.

Key words: : "Svatomartinské víno", young wine, secondary aroma, esters, chromatography

11 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ARNDT, T., 2009. Kyselina mléčná. Informační server o zdraví. [online]. [cit. 2014-01-22]. Dostupné z: <http://www.celostnimediceina.cz/kyselina-mlecna.htm>.

BALÍK, J., 2010., *Význam teploty kvašení v technologii výroby bílých a červených vín*, Vinařský obzor, roč. 103, č. 2, s. 369–370. ISSN 1212-7884.

BALÍKOVÁ, M., 1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA UNIVERZITY KARLOVY V PRAZE, 2012. *GC - MS aplikace v toxikologii* [online]. [cit. 2015-04-26]. Dostupné z: http://soudni.lf1.cuni.cz/file/5700/11_AT_GC-MS%20aplikace%20v%20toxikologii.pdf.

BAROŇ, M., 2010. *Mýtus jménem glycerol*, Vinařský obzor, roč. 103, č. 12, s. 610–611. ISSN 1212-7884.

BAROŇ, M. MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ, 2013. *Asimilovatelný dusík a jeho vliv na kvalitu vína* [online]. [cit. 2015-04-26]. Dostupné z: http://is.mendelu.cz/dok_server/slozka.pl?id=69875;download=113660;design=9.

BAROŇ, M., 2013. Malolaktická fermentace. *Vinič a víno*. [online]. [cit. 2015-04-14]. Dostupné z: <http://www.vinicavino.sk/sk/technologie/malolakticka-fermentace/>.

BS VINAŘSKÉ POTŘEBY, 2014. *Přehled kvasinek* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: http://www.vinarskepotreby.cz/doc/ke_staeni/2014/prospekt_kvasinky_2014_A3naA4.pdf.

EGGERS, N., 2004. DEPARTMENT OF CHEMISTRY. *BIOCHEMISTRY OF YEAST FERMENTATION* [online]. [cit. 2015-05-03]. Dostupné z: <https://people.ok.ubc.ca/neggers/Chem422A/Biochemistry%20of%20Yeast%20Fermentation%20-%20Fatty%20acids.pdf>

ENCYKLOPEDIIE VÍNA: Odrůdy, ©2009. *O víně* [online]. [cit. 2015-05-02]. Dostupné z: <http://www.ovine.cz/web/structure/20.htm>.

- FARKAŠ J., 1983. BIOTECHNOLÓGIA VÍNA. 2. přepracované vydání. Bratislava: ALFA, 984 s. ISBN 63-076-83, 505/21; 857.
- FEDOR, M. a FURDÍKOVÁ, K., 2007. *Vplyv kvasiniek na aromatický profil vína*, Vinařský obzor, roč. 53, č. 7–8, 215–220 s. ISSN 1212-7884.
- FRANCIS, I. L. a J. L. NEWTON, 2005. Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research* [online]. Vol. 11, issue 2, s. 114–126 [cit. 2015-05-02]. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2005.tb00283.x.
- FUGELSANG, K. a Ch. EDWARDS, 2007. *Wine microbiology.: practical applications and procedures*. 2. vydání. New York: Springer, 393 s. ISBN 978-0-387-33341-0.
- GERALD REED, TIALK W., 1991. *Yeast technology*. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold. ISBN 978-940-1197-717.
- GOLIÁŠ, J., 2013. MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ. *Separální metody* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: http://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=5296.
- JACKSON, Ronald S., 2008. *Wine Science: Principles and Applications*. Third Edition. London: Academic Press, 751 s. ISBN: 978-0-12-373646-8.
- KAČER, P. a K. SYSLOVÁ, 2008. VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE. *Použití GC - MS spektrometrie* [online]. [cit. 2015-04-25]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/kot/resources/studijni-materialy/lab/c.pdf>.
- KANIA, P., 2007. *Infračervená spektrometrie* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: http://old.vscht.cz/anl/lach1/7_IC.pdf.
- KOPECKÁ J., MATOULKOVÁ D., NĚMEC M., 2012. Yeast and its uses. *Kvasný průmysl*, roč. 58, č. 11–12, 326–335 s. ISSN 0023-5830.

KRAUS, V., FOFFOVÁ, Z., VURM, B., 2008. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. 2. díl, Praha: PRAGA MYSTICA, 311 s. ISBN 978-80-86767-09-32.

LÓPEZ, R., O. GEFFROY, E. CONCEJERO, E. SERRANO, J. CACHO a V. EFERREIRA, 2008. The aroma of carbonic maceration wines: An in-depth chemical composition analysis. In: *Institut Français de la Vigne et du Vin (IFV)* [online]. [cit. 2015-04-22]. Dostupné z: <http://www.vignevin-sudouest.com/publications/fiches-pratiques/documents/Weurman2014.pdf>.

MEGGIATO, R., 2012. The Science Of Wine Aging [online]. [cit. 2015-02-17]. Dostupné z: <https://www.finedininglovers.com/stories/the-science-of-wine-aging/>.

MICHLOVSKÝ, M. 2014. *Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře*. 1. vyd. Rakvice: Vinselekt Michlovský, 262 s. ISBN 978-80-905319-2-5.

MÍKA, V., A. KOHOUTEK a P. NERUŠIL, 2008. *Spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIR): výběr praktických aplikací v zemědělství*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 44 s. ISBN 978-80-87011-53-9.

MILCOMSERVIS, [2008]. *WineScan™ Flex* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: http://www.milcom.cz/foss/winescan_ft_120_flex.php.

MORENO-ARRIBAS M.: CARMEN POLO M., 2009. *Wine chemistry and Biochemistry*, New York: Springer science+business Media, ISBN: 978-80-247-3314-2.

NYKÄNEN, L. a H. SUOMALAINEN, 1983. *Aroma of beer, wine, and distilled alcoholic beverages*. Hingham, MA: Distributors for the U.S.A. and Canada, Kluwer Boston, x, 413 p. ISBN 90-277-1553-X

PAVLOUŠEK, P., 2010. *Výroba vína u malovinařů*. 2., aktualiz. a rozš. vyd. Praha: Grada, 120 s. ISBN 978-80-247-3487-3.

PAVLOUŠEK, P., 2011. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, 333 s. ISBN 978-80-247-3314-2.

PAVLUŠEK, P., 2012a. Kyseliny v hroznech a jejich tvorba, možnosti ovlivnění a analýza. *Vinič a víno*. [online]. [cit. 2014-04-24]. Dostupné z:

<http://www.vinicavino.sk/en/rocniky/kyseliny-v-hroznech-%E2%80%93-jejich-tvorba-moznosti-ovlivneni-a-analyza/>.

PAVLOUŠEK, P., 2012b. *Vhodná technologie pro autentická vína*, Vinařský obzor, roč. 105, č. 5, 260–263 s. ISSN: 1212-7884.

PAVLUŠEK, P., BUREŠOVÁ P., 2014. *Vše, co byste měli vědět o víně a nemáte se koho zeptat*. Praha: Grada Publishing, 144 s. ISBN 978-80-247-4351-6.

PETR, J., 2012. *O otravě metanolem a „novém protijedu“* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: <http://www.osel.cz/index.php?clanek=6477>.

PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIA, 2012. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: http://sk.wikipedia.org/wiki/Plynov%C3%A1_chromatografia.

RAPP A. 1995. *Possibilities of characterizing wine varieties by means of volatile flavor compounds*, Developments in Food Science, Volume 37, ISBN 0-444-52742-7.

RIBÉREAU-GAYON, P., D. DUBOURDIEU a B. DONÈCHE, 2006. *Handbook of enology*. 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley, 2 v. ISBN 0470010371.

SEDLÁČEK, M., 2006–2014. Glukóza. *Encyklopedie vína, vinařství a vinohradnictví* [online]. [cit. 2014-05-15]. Dostupné z: <http://www.znalecvin.cz/glukoza>.

STÁVEK, J., 2001a. *Aminokyseliny, víno a jeho senzoricke vlastnosti*. Enolog [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: <http://www.enolog.cz/obrazky-soubory/aminokyseliny-vino-a-jeho-senzoricke-vlastnosti-3dd7c.doc>.

STÁVEK, J., 2001b. *Aroma vína sloučeniny síry*. Enolog [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: <http://www.enolog.cz/aroma-vina-slouceniny-siry>.

STEIDL, R. a SCHÖDL H., 2002. *Sklepní hospodářství*. V českém jazyce vyd. 1., Valtice: Národní salon vín, 307 s. ISBN 80-903201-0-4.

SOCHOR, J., 2013a. *Vedlejší produkty alkoholové fermentace*. *Vinařství* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1224.

SOCHOR, J., 2013b. Vady vín vzniklé v průběhu MLF. *Vinařství* [online]. [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1266.

SVAZ VINAŘŮ ČESKÉ REPUBLIKY, 2009. *Stručný výťah změn nové legislativy* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: <http://www.svcr.cz/strucny-vytah-zmen-nove-legislativy>.

ŠTĚRBA, K., M. KARABÍN a P. DOSTÁLEK, 2011. *Moderní postupy využívané při přípravě vzorků pro stanovení alkoholů, esterů a kyselin v pivu*. Chemické listy, roč. 103, č. 4, 603–610 s. Praha: Česká společnost chemická. ISBN 0009-2770.

ŠEVČÍK, J., PĚKNICOVÁ, M., KRUCINOVÁ, D., 1999. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 1. vydání. Český Těšín: 2 THETA, 348 s. ISBN 80-902432-9-0.

ŠVEJCAR V., PAPŮN M., 1976. *Faktory ovlivňující hladinu glycerolu ve vínech*, Kvasný průmysl, roč. 22, č. 11, 254–256 s. Praha: SNTL. ISSN 0023-5830.

ŠVEJCAR, V. a MINÁRIK E., 1976. *Vinařství: biochemie vína*. 1. vyd. Brno: Vysoká škola zemědělská, 77 s.

TRIAD SCIENTIFI, b. r. [online]. [cit. 2015-05-02]. Dostupné z: <http://www.triadsci.com/pics/542.jpg>

UNIVERZITA TOMÁŠE BATI, 2011. *Chromatografie* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: http://ufmi.ft.utb.cz/texty/kzm/KZM_07.pdf.

VELÍŠEK, J., 1999. *Chemie potravin*. 1.vyd. Tábor: OSSIS, 304 s. ISBN 80-902391-3-7.

VELÍŠEK, J. a HAJŠLOVÁ J., 2009. *Chemie potravin 1: [Investice do rozvoje vzdělávání, reg. č.: CZ1.07/2.2.00/15.0084]*. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 580 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

VINAŘSKÝ SLOVNÍK, 2007. *O víně*. [online]. [cit. 2015-02-03]. Dostupné z: <http://www.encyklopedie-vina.cz/clanky/o-vine/vinarsky-slovník/ttt.html>.

YANG, D. Yi, Y. KAKUDA a R. E. SUBDEN, 2006. Higher alcohols, diacetyl, acetoin and 2,3-butanediol biosynthesis in grapes undergoing carbonic maceration. *Food Research International* [online]. Vol. 39, issue 1, s. 112–116 [cit. 2015-04-20]. DOI: 10.1016/j.foodres.2005.06.007. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996905001468>.

ZACHAŘ, P., SÝKORA, D, 2008. *Plynová chromatografie* [online]. [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>.

ZOECKLEIN, B. W., K. C. FUGELSANG, Ba. H. GUMP a Fred S. NURY, 1995. *Wine Analysis and Production*. Boston, MA: Springer US. ISBN 978-147-5769-784.

12 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

Obr. č. 1: Dělení složky A a B na chromatografu.....	34
Obr. č. 2: Schéma plynového chromatografu	35
Obr. č. 3: Blokové schéma hmotnostní spektrometrie.....	36
Obr. č. 4: Shimadzu GC-17A	39
Tab. č. 1: Alkoholy a estery ve víně	22
Tab. č. 2: Vliv kmene kvasinek na tvorbu aromaticky významných látek	25
Tab. č. 3: Rozdíly koncentrací vybraných esterů závislé na stáří vína	28
Tab. č. 4: Vybrané estery a jejich vývoj v závislosti na čase.....	29
Tab. č. 5: Parametry použité při měření GC-MS	38
Tab. č. 6: Standardy od firmy Sigma chemical Co.	40
Tab. č. 7: Naměřené volatilní látky na GC-MS	41
Graf č. 1: Chemické složení bílého vína.....	14

13 SEZNAM ZKRATEK

MTBE	Methyl t-butyl ether
GC	Plynová chromatografie
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí
(NH ₄) ₂ SO ₄	Síran amonný
MM	Muškát moravský
MT	Müller Thurgau
Sv	Svatovavřínecké
Zw	Zweigeltrebe
MP	Modrý Portugal

14 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1: Ukázka chromatogramu

Příloha č. 1: Ukázka chromatogramu, vzorek č. 2 – Muškát moravský 2014, PATRIA Kobyli a.s.

