

# **Vývoj aromatických látek ve vybraných vínech dle ročníku**

Bc. Milada Křivánková, DiS.

---

Diplomová práce  
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Milada Křivánková, DiS.**  
Osobní číslo: **T11057**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vývoj aromatických látek ve vybraných vínech dle ročníku.**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Popište technologii výroby vín dle jakosti a jednotlivých typů.
2. Zaměřte se na aromatické látky vín z aspektu odrůd technologie a agrogeologických podmínek.
3. Popište analytické metody vhodné ke sledování aromatických látek vína.

### II. Praktická část

1. Proveďte experimentální analytické sledování aromatických látek ve vybraných řadách vzorků vín.
2. Získané výsledky vyhodnoťte a diskutujte. Formulujte závěry a doporučení.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. STEIDL, Robert. Sklepní hospodářství. Valtice: Národní salon vín, 2002. ISBN 80-903201-0-4.
2. VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin 2. Tábor: OSSIS – Ing. Václav Šedivý, 2009. ISBN 80-902391-4-5.
3. KRAUS, Vilém., HUBÁČEK, Vítězslav., ACKERMANN, Petr. Rukověť vinaře, Praha: Nakladatelství Brázda, 2000. ISBN 80-209-0286-4.
4. KRAUS V., FOFFOVÁ Z., VURM B., KRAUSOVÁ D. Encyklopedie českého a moravského vína 1. a 2. díl, Praga Mystica 2005 ? 2008. ISBN 80?86767-00-0, ISBN 978-808676 709-3.
5. HUBÁČEK, V. Výroba réвовého vína. 1.vyd.Praha: Institut výchovy a vzdělání Mze ČR, 1996. ISBN 80-7105-140-3.

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Pavel Valášek, CSc.**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

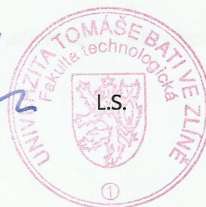
**11. února 2013**

Termín odevzdání diplomové práce:

**17. května 2013**

Ve Zlíně dne 11. února 2013

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
děkan



  
doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.  
ředitel ústavu



Příjmení a jméno: Křivánková Milada

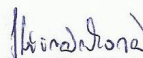
Obor: THEVP

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby<sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3<sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60<sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60<sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 13.5.2013



<sup>2)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.



(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlíží k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce se zabývá vývojem obsahu aromatických látek u odrůd Chardonnay a Ryzlinku rýnském dle jednotlivých ročníků. Obdobným způsobem je hodnocen také celkový obsah polyfenolických látek ve vzorcích vína. V teoretické části je stručný popis technologie výroby vín, vybraných aromatických látek a stručný popis polyfenolů. Dále je práce zaměřena na popisu metod určených ke stanovení aromatických látek a polyfenolů ve víně. V praktické části jsou provedeny příslušné analýzy, jejich výsledky jsou diskutovány a na jejich základě jsou formulovány odpovídající závěry.

**Klíčová slova:** aromatické látky, polyfenoly, technologie výroby vína, analýzy aromatických látek.

## **ABSTRACT**

This thesis deals with the development of aromatic compounds in the varieties Chardonnay and Riesling in individual years. Correspondingly, also evaluated the total content of polyphenols in wine samples. The theoretical part is a brief description of the technology of production of wines, selected aromatic compounds and a concise description of polyphenols. The thesis is focused on the description of the methods for the identification of aromatic compounds in wine and polyphenols. The practical part of the analysis performed, the results are discussing and on the basis of the corresponding conclusions are formulated.

**Keywords:** aromatic substances, polyphenols, technology of wine production, analysis of aromatic compounds.

## **Motto**

*Znalost vína může být radostí po celý život člověka.*

*(E. Hemingway)*

## **Poděkování**

Na tomto místě bych především velice ráda poděkovala svému vedoucímu diplomové práce, panu doc. Ing. Pavlovi Valáškoví, CSc. za ochotu, trpělivost, odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi poskytoval během konzultací v průběhu zpracování mé diplomové práce. Dále děkuji paní laborantce Jaroslavě Řemenovské a panu Ing. Josefu Osičkovi, kteří mně pomáhali při analýze vzorků v laboratořích a bez nichž by tato práce nemohla vzniknout. A nakonec bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu během studia.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.



# OBSAH

ÚVOD .....	11
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>12</b>
<b>1 POPIŠTE TECHNOLOGII VÝROBY VÍN DLE JAKOSTI A JEDNOTLIVÝCH TYPŮ .....</b>	<b>13</b>
1.1 ROZDĚLENÍ VÍN DLE JAKOSTI – TRŽIDĚNÍ JAKOSTNÍHO VÍNA.....	13
1.1.1 Zařazení vín a moštu dle nového NARÍZENÍ KOMISE (ES) č. 436/2009 a č. 607/2009 platných od 1.8.2009 do nově označovaných kategorií .....	13
1.1.1.1 Víno s chráněným označením původu.....	13
1.1.1.2 Víno s chráněným zeměpisným označením .....	15
1.1.1.3 Odrůdové víno bez chráněného označení původu/chráněného zeměpisného označení .....	16
1.1.1.4 Víno bez chráněného označení původu/chráněného zeměpisného označení .....	16
1.1.1.5 Ostatní.....	16
1.1.1.6 Ostatní hroznový mošt .....	16
1.1.2 Třídění vín podle obsahu zbytkového cukru.....	16
1.1.3 Třídění vín dle barvy .....	17
1.2 VÝROBA BÍLÉHO VÍNA .....	17
1.2.1 Surovina .....	17
1.2.2 Odzrňování hroznů a drcení .....	18
1.2.3 Scezování rmutu .....	18
1.2.4 Lisování.....	19
1.2.5 Úprava moštu před kvašením .....	19
1.2.6 Zlepšování moštů zvýšením cukernatosti a odkyselováním.....	21
1.2.7 Alkoholové kvašení moštů – fermentace.....	21
1.2.7.1 Jablečno-mléčné kvašení .....	24
1.2.8 Ošetřování mladého vína .....	24
1.2.9 Školení vína .....	25
1.2.10 Stabilizace vína .....	27
1.2.11 Lahvování vín .....	28
1.3 VÝROBA ČERVENÉHO VÍNA .....	28
1.3.1 Odstopkování a drcení .....	28
1.3.2 Zpracování rmutu.....	28
1.4 VÝROBA RŮŽOVÉHO VÍNA .....	30
1.5 VÝROBA ŠUMIVÉHO VÍNA.....	30
1.6 VÝROBA PERLIVÉHO VÍNA .....	31
<b>2 AROMATICKÉ LÁTKY VÍN Z ASPEKTU ODRŮD, TECHNOLOGIE A AGROGEOLOGICKÝCH PODMÍNEK.....</b>	<b>33</b>

2.1	ROZDĚLENÍ AROMA .....	34
2.2	PŘEHLED NEJVÝZNAMNĚJŠÍCH AROMATICKÝCH LÁTEK U VÍNA .....	35
2.2.1	Estery .....	35
2.2.2	Terpenoidy.....	36
2.2.3	Norisoprenoidy .....	37
2.2.4	Methoxypyraziny .....	38
2.2.5	Těkavé fenoly .....	38
2.2.6	Vonné thioly .....	39
2.2.7	Aromatické uhlovodíky.....	40
<b>3</b>	<b>FENOLICKÉ LÁTKY .....</b>	<b>41</b>
<b>4</b>	<b>ANALYTICKÉ METODY VHODNÉ KE SLEDOVÁNÍ AROMATICKÝCH LÁTEK VÍNA A FENOLICKÝCH LÁTEK VÍNA.....</b>	<b>43</b>
4.1	PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE .....	43
4.1.1	Schéma instrumentálního uspořádání plynového chromatografu.....	44
4.1.2	Pracovní techniky plynové chromatografie .....	48
4.1.2.1	Eluční metoda .....	48
4.1.2.2	Frontální metoda.....	48
4.1.2.3	Vytěšňovací metoda.....	48
4.2	PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE – HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE .....	49
4.2.1	Základní části hmotnostního spektrometru.....	49
4.3	MIKROEXTRAKCE TUHOU FÁZÍ.....	50
4.4	METODY KE STANOVENÍ FENOLICKÝCH LÁTEK .....	52
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>54</b>
<b>5</b>	<b>MATERIÁL A METODY .....</b>	<b>55</b>
5.1	POUŽITÉ VZORKY VÍN .....	55
5.2	STANOVENÍ AROMATICKÝCH LÁTEK POMOCÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE .....	56
5.2.1	Princip metody GC/MS.....	56
5.2.2	Pomůcky a přístroje .....	56
5.2.3	Pracovní postup .....	56
5.3	STANOVENÍ POLYFENOLŮ VE VÍNĚ FOLIN - CIOCALTEU ČINIDLEM .....	57
5.3.1	Princip metody.....	57
5.3.2	Chemikálie a roztoky .....	57
5.3.3	Pomůcky a přístroje .....	57
5.3.4	Pracovní postup .....	57
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>59</b>
6.1	VÝSLEDKY STANOVENÝCH AROMATICKÝCH LÁTEK VE VÍNĚ.....	59
6.1.1	Analýza aromatických látek ve vzorcích odrůdy Chardonnay.....	61
6.1.2	Analýza aromatických látek ve vzorcích odrůdy Ryzlink rýnský.....	67
6.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ POLYFENOLŮ VE VÍNĚ.....	74
6.2.1	Výpočet stanovení celkového obsahu polyfenolů.....	74
6.2.2	Analýza polyfenolických látek ve vzorcích odrůdy Chardonnay.....	75
6.2.3	Analýza polyfenolických látek ve vzorcích odrůdy Ryzlink rýnský.....	76

<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>78</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>80</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>86</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>87</b>
<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>88</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH .....</b>	<b>89</b>



## ÚVOD

Jednoho dne vody opadly a archa Noemova přistála na stráních Araratu. Noe vystoupil z archy a do ještě vlhké země vsadil proutek révy. Z proutku vyrostl keř révy vinné a vydal své ovoce. To byl začátek. Příběh pokračoval, když pomačkané hrozny zkvasily a zrodilo se víno. Každoroční zrození se dodnes k radosti člověčí opakuje v sudech všech moudrých a poctivých vinařů. Celý koloběh začíná na jaře řezem révy, kterým se reguluje velikost sklizně hroznů, a končí tajemnou proměnou sladké hroznové šťávy v mlad'ounek, sotva zrozené víno. Toto novorozeně musí vinař pečlivě ošetřovat jako matka své dítě až do doby dospělosti a všestranné vyzrállosti, kdy od něj pak očekáváme nevšední radostné prožitky.

Hlavní roli při volbě tématu pro mou diplomovou práci hrálo to, že vůně je jedna z nejdůležitějších charakteristik kvality vína, protože interakce aromatických substancí se smysly čichu a chuti totiž vede konzumenty k přijetí či odmítnutí produktu. V některých případech je vhodné prezentovat jednu látku odpovědnou za charakteristické aroma vína, ale ve skutečnosti je aroma ovlivněno působením stovek odlišných chemických sloučenin. Kromě toho, že je soubor aromatických látek parametrem kvality, je také něčím jako "otiskem prstu" pro každou odrůdu. Některé z aromatických látek jsou charakteristické značnou variabilitou, zatímco další, které jsou obsaženy v každém víně kolísají podle typu vína.

Nejčastěji používaná metoda poskytující informace o složení aromatických látek ve vínech je chromatografie ve spojení s hmotnostním detektorem. Mezi hlavní výhody této techniky patří jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace látek a malé množství vzorku potřebné k analýze.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 POPIŠTE TECHNOLOGII VÝROBY VÍN DLE JAKOSTI A JEDNOTLIVÝCH TYPŮ

## 1.1 Rozdělení vín dle jakosti – třídění jakostního vína

Zákon o vinohradnictví a vinařství č. 321/2004 Sb. rozděluje jednotlivé druhy vína na několik skupin. Česká republika se při rozdělování vín tradičně přiklání k tzv. germánskému systému, který upřednostňuje odrůdu a vyzrállost hroznů stanovenou měřením obsahu cukru v hroznové šťávě v době sklizně.

Rozdělování vína podléhá různým principům, které jsou ovlivňovány mnoha faktory. Při prvním setkávání s vínem je rozdělujeme podle nám známých ukazatelů. S postupným nabýváním znalostí a zkušeností se pohled na víno mění a s ním i jeho rozdělování. Z hlediska jednotnosti a srozumitelnosti je však nadřazeno názvosloví a pravidla stanovená vinařským zákonem a nařízeními rady ES.

Po reformě Společné organizace trhu (dále SOT) s vínem v EU z roku 2008 a 2009 byla netrpělivě očekávána novela vinařského zákona. Ta spatřila světlo světa dne 30. srpna 2011, kdy vyšla pod číslem 256/2011 Sb. Je platná od 1. září 2011.

Poznámka: dále uváděná zkratka „°NM“ znamená stupeň normalizovaného moštoměru. Jeden stupeň NM představuje 10 g přírodního cukru na 1 litr hroznového moštu [1, 2].

### 1.1.1 Zařazení vín a moštu dle nového NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 436/2009 a č. 607/2009 platných od 1.8.2009 do nově označovaných kategorií

#### 1.1.1.1 *Víno s chráněným označením původu*

Do této kategorie vín s chráněným označením původu (dále CHOP) patří např.: jakostní víno, jakostní víno s přívlastkem, jakostní šumivé s.o., jakostní perlivé, jakostní likérové a víno originální certifikace (dále VOC).

#### **Jakostní víno**

Na výrobu mohou být použity vinné hrozny, které byly sklizeny na vinici vhodné pro jakostní víno stanovené oblasti a které byly sklizeny ve stejné vinařské oblasti. Výroba vína



musí proběhnout ve vinařské oblasti, v níž byly vinné hrozny sklizeny. Výnos nesmí překročit 12 t/ha a cukernatost hroznů musí dosáhnout min. 15 °NM. Víno musí splňovat jakostní požadavky a být zaříděno SZPI, a to buď:

- Jakostní víno odrůdové
- Jakostní víno známkové

### **Jakostní víno s přívlastkem – se dělí na jednotlivé druhy**

**Kabinetní víno** - kabinetní víno lze vyrábět pouze z vinných hroznů cukernatosti nejméně 19 °NM.

**Pozdní sběr** - vína, u nichž byla sklizeň hroznů v pozdějším termínu, teprve když cukernatost hroznů dosáhne nejméně 21 °NM.

**Výběr z hroznů** – víno vyrobené z hroznů, které vyžrály na min. 24 °NM.

**Výběr z bobulí** - víno vyrobené z vybraných hroznů, které vyžrály velmi dlouho na vinici a získaný mošt obsahoval min. 27 °NM.

**Výběr z cibéb** - víno vyrobené z hroznů, které vyžrály na vinici nejméně 32 °NM.

**Ledové víno** – vyrábí se pouze z vinných hroznů, které byly sklizeny při teplotách - 7 °C a nižších v průběhu sklizně a zpracování zůstaly zmrazeny a získaný mošt vykazoval cukernatost min. 27 °NM. Při lisování nesmí hrozny rozmrznout, proto část nevytisované vody zůstane v hroznech ve formě ledových krystalů.

**Slámové víno** – vyrábí se pouze z vinných hroznů, které byly před zpracováním skladovány na slámě či rákosu nebo byly zavěšeny ve větratelném prostoru po dobu nejméně 3 měsíců a získaný mošt obsahoval min. cukernatost 27 °NM. Vykazuje-li mošt již po dvou měsících cukernatost nejméně 32 °NM, může proběhnout lisování [1].

### **Jakostní šumivé víno stanovené oblasti**

K výrobě kupáže byly použity hrozny sklizené ve stejné vinařské oblasti z vinic vhodných pro jakostní víno stanovené oblasti, výroba vína proběhla ve vinařské oblasti, v níž byly hrozny sklizeny, nebyl překročen nejvyšší hektarový výnos, víno splňuje požadavky na jakost a bylo zaříděno Inspekcí v této kategorii.

Víno se vyrobení druhotným kvašením v lahvích nebo v tancích. Přetlak v láhvi musí dosahovat minimálně 0,3 MPa při 20 °C

### **Jakostní perlivé víno**

K výrobě byly použity hrozny sklizené ve stejné vinařské oblasti z vinic vhodných pro jakostní víno stanovené oblasti, výroba vína proběhla ve vinařské oblasti, v níž byly hrozny sklizeny, nebyl překročen nejvyšší hektarový výnos, víno splňuje požadavky na jakost a bylo zaříděno Inspekcí v této kategorii.

Víno je vyráběné umělým sycením révového vína oxidem uhličitým. Přetlak v láhvi musí dosahovat minimálně 0,1 MPa při 20 °C. Obsah alkoholu je alespoň 9 % obj.

### **Jakostní likérové víno**

Víno, u něhož byl přerušen kvasný proces přidáním lihu ve formě vinného destilátu. Obsah alkoholu je alespoň 17,5 % obj.

### **Víno originální certifikace**

Víno originální certifikace (dále zkratka „V.O.C.“ nebo „VOC“) musí být vyrobeno na stejném nebo menším území, než je vinařská oblast. Výrobce musí být členem sdružení, které je oprávněné přiznávat označení vína originální certifikace podle tohoto zákona. Víno odpovídá alespoň jakostním požadavkům pro jakostní víno. Povolení přiznávat označení vína originální certifikace uděluje Ministerstvo zemědělství.

#### ***1.1.1.2 Víno s chráněným zeměpisným označením***

Do této kategorie vín s chráněným zeměpisným označením (dále CHZO) patří např.: zemské víno (odrůdy zapsané v české Státní odrůdové knize + odrůdy určené pouze pro výrobu zemského vína).

### **Zemské víno**

Názvem „zemské víno“ můžeme označit víno, které splňuje následující požadavky. Je vyrobeno z vinných hroznů sklizených na území ČR a též výroba (vinifikace) tohoto vína musí proběhnout ve stejné oblasti, ve které byla sklizena. Výnos na vinici nesmí překročit 14 t/ha a cukernatost hroznů musí dosáhnout min. 14 °NM. Pokud jde o víno prokazatelně z vlastních registrovaných vinic, může být značeno vinařskou obcí.

### ***1.1.1.3 Odrůdové víno bez chráněného označení původu/chráněného zeměpisného označení***

Do této kategorie patří např.: odrůdové víno, perlivé, šumivé, likérové (i směsi, kupáže s uvedením názvu odrůdy) – dříve stolní víno.

### ***1.1.1.4 Víno bez chráněného označení původu/chráněného zeměpisného označení***

Do této kategorie patří např.: víno, perlivé, šumivé, likérové (bez uvedení odrůdy) - dříve stolní víno.

### ***1.1.1.5 Ostatní***

Do této kategorie patří např.: mladé víno v procesu kvašení, šumivé víno dosycené CO<sub>2</sub>, perlivé víno dosycené CO<sub>2</sub>.

### ***1.1.1.6 Ostatní hroznový mošt***

Do této kategorie patří např.: částečně zkvašený hroznový mošt z hroznů, burčák, aj..

## **1.1.2 Třídění vín podle obsahu zbytkového cukru**

**Suchá** - víno, které prokvasilo na nízký obsah zbytkového cukru, který smí obsahovat: max. 4 g zbytkového cukru na litr nebo max. 9 g cukru v litru, pokud rozdíl zbytkového cukru a celkového obsahu kyselin přepočtený na kyselinu vinnou je 2 g nebo méně.

**Polosuchá** – víno se zbytkovým cukrem, který je větší než nejvyšší hodnota stanovená pro vína suchá, ale nepřesahuje 12 g v litru vína.

**Polosladká** – obsah zbytkového cukru ve víně je větší než nejvyšší hodnota stanovená pro vína polosuchá, ale dosahuje nejvýše 45 g na 1 litr.

**Sladká** - víno se zbytkovým cukrem ve výši nejméně 45 g na litr [1, 2, 3].

### 1.1.3 Třídění vín dle barvy

**Bílá vína – vína se vyrábí** z bílých, růžových, červených, nebo modrých hroznů révy vinné. Při jeho výrobě se rmut (narušené slupky hroznů) ihned lisuje a získává se čistý mošt ke kvašení. Pevné zbytky po lisování se nazývají matoliny. Bílým vínům vyrobeným z červených nebo modrých hroznů se říká klaret. Podíl bílých hroznů na celkové sklizni z roku 2011 činil 57 %.

**Růžová vína** - vína se vyrábí z modrých hroznů bez nakvášení metodou krátkého naležení rozemletých hroznů. Vinaři o růžovém víně říkají, že začíná svůj život jako červené víno, ale pak jej žije jako víno bílé. Rmut, tedy narušené slupky hroznů, se z modrých odrůd nechává naležet jen pár hodin, aby se z něho neuvolnilo příliš mnoho barviva a víno tak zůstalo růžové. Získaný mošt ze slupek se oddělí a dál se s ním nakládá jako při výrobě bílého vína. Podíl modrých hroznů na výrobu růžových vín z roku 2011 činil 7 %.

**Červená vína** – vína se vyrábí pouze z modrých hroznů (protože červené barvivo se nachází pouze v těchto odrůdách), a to nakvášením nebo jejich tepelným zpracováním. Při jeho výrobě se rmut nechá několik dní kvasit. Slupky tak zůstávají v kontaktu s kvasící šťávou. Kvašení probíhá delší dobu a za vyšší teploty než u bílého vína. Podíl modrých hroznů na celkové sklizni z roku 2011 činil 36 % [4, 5].

## 1.2 Výroba bílého vína

### 1.2.1 Surovina

Zdravé hrozny tvoří základní předpoklad pro výrobu kvalitních jakostních vín. Nezralé hrozny se zelenými třapinami dávají vínu příchut' po třapinách a chlorofylu. Zpracované hrozny napadené hnilobou je nutno ihned zasířit, aby se předešlo škodlivému působení oxidačních enzymů a následným vadám vína. Hrozny jsou zpracovávány odděleně, dle jednotlivých odrůd a měly by být zpracovány co nejdříve. Nejen odrůda, stanovištní podmínky a samotná vyzrállost suroviny dodávají předpoklady k výrobě kvalitního vína, na konečném produktu se výrazně podepíše použitá výrobní technologie [6].

### 1.2.2 Odzrňování hroznů a drcení

Sesbírané hrozny je nutno zpracovat v den jejich sběru. Nejen, že tím zamezíme za-  
paření suroviny a rozmnožení nežádoucí mikroflóry, ale je to také jen z předpokladů kvalit-  
ního zpracování produktu [7, 8].

Před lisováním je třeba pro snadnější uvolnění šťávy z bobulí hrozny rozdrtit tak, aby  
byly odděleny třapiny od bobulí a ty narušeny, čímž vznikne rmut. Dbáme na to, abych ne-  
rozmačkali také třapiny, z nichž by do rmutu přešla nežádoucí šťáva obsahující chlorofyl a  
třísloviny. Obě složky zhoršují kvalitu budoucího vína. Vytvářejí nepříjemnou travnatou  
příchuť. Tato příchuť se zvláště projeví v nepříznivých ročnících u nevyzrálých hroznů [9].

Dle zvažení technologa se rmuty zdravých aromatických odrůd nechávají nakvázat 6  
až 10 hodin.



*Obr. 1. Odstopkový mlýnek [10].*

### 1.2.3 Scezování rmutu

Velmi výhodné je rmut před lisováním scedit, čímž se jeho objem zmenší o 30 – 50  
%, tím se usnadní a zrychlí lisování. Scezenému moštu se říká samotok, který obsahuje méně  
taninů a má lepší kvalitu. Používá se jen při výrobě bílého vína. Scezený rmut je náchylný  
k oxidaci i neoctění, proto musí být rychle zpracován [9, 11].

#### 1.2.4 Lisování

Podstata lisování spočívá v tom, že se pracuje pomalu, a především s nízkým tlakem, aby měl mošt dostatek času odtéci z rmutu. Tlak se zvyšuje teprve na závěr lisování [3].

Bílé hrozny se lisují hned po sběru. Lisováním hroznů se odděluje kapalina od tuhých složek. První podíl vylisovaného moštu je nejkvalitnější, neboť obsahuje nejméně tříslovin, a proto se někdy zpracovává odděleně. Pevné vylisované zbytky bobulí se nazývají matoliny. Výlisnost se pohybuje od 50 – 80 l moštu ze 100 kg hroznů. Stupeň vylisování závisí na charakteru lisovaného rmutu a lisovacím tlak. Rychlost lisování závisí na vlhkosti a stupni rozdrčení hroznů a typu lisovacího zařízení. Při lisování hroznů hraje důležitou roli i odrůda révy a stupeň jejich vyzrálosti [7, 8, 9].

V současné době se používají zejména moderní hydraulické lisy a pneumatické lisy. V hydraulickém lisu dochází po naplnění koše k tlačení rmutu na desku, aby došlo pokud možno malým tlakem k vylisování co největšího množství moštu, potom se zbývající rmut dolisuje a matolinový koláč rozdrťí. Pneumatický lis na rozdíl od lisu hydraulického je založen na zcela jiném principu. V otáčivém koši z nerez oceli je umístěn gumový válec, do kterého se po naplnění lisu rmutem vhání stlačený vzduch. Gumový válec začne stlačovat rmut na vnitřní plochu koše a šetrně jej vylisuje. Po uvolnění tlaku v gumovém válci se vylisované matoliny rozdrobí, takže se nemusí zvlášť drtit. Lisy na tomto principu jsou dnes používány stále více [12].

#### 1.2.5 Úprava moštu před kvašením

Během krátkého období mezi sklizní a kvašením se používají postupy, rozhodující o budoucím charakteru a kvalitě vína. Důležitou částí je přitom úprava moštu [2].

#### Odkalování moštů

Odstranění nečistot se řeší odkalováním. Kaly při sedimentaci s sebou strhnou i sli-zové látky, vysokomolekulární dusíkaté látky, těžké kovy a pesticidy. Odkalení se provádí statickým nebo dynamickým způsobem. Při statickém způsobu se víno nechá stát v klidu a chladu, dokud se zákaly neusadí. Chladné prostředí je nezbytné, aby nedošlo ke kvašení. Statické odkalování je nejméně náročné a zatím nejčastěji používané. Statické odkalování působí prozatím nejlépe na kvalitu moštů a následně vína. Při dynamickém způsobu odkalování se používají odstředivky, avšak odstředěné mošty kvasí pomaleji a je nutné používat k zakvácení čisté kultury kvasinek [9, 13, 14].

V současnosti se doporučuje snížit obsah kalů na maximálně 0,6 % objemu, od 1 % jsou patrné nečisté tóny ve víně (např. vůně po hnilobě). Snížením množství kalů a počtu nežádoucích zárodků se vytvářejí předpoklady pro bezproblémové kvašení [3].

### **Síření moštů**

V průběhu zpracování hroznů i předfermentačních úprav moštu dochází k jeho provzdušnění. Provzdušňování moštů podporuje nejen rozmnožování kvasinek, ale také činnost oxidačních enzymů, způsobujících hnědnutí moštu a vína. Abychom se zabránilo těmto procesům používá se oxid siřičitý. Oxid siřičitý v mošttech působí jako redukční činidlo, váže molekuly kyslíku ve víně a chrání tak víno před oxidací a působí konzervačně. Ve vhodných dávkách působí příznivě na tvorbu buketu i chuťových vlastností budoucího vína a ovlivňuje jakost a stabilitu. Mošty se síří jednak spalováním sirných knotů v nádobách, do nichž je plníme nebo použitím disiřičitanu draselného [9].

### **Síření se provádí z více důvodů:**

- Potlačení aktivity oxidačních enzymů, které mohou od počátku zpracování způsobovat narušení barvy.
- Potlačení růstu divokých kvasinek a bakterií. Nejenom octové bakterie mohou vést ke zvýšení obsahu těkavých kyselin, je-li přítomen dostatek kyslíku.
- Vyvázání vzdušného kyslíku.
- Podpoření extrakce polyfenolických látek.

Čím dříve se přídavek provede, tím lépe bude rmut chráněn před účinkem kyslíku, potlačí se rozklad barviva, a tím hnědnutí, podpoří se vývoj buketu a jeho čistota [3].

Také se používá filtrace moštů použitím křemelinových filtrů, vakuových filtrů či kalolisů a v současné době membránovou filtraci cross-flow. Při filtraci stačí pouze jedno stočení z kalů, avšak tato zařízení jsou finančně nákladná.

U moštů z hroznů silně poškozených hnilobou nebo z vinic ošetřovaných pesticidy je výhodné odkalení spojit s ošetřením bentonitem, kterým se odstraňují „termolabilní“ bílkovinné zákaly z moštu, příp. vína. Čím dříve toto ošetření proběhne, tím méně zatěžuje výsledný produkt [3, 9, 13].

### 1.2.6 Zlepšování moštů zvýšením cukernatosti a odkyselováním

V nepříznivých letech hrozny některých odrůd nedozrávají, takže obsahují málo cukru a hodně kyselin. Bez zlepšení moštů z hroznů, které nedosáhly technologické zralosti, by budoucí víno neodpovídalo požadavkům vyplývajícím ze zák. č. 321/2004 Sb. Proto bývá nedostatek cukernatosti napraven docukřením rafinovaným řepným cukrem nebo zahuštěným moštem na potřebnou míru, aby bylo dosaženo chuťové harmonie. A příliš kyselé mošty se odkyselí chemicky čistým uhličitánem vápenatým [9, 15].

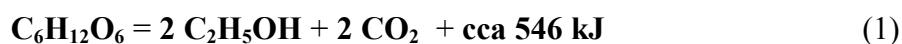
Poznámka: Je-li cukernatost moštu před výrobou vína pod 20 °NM, musí se před kvašením přisladit mošty minimálně na 20 °NM. Na Moravě je povoleno přidat až přes 3 kg cukru na 100 l, protože v rámci EU je Morava zařazena do zóny B. V Čechách je to přes 5 kg na 100 l, protože jsou zařazeny do zóny A. (Existuje ještě zóna C, tam jsou zařazeny jižní státy, kde se nesmí mošty doslazovat vůbec, ale naopak je zde povoleno dokyselovat mošty. Což je u nás na severu zakázáno.) Každým doslazením se ztrácí právo na označení vína – víno s přívlastkem, kabinet, pozdní sběr, výběr, výběr z bobulí, výběr z cibéb nebo ledová a slámová vína.

Dle ustanovení § 13, odstavce 1 zákona č. 321/2004 Sb. musí výrobce ohlásit Státní zemědělské a potravinářské inspekci (dále SZPI) nejméně 48 hodin předem svůj záměr zvyšovat obsah přirozeného alkoholu (zvyšování cukernatosti moštů a rmutů) a také musí nahlásit svůj záměr snižovat/zvyšovat obsah kyselin. Pokud okolnosti, které výrobce nemohl předvídat, znemožní provedení nahlášeného zvyšování cukernatosti, zašle výrobce bez zbytečného odkladu vysvětlení SZPI. U jakostních vín s přívlastkem je zvyšování cukernatosti zakázáno [1].

### 1.2.7 Alkoholové kvašení moštů – fermentace

Je biochemický proces při kterém jsou cukry hroznů (glukóza a fruktóza) přeměňovány na alkohol za přítomnosti kvasinek. Kvasinky tvoří enzymy, které přeměňují cukry hroznů na téměř stejné množství alkoholu a oxidu uhličitého za vzniku tepla.

Jednoduchá rovnice alkoholového kvašení:





Teplota vyšší než 35 °C činnost kvasinek zpomaluje, nebo úplně zastavuje, navíc ničí aromatické látky. Činnost kvasinek přirozeně končí metabolizací všech cukrů. Při vyšších teplotách nad 25 °C navíc unikají aromatické a buketní látky a proto je doporučováno teplotu řídit - tzv. řízené kvašení, 18 – 21 °C. Kvasinky také zastavují svou činnost dosažením úrovně asi 16 % obj. alkoholu, kdy tato koncentrace alkoholu je již pro kvasinky toxická. Výše uvedené poznatky se mohou jednoduše využívat pro tzv. umělé zastavení činnosti kvasinek:

- a) zvýšením teploty
- b) zvýšením objemu alkoholu

Hlavním produktem alkoholového kvašení je tedy alkohol a CO<sub>2</sub>, ostatní produkty kvasinek označujeme jako vedlejší, přestože mají pro konečný produkt značný význam. Jedná se o aromatické látky, kyseliny, a jiné.

CO<sub>2</sub> jenž vzniká při kvašení, je bezbarvý dusivý plyn charakteristického zápachu, který se rozpouští ve víně a vodě a je těžší než vzduch. To může vést k jeho shromažďování v hlubších sklepech bez ventilace, k vytěsnění kyslíku a k smrti udušením tam pracujících osob. Proto vyšší množství tzv. kvasného plynu musí být ze sklepa odstraněno [3, 16].

Vinaři využívají činnosti divokých i kulturních kvasinek.

### ***Divoké kvasinky***

Způsobují spontánní kvašení. Kvasinky jsou do moštu dodány samovolně spolu se zdravými hrozný, na nichž jsou přilnuté. Činnost těchto divokých kvasinek způsobuje zvláštní charakter vína.

Nejsou vhodné k prokvašení moštu z nahnilých hroznů, protože spolu s nimi je v moštu obsaženo vysoké množství nežádoucích kvasinek, které by mohly vést k následnému způsobení vad vína.

Vína vyrobená spontánním kvašením vyžadují delší čas na výrobu, aby kvalitně uzrála. Zároveň při něm vytváří komplexní spektrum aromatických látek. Vzhledem k rozmanité mikroflóře je při aplikaci oxidu siřičitého nutná průběžná kontrola. Ta je významná zejména z důvodu potlačení růstu nežádoucích bakterií.

Kritický bod spontánního alkoholového kvašení je okolo 4 obj. % alkoholu, když ne-sacharomycetní kvasinky postupně odumírají a dominantními se stávají vinné kvasinky *S. cerevisiae*.

### **Čisté kulturní kvasinky**

Čistou kulturou kvasinek rozumíme kvasinky získané rozmnožením jedné buňky nebo spóry. Vyšlechtěné čisté kultury kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces bayandus*) zajišťují rychlé a hluboké prokvašení, vína se lépe čistí. Jsou vhodnější k prokvašení moštů z nahnílých hroznů [7, 16].

V posledních letech se často uplatňuje metoda řízeného kvašení. Při metodě řízeného kvašení se uplatňují zákvasy čistými kulturami kvasinek nebo jejich směsmi. Ty jsou k dostání v podobě suspenze nebo ve formě aktivních kvasinek imobilizovaných na suchém nosiči [17].

Tímto způsobem lze potlačit činnost škodlivé mikroflóry a zajistit hluboké a rychlé prokvašení. Při použití směsi čistých kultur převládne ten kmen kvasinek, kterému složení moštu nejlépe vyhovuje. Většina vinařů dnes ke kvašení běžně používá čisté kultury. Na základě někdy trpkých zkušeností využívají čisté kultury pro jejich pozitivní vlastnosti jako jsou předvídatelnost průběhu kvašení i jeho výsledku a snadná regulovatelnost, vysoké výtěžky bez vedlejších produktů kvašení.

#### Vinařská výroba používá následující selektované kmene kvasinek:

- a) hlubokokvasící (do 16-18 % obj. ethanolu), odolné proti vyšší koncentraci alkoholu a vyšší koncentraci cukru, tvořící nízkou hladinu těkavých kyselin,
- b) vhodné na výrobu šumivých vín, odolné proti nižší fermentační teplotě, dobře sedimentující v podobě lehko setřásatelné usazeniny,
- c) sulfitové kvasinky, odolné proti vyšší koncentraci oxidu siřičitého, netvořící  $H_2S$ ,
- d) chladnomilné kvasinky, odolné proti nízké teplotě (8-10 °C),
- e) odolné proti exogenním inhibitorům kvašení (pesticidům a těžkým kovům), jež brzdí kvasný proces.

Kvašení probíhá ve velkých sudech nebo v nerezových tancích [7].

### 1.2.7.1 *Jablečno-mléčné kvašení*

V období od ukončení alkoholového kvašení do stáčení vína z kvasničných kalů probíhá tvorba révového vína (formování vína). Probíhají při ní různé biologické a fyzikálně chemické procesy, tzv. biologické odbourání kyselin jablečno-mléčným kvašením (dále BOK). Tyto biochemické procesy jsou doprovázeny vylučováním vinného kamene ve formě vinanu vápenatého a hydrogenvinanu draselného a procesy samočištění vína při nichž se srážejí a sedimentují shluky opačně nabitých částic organického a anorganického charakteru. Víno se pozvolna samovolně čistí. Čištění vína lze urychlit čerčením. BOK je proces, při němž se působením bakterií, především mléčného kvašení, mění kvalitativní i kvantitativní poměry kyselin ve víně. Chuťově méně příznivé kyseliny jablečná, citronová a další se přeměňují na kyselinu mléčnou a další produkty, které poskytují vínu jemnější chuť a zlepšují jeho stabilitu. Většina našich vín vyžaduje BOK [18].

Jablečno-mléčným kvašením by měla být ošetřena zejména červená vína, protože díky tomuto biologickému procesu ztrácejí svoji chuťovou tvrdost [14].

Zastoupení kyseliny jablečné ve víně je až 50 %, zbytek představuje kyselina vinná. Množství kyseliny jablečné je závislé na zralosti hroznů. Jak hrozny zrají dochází k odbourávání této kyseliny, může být až všechna odbourána. K tomu však nedochází v chladnějších oblastech, hrozny zde nedokáží úplně dozrát, v bobulích zůstává velké množství kyseliny jablečné a tím dochází ke zvýšení kyselosti vína [19].

### 1.2.8 **Ošetřování mladého vína**

Po skončení bouřlivého kvašení se nádoby doplní postupným dolitím až po zátku. Sudy i jiné nádoby se dolévají jednou, někdy i dvakrát týdně, protože objem vína se snižuje vypařováním a i zmenšováním oxidu uhličitého. K dolití se používá zdravé víno stejné odrůdy. Víno se nechává ležet v klidu, protože dokvašují poslední zbytky cukru a pozvolna ustává činnost kvasinek. Ve víně se začnou srážet bílkoviny, pektinové látky a vinný kámen. V podobě kvasničných kalů se na dně usadí nečistoty, odumřelé kvasinky a sraženiny. Lepší sedimentaci podpoří přidání bentonitu [9].

### **První stočení vína**

Během zrání se víno několikrát stáčí. Dochází tak k oddělení vína od kalů. Doba prvního stáčení závisí na zdravotním stavu vína a obsahu kyselin. Lehká, méně alkoholická a méně kyselá vína se stáčí 30 – 60 dní po hlavním kvašení, tedy od poloviny října do poloviny listopadu. Ještě dříve se stáčí vína, která byla vyrobená z nahnilých hroznů a neodkaleného moštu. Plná, extraktivní vína s vyšším obsahem kyselin se stačí až v prosinci. Ještě později se stačí vína s vysokým obsahem kyselin a vyšším zbytkovým cukrem, která v chladnějších sklepech jen pomalu dokvašují. Určení vhodného termínu prvního stočení vína z kvasničných kalů určují tedy různé okolnosti. Úspěch stáčení závisí však i na dvou dalších okolnostech a to na míře provzdušňování a šíření vína při stáčení.

### **Druhé stočení vína**

Provádí se 6 – 10 týdnů po prvním stočení (únor – březen). Druhé stáčení má za úkol víno provzdušnit, zbavit zbytků kalů a upravit hladinu síry. Víno v době mezi oběma stočeními nadále vyzrává. Intenzivně v něm probíhají oxidačně – redukční reakce, tvoří se ležácký buket, víno se čistí. Období mezi stočeními je vhodné k provedení různých technologických zásahů do vína (scelování, síření, čiření, filtrace, odstranění vad vína). Révová vína by měla být v době druhého stáčení prakticky už vyzrálá. Jejich organoleptické i analytické vlastnosti jsou adekvátní charakteru hotového výrobku [7].

Následuje zrání vína, které probíhá rychleji v malých a dřevěných sudech (viz obrázek 3). Délka potřebná pro sudovou zralost je různá zpravidla půl až dva roky. Červená vína mívají delší dobu zrání než bílá. Delším ležením v sudu víno stárne, proto se skladuje ve skleněných nádobách, ve velkých, kovových cisternách nebo tancích z plastů [8, 20].

#### **1.2.9 Školení vína**

Školením vína jsou označovány technologické operace vedoucí k požadované jakosti a stabilitě vína.

#### **Scelování vín**

Ke zlepšení jakosti révového vína se provádí především scelování, tj. smíchání révového vína s vhodným složením se záměrem získat víno požadovaných vlastností. Scelováním se vyrovnávají chuťové vlastnosti vín, zvyšuje se nebo snižuje obsah některých jeho

složek. Cílem tedy je dosažení harmonie mezi jednotlivými složkami vína: kyselinami, cukry, obsahem alkoholu a extraktu. Zásadně se nespojují vína, která mají výrazný a přitom odlišný odrůdový charakter, ani vína nemocná se zdravými [7, 21].

### Čiření

Po proběhnuté fermentaci nastává samovolné usazování částic (kvasinky, barviva, ...), tzv. samočiření. Touto přirozenou sedimentací velmi malých částic vzniká vrstva kalu a sraženiny. Dlouhodobý přirozený proces samočištění vína může vést i k nežádoucím změnám během jeho kvašení. Proto se k urychlení vysrážení těchto částic používají čířící prostředky jako bentonit (svým opačným nábojem přitahuje částice, které se na jeho povrchu vysrážejí, zvětší se a rychle klesají ke dnu), vaječný bílek, vyzina, tanin či želatina [7, 21].

Vína chuťově nebo vzhledově vadná se mohou čířit i dalšími způsoby:

- čiření agar-agarem
- čiření vaječným bílkem
- čiření kaolinovými hlinkami
- čiření aktivním uhlím
- čiření mlékem

Po usazení sraženiny se víno filtruje [22].

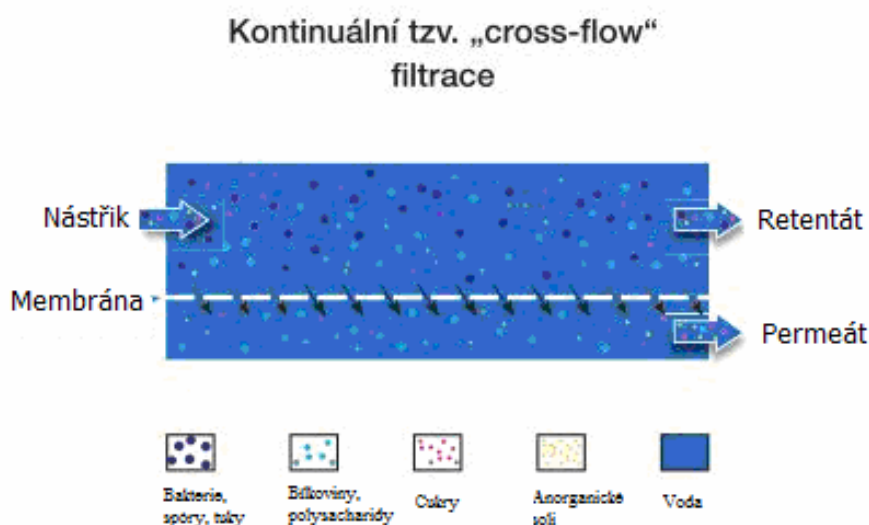
### Filtrace

Filtrace urychluje výrobu, zkracuje technologické procesy přípravy vína na lahvování a umožňuje dosáhnout jiskrné čirosti. Filtrace je vlastně umělé čištění vína přes pórovitý materiál, který odděluje pevné částice z filtrovaného vína. Rozlišujeme filtraci průtokovou, filtraci s adsorpčním účinkem vrstvy filtračního materiálu a membránovou filtraci. Čistící schopnost filtrace se projevuje jen tehdy, když je průměr póru menší než nejmenší částice zákalů. Víno během filtrace protéká pórovitým filtračním materiálem. Filtrační vrstva je složena nejen z filtračního materiálu, ale i z vrstvičky kalů, která se během filtrace zvětšuje. Filtrační materiál působí tedy i adsorpčně. Víno se nejčastěji filtruje přes křemelinu, celuló-zová vlákna a textilní vlákna. K filtraci se nejčastěji používají deskové nebo naplavovací křemelinové filtry a v moderních vinařských provozech se zavádí „cross – flow“ filtrace a

membránové filtrace. Místo filtrů lze použít též vysokoobrátkové kalové odstředivky [7, 9, 18].

Cross - flow filtrace je membránový proces, při němž zpravidla silně znečištěné kapaliny, např. mošt po lisování se separují od kalových částic. Jedná se o tzv. křížový, nebo-li tangenciální tok, kdy víno cirkuluje před membránou a část ho protéká přes ni jako vyfiltrované (viz. obr. 2). Tímto dynamickým způsobem se dosahuje i samočisticího efektu membrány, což je výhodou, protože se dosahuje vysokých kapacit zpracovaného produktu na daných membránách bez potřeby jejich výměny. Pronikání membránou se nazývá permeace a vzniklá směs po průchodu membránou a odváděná jako produkt je permeát. Směs vzniklá ze suroviny, která zbývá na vstupní straně membrány po oddělení permeátu, se nazývá retentát. Vedle moštu se takto filtrují také silně zakalená vína ihned po dokvašení [18, 23].

Révvové víno může filtrovat několikrát, ale filtrace je nutná vždy po vyčiření, kdy se potom víno nechá zrát. Nutná je většinou také filtrace před vlastním lahvováním [18].



Obr. 2. Cross – flow filtrace [24]

### 1.2.10 Stabilizace vína

Stabilizací se omezují biochemické procesy. Používají se již zmíněná čířidla a stabilizační prostředky. Ke stabilizaci se používá imobilizovaná forma enzymu lakázy, protože ještě nelze použít lakázu jako potravinářskou přísadu. Při stabilizaci se také využívá tepla k odstranění bílkovinných zákalů a ochlazením se odstraní i vinný kámen. Proti krystalickým

zákalům se používá kyselina metavinná. U červených vín se nedosahuje stabilizací tak dobrých výsledků jako u vín bílých [20, 25].

### 1.2.11 Lahvování vín

Nelze lahvovat vína, která dokváší. Včasné nalahvování před jeho vrcholem vývoje zajišťuje jeho vysokou kvalitu. Proces zrání vína pokračuje v láhvi a víno se stává tzv. lahvově zralým. Každá odrůda má svůj čas k lahvování.

Vyškolené víno se plní do lahví, které se uzavírají korkovou zátkou nebo šroubovací zátkou z plastu. Další možností jsou hliníkové šroubovací uzávěry tzv. alkorky [22].

## 1.3 Výroba červeného vína

U červeného vína je oproti bílému požadováno vyšší množství barviva a tříslovin. Abychom u červeného vína dosáhli požadovaných vlastností, zejména příjemné trpkosti, liší se technologie výroby [16].

### 1.3.1 Odstopkování a drcení

Hrozny se co nejdříve po sklizni drtí, neboli rmutují. Drcením se usnadňuje lisování a zvyšuje se jejich vylisnost. Pro výrobu kvalitního červeného je potřeba hrozny modrých odrůd také odzrňovat, protože třapiny obsahují velké množství tříslovin a chlorofylu, které se v hotovém víně projeví přílišnou trpkostí [22].

### 1.3.2 Zpracování rmutu

Drť nebo rmut z modrých hroznů musíme nakvášet, poněvadž červené barvivo je u většiny odrůd obsaženo jen v plastidech ve slupce bobulí. Nakvášením v teplém, kyselém a alkoholickém prostředí se vyluhuje a vytváří výrazný odstín červené barvy vína. Důležité je, aby hrozny byly zdravé, nepoškozené a nebyly přezrálé. Hnilobou napadené a přezrálé modré hrozny zpracováváme zvlášť. V takové surovině jsou barevné látky částečně odbourávány, navíc také pokročilá oxidace způsobuje hnědnutí červeného vína. Důležité je také, stejně jako při výrobě bílého vína před kvašením rmut upravit na základě výsledku rozboru na obsah cukru a kyselin.

Rmut modrých odrůd se nakvašuje v dřevěných kádích, v otevřených sudech nebo v nerezových nádobách různými způsoby. Délka nakvásaení závisí na množství i teplotě rmutu. Při teplotě 20 – 30 °C (čím vyšší je teplota, tím jsou přítomné enzymy aktivnější a tím více barviv se do moštu uvolní) trvá obvykle 8 – 10 dní. Dlouhé nakvásaení při vyšších teplotách není vhodné, protože vzniká nebezpečí naoctění rmutu. Unikající oxid uhličitý nadnáší pevné částice rmutu, které na povrchu moštu vytváří souvislou silnou vrstvu, tzv. matolinový klobouk. Matolinový klobouk větší částí svého objemu vyčnívá z moštu, snadno oxiduje a může se v něm rozmnožovat nežádoucí aerobní mikroflóra. Navíc ve slupkách matolinového klobouku se zastavuje proces uvolňování barviva. Proto je třeba matolinový klobouk ponořit do moštu, čímž se zabrání jeho oxidaci a podpoří se extrakce barviv.

Červené víno se tedy vyrábí buď:

- nakvásaením v otevřených nádobách s volně plovoucím kloboukem
- nakvásaením v otevřených nádobách s ponořeným kloboukem
- nakvásaením v uzavřených nádobách s volně plovoucím kloboukem
- nakvásaením v uzavřených nádobách s ponořeným kloboukem
- ve vinařské praxi je také znám způsob kvašení „přes čtyři“ – je založen na poznatku, že přítomnost alkoholu podporuje vyluhování barviva ze slupek modrých hroznů. Proto se na rozkvašený rmut nalije hotové zdravé červené víno v takovém množství, aby obsah alkoholu činil 4 % obj. Tím se ve rmutu zabrání rozvoji divokých kvasinek a kvašení rozbíhají ušlechtilé vinné kvasinky.

Po ukončeném kvašení se rmut lisuje a vylisované mladé červené víno se přečerpá do ležáckého sklepa, kde se ošetřuje stejně jako mladá bílá vína. U vyzrálých hroznů je možno použít i tzv. karbonickou maceraci [7, 9, 12, 26].

Pozn.: Karbonická macerace je nakvásaení pod tlakem CO<sub>2</sub>, kdy se do tlakových nádob vkládají celé nerozdrcené hrozny. Při této metodě, protože jsou díky tlaku z prostředí CO<sub>2</sub> potlačeny mikroorganismy, probíhá nemikrobiální kvašení, respektive vnitrobuněčné prodýchávání cukrů a kyselin za vzniku alkoholu. Díky přítomnému tlaku se zamezí aktivitě polyfenoloxidáz a ztrátám barviv, které způsobují [27].

Další technologické postupy jsou shodné jako u bílých vín.



## 1.4 Výroba růžového vína

Technologie výroby růžových vín podléhá krajovým zvyklostem a pěstovaným odrůdám. Víno se dá vyrobit několika způsoby:

- **přímým lisováním**

Metoda je založena na lisování celých modrých hroznů bez předchozího nakvášení rmutu a to tak dlouho a do takového tlaku, dokud mošt nedosáhne požadované intenzity.

- **krvácením**

Jde o postup výroby, kdy se podrcené modré hrozny lisují vlastní vahou. Mošt se odebírá až do dosažení požadované barevné intenzity. Tímto krokem se zajistí větší koncentrace látek ve zbývajícím moštu, který zůstává v kontaktu se slupkami a z něj se pak vyrábí červené víno.

- **krátkou macerací**

Jedná se o nejčastější způsob výroby růžových vín. Ve své podstatě se shoduje s výrobou vín červených. Narozdíl od předešlých metod probíhá nakvášení, které je ale zkráceno na takovou dobu, aby mošt získal barvu vhodnou pro rosé. Důležitou roli zde hraje teplota a samozřejmě obsah barviv v hroznech dané odrůdy. Přesnost odhadnutí konce nakvášení je velmi důležitá, neboť takto vyrobená vína mohou dosahovat poměrně intenzivní barevnosti a v chuti se pak mohou projevovat nežádoucí třísloviny. Barva těchto vín tedy bývá zpravidla tmavší a v buketu se kromě ovocných tónů mohou projevovat vegetativní, dřevité a kořenité tóny [28, 29, 30].

## 1.5 Výroba šumivého vína

Kolébku výroby šumivých vín je Francie, konkrétně vinařská oblast Champagne. V podmínkách jižní Moravy byla taková vína vyráběna již v 19. století v Bzenci a Valticích [31].

K výrobě šumivých vín jsou vhodná kyselější, přiměřené alkoholická vína s vyšším obsahem extraktivních látek, které podporují pění. Nejvhodnější pro výrobu šumivých vín jsou jakostní odrůdy Ryzlink rýnský, Rulandské bílé a Rulandské modré a v zahraničí i aromatické odrůdy jako Chardonnay, Ryzlink vlašský a některé muškátové odrůdy [22, 32].

Je známo několik postupů výroby šumivých vín:

### **Klasická metoda – výroba druhotným kvašením**

Princip výroby spočívá v kvašení upraveného vyškoleného vína, tak aby po prokvašení cukru vznikl v láhvi tlak 0,5 MPa při 15 °C. Vykvašené víno se odkalí a chuťově upraví tzv. dozážním likérem (směs přibližně 50 % vína, 45 % cukru a 5 % vinného destilátu) na požadovaný typ šumivého vína. Celková doba výroby je minimálně 9 měsíců [3, 12].

### **Klasická metoda – transvazální způsob výroby**

Při této metodě probíhá kvašení tirážní směsí v lahvích jako při klasické metodě. Prokvašený sekt se však na speciálním zařízení přelévá z lahví pod přetlakem CO<sub>2</sub> do tanku. Zde se upraví potřebným přídavkem dozážního likéru na požadovaný typ sektu a stáčí se pod tlakem opět do lahví, které se již normálně zátkují a adjustují. Kaly se odstraňují filtrací. Celková doba výroby je minimálně 9 měsíců [12].

### **Výroba sektů kvašením v tancích**

Nejrychlejší a nejlevnější metoda pro výrobu sektu. Metoda vychází stejně jako klasická metoda. V kvasných tancích se nechá prokvašet při teplotě 18 až 20 °C. Průběh kvašení se kontroluje podle ubývajícího obsahu cukru a tomu odpovídajícího zvyšování tlaku v tanku. Na rozdíl od klasické metody se pro přípravu zákvasu používají kmeny kvasinek s drobnějšími buňkami, které se usazují pomalu zůstávají tak delší dobu v bezprostředním styku s vínem. Po ukončení kvašení se sekt filtruje pod tlakem a přečerpává do zásobního tanku. Zde se přidá potřebné množství dozážního likéru. Celková doba výroby je minimálně 120 dní [12].

## **1.6 Výroba perlivého vína**

Perlivé víno je uměle sycené CO<sub>2</sub> za chladu nebo vyrobené kvašením v uzavřených nádobách do přetlaku 0,2 MPa. CO<sub>2</sub> se při umělém sycení váže hůře než při výrobě klasickou cestou. K výrobě se používají jakostní vína [12].

Běžně se u čistého, vyčiřené vína s max. obsahem alkoholu 11 % obj. provede po přídavku cukru v tlakovém tanku druhotné kvašení, které se zastaví buď při dosažení požadovaného zbytku cukru a nebo se přidává pouze množství cukru potřebné k dosažení toho-



## 2 AROMATICKÉ LÁTKY VÍN Z ASPEKTU ODRŮD, TECHNOLOGIE A AGROGEOLOGICKÝCH PODMÍNEK

Aromatickými látkami rozumíme veškeré vonné a chuťové látky, které tvoří komplexní sensorický vjem označovaný jako tzv. flavour (aroma) potravin. Jsou buď přirozenou složkou potravin (jako primární aromatické látky), nebo vznikají během skladování a zpracování potravin enzymovými a chemickými reakcemi (jako sekundární aromatické látky) [33].

Molekulová hmotnost aromatických látek je pod 300 g/mol. Většina z nich je lipofilní a těžko se rozpouští (ve vodě jen v malé míře, v etanolu podstatně lépe) [34].

Aromatické látky jsou významnou složkou moštu a vína. Aromatické látky se vytvářejí v bobulích révy vinné ve slupce a těsně pod slupkou. Zastoupení aromatických látek ve víně je velmi různorodé, dosud se rozlišuje 600 až 800 aromatických sloučenin. Přestože se rozlišuje tak vysoký počet aromatických sloučenin, pouze omezený počet jich významně přispívá k aromatu vína. Rozdílné množství závisí na odrůdě, zralosti hroznů, podnebí a půdy [3, 35, 36, 37].

Aromatické látky ve víně jsou nejrůznějšího původu. Mohou to být látky jednoduché jako kyseliny a estery, nebo složitější jako terpenoly, které vínu dodávají vůně kořenité či květinové [20].

Aromatickou zralost můžeme hodnotit vizuálně na základě zbarvení slupky a sensoricky na základě chuti volných aromatických látek v bobulích. Barva slupky může velmi výrazně napovědět o skutečné kvalitě hroznů [3].

Při tvorbě aromatických látek platí několik zásadních závislostí. Zvyšující se cukernatost hroznů neznamena automaticky dokonalejší aromatickou vyžralost. Velký vliv na ni má stanoviště a agrotechnické zásahy prováděné na vinici, zejména zelená práce. Stejná odrůda může mít na různých stanovištích zcela odlišnou aromatickou kvalitu. Aromatická zralost je tedy kombinací odrůdy, vlivu stanoviště a uplatňování agrotechnických zásahů [38].

## 2.1 Rozdělení aroma

Vůně neboli aroma patří mezi hlavní charakteristiky vín. Spolu s chutí a barvou se podílí na vnímání daného vína konzumenty a může tak zásadně ovlivňovat jeho úspěch či neúspěch na trhu. V některých případech sice ve vůni převládá konkrétní aromatická látka charakteristická pro danou odrůdu, obecně je ale aroma považováno za komplexní vjem způsobený projevem stovek aromatických látek. V každém případě se ale jedná o jeden ze zásadních rozlišovacích znaků umožňujících rozeznat vína vyrobená z jednotlivých odrůd. Mimo jiné je aroma také ukazatelem kvality vína. Jako aroma vína lze označit soubor látek sensoricky zachytitelných při čichové a chuťové zkoušce [39].

Celkové aroma vína se určuje přes vzájemné působení mnoha aromatických látek. Některé potřebují pro tvorbu typického odrůdového aroma velké množství aromatických látek, které jsou u odrůdy v určitém poměru, a naopak existuje mnoho odrůd révy vinné, které mají pouze několik aromatických látek, které tvoří významné aroma [40].

Tradičně rozlišujeme aroma do čtyř skupin: primární (odrůdové), sekundární (předfermentační), kvasné (fermentační) a ležácké (pofermentační).

- **Primární aroma** - aromatické látky jsou přítomny již v moštu, tvoří základ aroma vína a tvoří odrůdovou charakteristiku. Jsou to terpenoly (linalol, garaniol, nerol), alkoholy a aldehydy. Pro každou odrůdu je charakteristické složení a poměr aromatických látek, jejichž obsahy jsou v různých ročnících velmi podobné. Průběh vegetace a nestejná vyzrállost hroznů může způsobit odchylky v jejich složení.
- **Sekundární aroma** – aromatické látky vznikají během alkoholového a jablečno - mléčného kvašení ze sacharidů (alkoholy, mastné kyseliny a jejich estery, aldehydy a ketony), tyto látky často mívají spíše negativní vliv na jakost vína. Sekundární aroma hraje v celkovém buketu vína nejdůležitější roli.
- **Kvasné aroma** – aromatické látky vznikají v průběhu kvašení a těsně po jeho skončení. Vznikající látky jsou velmi těkavé a při kvašení za vyšších teplot jich velká část unikne. Je tedy třeba klást důraz na pomalé kvašení vína při nízké teplotě, kdy je větší pravděpodobnost udržení těchto látek ve víně.
- **Ležácké aroma** – aromatické látky vznikají různými biochemickými reakcemi v průběhu zrání vína v lahvi. Především dochází k esterifikacím, kterých se účastní al-

koholy a karboxylové kyseliny za vzniku esterů příslušných reagujících sloučenin. Aroma se během zrání stává více jemné a komplexní [39, 41, 42].

## 2.2 Přehled nejvýznamnějších aromatických látek u vína

Chemickým základem aromatických látek jsou terpenové uhlovodíky. Tvoří složky aroma prakticky všech druhů ovoce, zeleniny a koření. Pro aroma vína jsou však nejdůležitější kyslíkaté terpenové sloučeniny: alkoholy, aldehydy, ketony, estery a další deriváty či jejich prekurzory [43].

Aromatické sloučeniny vznikající z metabolismu bobulí révy vinné jsou především terpenoidy, norisoprenoidy, methoxypyraziny, těkavé fenoly a vysoce vonné sloučeniny síry s thiolovou funkční skupinou, které byly teprve v nedávné době ve víně prokázány. Tyto sloučeniny jsou přítomny ve volné (vonné) a vázané (nevonné) formě glykosidů. Volné formy jsou těkavé sloučeniny, které se přímo podílejí na aroma chuti, hrají klíčovou roli v kvalitě a zvláštním aroma vína. Vázané formy glykosidů, které jsou bez vůně či zápachu mohou být přeměněny na těkavé sloučeniny hydrolýzou [44, 45].

### 2.2.1 Estery

Estery náleží k nejvýznamnějším aromatickým a buketním látkám vín. Jsou důležitým nositelem jemného aromatu např. Ryzlinku Rýnského. Ve větším množství se nacházejí v silně aromatických odrůdách (Tramín, Muškát Ottonel, Sauvignon) [43].

Estery ve víně vznikají reakcí alkoholů s organickými kyselinami za působení kvasinek a bakterií a dodávají vínům vůni, chuť a celkový odrůdový charakter. V biologických systémech je proces tvorby esterů katalyzovaný esterázami [46].

Nejvíce se tvoří během kvašení a jejich tvorba se zpomaluje během dokvašení a zvolna pokračuje i během zrání a stárnutí vína. V mladých vínech se vyskytují v koncentracích 2–6 mg.l<sup>-1</sup>, ve starších vínech 6-9 mg.l<sup>-1</sup> [47].

Mohou se dělit na neutrální, které vznikají enzymatickými procesy a tvoří je např. kyselina octová, a kyselé, které jsou tvořeny hlavně chemickou esterifikací, poskytuje je např. kyselina jablečná a vinná [47].

Estery kyseliny octové – ethylacetát a izoamylacetát jsou hlavními sensoricky aktivními složkami alkoholických nápojů fermentovanými kvasinkami. Tyto estery jsou syntetizované pomocí alkoholacetyltransferázy z acetyl CoA a příslušného alkoholu [48].

Tab. 1. Přehled esterů ve víně [49].

LÁTKA	KONCENTRACE [mg · l <sup>-1</sup> ]	CHARAKTERISTIKA AROMA
<b>Ethylacetát</b>	22,5–63,5	kyselá, ovocná, lak na nehty
<b>Izoamylacetát</b>	0,1–3,4	banán, hruška
<b>2-fenyletylacetát</b>	0–18,5	květinová, růže, ovocná
<b>Izobutylacetát</b>	0,01–1,6	banán, ovocná
<b>Hexylacetát</b>	0–4,8	sladká, parfémová
<b>Ethylbutanoát</b>	0,01–1,8	květinová, ovocná
<b>Ethylhexanoát</b>	0,03–3,4	zelené jablko
<b>Ethyl oktanoát</b>	0,05–3,8	mýdlová
<b>Ethyldekanoát</b>	0–2,1	květinová, mýdlová

### 2.2.2 Terpenoidy

Terpenoidy jsou početná skupina aromatických látek, které jsou produkovány vyššími rostlinami, řasami a houbami v metabolické dráze biosyntézy sterolů z jediného prekursoru – geranylpyrofosfátu. Terpeny se vyskytují v hroznech většiny odrůd, nejvyšší koncentraci těchto látek můžeme nalézt v aromatických odrůdách. Existuje 400 přirozeně se vyskytujících terpenových látek [50].

Terpenoidy jsou v hroznu glykosidicky vázány na GLU nebo některé disacharidy a vytváří sloučeniny, které nemají aromatický charakter. V průběhu kvašení se vázané terpenoidy uvolňují působením glykosidáz, které jsou produkovány hroznem, kvasinkami a bakteriemi [50].

Nejvyšší zastoupení mají monoterpeny. V současné době je známo okolo 50 monoterpenických sloučenin. Mezi nejvíce vonné monoterpeny patří zejména pak linalol,  $\alpha$ -terpineol, nerol, citronelol, hotrienol a geraniol, jenž se vyskytuje ve formě  $\beta$ -rutinosidu. Mají květinovou vůni připomínající růžovou esenci. Nejvíce aromatické jsou citronelol a linalol. Monoterpeny a jejich deriváty jsou důležité aromatické sloučeniny u odrůd Muškát Ottonel, Tramín, Ryzlink rýnský a Müller -Thurgau [40, 45, 51].

Tab. 2. Přehled monoterpenů ve víně [49].

LÁTKA	KONCENTRACE [ $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ]	CHARAKTERISTIKA AROMA
Geraniol	1–44	růžové dřevo
Linalol	1,7–10	růže
Citronelol	15–42	citronelová, eukalyptová

#### Rozdělení odrůd podle obsahu monoterpenů:

- Intenzivně aromatické muškátové odrůdy, ve kterých může být koncentrace volných monoterpenů vyšší než 6 mg/l (např. Tramín, Muškát Ottonel, ...).
- Nemuškátové aromatické odrůdy s celkovou koncentrací 1-4 mg/l (např. Ryzlink rýnský, Kerner, Müller Thurgau, ...).
- Neutrální odrůdy, u nichž monoterpeny ovlivňují jejich aroma nevýznamně (Chardonnay, Sauvignon, Rulandské šedé, ...) [52].

#### 2.2.3 Norisoprenoidy

Norisoprenoidy  $C_{13}$  jsou produkty odbourávání různých karotenoidů (např. luteinu,  $\beta$ -karotenu), které u některých odrůd v průběhu dozrávání silně ubývají, zatímco se současně obsah norisoprenoidů zvyšuje. Jsou to velice důležité aromatické sloučeniny nacházející se v mnoho odrůdách a přispívají k celkovému aroma. Z části se uvolňují už v bobulích a potom hlavně ve víně. Výrazně zvyšují aromatický projev např. u odrůd Ryzlink rýnský, Chardonnay ( $\beta$ -damascenon zodpovídá za charakterické aroma této odrůdy) [40, 45, 53].



Mezi významné norisoprenoidy patří  $\beta$ -ionon (aroma – fialka, malina, dřevitá vůně),  $\beta$  - damascenon (aroma – jablko, kdoule, květinové tóny) a vitispiran (kafr, eukalyptu) [37].

Ve víně byly rovněž detekovány některé vonné  $C_{13}$ -norisoprenoidové deriváty řadící se mezi ne-megastigmany. K nejdůležitějším patří 1,1,6-trimethyl-1,2-dihydronaftalen (TDN) s charakteristickou petrolejovou vůní. TDN se vyskytuje hlavně ve vínech z teplých oblastí nebo z nadměrně osluněných hroznů. V extrémních případech se projeví už šest měsíců po sklizni. Za takových podmínek lze mluvit o negativním ovlivnění aromatického charakteru odrůdy. Tvorbu TDN v hroznech může podporovat nadměrné odlistění [34, 45].

#### 2.2.4 Methoxypyraziny

Methoxypyraziny jsou dusíkaté heterocykly vznikající v rámci metabolismu aminokyselin. Sloučeniny patřící do této skupiny svým aromatickým projevem připomínají zelený pepř a chřest nebo dokonce způsobují až zemité tóny [45].

Základním methoxypyrazinem u révy vinné je isobutylpyrazin. Má bylinné až travnaté aroma. Methoxypyraziny jsou typické zejména pro odrůdy Sauvignon, Cabernet Sauvignon, Cabernet Moravia, ale také u dalších, např. Merlot. Právě toto odrůdové aroma je způsobováno 2-methoxy-3-isobutylpyrazinem (zkratka IBMP). Obsah methoxypyrazinů je největší v zelených bobulích před zaměkáním a se zráním hroznů se postupně snižuje [34, 53].

Bylo prokázáno, že vystavení hroznů slunečnímu záření snižuje obsah methoxypyrazinů ve víně. Na obsah methoxypyrazinů ve víně mají vliv také půdní vlastnosti. Hrozny vypěstované v dobře odvodňovaných a štěrkovitých půdách obsahují nižší koncentrace, naopak vápenité a jílovité půdy dávají z odrůdy Cabernet Sauvignon vína s vyššími koncentracemi těchto látek. Tato vína pak mají často vyšší výraz bylinnosti [54].

#### 2.2.5 Těkavé fenoly

Těkavé fenoly mohou ve víně způsobovat většinou nežádoucí aroma (např. lékárnické aroma, plastové nebo připálené), které rozhodujícím způsobem poškozují kvalitu vína. Důležitá je koncentrace těchto sloučenin a následně ve víně, protože v nižších koncentracích mohou být z aromatického pohledu žádoucí. Těkavé fenoly jsou přítomny v bílých i červených vínech s velkými rozdíly podle odrůdy, oblasti, počasí, agrotechniky ve vinici a způso-

bu zpracování. Hlavní těkavé fenoly ve víně jsou: 4 - vinylguajakol, 4 - vinylfenol, 4 – ethyl - guajakol, 4 – ethyl - fenol. Těkavé fenoly vznikají z hydroxyskořicových kyselin. U bílých odrůd jsou patrné již v hnědě zbarvených hroznech ve vinici. Takové bobule mají zcela zastřené ovocné a květinové aroma a v chuti jsou patrné výrazné hořké tóny. Vysoký obsah vinylových sloučenin je typický pro bílá vína. U červených vín jsou naproti tomu dominantní ethylové sloučeniny [34, 53].

Tab. 3. Přehled těkavých fenolů ve víně [49].

LÁTKA	KONCENTRACE [ $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ]	CHARAKTERISTIKA AROMA
4-ethylfenol	0,012–6,5	pach kůže, potu koně, vůně laku
4-ethylguajakol	0,001–0,44	kouřově kořeněná
4-vinylfenol	0,04–0,45	farmaceutická, leukoplast
4-vinylguajakol	0,0014–0,71	fenolická, hřebíčková

### 2.2.6 Vonné thioly

Sírné sloučeniny ze skupiny thiolů (někdy označované též jako merkaptany) jsou obecně zodpovědné za sensorické vady vína. Mimo to se ale specifické skupiny thiolů zásadně podílejí na aroma některých druhů ovoce a aromatických rostlin a částečně také na aroma některých odrůd révy. Celá řada vysoce vonných thiolů tak tvoří charakteristické aroma zejména u odrůdy Sauvignon Blanc a některých dalších bílých odrůd [45].

Pro výrobu vonných thiolů je potřeba vyrovnaná výživa vinice dusíkem. Ten se podílí na tvorbě aminokyselin, které se následně účastní tvorby prekurzorů. Jako důležité se ukazuje i dobré hospodaření s vodou a vyvarování se stresů vyvolaných suchem [34].

Enzymatická aktivita  $\beta$ -lyázy se podílí na uvolňování thiolů do vonné podoby. K tomuto procesu dochází v průběhu macerace hroznů nebo během kvašení. Délka macerace, teplota při ní, použitý kmen kvasinek, teplota kvašení a způsob výroby rozhoduje o projevu vonných thiolů ve víně [34].

Tab. 4. Přehled vonných thiolů ve víně [49].

LÁTKA	KONCENTRACE [ $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ]	CHARAKTERISTIKA AROMA
<b>Methanthiol</b>	2,1–5,1	hnijící voda
<b>Ethanthiol</b>	1,9–18,7	cibule, guma, zemní plyn
<b>4-merkapt-4-methyl-pentan-2-on</b>	0–30 ng/l	Sauvignon blanc” aroma krušpánku, černý rybíz
<b>merkaptohexanol</b>	0,5–5	černý rybíz, grapefruit, granátové jablko
<b>thiofen-2-thiol</b>	0-11	spálená guma, pražená káva
<b>2-furanmethanthiol</b>	0–350 ng/l	spálená guma, pražená káva

### 2.2.7 Aromatické uhlovodíky

#### Methanol

Ve vínech vzniká methanol hydrolyzou pektinů v průběhu kvasného procesu. Reakce je katalyzována rostlinnými pektinesterásami. Množství vzniklého methanolu závisí na řadě faktorů, zpravidla se pohybuje od 20 do 240  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Červená vína mají obsah methanolu asi dvojnásobný oproti bílým vínům.

#### Ethanol

Ethanol se zpravidla nepovažuje za významnou aromatickou látku, přesto však má značný vliv na vůni a chuť mnoha nápojů. Volný ethanol vzniká spolu s  $\text{CO}_2$  a mnoha minoritními látkami jako hlavní produkt při anaerobním odbourávání cukrů kvasinkami při tzv. alkoholovém kvašení.

Množství ethanolu závisí především na množství zkvasitelných cukrů v surovině, druhu a kmeni použitých kvasinek, teplotě při fermentaci, obsahu živin v médiu a na dalších faktorech.

Obsah ethanolu ve vínech se pohybuje v mezích 8-9 % obj. až 18-18,5 % obj. v závislosti na obsahu cukrů v moštu [43].

### 3 FENOLICKÉ LÁTKY

Fenolické látky jsou sloučeniny s velkým významem pro vinohradnictví a vinařství. Ve složení a obsahu fenolických látek v hroznech a vínech existuje výrazně rozdíl mezi odrůdami určenými pro výrobu bílých a červených vín. Fenolické látky odpovídají za mnoho důležitých charakteristik vína, především barvu, hořký a tříslovitý chuťový projev. Kromě toho fenoly přispívají k profilu charakterizující vůni vína, fenolické kyseliny jsou prekurzory těkavých fenolů, které obohacují vína různými vůněmi. Stejně tak jsou odpovědné za reakce hnědnutí vín (hydroxyskořicové kyseliny) a jsou považovány za základní prvky při stabilitě a stárnutí. Mají baktericidní účinky a epidemiologové zjistili, že strava bohatá na polyfenolické sloučeniny může mít za následek pozitivní účinek na zdraví spojeným s jejich antioxidačními vlastnostmi [53, 55].

Fenolické látky u odrůd révy vinné se nacházejí v třapině, v dužnině, ve slupce bobulí i v semenech. Jejich obsah ovlivňuje odrůda, pěstitelské podmínky, mezi něž můžeme zařadit nejen klimatické a půdní vlastnosti stanoviště, ale i agrotechnické zásahy používané na vinici [53].

Složení fenolických látek ve vyrobeném víně závisí jak na kvalitě hroznů, tak na použitém způsobu vinifikace, zejména na podmínkách macerace. U modrých odrůd révy vinné obsahuje 30–40 % všech fenolických látek slupka a 60–70 % semena [53].

Fenolické látky vykazují výraznou proměnlivost ve struktuře a rozdělují se na flavonoidy a ne-flavonoidy.

Mezi ne-flavonoidy patří hydroxyskořicové kyseliny, hydroxybenzoové kyseliny, hydrolyzovatelné taniny a stilbeny (resveratrol). Hydroxyskořicové kyseliny jsou hlavní fenolické sloučeniny bílých odrůd. Jedná se o bezbarvé látky, které snadno podléhají oxidaci a následně žloutnou a hnědnou [34, 53].

Mezi flavonoidy patří flavonoly, anthokyany, minomerní flavanoly a proanthokyanidiny a kondenz. taniny.

Anthokyany tvoří velmi významnou skupinu fenolických látek. Jejich obsah v bobulích révy vinné se zvětšuje od fáze zaměkání k fázi zralosti. U většiny odrůd révy vinné se anthokyany nacházejí pouze v horních vrstvách buněk slupky. Jen málo odrůd, které se nazývají „barvířky“, obsahuje anthokyanová barviva i v dužnině. Hlavním anthokyan-

vým barvivem v bobulích je malvidin. Anthokyany jsou základem barevnosti růžových a červených vín.

Taninové třísloviny jsou druhou velmi důležitou skupinou fenolických sloučenin. Zařazujeme sem katechin, epikatechin, jejich dimery, trimetry a různé vyšší oligomery, které označujeme také jako prokyanidiny. Taninové třísloviny se nacházejí v třapině, slupkách a semenech. Taninové třísloviny v třapině nemají velký význam, neboť většina hroznů se před lisováním odstopkovává. Nejdůležitější jsou tatiny obsažené ve slupkách bobulí a semenech. Ty přímo ovlivňují chuťové vlastnosti vína a jejich vyzrállost je proto velmi důležitá [53].

Složení fenolických látek je odlišné v bílých a červených vínech a také ve vínech mladých a starších ročníků. Rozdíly ukazuje tabulka 5.

Tab. 5. Přehled fenolických látek u bílých a červených vín [53].

Skupina fenolických látek	Bílá vína		Červená vína	
	Mladá	Starší	Mladá	Starší
<b>Ne-flavonoidy</b>				
Hydroxyskořicové kyseliny	154	130	165	60
Hydroxybenzoové kyseliny	10	15	60	60
Hydrolyzovatelné taniny	0	100	0	250
Stilbeny (Resveratrol)	0,5	0,5	7	7
<b>Celkový obsah mg/l</b>	164,5	245,5	232	37
<b>Flavonoidy</b>				
Minomerní flavanoly	25	15	200	100
Proanthokyanidiny a kondenz. taniny	20	25	750	1 000
Flavonoly	-	-	100	100
Anthokyany	-	-	400	9
Ostatní	-	-	50	75
<b>Celkový obsah mg/l</b>	45	40	1 500	1 361
<b>Fenoly celkově</b>	209,5	285,5	1 732	1 742

## 4 ANALYTICKÉ METODY VHODNÉ KE SLEDOVÁNÍ AROMATICKÝCH LÁTEK VÍNA A FENOLICKÝCH LÁTEK VÍNA

### 4.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (Gas Chromatography, GC) nese své označení podle skupenství mobilní fáze, kterou je plyn. Využívá rozdělení koncentrace analytu mezi stacionární (nepohyblivá) a mobilní (pohyblivá) fází na základě adsorpce a rozpouštění, přičemž se předpokládá, že toto rozdělení je rovnovážné. Jako zdroje pohybu mobilní fáze využívá tlakový spád a stacionární fáze je uspořádána v koloně. Analytická metoda plynové chromatografie využívá výše popsaný chromatografický děj ke kvalitnímu a kvantitativnímu určení analytu, přičemž děj je sledovaný měřicím zařízením, jehož signál je funkcí množství analytu a citlivosti [56, 57].

Stacionární fází může být tuhá látka (systém Gas – Solid Chromatography GSC: plyn – tuhá látka), nebo je to kapalina zakotvená na nosiči (systém Gas – Liquid Chromatography GLC: plyn - kapalina). Stacionární fáze v obou případech působí selektivně na jednotlivé separované složky a na základě vzájemných interakcí dochází k rozdělení jednotlivých složek, a tudíž i k jejich rozdílné eluci. Rozdělené složky jsou unášeny nosným plynem z kolony a jejich množství je zaznamenáno detektorem jako funkce času nebo objemu protékajícího nosného plynu [56, 57].

Plynová chromatografie se používá pro analýzu různých látek, zejména pak organických sloučenin, v různých průmyslových odvětvích, např. v chemickém, potravinářském nebo farmaceutickém průmyslu. Je využitelná také při kontrole kvality životního prostředí. Metoda plynové chromatografie se používá pro analýzu směsi látek, které jsou teplotně stálé a zároveň těkavé. Plynovou chromatografií nelze stanovovat látky s malou těkavostí, proto se pro látky s nižší těkavostí používá derivatizace tj. úprava vzorku na těkavou formu. Hlavními výhodami této techniky je jednoduché, rychlé a citlivé provedení analýzy, účinná separace látek a malé množství vzorku potřebné k analýze [58, 59].

V plynové chromatografii je vzorek dávkován do proudu plynu, který jej dále unáší kolonou. Aby vzorek mohl být transportován, musí se přeměnit na plyn. V koloně jsou složky separovány na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fází. Složky vychá-

zející z kolony jsou indikovány detektorem. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek [60].

Analytická metoda plynové chromatografie se používá pro analýzu:

- Plyných vzorků – bez úpravy nebo po jejich zakoncentrování (v kapalinách a následném dávkování plynné fáze nad kapalinou – headspace, v kapalinách a následném dávkování kapalně fáze, na tuhých sorbentech a následné tepelné desorpci, vymražením a následnou tepelnou desorpcí).
- Kapalných vzorků – bez úpravy (přímým nástřikem nebo nástřikem plynné fáze nad kapalinou) a nebo po jejich převedení na těkavé sloučeniny chemickou reakcí.
- Tuhých vzorků – po jejich rozpuštění ve vhodném rozpouštědle, po jejich derivatizaci nebo po jejich kontrolovaném tepelném rozkladu.

V případě sladkých vín s vysokou koncentrací cukrů přímé dávkování vzorků není příliš vhodné, neboť vysoká teplota vstřikovače a kolony může způsobit karamelizaci cukrů, což může zapříčinit nevratné poškození kolony, obzvláště u kapilárních kolon. Proto mikroextrakce do tuhé fáze (Solid Phase Microextraction, SPME) je vhodnější alternativou pro stanovení těchto látek u sladkých vín. SPME má několik výhod oproti jiným extrakcím jako je extrakce z kapaliny do kapaliny. Výhodou je malé množství vzorku, nevyžaduje rozpouštědlo ani úpravu vzorku, je rychlá, nenáročná a lehce automatizovaná. Extrakce probíhá 20 minut, přičemž se využívá nasycení v chloridu sodném. Množství etanolu a cukrů neovlivňuje extrakci [61].

Metoda plynové chromatografie vyžaduje, aby všechny látky vstupující do dělicího systému byly v plynné fázi.

#### 4.1.1 Schéma instrumentálního uspořádání plynového chromatografu

**Zdroj nosného plynu** – zdrojem je tlaková láhev obsahující helium, méně často dusík, argon či CO<sub>2</sub>. Tlakové láhve jsou plněny maximálně na tlak 20 MPa a jsou označeny nezaměnitelnými barvami (vodík červeně, dusík zeleně, helium hnědě, vzduch stříbrně atd.) a nezaměnitelným redukčním ventilem. Druh plynu je určen jeho úkolem unášet vzorek kolonou a potřebou inertního chování vůči jeho složkám. Proto nemá přímý vliv na separaci. Při volbě plynu též hraje důležitou roli potřeba netoxicity, bezpečnosti práce a v neposlední řadě také nižší ceny. Volba nosného plynu je často určena druhem kolony a detektoru.

**Čistící zařízení** - zachycuje vlhkost a nečistoty v nosném plynu. Zbavuje nosný plyn nežádoucích ostatních plynů. Zejména odstraňuje stopy reaktivního kyslíku, který nevratně poškozuje stacionární fázi v koloně.

**Regulační systém** – zajišťuje konstantní a programově se měnící průtok nosného plynu. Je známo několik typů regulátorů:

- Regulátory konstantního vstupního tlaku
- Regulátory konstantního hmotnostního průtoku – dělíme na mechanické a elektronické regulátory konstantního hmotnostního průtoku

**Dávkovač** – slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Technika dávkování musí zajistit odpaření vzorku v co nejkratším čase. Roztoky se dávkují injekčními stříkačkami přes pryžové septum). Pro plynné vzorky se používají plynotěsné injekční stříkačky nebo obtokové dávkovací kohouty různých konstrukcí.

*Z hlediska četnosti analýz jsou metody dávkování:*

*On - line* - pomocí dávkovací smyčky.

*Off - line* - pomocí odběru vzorku a jeho následné analýze na různých místě a v jiném čase [56, 60].

**Kolona** – je část chromatografu, ve které je umístěna stacionární fáze. V této části chromatografu nastává separace složek. Kolony používané v plynové chromatografii:

*Náplňové* – plněné adsorbentem nebo nosičem smočeným zakotvenou fází. Délka kolony bývá od desítek centimetrů do několika metrů při vnitřním průměru 3 - 8 mm.

*Kapilární kolony* – jejichž vnitřní povrch je potažen tenkým filmem zakotvené fáze. Délka kolony bývá od desítek metrů (20 – 200 m) a vnitřní průměr bývá 0,16 – 0,26 mm.

Nejčastějším materiálem pro výrobu obou typů kolon je sklo [56, 58].

**Detektor** – slouží k detekci látek v nosném plynu. Známe několik typů detektorů:

*Detektor tepelné vodivosti (Thermal Conductivity Detektor, TCD)* – principem měření je skutečnost, že zahřáté těleso se ochlazuje rychlostí závislou na složení okolního plynného prostředí, které teplo odvádí.



*Detektor elektronového záchytu (Elektron Capture Detektor, ECD)* – využívá schopnost eluovaných látek vytvořit negativní ion zachycením nízkoenergetického elektronu. Tato schopnost závisí na elektronové konfiguraci atomů a molekul, obecně na elektronové afinitě. Jako zdroj ionizující energie používá tento detektor radioaktivní zářič [57].

*Plamenově ionizační detektor (Flame Ionization Detektor, FID)* – nejrozšířenější detektorem v analytické metodě plynové chromatografii. Jeho podstata spočívá v měření změny ionizačního proudu vodíko-vzduchového plamene způsobené přítomností eluovaného analytu. K ionizaci dochází v miniaturním plamenu. Do nosného plynu vycházejícího z kolony se v detektoru přidává vodík, který zapálen hoří nesvitivým plamenem. Ionty, radikály a elektrony, které se tvoří spálením komponent vycházejících z kolony s nosným plynem, umožní průchod elektrického proudu mezi elektrodami [56, 58].

*Plamenově fotometrický detektor (Flame Photometric Detektor, FPD)* – je založený na měření intenzity emise heteroatomů přítomných v molekule analytu. V současnosti se FPD používá k selektivnímu měření látek obsahujících fosfor a měření látek obsahující síru.

*Hmotnostně spektrometrický detektor (Mass Spectrometric Detektor, MS)* - tento detektor je nejčastěji používán v kombinaci s plynovou chromatografií. Pomocí MS detektoru dokážeme identifikovat neznámé těkavé složky složitých směsí. Pro každou složku lze získat její hmotnostní spektrum. Složku identifikujeme porovnáním jejího spektra s knihovnou spekter sloučenin uloženou v paměti počítače. Citlivost MS je však až 1 000 krát menší než pro FID, a proto pro zjištění citlivých a selektivních měření je velmi časté spojení detektorů FID – MS [56].

**Vyhodnocovací zařízení** – zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku (chromatogram) a provádí její vyhodnocení.

*Chromatogram* – grafický záznam, který představuje závislost signálu detektoru na čase, respektive na množství plynu prošlého kolonou a který se skládá z jednotlivých píků [57].

*Důležité pojmy:*

Pík nebo retenční křivka - je část chromatogramu zaznamenávající odezvu detektoru na složku nebo v případě neúplné separace na skupinu nerozdělených složek směsi [57].

Retenční objem  $V_r$  - objem mobilní fáze, který musí projít kolonou, aby se příslušný analyt dostal od počátku ke konci separační kolony.

Retenční čas  $t_r$  - celkový čas, který příslušný analyt stráví v separační koloně.

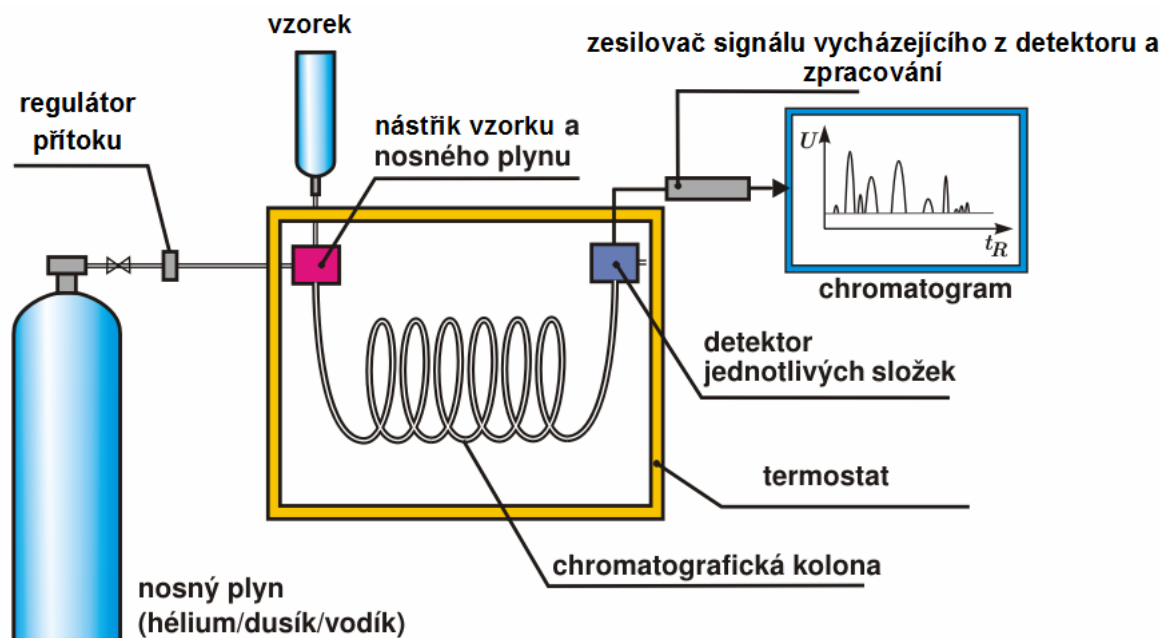
Mrtvý objem kolony  $V_M$  - objem eluentu, který musí projít kolonou, aby se nezadržovaný analyt dostal od počátku ke konci kolony.

Mrtvý čas kolony  $t_M$  - retenční čas analytu, který není v koloně zadržován, tj. analytu, který se pohybuje kolonou stejnou rychlostí jako mobilní fáze. Všechny analyty stráví v mobilní fázi stejný čas - mrtvý čas kolony.

Redukovaný retenční čas  $t'_r$  - čas, který příslušný analyt stráví ve stacionární fázi.

Důležitou charakteristikou je tzv. kapacitní poměr  $k_i$ , který naznačuje, do jaké míry je složka  $i$  zadržována na koloně během separace. Kapacitní poměr je přímo úměrný distribuční konstantě dané látky mezi stacionární a mobilní fází [62].

**Termostat** – zajišťuje dostatečně vysokou teplotu dávkovače, kolony a detektoru, aby byl vzorek udržen v plynném stavu.



Obr. 4. Schéma GC [63].

## 4.1.2 Pracovní techniky plynové chromatografie

### 4.1.2.1 *Eluční metoda*

Je to nejběžnější metoda. Metoda je založena na vymývání jednorázově dávkovaného vzorku nosným plynem. Vzorek se dávkuje najednou do proudu nosného plynu. Z kolony vychází nejdříve ta složka, která se nejméně zachycuje ve stacionární fázi. Čas, za který složka vyjde z kolony, je za daných experimentálních podmínek pro ni charakteristický. Proto se tento časový údaj využívá k její identifikaci. Vzniklý chromatogram je tvořen sérií elučních křivek neboli píků. Zaznamenává se signál z detektoru v závislosti na čase nebo proteklém objemu nosného plynu. Kvantitativní zastoupení složky určuje plocha uzavřená jejím píkem. Mobilní fázi označujeme jako eluent, z kolony vychází eluát.

### 4.1.2.2 *Frontální metoda*

Metoda je založena na kontinuálním přivádění vzorku do kolony. Jako první z kolony vychází nejméně zachycovaná (sorbovaná) látka, postupně se k ní přidávají další až po nejvíce sorbovanou. Nakonec z kolony vychází směs vzorku s nosným plynem o původním složení.

### 4.1.2.3 *Vytěšňovací metoda*

Metoda je opět založena na jednorázovém dávkování vzorku do proudu nosného plynu před jeho vstupem do kolony. Vytěšňujícím činidlem je nosný plyn, které tlačí složky vzorku před sebou. V koloně se poté uspořádávají za sebou zóny od nejméně se sorbující složky po vytěšňující činidlo. Šířka zóny roste s koncentrací dané složky. První složka někdy bývá rychlejší, oddělí se od putujících zón a dostává se k detektoru samostatně (vytvoří samostatný pík) [60].

## 4.2 Plynová chromatografie – hmotnostní spektrometrie

Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (Gas Chromatography - Mass Spektrometry, GC – MS) je v současnosti běžnou analytickou metodou, která kombinuje vysokou separační schopnost kapilární plynové chromatografie s detekcí vysoce specifickou pro daný analyt a zároveň umožňující získání informace o struktuře neznámých látek. Nejdříve jsou tedy separovány těkavé a tepelně stabilní sloučeniny plynovou chromatografií a potom jsou adsorbované sloučeniny tradičně detekovány hmotnostními spektrometry.

Hmotnostní spektrometrie (Mass Spektrometry, MS) je analytická metoda sloužící k převedení molekul na ionty, rozlišení těchto iontů podle poměru hmotnosti a náboje ( $m/z$ ) a následnému záznamu relativních intenzit jednotlivých iontů [64].

### 4.2.1 Základní části hmotnostního spektrometru

**Iontový zdroj** - slouží k převedení neutrálních molekul analytu na nabitě částice (tzv. ionizace), konstrukce se liší podle použité ionizační techniky.

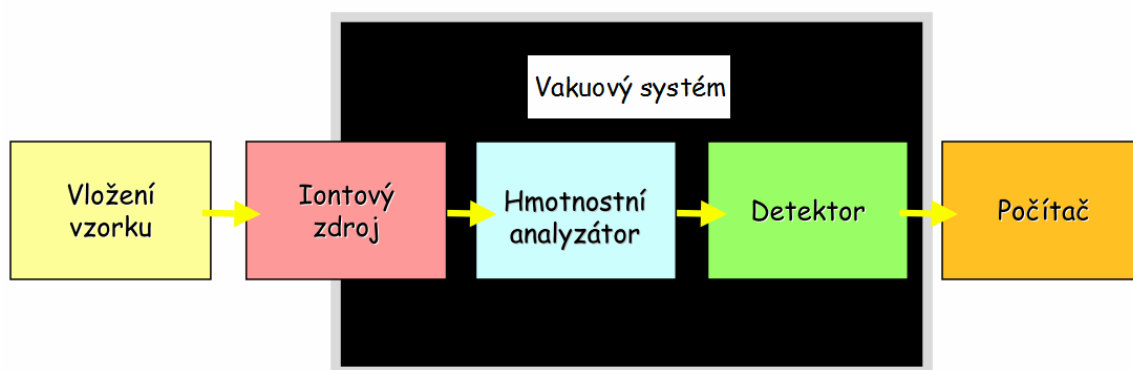
**Hmotnostní analyzátor** - slouží k rozdělení iontů v plynné fázi za vysokého vakua podle poměru hmotnosti a náboje ( $m/z$ ).

**Detektor** - slouží k detekci iontů po jejich separaci podle  $m/z$  a k určení relativní intenzity (četnosti) jednotlivých iontů .

**Vakuový systém** - zařízení pro zavádění vzorků(sonda).

**Iontová optika** sloužící k urychlení a fokusaci iontů.

**Počítač** – slouží k ovládání a ladění přístroje, sběr, ukládání a zpracování dat a porovnání spekter s knihovnou [65].



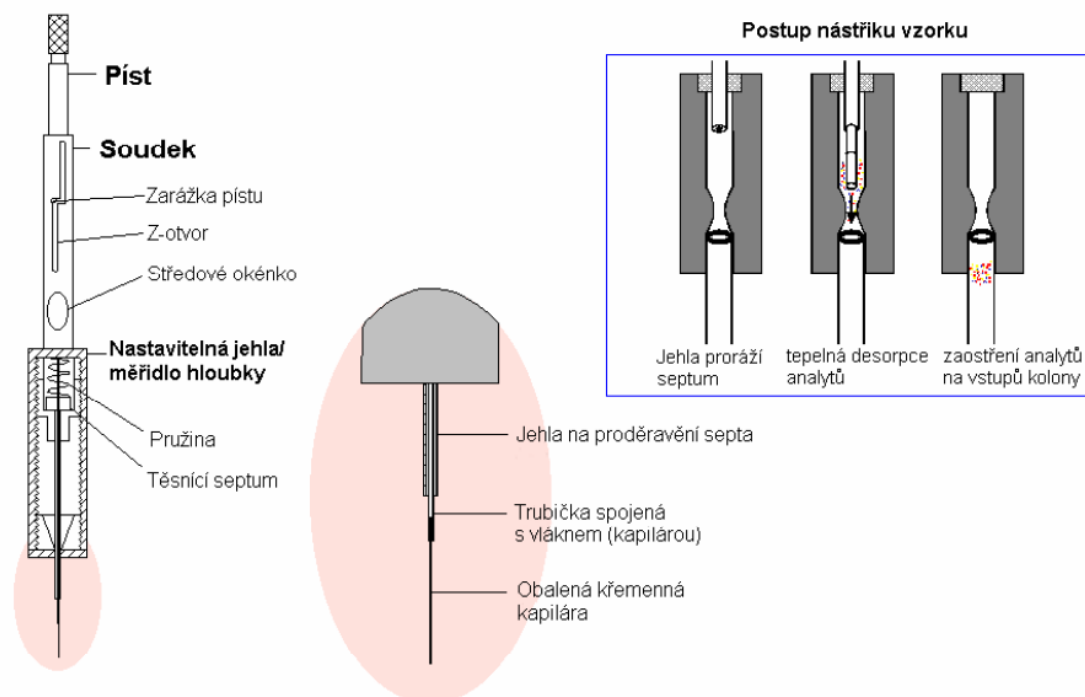
Obr. 5. Schéma hmotnostního spektrometru [66].

### 4.3 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází patří k moderním metodám přípravy vzorku pro plynovou chromatografii (Solid Phase Microextraction – Gas Chromatography, SPME-GC), byla vyvinuta J. Pawliszynem a jeho spolupracovníky v roce 1989 v kanadském Ontariu a během několika málo let se rozšířila do mnoha světových laboratoří [67].

Mikroextrakce tuhou fází je bezrozpuštědlová metoda přípravy vzorku. Metoda nevyžaduje složitou instrumentaci a je založena na sorpci analytu malým množstvím extrakční fáze na povrchu křemenného vlákna. Analyty se sorbují do dosažení rovnovážného stavu. Množství extrahovaného analytu závisí na hodnotě rozdělovacího koeficientu analyt – vlákno [68].

Hlavní součástí celého zařízení je tedy 1 cm dlouhé křemenné vlákno, které je pokryté stacionární fází. Vlákno je spojeno s ocelovým pístem umístěným v duté ocelové jehle, která ho chrání před mechanickým poškozením. Před začátkem manipulace a po ukončení extrakce je vlákno zataženo dovnitř jehly. Posunutím pístu se vlákno vysune do vzorku a dochází k sorpci [67].



Obr. 6. SPME zařízení pro aplikaci na GC [69].

Metoda SPME se používá jak pro stanovení kvalitativní, tak i pro stanovení kvantitativní. Přesnost a správnost výsledků je ovlivněna celou řadou faktorů, např. polaritou a tloušťkou stacionární fáze, způsobem vzorkování, hodnotou pH, iontovou silou roztoku, teplotou vzorku, mícháním apod.. SPME metoda poskytuje lineární kalibrační křivku v širokém koncentračním rozmezí. Volbou vhodného typu vlákna lze dosáhnout reprodukovatelných výsledků i pro nízké koncentrace analytů [70].

Metoda SPME umožňuje provádět dva způsoby extrakce:

- **Přímá SPME** (Direct Immersion - Solid Phase Microextraction, DI-SPME) - při této metodě dochází přímo k ponoření vlákna do vzorku.
- **Headspace SPME** (Headspace – Solid Phase Microextraction, HS-SPME) - tato druhá varianta využívá extrakci analytů z prostoru nad vzorkem v uzavřené nádobě. HS-SPME se používá pro extrakci těkavých látek. Ustálení rovnováhy mezi vláknem a analytem v plynném stavu je rychlejší než u DI-SPME, protože molekuly analytu se rychleji pohybují v plynu než v ostatních skupenstvích, nicméně je ještě potřeba vyčkat ustavení rovnováhy mezi kapalnou a plynnou fází. Čas, který je potřeba pro vzorkování HS-SPME je většinou relativně krátký (5-15 min) [67].

#### 4.4 Metody ke stanovení fenolických látek

Metody používané v analýze polyfenolových látek je možno v současné době rozdělit do dvou hlavních částí.

- **Metody skupinové**

Využívají společných vlastností větších či menších skupin polyfenolových sloučenin (např. anthokyanogenů, tanoidů a flavonoidů).

**Fotometrické stanovení** – nejčastěji se používá hlavně reakce s Folin – Ciocalteu činidlem, Folin –Denisovým činidlem a vanilinem. V prvních dvou případech jde o stanovení celkových tříslovin, v posledním pak stanovení katechinových tříslovin.

**Titrační metody** – manganometrické stanovení tříslovin (principem metody je oxidace tříslovin manganistanem draselným v prostředí kyseliny sírové) [71, 72].

- **Metody pro stanovení jednotlivých polyfenolů**

Analytickým metodám pro stanovení jednotlivých polyfenolových látek dominuje vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) na reverzní fázi s různými možnostmi detekce UV-VIS, DAD (detektor s diodovým polem), MS (hmotnostní detektor). Staršími možnostmi jsou kapilární plynová chromatografie (GC), papírová chromatografie, chromatografie na tenké vrstvě a podobně [71].

**Extrakce, zakoncentrování a purifikace** – nízká hladina polyfenolových látek v analyzovaném materiálu často vyžaduje provedení vhodné extrakce vedoucí k získání zkoncentrovaného podílu analyzovaných látek s redukováným obsahem interferujících příměsí. Z hlediska provedení se dají jednotlivé metody extrakce rozdělit do dvou následujících skupin: extrakce kapalina-kapalina (Liquid-liquid extraction, LLE) a extrakce na pevné fázi (Solid Phase Extraction, SPE).

**Papírová chromatografie** používající jako stacionární fázi chromatografický papír.

**Chromatografie na tenké vrstvě** s různými možnostmi stacionární fáze (silikagel, celulosa).

**Plynová chromatografie** - základním problémem použití této analytické metody je nízká těkavost fenolových sloučenin, z tohoto důvodu se její využití omezuje především na stanovení jednoduchých fenolových kyselin a nízkomolekulárních flavonoidů. Hydroxylové skupiny je nutno převést na ethery, případně estery. K detekci byl dříve běžně používán

plamenově ionizační detektor (FID), dnes převládá spojení plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS).

**Vysokoučinná kapalinová chromatografie** - nejpoužívanější současnou metodou pro stanovení polyfenolových látek je HPLC na reverzní fázi. V analýze fenolových látek je téměř výhradně používána stacionární fáze  $C_{18}$  s vnitřním průměrem kolony od 2 do 5 mm (HPLC ve spojení s hmotnostní detekcí využívá menších průměrů). Velikost částic bývá většinou 3 až 5  $\mu\text{m}$ . Nejčastěji se používá lineární gradientová eluce, mobilní fáze se skládá z polární a nepolární části, někdy obsahuje i roztoky s pufrací kapacitou. Vodná fáze obsahuje často přídavek kyseliny octové, používaná organická rozpouštědla v nepolární fázi jsou methanol, acetonitril, propanol, butanol, ethylacetát a další. Volba mobilní fáze a její pH závisí na druhu použité stacionární fáze. Mobilní fáze obsahují často příměsi organických kyselin (nejčastěji kyselina octová) pro zvýšení retence slabě kyselých látek, případně příměsi slabých zásad pro zvýšení retence slabě zásaditých látek. Eluce bývá obvykle prováděna s binárním lineárním gradientem [71, 73].

**Kapilární zónová elektroforéza** - je analytická instrumentální elektromigrační technika, založená na separaci látek vložení elektrického pole. Analyty se separují v tenkých kapilárách díky různé pohyblivosti v elektrickém poli a rozdělují se do jednotlivých zón, které jsou na konci kapiláry vhodným způsobem detekovány – nejčastěji UV-VIS, nebo vodivostní detekce. Technika se užívá zejména na stanovení jednoduchých organických i anorganických snadno ionizovatelných (majících náboj) molekul a atomů. Výhodou je její nízkonákladový provoz, malé spotřeby chemikálií, rozpouštědel, vysoká účinnost separace, nenáročnost na množství vzorku a snadná manipulace a obsluha přístroje [74].



## II. PRAKTICKÁ ČÁST

## 5 MATERIÁL A METODY

### 5.1 Použité vzorky vín

Pro jednotlivá stanovení byla poskytnuta vína ze Bzence z Vinařství Křivánek Jiří. Vína jsou ze stejných odrůd, hrozny na jejich výrobu pocházejí ze stejné viniční tratě a jsou vyrobená stejnou technologií. Hrozny, z kterých byly vyrobeny vína použité ke stanovení AL a polyfenolů, byly vypěstovány ve vinici nacházející se ve viničních tratích ve Bzenci - Horní hory – Pohany. Viniční trať Horní hory – Pohany jsou svým složením půdy jedny z nejvhodnějších pro pěstování vín charakteristických pro tuto vinařskou oblast.

Ke stanovení bylo použito 11 vzorků, z toho 6 vzorků vín odrůdy Ryzlinku rýnského a 5 vzorků vín Chardonnay. Dále uváděné vzorky Ryzlinku rýnského a Chardonnay jsou značeny zkratkou RR a CHA a příslušným ročníkem (např. vzorek Ryzlink rýnský 2007 značen RR 07).

Tab. 6: Popis jednotlivých vín použitých k analýzám.

Vzorek	Datum sběru	Cukernatost hroznů [°NM]	Celkový obsah alkoholu [% obj.]	Obsah redukujících cukrů [g/l]	Tříd. podle obs. zbytk. cukru	Zatřídění
RR 07	03.11.2007	21,2	12,22	3,4	suché	pozdní sběr
RR 08	10.11.2008	21,6	12,78	2,2	suché	pozdní sběr
RR 09	29.10.2009	23	13,74	9,9	polosuché	pozdní sběr
RR 10	23.10.2010	22	12,31	1,5	suché	pozdní sběr
RR 11	24.10.2011	22,2	12,97	7,9	polosuché	pozdní sběr
RR 12	13.10.2012	22,2	12,94	4,1	polosuché	pozdní sběr
CHA 08	21.10.2008	22,6	13,32	4,50	suché	pozdní sběr
CHA 09	23.10.2009	24,6	14,57	10,6	polosuché	výběr z hroznů
CHA 10	17.10.2010	22,8	12,62	2,3	suché	pozdní sběr
CHA 11	05.10.2011	24	13,61	11,7	polosuché	výběr z hroznů
CHA 12	02.10.2012	24,2	13,7	3,6	suché	pozdní sběr

## 5.2 Stanovení aromatických látek pomocí plynové chromatografie

### 5.2.1 Princip metody GC/MS

Principem metody je kombinovaný systém, kde jsou těkavé a tepelně stabilní sloučeniny nejdříve separovány plynovou chromatografií a potom jsou adsorbované sloučeniny tradičně detekovány hmotnostními spektrometry. Jako ionizační technika se používá ionizace dopadem elektronů.

### 5.2.2 Pomůcky a přístroje

Pomůcky: vialky

Přístroj: GCMS – QP2010 Ultra

### 5.2.3 Pracovní postup

Do skleněné vialky o objemu 20 ml se nadávkoval vzorek. Vialka byla uzavřena zátkou opatřenou teflonovým septem a podrobena stanovení aromatických látek pomocí GC-MS.

Tab. 7. Parametry měření na přístroji GCMS – QP2010 Ultra

<b>Injektor</b>	Teplota nástřiku	200 °C
	Regulace průtoku	Lineární průtoková rychlost
	Průtok kolonou	1,22 ml · min <sup>-1</sup>
	Průtoková rychlost	39,9 cm · s <sup>-1</sup>
<b>Kolona</b>	Teplotní program	40 °C – 6 min.
		57 °C – 4 min.
		180 °C – 0 min.
<b>Detektor</b>	Interface teplota	220 °C
	Teplota iontového zdroje	200 °C
	Napětí detektoru	0,80 kV

Analýza byla provedena na koloně Supelco SPM<sup>TM</sup> – PUFA o rozměrech 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm. Podmínky, za kterých bylo stanovení provedeno jsou uvedeny v tabulce (tab. 7).

Chromatogramy byly vyhodnoceny srovnáním hmotnostních spekter detekovaných sloučenin s databází spekter. Identifikace sloučenin tímto způsobem byla vždy s nějakým pravděpodobnostním procentem, a proto tyto výsledky nebyly brány za stoprocentní. Vyhodnocovány byly pouze ty píky, které byly subjektivně zhodnoceny za dostatečně významné. Analýza trvala 40 minut.

### **5.3 Stanovení polyfenolů ve víně Folin - Ciocalteu činidlem**

#### **5.3.1 Princip metody**

Metoda je založena na spektrofotometrickém měření barevných produktů reakce hydroxidových skupin fenolických sloučenin s činidlem Folin - Ciocalteu.

#### **5.3.2 Chemikálie a roztoky**

Folin – Ciocalteu činidlo (firma PENTA), 20% uhličitan sodný, tanin, destilovaná voda.

#### **5.3.3 Pomůcky a přístroje**

Pomůcky: 50 ml odměrné baňky, mikropipety, analytické váhy, filtrační papír

Přístroj: Spektrofotometr UV/VIS – LAMBDA 25, Perkin Elmer

#### **5.3.4 Pracovní postup**

##### Příprava 20% roztoku uhličitanu sodného

Nejprve jsme si do odměrné baňky navázili 40 g uhličitanu sodného a přidali 160 g destilované vody. Obsah baňky jsme promíchali a nechali rozpustit a přefiltrovali přes filtrační papír.

Příprava zásobního roztoku taninu

Na analytických vahách jsme si navážili 50 mg taninu, převedli do odměrné baňky a doplnili destilovanou vodou po rysku.

Vytvoření kalibrační křivky a vlastní stanovení obsahu celkových polyfenolů

Ze standardního roztoku taninu se odpipetovalo do třech 50 ml odměrných baněk 0,4; 0,6; 0,8 ml roztoku. Současně se odpipetovalo do čtvrté odměrné baňky 1 ml čirého vzorku vína, které bylo nejprve zředěno destilovanou vodou 1:4. Do všech odměrných baněk se přidalo 20 ml destilované vody, 1 ml Folin - Ciocalteu činidla (směs se zbarvila žlutě) a obsah baňky se promíchal. Po 3 minutách se přidalo 5 ml 20% roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (směs se zbarvila modře), obsah baňky se opět promíchal a doplnil destilovanou vodou po rysku. Po 30 minutách se změřila intenzita odbarvení v 10 mm kyvetě při 700 nm proti slepému pokusu. Výpočet ke stanovení je uveden v kap. 6.2.1.

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 6.1 Výsledky stanovených aromatických látek ve víně

Při chemické analýze vína metodu GC bylo sledováno zastoupení aromatických látek vyvíjejících se v průběhu různých ročních období. Výsledkem byly chromatogramy (viz. příloha I a příloha II) a pomocí databáze hmotnostních spekter a retenčních dat byly identifikovány jednotlivé AL. Detailní znázornění všech aromatických látek u vzorků je zobrazeno v příloze III a v příloze IV. Ve vínech bylo identifikováno 29 aromatických látek. Celkem bylo identifikováno 16 esterů, 10 alkoholů, 2 acetáty a 1 kyselina.

Nejrozšířenější v pořadí eluce u odrůdy Chardonnay byl ethylester kyseliny octové, pentylalkohol a isobutylalkohol. U odrůdy Ryzlinku rýnského byly nejrozšířenější tyto látky: ethylester kyseliny octové, pentylalkohol a ethylester kyseliny kaprilové.

Mezi největší skupinu identifikovaných sloučenin patřily estery. Mezi dominantu esterů ve vínech patří ethylester kyseliny octové (průměrný podíl u odrůdy Chardonnay byl 59,13 % a odrůdy Ryzlinku rýnského 68,7%), ethylester kyseliny kaprilové, isoamylacetát a ethylester kyseliny kaprinové. Tyto těkavé ethylestery, které tvoří kvasný buket, byly zodpovědné za květinové, ovocné znaky a dávají vínu svěží aromatický profil.

Nejvyšší zastoupení z esterů měl ethylester kyseliny octové (dává vínu ovocnou chuť). Koncentrace tohoto esteru je obvykle 50 – 100 mg/l. Při těchto koncentracích má vliv na komplexní vůni vína. Naopak při koncentracích vyšších jak 150 mg/l udávají estery vínu nepříjemnou vůni, která je většinou ovlivněna bakteriemi octového kvašení.

Průměrný podíl ethylesteru kyseliny kaprilové u vzorků odrůdy Chardonnay byl 2,27 % a u vzorků Ryzlinku rýnského byl RR 3,99 %.

Isoamylacetát neboli 3-methyl-1-butanol acetát třetí nejvíce zastoupený ester způsobuje vznik aroma banánu či jablka. Vzniká především při pomalém a obtížném kvašení, nízkých teplotách a odkaleném moštu. Obsah isoamylacetátu se pohyboval v průměru u odrůdy Chardonnay 1,978 % a u odrůdy Ryzlink rýnský 0,677 %.

Průměrný podíl ethylester kyseliny kaprinové u vzorků odrůdy Chardonnay byl 1,08 % a u vzorků Ryzlinku rýnského byl 1,05 %.

Další skupina identifikovaných sloučenin patřila vyšším alkoholům. Nejvíce byl obsažen pentylalkohol (průměrný obsah u vzorků Chardonnay byl 17,81 % a u vzorků odrůdy Ryzlinku rýnského byl 7,73 %) a to v rozmezí od 2 do 24 % (tento alkohol bývá již v určitém množství přítomen ve vinných mošttech).

Z vyšších alkoholů s výrazným aromatem, které se označují jako přiboudlina byl v relativně větším množství přítomen hlavně 2-methyl-1-propanol neboli isobutylalkohol (průměrný obsah u vzorků Chardonnay byl 3,88 % a vzorků Ryzlinku rýnského 2,62 %) a 3-methyl-1-butanol neboli isoamylalkohol. Vyšší obsah těchto alkoholů se vyskytoval v odrůdě Chardonnay. Oba alkoholy mají značný vliv na aróma vína. Obsah alkoholů přiboudliny závisí na odrůdě révy vinné, podmínkách při fermentaci, použitém kmenu kvasinek apod.

### 6.1.1 Analýza aromatických látek ve vzorcích odrůdy Chardonnay

#### Vzorek Chardonnay 08

Ve vzorku CHA 08 bylo zjištěno za podmínek metody 15 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 8. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 8 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

Tab. 8. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 08.

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
CHA 08	diethylester kyseliny jantarové	26,320	6423	0,1
	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1] hept-2-yl ester, ethylester kyseliny propionové	32,301	20095	0,2
	ethylester kyseliny propionové	3,578	25766	0,3
	ethylester kyseliny kaprinové	32,790	43607	0,5
	ethylester kyseliny isomáselné	4,686	51488	0,6
	ethylester kyseliny máselné	6,309	54836	0,6
	isoamyl acetát	10,100	86661	1,0
	isobutylalkohol	2,411	128862	1,4
	ethylester kyseliny kapronové	18,119	152379	1,7
	propylalkohol	1,955	206150	2,3
	triptan	2,107	263226	2,9
	ethylester kyseliny kaprilové	26,838	307805	3,4
	butyl isokyanát acetát	2,153	464831	5,1
	pentylalkohol	4,119	2049069	22,6
	ethylester kyseliny octové	2,237	5188416	57,3

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové a pentylalkohol. Významné ethylestery, které byly pomocí metody analyzovány jsou více popsány v kapitole 6.1.



**Vzorek Chardonnay 09**

Ve vzorku CHA 09 bylo zjištěno za podmínek metody 15 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 9. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 9 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

Tab. 9. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 09.

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
CHA 9	diethylester kyseliny jantarové	26,319	13655	0,1
	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1] hept-2-yl ester, exo-	32,303	14189	0,1
	ethylester kyseliny isomáselné	4,691	49614	0,3
	ethylester kyseliny máselné	6,295	62309	0,3
	ethylester kyseliny kaprinové	32,792	66576	0,4
	diethyl acetyl	3,895	69693	0,4
	ethylester kyseliny kapronové	18,133	114652	0,6
	triptan	2,096	184640	1,0
	propylalkohol	1,980	255841	1,4
	acetát butyl isokyanátu	2,149	266354	1,5
	ethylester kyseliny kaprilové	26,840	277888	1,5
	isoamyl acetát	10,059	290284	1,6
	isobutylalkohol	2,422	398683	2,2
	pentylalkohol	4,107	4429736	24,1
	ethylester kyseliny octové	2,240	11885790	64,7

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové, jehož podíl ve vzorku tvořil 64,7 %. Druhé největší procentuální zastoupení měl pentylalkohol, jehož bylo ve vzorku obsaženo 24 %. Vedle nejčastěji a nejvíce zastoupených látek se tento vzorek vyznačoval zejména vyšším množstvím ethylesterů.

**Vzorek Chardonnay 10**

Ve vzorku CHA 10 bylo zjištěno za podmínek metody 16 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 10. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 10 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

*Tab. 10. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 10.*

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
CHA 10	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1] hept-2-yl ester, ethylester kyseliny propionové	32,301	18609	0,1
	ethylester kyseliny isomáselné	3,570	23503	0,1
	ethylester kyseliny máselné	4,708	51311	0,3
	(2-ethoxyethoxy) octová kyselina	6,289	88057	0,4
	ethylester kyseliny kaprinové	3,936	89205	0,4
	ethylester kyseliny kaprinové	32,789	135487	0,7
	triptan	2,099	148955	0,7
	ethylester kyseliny kapronové	18,109	217861	1,1
	ethylester kyseliny mléčné	6,958	235128	1,2
	butyl isokyanát acetát	2,137	316010	1,6
	propylalkohol	1,973	337879	1,7
	isoamyl acetát	10,034	389156	1,9
	ethylester kyseliny kaprilové	26,838	490017	2,4
	isobutylalkohol	2,420	693944	3,5
	pentylalkohol	4,090	1672884	8,3
ethylester kyseliny octové	2,238	15184404	75,6	

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové, jehož podíl ve vzorku tvořil 75,6 %. Ostatní stanovené látky se ve vzorku vyskytovaly v minimální míře.

**Vzorek Chardonnay 11**

Ve vzorku CHA 11 bylo zjištěno za podmínek metody 16 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 11. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 11 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

*Tab. 11. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 11.*

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
CHA 11	ethylester kyseliny propionové	3,534	10875	0,1
	hexylester kyseliny octové	19,092	14051	0,1
	isobornylalkohol	32,304	16705	0,1
	ethylester kyseliny isomáselné	4,715	35612	0,2
	ethylester kyseliny máselné	6,290	71462	0,4
	diethyl acetyl	3,916	86336	0,5
	ethylester kyseliny kaprinové	32,792	97329	0,5
	triptan	2,100	116556	0,6
	ethylester kyseliny kapronové	18,118	160747	0,9
	2,2,4,4-tetramethyl pentan	2,140	256415	1,4
	ethylester kyseliny kaprilové	26,839	358566	2,0
	isoamyl acetát	10,029	472782	2,6
	propylalkohol	1,966	645282	3,5
	isobutylalkohol	2,411	1602749	8,7
	pentylalkohol	4,104	4400263	23,9
ethylester kyseliny octové	2,240	10062691	54,7	

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové a pentylalkohol. Ostatní stanovené látky se ve vzorku vyskytovaly v minimální míře. Mezi zjištěné ethylestery s vyšším podílem ve vzorku patří ethylester kyseliny kaprilové, kyseliny kapronové a ethylester kyseliny kaprinové.

**Vzorek Chardonnay 12**

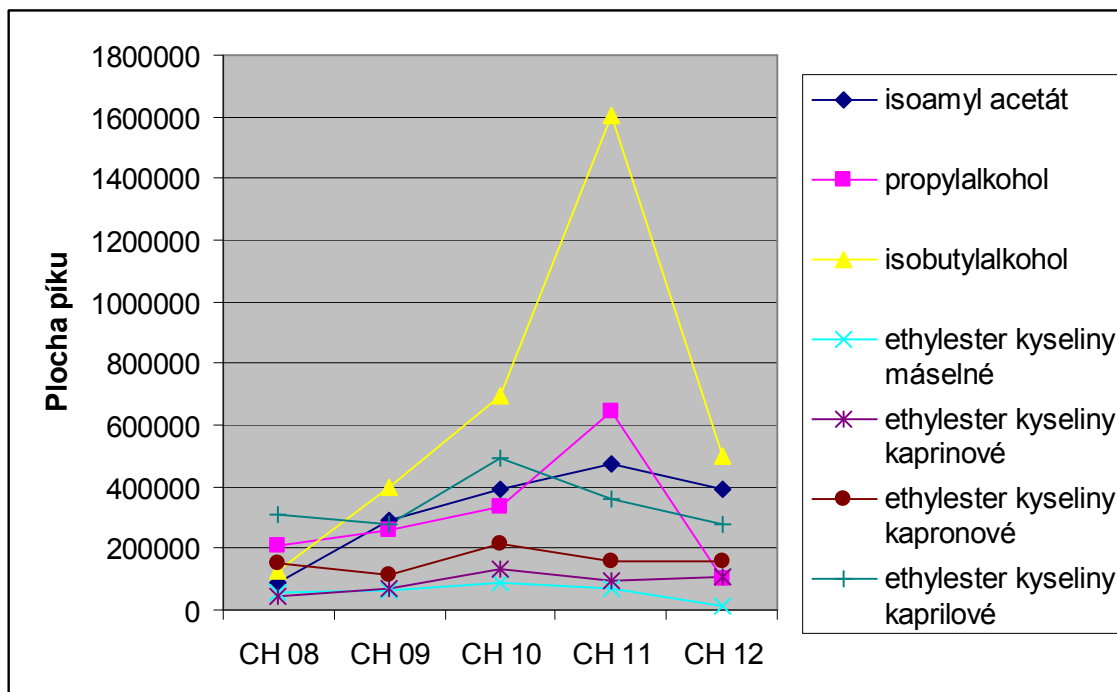
Ve vzorku CHA 12 bylo zjištěno za podmínek metody 16 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 12. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 12 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

*Tab. 12. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 12.*

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
CHA 12	hexylester kyseliny octové	19,105	12680	0,1
	ethylester kyseliny máselné	6,325	13303	0,1
	diethyl acetyl	3,947	16100	0,1
	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1] hept-2-yl ester, exo-	32,301	41845	0,3
	fenylethylalkohol	23,729	99454	0,7
	propylalkohol	1,995	101290	0,7
	ethylester kyseliny kaprinové	32,790	108576	0,8
	etyester kyseliny kapronové	18,127	158515	1,2
	3-methylpentan	2,104	193437	1,4
	ethylester kyseliny kaprilové	26,842	277763	2,0
	isoamyl acetát	10,062	388830	2,8
	isobutylalkohol	2,447	499995	3,7
	4-methyl-1-hexen	4,294	813803	5,9
	pentylalkohol	4,117	1382308	10,1
	pentylester kyseliny mravenčí	4,193	3653267	26,6
ethylester kyseliny octové	2,256	5951377	43,4	

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové, jehož podíl ve vzorku tvořil 43 %. Další významnou látkou ve vzorku byl pentylester kyseliny mravenčí, jehož bylo ve vzorku obsaženo 26,7 %. 10% podíl ve vzorku tvořil pentylalkohol. Ostatní stanovené látky se ve vzorku vyskytovaly v minimální míře.

Grafické porovnání společných aromatických látek ve vzorcích Chardonnay je zobrazeno na obrázku 7. Pentylalkohol a ethylester kyseliny octové též patří mezi společné AL vzorků, do grafu jsem však tyto AL kvůli vyšším hodnotám nezařadila.



Obr. 7. Zastoupení vybraných aromatických látek ve vzorcích CHA podle plochy píku.

Na výše uvedeném grafu je vidět, že nejvyšší procentuální podíl ze všech společných AL obsažených ve vzorcích Chardonnay měl isobutylalkohol a to v ročníku 2011. Naopak nejmenší procentuální podíl ze společných AL měl ethylester kyseliny máselné v ročníku 2012.

Z grafického vyjádření dále vidíme, že obsah aromatických látek pro danou odrůdu má svá typická zastoupení jednotlivých složek, které se v jednotlivých ročnících liší pouze množstvím, nicméně jejich poměry zůstávají pro danou odrůdu zachovány. Určité rozdíly jsou patrné pouze v ročníku 2011, který se agrotechnikou ani počasím od ostatních ročníků nijak zvlášť nelišil. Takže uvedené rozdíly vznikly v největší pravděpodobnosti z technologických důvodů (např. odležením hroznů).

### 6.1.2 Analýza aromatických látek ve vzorcích odrůdy Ryzlink rýnský

#### Vzorek Ryzlinku rýnského 07

Ve vzorku RR 07 bylo zjištěno za podmínek metody 13 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 13. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 13 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

Tab. 13. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 07.

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
RR 07	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, exo-	32,299	17293	0,3
	ethylester kyseliny mléčné	7,139	29977	0,5
	isoamyl acetát	10,132	31505	0,5
	ethylester kyseliny propionové	3,556	34627	0,5
	ethylester kyseliny isomáselné	4,696	55129	0,8
	ethylester kyseliny máselné	6,281	83661	1,2
	ethylester kyseliny kaprinové	32,787	103851	1,6
	ethylester kyseliny kapronové	18,102	287963	4,3
	isobutylalkohol	2,421	432677	6,4
	propylalkohol	1,966	436952	6,5
	ethylester kyseliny kaprilové	26,838	608996	9,1
	pentylalkohol	4,086	692612	10,3
	ethylester kyseliny octové	2,242	3906238	58,1

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové, jehož podíl ve vzorku tvořil 58 %. Další významnou látkou ve vzorku byl pentyl alkohol, jehož bylo ve vzorku obsaženo 10 %. 9 % byl ve vzorku obsažen významný ethylester kyseliny kaprilové. Ostatní stanovené látky se ve vzorku vyskytovaly v minimální míře.

**Vzorek Ryzlinku rýnského 08**

Ve vzorku RR 08 bylo zjištěno za podmínek metody 13 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 14. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 14 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

*Tab. 14. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 08.*

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
RR 08	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, exo-	32,301	12861	0,1
	ethylester kyseliny máselné	6,287	74055	0,3
	ethylester kyseliny isomáselné	4,704	85693	0,4
	ethylester kyseliny kaprinové	32,789	106770	0,5
	isoamyl acetát	10,092	149092	0,7
	ethylester kyseliny 3-methyl pentanové	18,107	281401	1,3
	propylalkohol	1,992	298356	1,4
	isobutylalkohol	2,437	397427	1,8
	dibutyl ester kyseliny sírové	4,284	397994	1,8
	pentylalkohol	4,109	581782	2,7
	ethylester kyseliny kaprilové	26,840	708688	3,2
	pentylester kyseliny mravenčí	4,153	1890620	8,6
	ethylester kyseliny octové	2,246	16998328	77,3

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové, jehož podíl ve vzorku tvořil 77 %. Další významnou látkou ve vzorku byl pentylester kyseliny mravenčí, jehož bylo ve vzorku obsaženo 8 %. Ve vyšší míře se z významných ethylesterů vyskytoval ethylester kyseliny kaprilové a z vyšších alkoholů pentylalkohol. Ostatní stanovené látky se ve vzorku vyskytovaly v minimální míře.

**Vzorek Ryzlinku rýnského 09**

Ve vzorku RR 09 bylo zjištěno za podmínek metody 12 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 15. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 15 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

*Tab. 15. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 09.*

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
RR 09	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, exo-	32,301	9332	0,1
	ethylester kyseliny isomáselné	4,710	45415	0,2
	ethylester kyseliny máselné	6,284	61450	0,3
	isoamyl acetát	10,101	79152	0,4
	ethylester kyseliny kaprinové	32,788	143504	0,7
	isobutylalkohol	2,435	151194	0,7
	propylalkohol	1,985	186447	0,9
	ethylester kyseliny 3-methyl pentanové	18,106	258349	1,3
	ethylester kyseliny kaprilové	26,839	690173	3,4
	pentylalkohol	4,096	730951	3,6
	pentylester kyseliny mravenčí	4,138	1688719	8,3
	ethylester kyseliny octové	2,242	16390267	80,2

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové, jehož podíl ve vzorku tvořil 80 %. Další významnou látkou ve vzorku byl pentylester kyseliny mravenčí, jehož bylo ve vzorku obsaženo 8 %. Z významných látek se dále ve vzorku vyskytovaly ethylestery kyseliny kaprilové a ethylester kyseliny kaprinové. Ostatní stanovené látky se ve vzorku vyskytovaly v minimální míře.



**Vzorek Ryzlinku rýnského 10**

Ve vzorku RR 10 bylo zjištěno za podmínek metody 10 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 16. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 16 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

*Tab. 16. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 10.*

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
RR 10	ethylester kyseliny máselné	6,279	66186	0,3
	isoamyl acetát	10,050	151878	0,7
	ethylester kyseliny kaprinové	32,791	200973	0,9
	isobutylalkohol	2,430	225855	1,1
	ethylester kyseliny 3-methyl pentanové	18,105	274054	1,3
	propylalkohol	1,981	305304	1,4
	ethylester kyseliny mléčné	6,887	656989	3,1
	ethylester kyseliny kaprilové	26,841	694508	3,3
	pentylalkohol	4,098	1963273	9,2
	ethylester kyseliny octové	2,241	16760658	78,7

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové, jehož podíl ve vzorku tvořil 78,7 %. Další významnou látkou ve vzorku byl pentyl alkohol, jehož bylo ve vzorku obsaženo 9,2 %. Ostatní stanovené látky se ve vzorku vyskytovaly v minimální míře.

Vedle nejčastěji a nejvíce zastoupených látek se tento vzorek vyznačoval zejména obsahem ethylesteru kyseliny kaprilové, jehož procentuální podíl ve vzorku činil 3,3 %. Dále vyskytující ethylester kyseliny mléčné vzniká při odbourávání kyseliny jablečné.

**Vzorek Ryzlinku rýnského 11**

Ve vzorku RR 11 bylo zjištěno za podmínek metody 17 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 17. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 17 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

*Tab. 17. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 11.*

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
RR 11	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, exo-	32,304	9646	0,1
	ethylester kyseliny propionové	3,541	11560	0,1
	diethyl acetyl	3,930	16786	0,1
	ethylester kyseliny máselné	6,317	39298	0,2
	ethylester kyseliny isomáselné	4,677	65721	0,4
	isoamyl acetát	10,082	96463	0,6
	ethylester kyseliny 3-methyl pentanové	18,133	136189	0,8
	ethylester kyseliny kaprinové	32,790	136515	0,8
	ethylester kyseliny mléčné	7,037	184321	1,1
	propylalkohol	2,004	219298	1,3
	ethylester kyseliny kaprilové	26,843	353345	2,0
	dibutyl ester kyseliny sírové	4,285	600228	3,4
	isobutylalkohol	2,442	678841	3,9
	n-Butanol	2,496	829034	4,8
	pentylester kyseliny mravenčí	4,134	2228250	12,8
	pentylalkohol	4,181	2564452	14,7
ethylester kyseliny octové	2,250	9287586	53,0	

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové a pentylalkohol. Významné ethylestery jsou popsány v kapitole 6.1..

**Vzorek Ryzlinku rýnského 12**

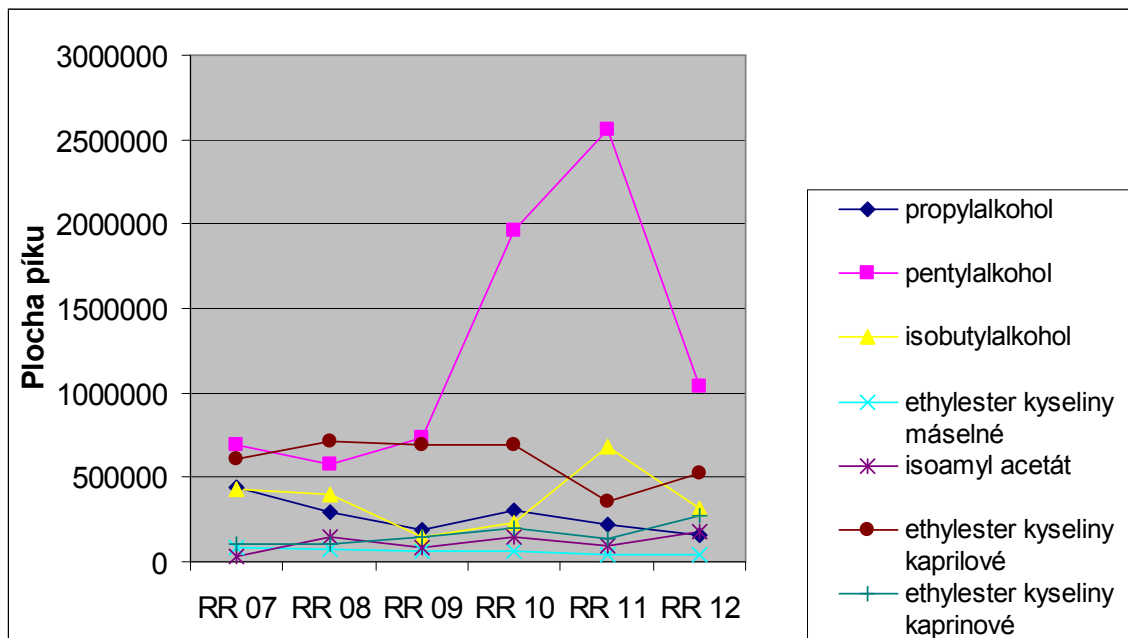
Ve vzorku RR 12 bylo zjištěno za podmínek metody 13 aromatických látek. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 18. Zjištěné aromatické látky jsem seřadila podle procentuálního zastoupení ve vzorku. V tabulce 18 jsou též hodnoty retenčního času a plochy píku.

*Tab. 18. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 12.*

Vzorek	Aromatická látka	Retenční čas [min]	Plocha píku	Podíl plochy AL [%]
RR 12	2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, exo-	32,304	9803	0,1
	ethylester kyseliny máselné	6,312	43202	0,3
	propylalkohol	2,010	159180	0,9
	isoamyl acetát	10,071	181882	1,0
	ethylester kyseliny 3-methyl pentanové	18,125	199612	1,1
	ethylester kyseliny kaprinové	32,791	275108	1,6
	isobutylalkohol	2,456	312082	1,8
	n-Butanol	2,517	411590	2,3
	ethylester kyseliny kaprilové	26,844	527108	3,0
	3-methylpentan	4,306	532218	3,0
	pentylalkohol	4,125	1038040	5,9
	isoamyl acetát	4,193	2530335	14,4
	ethylester kyseliny octové	2,248	11354239	64,6

Z výše uvedené tabulky je patrné, že největší procentuální zastoupení měl ethylester kyseliny octové, jehož podíl ve vzorku tvořil 64,6 %. Další významnou látkou ve vzorku byl isoamyl acetát, jehož bylo ve vzorku obsaženo 14 %. Tento fermentační ester je více popsán v kapitole 6.1. Z dalších významných látek můžeme ve vzorku pozorovat pentylalkohol, ethylester kys.kaprilové, atd. Ostatní stanovené látky se ve vzorku vyskytovaly v minimální míře.

Grafické porovnání společných aromatických látek ve vzorcích Ryzlinků rýnských je zobrazeno na obrázku 8. Ethylester kyseliny octové též patří mezi společné AL vzorků, do grafu jsem ho však kvůli vyšším hodnotám nezařadila.



Obr. 8. Zastoupení vybraných aromatických látek ve vzorcích RR podle plochy píku.

Na výše uvedeném grafu je vidět, že nejvyšší procentuální podíl ze všech společných AL obsažených ve vzorcích Ryzlinku rýnského tvoří pentylalkohol a to v ročníku 2011. Nejmenší procentuální podíl ze společných AL tvoří jako u odrůdy Chardonnay ethylester kyseliny máselné v ročníku 2012.

Z grafu můžeme usoudit, že průběh obsahu pentylalkoholu v ročníku měl od roku 2009 do roku 2011 stoupající charakter. V ročníku 2012 došlo k většímu poklesu tohoto alkoholu. Naopak ethylester kyseliny kaprilové, který měl též v průběhu ročníků mírně stoupající charakter, v ročníku 2011 poklesl.

S porovnáním s předchozím grafem vzorku CHA (obr. 7) můžeme celkově zhodnotit, že vyšší vliv látek na aroma ve víně Chardonnay má isobutylalkohol a propylalkohol. Ve víně má vliv na aroma pentylalkohol a ethylesterkyseliny kaprilové. V obou grafech můžeme také pozorovat mírné zvýšení ethylesterů v ročníku 2010. Zvýšení by mohlo být způsobeno kyselostí vín, protože pouze v ročníku 2010 docházelo u některých odrůd nebo lokalit ke skutečnosti, že v hroznech byl vyšší obsah kyselin.

## 6.2 Výsledky stanovení polyfenolů ve víně

### 6.2.1 Výpočet stanovení celkového obsahu polyfenolů

Příklad výpočtu obsahu polyfenolů ve vzorku CHA 08, kde byla naměřena hodnota absorbance 0,12079.

K výpočtu byla použita rovnici kalibrační křivky  $y = 0,1677x - 0,0056$ . Hodnota  $y$  vyjadřuje absorbanci jednotlivých vzorků. Poté byla z rovnice osamostatněna hodnota  $x$ , která představuje koncentraci polyfenolických látek jako tanin. Do upravené rovnice byly dosazeny naměřené hodnoty absorbance 0,12079, pomocí kterých byla dopočítána koncentrace polyfenolických látek jako tanin.

$$y = 0,1677x - 0,0056 \quad (2)$$

$$x = \frac{y + 0,0056}{0,1677} \quad (3)$$

$$x = \frac{0,12079 + 0,0056}{0,1677} \quad (4)$$

$$x = 0,754$$

Pro výpočet celkového obsahu polyfenolických látek bylo ovšem nutno vzít v úvahu zředění, které se u jednotlivých vzorků lišilo a pro tento případ bylo použito zředění 250x. Proto se získaná vypočtená hodnota koncentrace polyfenolických látek jako tanin z rovnice kalibrační křivky ještě vynásobila 250x.

$$\text{Celkový obsah polyfenolů} = 0,754 \cdot 250 = 188,42 \text{ mg/l}$$

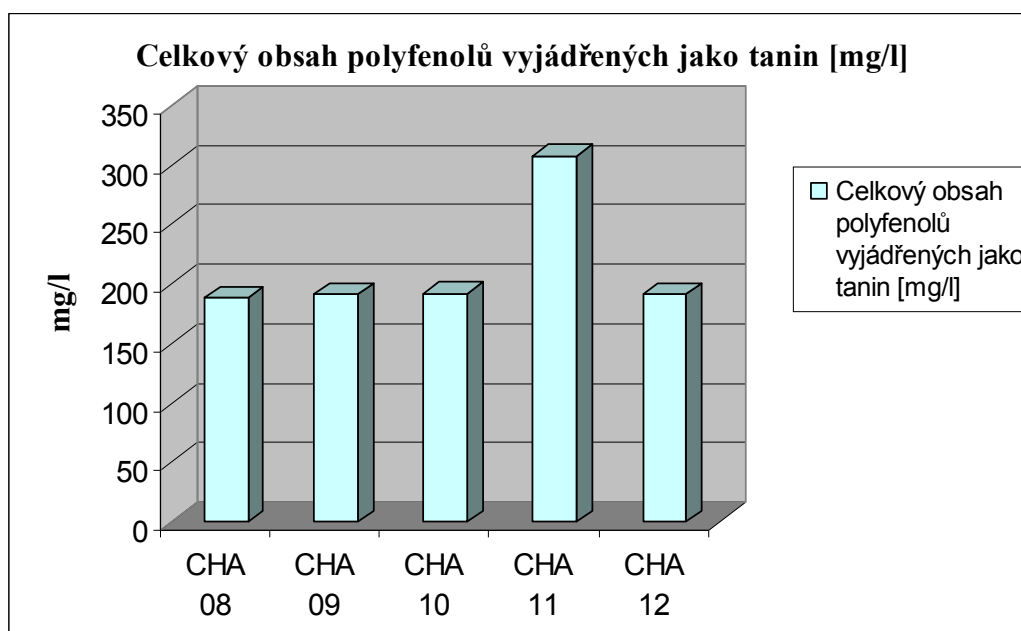
Celkový obsah polyfenolů pak činí **188, 42 mg/l** jako tanin.

### 6.2.2 Analýza polyfenolických látek ve vzorcích odrůdy Chardonnay

Výsledné hodnoty stanovení spektrofotometricky metodou Folin – Ciocalteu jsou znázorněny v tabulce 19.

Tab. 19. Celkový obsah polyfenolů ve vínech Chardonnay.

Vzorek	Absorbance	Celkový obsah polyfenolů [mg · l <sup>-1</sup> ]
CHA 08	0,12079	188,42
CHA 09	0,31569	191,66
CHA 10	0,31605	191,80
CHA 11	0,40747	307,89
CHA 12	0,25097	191,24



Obr. 9. Celkový obsah polyfenolů v Chardonnay.

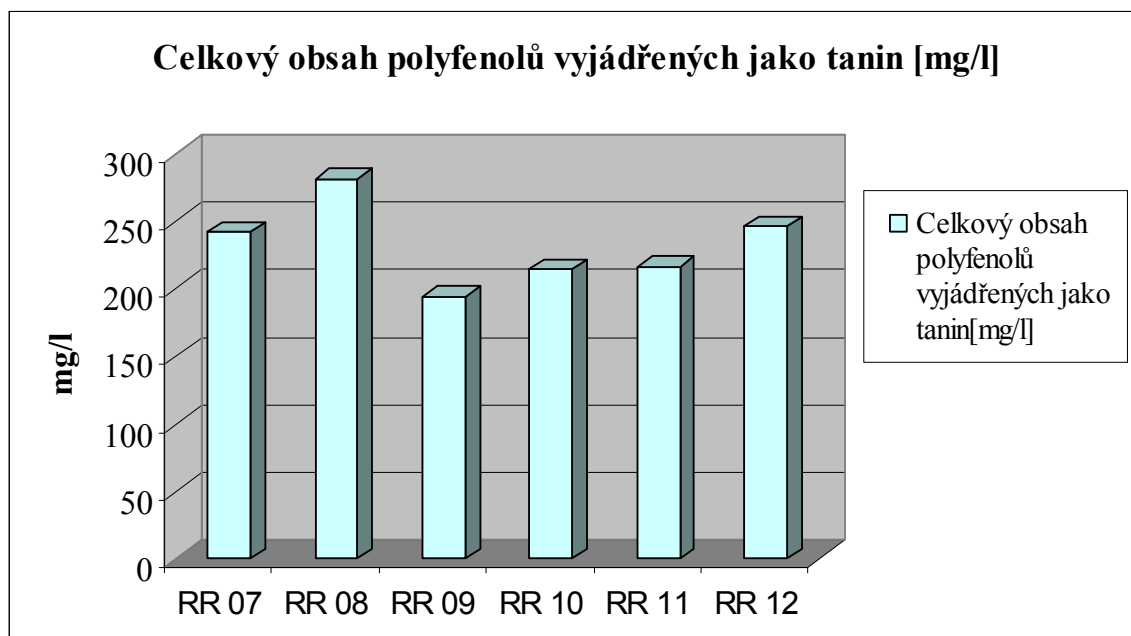
Obsah celkových polyfenolů ve vínech Chardonnay se pohyboval v rozmezí 188 až 308 mg/l taninu. Na výše uvedeném grafu je vidět, že hodnoty celkového obsahu polyfenolů ve vzorku CHA se od sebe moc neliší. Výjimku tvoří pouze ročník 2011, který se však z hlediska klimatických podmínek od ostatních ročníků nelišil. Zvýšení může být způsobeno např. dobou nakvácení rmutu.

### 6.2.3 Analýza polyfenolických látek ve vzorcích odrůdy Ryzlink rýnský

Výsledné hodnoty stanovení spektrofotometricky metodou Folin – Ciocalteu jsou znázorněny v tabulce 20.

Tab. 20. Celkový obsah polyfenolů ve vínech Ryzlinku rýnského.

Vzorek	Absorbance	Celkový obsah polyfenolů [mg · l <sup>-1</sup> ]
RR 07	0,15673	241,99
RR 08	0,18278	280,75
RR 09	0,12487	194,5
RR 10	0,13815	214,29
RR 11	0,13983	216,8
RR 12	0,15947	246,08



Obr. 10. Celkový obsah polyfenolů v Ryzlinku rýnském.

Obsah celkových polyfenolů ve vínech Ryzlinku rýnského se pohyboval v rozmezí 194 až 281 mg/l taninu. Na výše uvedeném grafu je vidět, že nejvyšší množství polyfenolů

obsahoval Ryzlink rýnský v roce 2008, naopak nejméně polyfenolů se nacházelo v Ryzlinku rýnském v roce 2009. V ročníku 2010 a 2011 byl přibližně stejný obsah polyfenolů.

S porovnáním výsledků stanovených ve vzorku CHA (obr. 9) můžeme celkově zhodnotit že vyšší obsah polyfenolických látek obsahovala odrůda Ryzlink rýnský, průměrný obsah činil  $232,4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  polyfenolů a u odrůdy Chardonnay činil průměrný obsah polyfenolů  $214,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ .



## ZÁVĚR

V diplomové práci bylo cílem popsat vývoj aromatických látek odrůd Chardonnay a Ryzlinku rýnském v jednotlivých ročnících. Práci jsme doplnili stanovením celkového obsahu polyfenolů pomocí metody Folin – Ciocalteu.

Pro stanovení aromatických látek byla použita metoda GC. Principem této metody je oddělení a rozdělení jednotlivých těkavých látek ze vzorku na základě jejich rozdílné afinity ke stacionární a mobilní fázi. Mobilní fáze v tomto případě má plynné skupenství. Její předností je kvalitativně specifické a kvantitativně přesné stanovení koncentrace látek. Výsledné hodnoty jsou uváděny v %.

Vyšší množství aromatických látek obsahovala odrůda Chardonnay. V průměrném množství 16 látek na vzorek. Odrůda Ryzlink rýnský obsahovala průměrně 13 aromatických látek.

Vývoj aromatických látek u obou odrůd potvrzuje skutečnost, že vysoká cukernatost neznamená automaticky vysokou kvalitu aromatických látek. Aromatická zralost je tedy ovlivněna kombinací odrůdy, vlivu stanoviště a uplatňování agrotechnických zásahů. Podstatou stanovení aromatické zralosti hroznů je senzoričné stanovení aroma a chuti bobulí přímo ve vinici.

Odrůda Chardonnay poskytuje vína plná, harmonická s vyšší intenzitou, aromatických látek než odrůda Ryzlink rýnský, s níž byla srovnávána.

Pro stanovení celkových polyfenolů byla použita metoda Folin - Ciocalteuovým činidlem se spektrofotometrickým stanovením. Principem této metody je spektrofotometrické stanovení barevných produktů reakce hydroxylových skupin fenolických sloučenin s činidlem Folin - Ciocalteu. Výsledné hodnoty jsou kvantitativně přepočteny na tanin v mg.l<sup>-1</sup>.

Dřívějšími výzkumy bylo zjištěno, že obsah polyfenolů se zvyšuje po celou dobu zrání hroznů a očekává se, že víno vyrobené z později sklizených hroznů by mělo mít vyšší obsah fenolických látek. V našem případě vzorky Ryzlinku rýnského z roku 2007 a Chardonnay 2009, kdy se hrozny na výrobu sbíraly v pozdějším termínu, nevykazovaly vyšší hodnoty polyfenolů. Nicméně, koncentrace fenolických látek závisí nejen na druhu hroznů, ale také na dalších faktorech, jako jsou enologické postupy, skladovací podmínky, aj..

Z analyzovaných vín Chardonnay nejvyšší obsah polyfenolů měl ročník 2011 a nejnížší hodnota byla pozorována v ročníku 2008. U odrůdy Ryzlink rýnský se nejvyšší množství polyfenolů nacházelo v ročníku 2008 a naopak nejnížší množství v ročníku 2009.

Obsah aromatických látek a obsah polyfenolických látek ve víně jsou závislé na mnoha faktorech jako jsou vybraná odrůda vína, vliv faktorů na růst révy vinné, agrotechnických zásahů, zvolené technologii výroby, skladování atd.

Za látky zvláště významné pro Chardonnay a Ryzlink rýnský jsou pak považovány ty, které jim dávají jejich typickou ovocitost považovanou za společný znak vín z celého světa. Těmito látkami jsou převážně ethylestery, vyšší alkoholy a jejich acetáty.

Využití těchto poznatků vývoje obsahu aromatických látek a vývoje obsahu celkových polyfenolů v jednotlivých ročnících vína by mohlo do budoucna vinaři napomoci přizpůsobit výrobní proces tak, aby ve finálním produktu byl zachován co nejvyšší obsah aromatických a polyfenolických látek. K tomuto účelu bude však nezbytné provést celou řadu dalších technologických pokusů a následných analytických sledování, které umožní blíže prostudovat vztah mezi vývojem aromatických a polyfenolických látek v souvislosti s vedením technologického procesu v jednotlivých fázích.

Do budoucna by bylo vhodné tuto práci rozšířit senzoričké posouzení aroma a chuti přímo ve vinici, též by bylo vhodné rozšířit práci o stanovení konkrétních polyfenolických látek. Pro přesné vyjádření obsahu aromatických látek a polyfenolů zjištěných v této práci by bylo vhodné dohledat statistické údaje o srážkách v daných ročnících a slunečním zářením, protože tyto faktory se nemalým způsobem podílejí na výsledném obsahu aromatických látek a polyfenolů ve vínech.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Zákon č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů
- [2] *Rozdělení vín v ČR*. [online]. [cit. 2013-03-02]. Dostupný z WWW: <[www.wineofczechrepublic.cz](http://www.wineofczechrepublic.cz)>
- [3] STEIDL, R., *Sklepní hospodářství*. 1. vyd. Valtice: RADIX. 2005. 32-310 s. ISBN 80-903201-0-4
- [4] *Rozdělení vín podle barvy*. [online]. [cit. 2013-04-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.nasesklepy.cz/o-vinu/druhy-vin/rozdeleni-vin-dle-barvy>>
- [5] *Druhy vín* [online]. [cit. 2013-04-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.svcr.cz/>>
- [6] *Suroviny pro výrobu vína*. [online]. [cit. 2013-03-04]. Dostupný z WWW: <<http://vinar.unas.cz/technolb.html>>
- [7] MALÍK, F. *Ze života vína*. 1. vydání. Pardubice: Filip Trend Publishing. 2003. 59 s. ISBN 80-86282-27-9
- [8] SOLEAS, G.J., DIAMANDIS, E. P., GOLDBERG, D. M. *Wine as a Biological Fluid: History, Production, and Role in Disease Prevention*. Volume 11. 1997. Pages 287-313
- [9] KRAUS, V., HUBÁČEK, V., ACKERMANN, P. *Rukověť vinaře*. Praha: Nakladatelství KVĚT a Nakladatelství Brázda s.r.o. 2000. 192 s. ISBN 80-85362-34-1, ISBN 80-209-0286-4
- [10] *Odstopkovací mlýnek*. [online]. [cit. 2013-03-24]. Dostupný z WWW: <[http://www.monotechnology.cz/\\_mlynky-odstopkovace.html](http://www.monotechnology.cz/_mlynky-odstopkovace.html)>
- [11] *Víno*. [online]. [cit. 2013-03-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.szpi.gov.cz/cze/Vino/article.asp?id=56535&cat=2226&ts=2ec91>>
- [12] KUTTELVAŠER, Z. *Acebeda vína*. 1. vydání. Praha: RADIX s.r.o. 2003. 190 s. ISBN 80-86031-46-8
- [13] *Réva vinná*. [online]. [cit. 2013-03-02]. Dostupný z WWW: <<http://www.wine.cz/revavvo3.htm>>

- [14] ROP, O., VALÁŠEK, P. : *CD Výroba nápojů a pochutin - doplňkové texty k základnímu kurzu*, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2007, 112 s. ISBN 978-80-7318-588-6.
- [15] DÖRR, G., RÖDER, K., JOHN, F. *Was Weinfreunde wissen wollen?* 1. vydání. Praha: Ikar. 2000. 46 s. ISBN 80-7202-673-9
- [16] *Výroba červeného vína*. [online]. [cit. 2013-03-11]. Dostupný z WWW: <<http://www.svetvina.cz/rubrika.php?rid=38>>
- [17] *Hrozen jako surovina*. [online]. [cit. 2013-03-07]. Dostupný z WWW: <[www.czechwines.cz](http://www.czechwines.cz)>
- [18] KADLEC, P. *Technologie potravin I*. 1. vydání. Praha: VŠCHT. 2002. 236 s. ISBN 80-7080-510-2
- [19] HENICK:KLING, T., SANDINE, W. E., HEATHERBELL, D. A. *Evolution of Malolactic Bacterie Isolatér from Kreton Wines*. Appl. Environ Microbiol. 1989. Volume 55. Pages 2010-2016.
- [20] KRAUS, V., FOFFOVÁ, Z., VURM, B.: *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. 2. díl, Praha 2008, ISBN 978-80-86767-09-3
- [21] *Školení vína*. [online]. [cit. 2013-03-06]. Dostupný z WWW: <<http://fitnett.cz/Scripta%20v%C3%ADno.pdf>>
- [22] ROP, O., HRABĚ, J. *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. 1. vydání. Zlín: UTB. 2009. 93 s. ISBN 978-80-7318-748-4
- [23] *Cross-flow filtrace* [online]. [cit. 2013-03-16]. Dostupný z WWW: <[http://www.filtrace.com/cz/?filtry=3\\_otazky](http://www.filtrace.com/cz/?filtry=3_otazky)>
- [24] *Cross-flow filtrace obrázek* [online]. [cit. 2013-03-26]. Dostupný z WWW: <<http://www.membrain.cz/>>
- [25] *Lakáza, nový enzym využitelný v potravinářském průmyslu*. [online]. [cit. 2013-03-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&ids=421&typ=1&val=13572>>
- [26] ŠEVČÍK, L. *Červená vína*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing. 1999. 51 s. ISBN 80-7169-840-7

- [27] STEVENSON, T. *The Sotheby's Wine Encyclopedia*. 4. vyd. Londýn: Dorling Kindersley, 2005, s. 29. ISBN 0-7566-1324-8.
- [28] MAGNI, M. *Svět růžových vín: malá exkurze s enogastronomickým zaměřením*. Lednice: Mendlova univerzita v Brně. 2008. 30 -32 s.
- [29] JACKSON, R. *Wine Science: Principles and Applications*. 3. edition. Academic Press. 2008. 9-642 s. ISBN 978-0-12-373646-8
- [30] SALINAS, M. R., *Influence of prefermentative maceration temperature on the colour and the phenolic and volatile composition of rosé wines*. 2005. Volume 85. Pages 1527-1536.
- [31] PÁTEK, J. *Zrození vína*. 1. vydání. Brno: Books s.r.o. 1998. 174 s. ISBN 80-7242-039-9
- [32] ŠVEJCAR, V., VOLDŘICH, R. *Vinařství – technologie speciálních vín*. Brno: VŠZe. 1991.
- [33] HÁLKOVÁ J., RUMÍŠKOVÁ M., RIEGLOVÁ J.: *Analýza potravin*. 2. vydání u Újezdu u Brna: RNDr. Ivan Straka, 2001, 101 s. ISBN 80-86494-02-0
- [34] PAVLOUŠEK, P. *Pěstování révy vinné*. Praha: Grada Publishing, a.s. 2011. 75 s. ISBN 978-80-247-3314-2
- [35] FARKAŠ, J., *Vinárstvo I*. Bratislava: Slovenské vydavateľstvo technické literatúry. 1957. 46 s
- [36] RAPP, A., *Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception*. Volume 42, Issue 06, pages 351–363, December 1998
- [37] MICHLMAYR, H., NAUER, S., BRANDES, W., SCHÜMANN, CH., KULBE, K., M. DEL HIERRO, A., EDER, R.: *Release of wine monoterpenes from natural precursors by glycosidases from *Oenococcus oeni**. Volume 135, Issue 1, 1 November 2012, Pages 80-87
- [38] ILAND, P., CAGO, P., HUMPRYS, R. *Austalin Wine, styles and tastes*. Patrick Iland Wine Promotion Adelaide. 2002. 202 s.
- [39] STÁVEK, J.: *Aroma vína a sloučeniny síry*. *Vinařský obzor*. 2002, 3, str.130-131. ISSN 1212-7884

- [40] PAVLOUŠEK, P.: *Encyklopedie révy vinné*. 2. vydání. Praha: Computer Press a.s., 2008, 316 s., ISBN 978-80-251-2263-1. 38
- [41] ÁLVAREZ – PÉREZ, J., CAMPO, E., SAN – JUAN, F., COQUE, J., FERREIRA, V., HERNÁNDEZ – ORTE, P.: *Sensory and chemical characterisation of the aroma of Prieto Picudo rosé wines: The differential role of autochthonous yeast strains on aroma profiles*. Volume 133, Issue 2, 15 July 2012, Pages 284 - 292
- [42] *Aroma vín*. [online]. [cit. 2013-03-06]. Dostupný z WWW: <<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=22173&ids=159>>
- [43] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin II*, 1.vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 154 s. ISBN 80-902391-4-5
- [44] NOGUEROL-PATO, R., GONZÁLEZ-BARREIRO, C., CANCHO-GRANDE, B., SANTIAGO, J.L., MARTÍNÉZ, M.C., SIMAL-GÁNDARA, J.: *Aroma potential of Brancellao grapes from different cluster position*. Volume 132, Issue 1, A May 2012, Pages 112-124
- [45] RIBÉREAU-GAYON, P., et al. *Handbook of enology*. vol. 2. Chichester: John Wiley & Sons, 2000.
- [46] ROJAS, V., GIL, J.V., PINAGA, F., MANZARES, P. *Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations*. Int.J.Food Microbiol. Volume 86, 2003, Pages 181-188
- [47] FARKAŠ, J. *Biotechnológia vína*. 2. vydání. Bratislava: ALFA. 1983. 978 s.
- [48] LILLY, M., BAUER, F.F., LAMBRECHTS, M.G., SWIGERS, J.H., COZZOLINE, D., PRETORIUS, I.S. *The effect of increased yeast alcohol acetyltransferase and esterase activity on the flavour profile of wine and distillates*. Volume 23. 2006. Pages 641-659.
- [49] SWIGERS, J. H., BARTOWSKY, E. J., HENSCHKE, P. A., PRETORIUS, I. S.: *Yeast and Bacterial Modulation of Wine Aroma and Flavour: Part 7*. The Australian Journal of Grape and Wine Research. Volume 11. 2005. Pages 139–173.

- [50] STRAUSS, M.L.A., JOLLY, N.P., LAMBRECHTS, M.G., VAN RESBURG, P. *Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-Saccharomyces wine yeasts*. J. App. Microbiol. Volume 91. 2001. Pages 182
- [51] BULKOVÁ, V. *Rostlinné potraviny*. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a ne-lékařských zdravotnických oborů. 2011. 93 s. ISBN 978-80-7013-532-7
- [52] MATEO, J. J., JIMENEZ, M. *Monoterpenes in grape juice and wines*. Journal of Chromatography A 881. 2000. Pages 557-567
- [53] PAVLOUŠEK, P. *Výroba vína u malovinařů*. 2. vydání. Praha: Grada Publishing, a.s. 2010. 12 s. ISBN 978-80-247-3487-3
- [54] STÁVEK, J. *Odrudové aroma-utopie nebo hýčkaná vlastnost vína?* <http://www.enolog.cz/odrudove-aroma-utopie-nebo-hyckana-vlastnost-vina>
- [55] RODRIGUEZ-DELGADO, M-A., GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, G., CONDE-GONZÁLEZ, J-E., PÉREZ-TRUJILLO, J-P.: *Principal component analysis of the polyphenol content in zouny red wines*. Food Chemistry. Volume 78, Issue 4, September 2002, Pages 523-532
- [56] ŠTULÍK, K. a kolektiv. *Analytické separační metody*. Praha: Nakladatelství Karolinum. 2005. 94 s. ISBN 80-246-0852-9
- [57] SMOLKOVÁ, E., FELTL, L. *Analýza látek v plynném stavu*. Praha: Nakladatelství technické literatury. 1991. 234,383 s. ISBN 80-03-00604-X
- [58] HÁLKOVÁ, J., RIEGLOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M. *Fyzikální chemie laboratorní cvičení II*. Újezd u Brna: RNDr. Ivan Straka. 1. vydání. 2000. 38 s. ISBN 80-902775-1-9
- [59] PARLIMENT, T. H. *Hamper Preparation Techniques for Gas-Liquid Chromatographic Analysis of Biologically Derived Aroma*. 1986. Volume 317. pp 34-52.
- [60] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. upravené a doplněné vydání. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda. 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2
- [61] RODRIGUÉZ-BENCOMO, J. J., et al. *Determination of major compounds in sweet wines by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography*. Journal of Chromatography A. 2003, 991, s. 13-22

- [62] *Pojmy v GC*. [online]. [cit. 2013-03-05]. Dostupný z WWW:  
<[http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem\\_sekce/predmety/C7300/GC/uvod.pdf](http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/GC/uvod.pdf)>
- [63] *Schéma GC*. [online]. [cit. 2013-03-15]. Dostupný z WWW:  
[http://sk.wikipedia.org/wiki/Plynov%C3%A1\\_chromatografia](http://sk.wikipedia.org/wiki/Plynov%C3%A1_chromatografia)
- [64] *Mikroextrakce tuhou fází*. [online]. [cit. 2013-03-17]. Dostupný z WWW:  
<<http://www.vscht.cz/kot/resources/studijni-materialy/lab/c.pdf>>
- [65] *Základní části hmotnostního spektrofotometru*. [online]. [cit. 2013-03-15]. Dostupný z WWW: <[http://holcapek.upce.cz/teaching/MS\\_2012/MS01\\_Uvod.pdf](http://holcapek.upce.cz/teaching/MS_2012/MS01_Uvod.pdf)>
- [66] *Schéma hmotnostního spektrometru*. [online]. [cit. 2013-03-16]. Dostupný z WWW: <[http://www.uhkt.cz/files/proteomika/Druhy\\_den-Principy\\_MS.pdf](http://www.uhkt.cz/files/proteomika/Druhy_den-Principy_MS.pdf)>
- [67] *Metoda SPME*. [online]. [cit. 2013-03-15]. Dostupný z WWW:  
<<http://soubory.vfu.cz/fvhe/metoda-spme/index.html>>
- [68] PAWLISZYN, J. *Applications of solid-phase mixroextraction in food analysis*. Journal of Chromatography A. 200,. Volume 880. Pages 35-62
- [69] *Schéma SPME zařízení*. [online]. [cit. 2013-03-17]. Dostupný z WWW:  
<<http://analyt.wz.cz/Priprava/spme1.pdf>>
- [70] PROCHÁZKOVÁ, D. *Mikroextrakce na tuhou fázi a stanovení obsahu analytů*. Chemické listy 96. 2002. 827-852
- [71] ROBBINS, R. J.: *Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology*. J. Agric. Food Chem. 51, 2003, 2866–2887.
- [72] *Analýza potravin – přírodní látky, distanční text*. 2007. [online]. [cit. 2013-04-18]. Dostupný z WWW: <<http://utb.cepac.cz/Screens/Explorer.aspx?id=31>>
- [73] STEVENS, J., TAYLOR, A., DEINZER, M.: *Quantitative Analysis of Xanthohumol and Related Prenylflavonoids in Hops and Beer by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*. J. Chromatogr. A 832, 1999, 97–107.
- [74] *Kapilární zónová elektroforéza*. [online]. [cit. 2013-03-17]. Dostupný z WWW:  
<<http://analyt.wz.cz/Priprava/spme1.pdf>><http://www.chempoint.cz/kapilarni-zonova-elektroforeza-cze>>



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

% obj.	objemové procento
°NM	stupeň normalizovaného moštoměru
°C	Celsiův stupeň
µg	mikrogram
BOK	biologické odbourávání kyselin
CoA	koenzym A
ECD	detektor elektronového záchytu
ES	Evropské společenství
EU	Evropská unie
FID	plamenový ionizační detektor
FPD	plamenový fotometrický detektor
FRU	Fruktóza
GC	plynová chromatografie
GLU	Glukóza
CHOP	Chráněné označení původu
CHZO	Chráněné zeměpisné označení
MPa	Megapascal
MS	hmotnostní spektrometrie
SOT	Společná organizace trhu
SPME	mikroextrakce tuhou fází
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
TCD	tepelně-vodivostní detektor

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. Odstopkovací mlýnek .....	18
Obr. 2. Cross – flow filtrace .....	27
Obr. 3. Postupy výroby šumivého a perlivého vína .....	32
Obr. 4. Schéma GC .....	47
Obr. 5. Schéma hmotnostního spektrometru .....	50
Obr. 6. SPME zařízení pro aplikaci na GC .....	51
Obr. 7. Zastoupení vybraných AL ve vzorcích CHA podle plochy píku .....	66
Obr. 8. Zastoupení vybraných AL ve vzorcích RR podle plochy píku.....	73
Obr. 9. Celkový obsah polyfenolů v Chardonnay.....	75
Obr. 10. Celkový obsah polyfenolů v Ryzlinku rýnském .....	76

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1. Přehled esterů ve víně .....	36
Tab. 2. Přehled monoterpenů ve víně .....	37
Tab. 3. Přehled těkavých fenolů ve víně .....	39
Tab. 4. Přehled vonných thiolů ve víně .....	40
Tab. 5. Přehled fenolických látek u bílých a červených vín .....	42
Tab. 6. Popis jednotlivých vín použitých k analýzám .....	55
Tab. 7. Parametry měření na přístroji GCMS – QP2010 Ultra .....	56
Tab. 8. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 08.....	61
Tab. 9. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 09.....	62
Tab. 10. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 10 .....	63
Tab. 11. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 11.....	64
Tab. 12. Přehled aromatických látek ve vzorku CHA 12.....	65
Tab. 13. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 07.....	67
Tab. 14. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 08 .....	68
Tab. 15. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 09.....	69
Tab. 16. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 10.....	70
Tab. 17. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 11.....	71
Tab. 18. Přehled aromatických látek ve vzorku RR 12 .....	72
Tab. 19. Celkový obsah polyfenolů ve vínech Chardonnay .....	75
Tab. 20. Celkový obsah polyfenolů ve vínech Ryzlinku rýnského.....	76

## SEZNAM PŘÍLOH

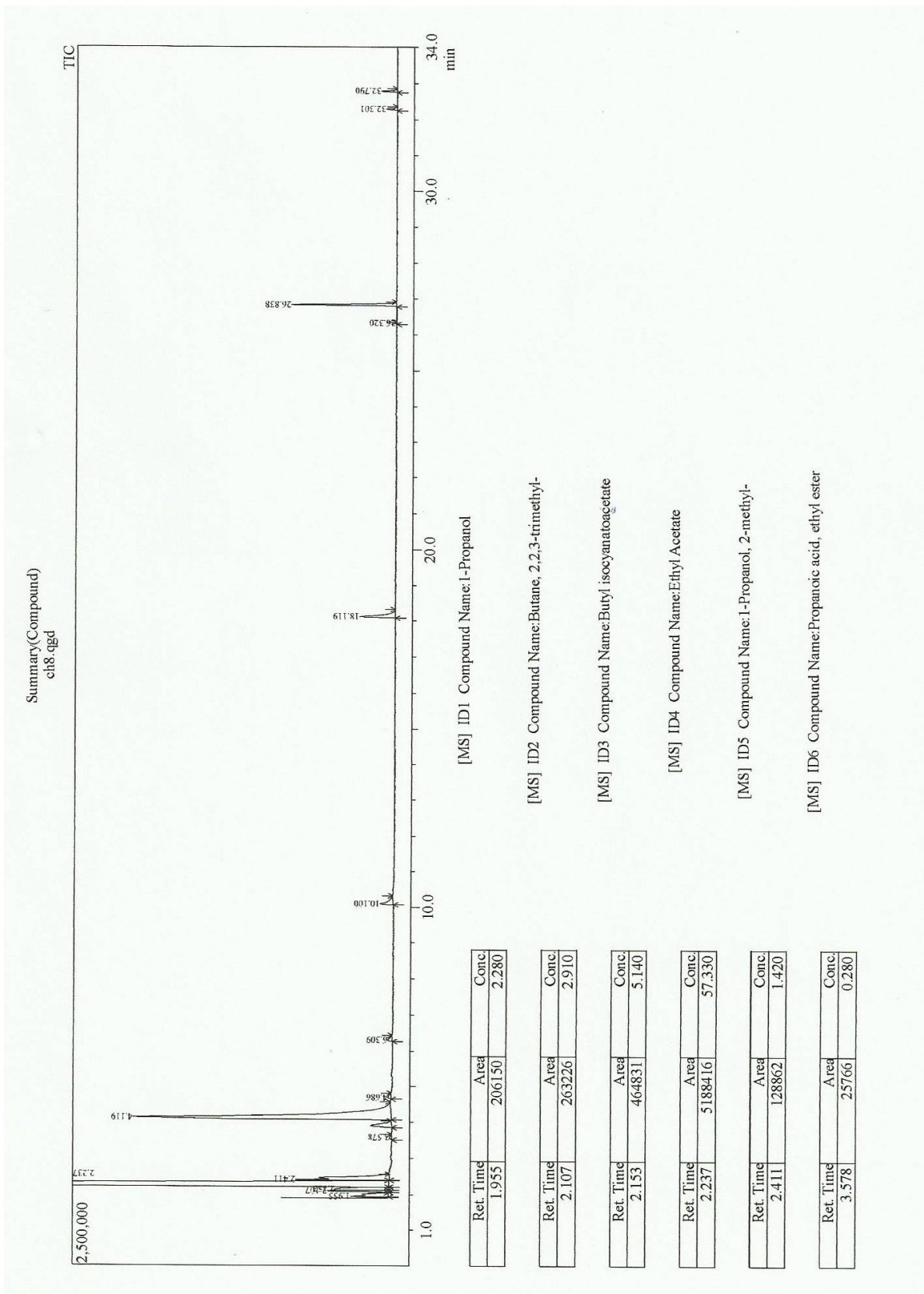
Příloha P I: Chromatogram vzorku CHA 08

Příloha P II: Chromatogram vzorku RR 08

Příloha P III: Procentuální podíl AL ve vzorcích CHA

Příloha P III: Procentuální podíl AL ve vzorcích RR

# PŘÍLOHA P I: CHROMATOGRAM VZORKU CHA 08



Ret. Time	Area	Conc.
4.119	2049069	22.640

[MS] ID7 Compound Name:1-Pentanol

Ret. Time	Area	Conc.
4.686	51488	0.570

[MS] ID8 Compound Name:Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
6.309	54836	0.610

[MS] ID9 Compound Name:Butanoic acid, ethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
10.100	86661	0.960

[MS] ID10 Compound Name:1-Butanol, 3-methyl-, acetate

Ret. Time	Area	Conc.
18.119	152379	1.680

[MS] ID11 Compound Name:Hexanoic acid, ethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
26.320	6423	0.070

[MS] ID12 Compound Name:Butanedioic acid, diethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
26.838	307805	3.400

[MS] ID13 Compound Name:Octanoic acid, ethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
32.790	43607	0.480

[MS] ID14 Compound Name:Decanoic acid, ethyl ester

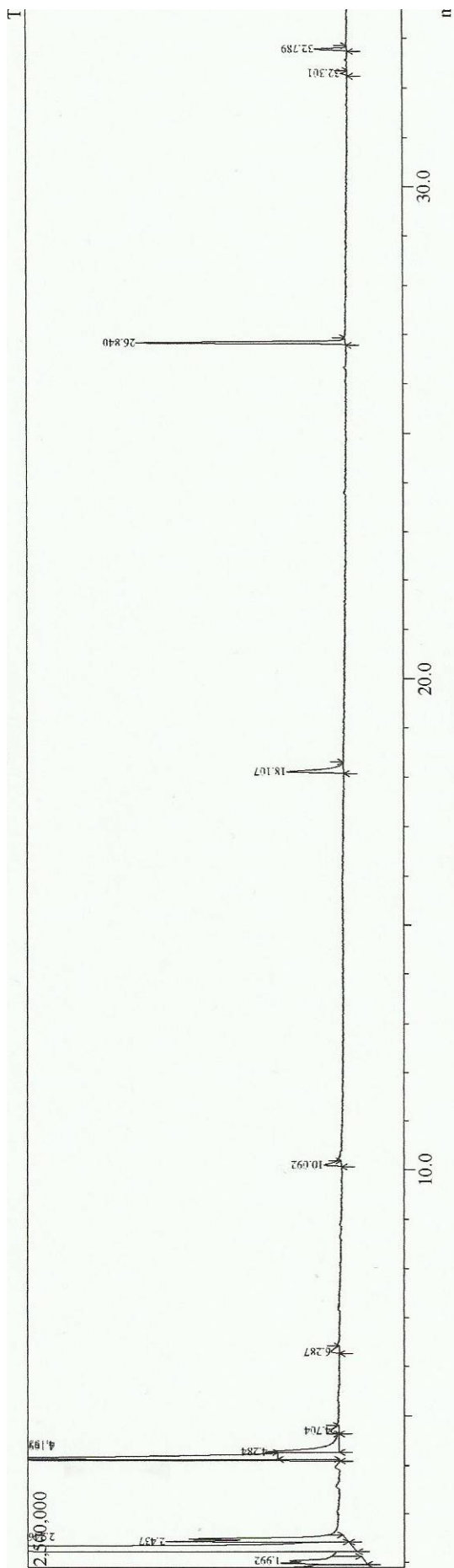
Ret. Time	Area	Conc.
-----	-----	-----

[MS] ID15 Compound Name:Ethane, 1,1-dieethoxy-

Ret. Time	Area	Conc.
32.301	20095	0.220

[MS] ID16 Compound Name:2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester, exo-

# PŘÍLOHA P II: CHROMATOGRAM VZORKU RR 08



[MS] ID1 Compound Name:1-Propanol

[MS] ID2 Compound Name:Ethyl Acetate

[MS] ID3 Compound Name:1-Propanol, 2-methyl-

[MS] ID4 Compound Name:1-Pentanol

[MS] ID5 Compound Name:Sulphuric acid dibutyl ester

[MS] ID6 Compound Name:Butanoic acid, ethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
1.992	298356	1.360

Ret. Time	Area	Conc.
2.246	16998328	77.320

Ret. Time	Area	Conc.
2.437	397427	1.810

Ret. Time	Area	Conc.
4.109	581782	2.650

Ret. Time	Area	Conc.
4.284	397994	1.810

Ret. Time	Area	Conc.
10.101	79152	0.390

[MS] ID7 Compound Name: Pentanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
18.106	258349	1.260

[MS] ID8 Compound Name: Octanoic acid, ethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
26.839	690173	3.380

[MS] ID9 Compound Name: 2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester, exo-

Ret. Time	Area	Conc.
32.301	9332	0.050

[MS] ID10 Compound Name: Decanoic acid, ethyl ester

Ret. Time	Area	Conc.
32.788	143504	0.700

[MS] ID11 Compound Name: Formic acid, pentyl ester

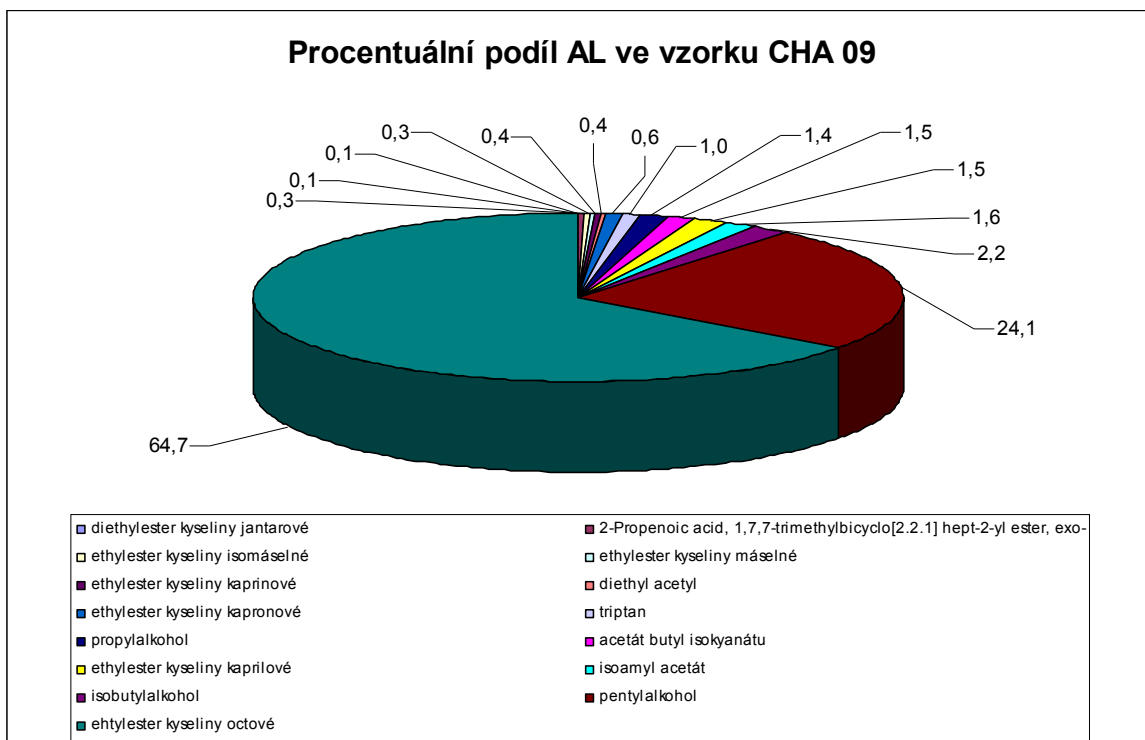
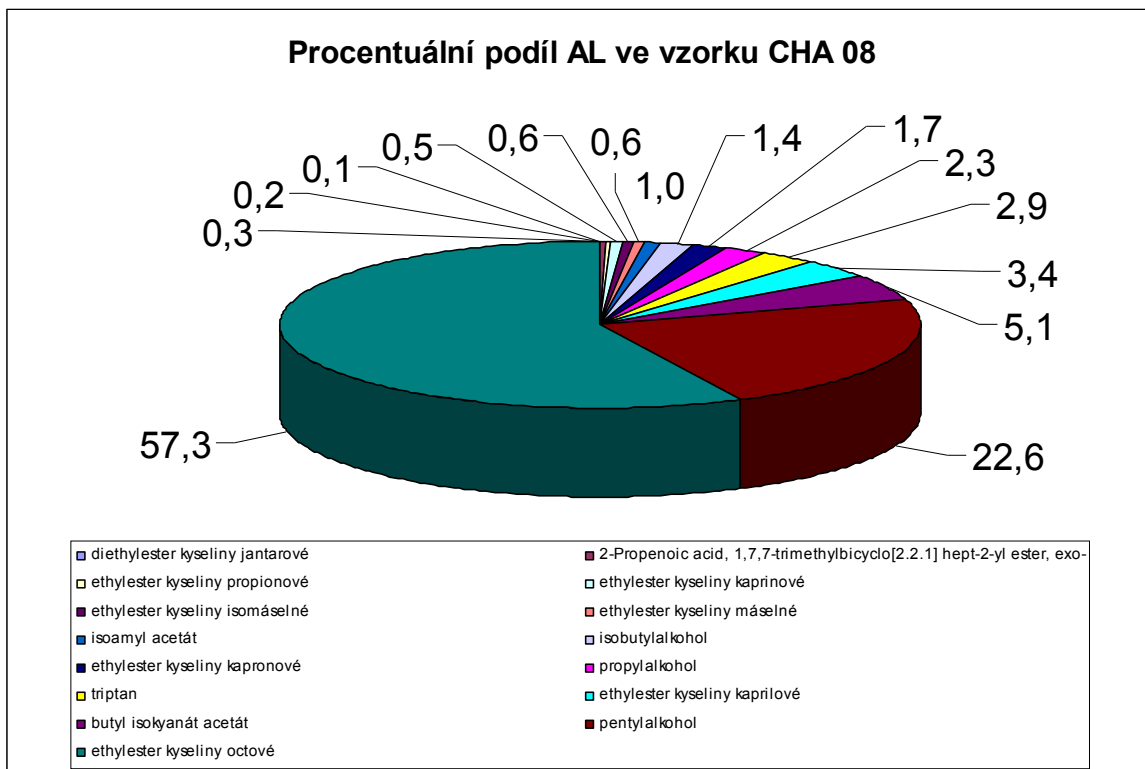
Ret. Time	Area	Conc.
4.138	1688719	8.260

[MS] ID12 Compound Name: Butanoic acid, ethyl ester

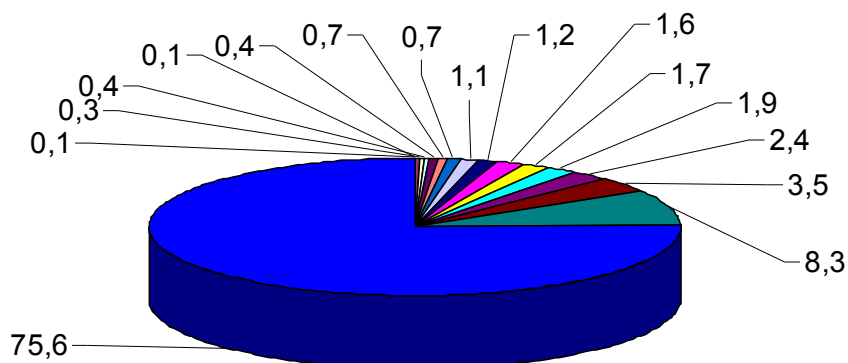
Ret. Time	Area	Conc.
6.284	61450	0.300



## PŘÍLOHA P III: PROCENTUÁLNÍ PODÍL AL VE VZORCÍCH CHA

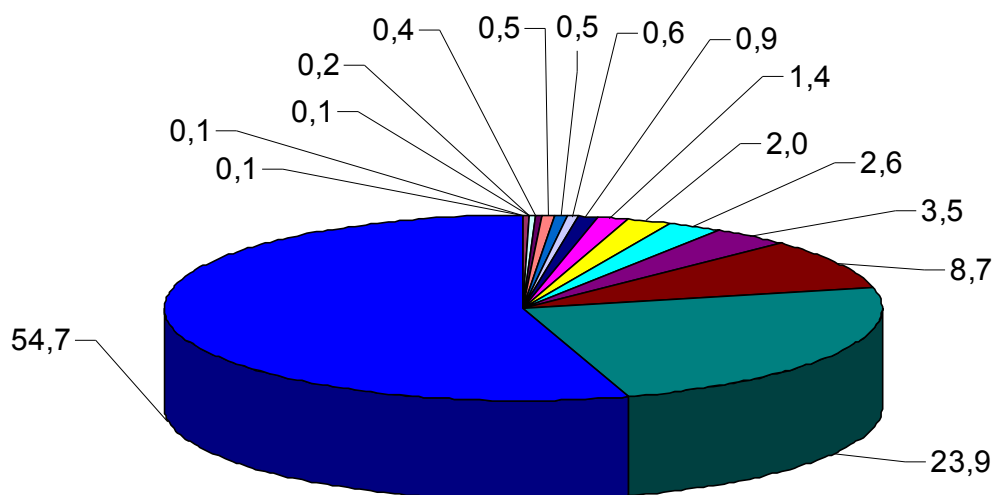


### Procentuální podíl AL ve vzorku CHA 10



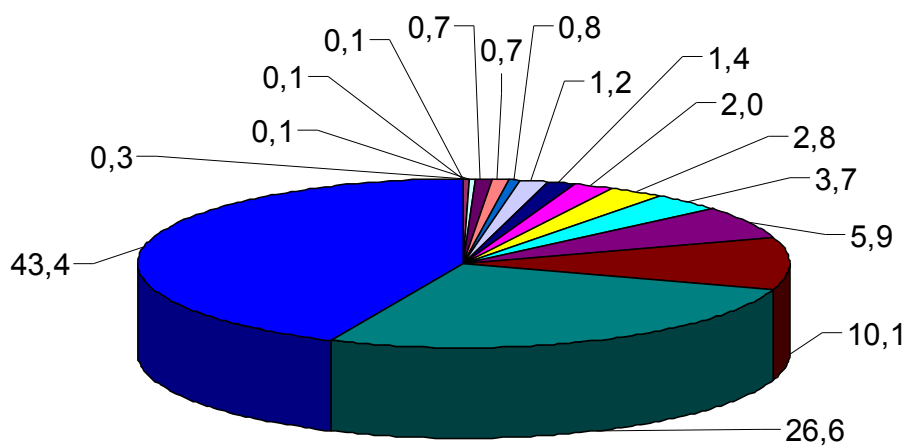
- |   |                                |
|---|--------------------------------|
| 2-Propanoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1] hept-2-yl ester, exo- | ethylester kyseliny propionové |
| ethylester kyseliny isomáselné  | ethylester kyseliny máslé      |
| (2-ethoxyethoxy) octová kyselina                                      | ethylester kyseliny kaprinové  |
| triptan   | ethylester kyseliny kapronové  |
| ethylester kyseliny mléčné  | butyl isokyanát acetát         |
| propylalkohol   | isoamyl acetát                 |
| ethylester kyseliny kaprilové   | isobutylalkohol                |
| pentylalkohol   | ethylester kyseliny octové     |

### Procentuální podíl AL ve vzorku CHA 11



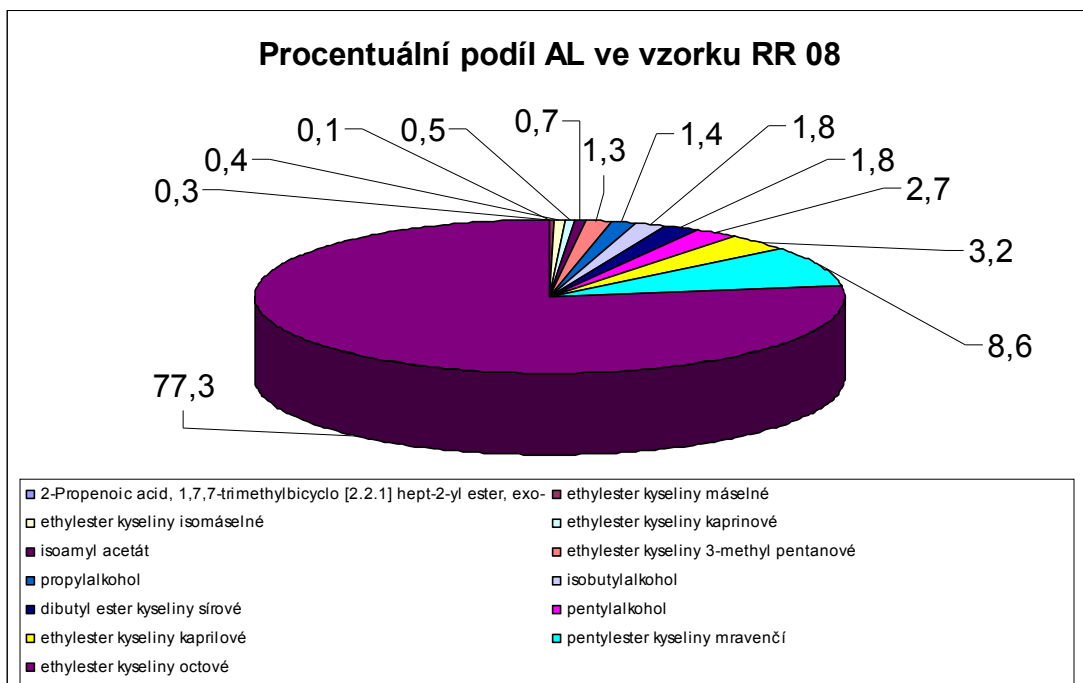
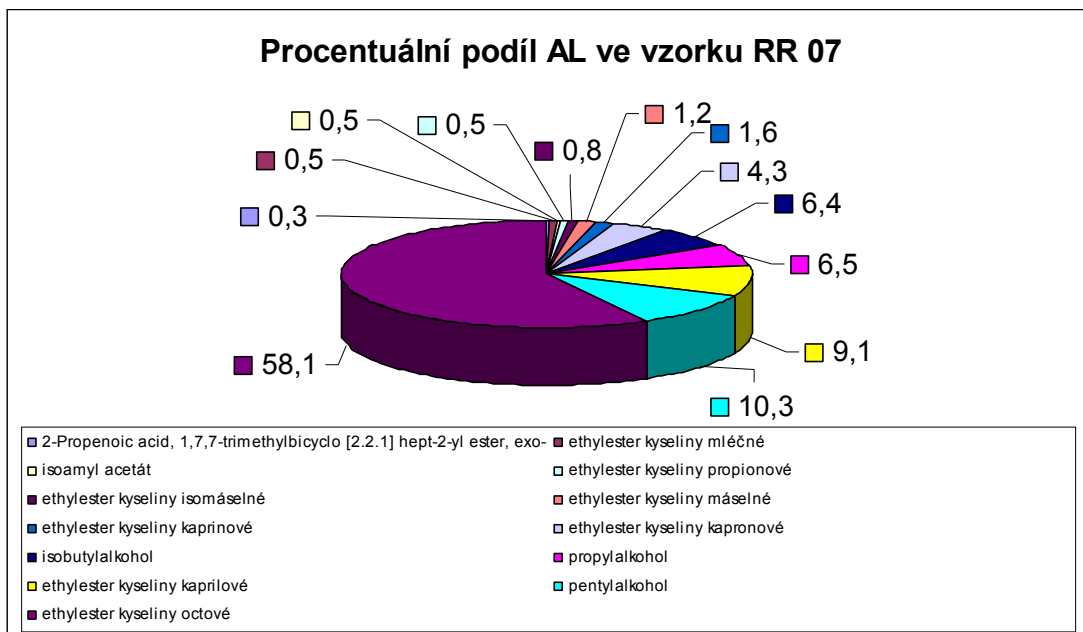
- |                                |                            |                               |                                |
|--------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| ethylester kyseliny propionové | hexylester kyseliny octové | isobornylalkohol              | ethylester kyseliny isomáselné |
| ethylester kyseliny máslé      | diethyl acetal             | ethylester kyseliny kaprinové | triptan                        |
| ethylester kyseliny kapronové  | 2,2,4,4-tetramethyl pentan | ethylester kyseliny kaprilové | isoamyl acetát                 |
| propylalkohol                  | isobutylalkohol            | pentylalkohol                 | ethylester kyseliny octové     |

### Procentuální podíl AL ve vzorku CHA 12

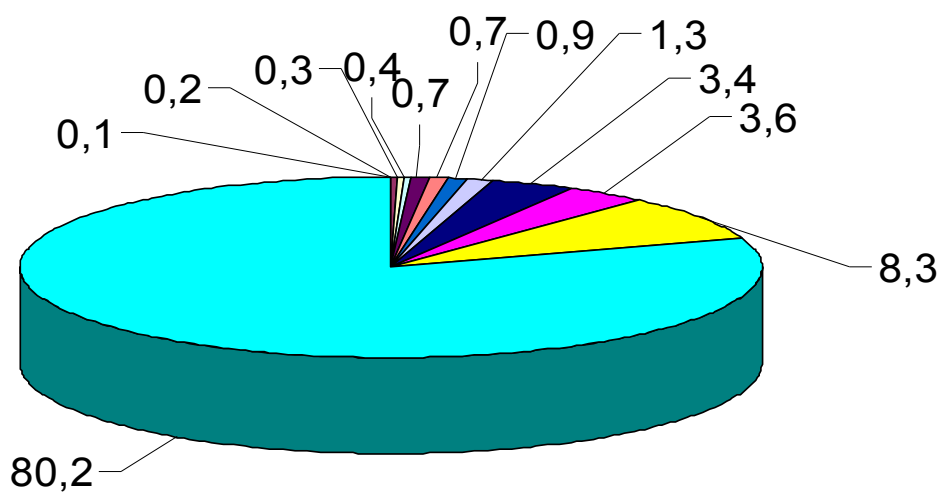


- |                                 |   |
|---------------------------------|---|
| ■ hexylester kyseliny octové    | ■ ethylester kyseliny máslé   |
| □ diethyl acetal                | □ 2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1] hept-2-yl ester, exo- |
| ■ fenylethylalkohol             | ■ propylalkohol   |
| ■ ethylester kyseliny kaprinové | □ ethylester kyseliny kapronové   |
| ■ 3-methylpentan                | ■ ethylester kyseliny kaprilové   |
| ■ isoamyl acetát                | ■ isobutylalkohol   |
| ■ 4-methyl-1-hexen              | ■ pentylalkohol   |
| ■ pentylester kyseliny mravenčí | ■ ethylester kyseliny octové  |

## PŘÍLOHA P III: PROCENTUÁLNÍ PODÍL AL VE VZORCÍCH RR

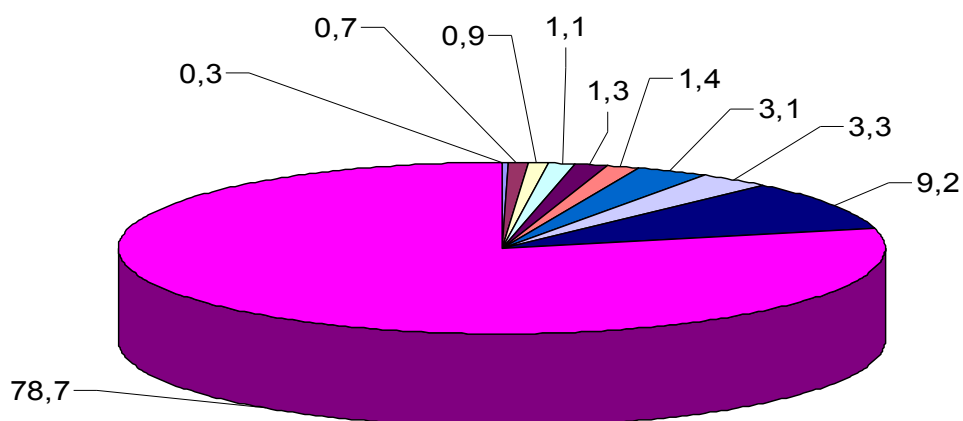


### Procentální podíl AL ve vzorku RR 09



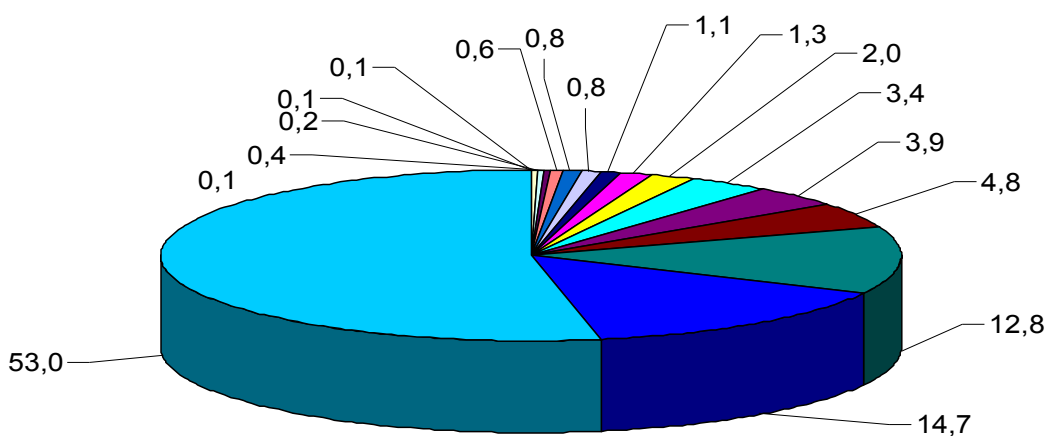
- |  |  |
|--|--|
| ■ 2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, exo- | ■ ethylester kyseliny isomáslé           |
| □ ethylester kyseliny máslé  | □ isoamyl acetát                         |
| ■ ethylester kyseliny kaprinové  | ■ isobutylalkohol                        |
| ■ propylalkohol  | □ ethylester kyseliny 3-methyl pentanové |
| ■ ethylester kyseliny kaprilové  | ■ pentylalkohol                          |
| ■ pentylester kyseliny mravenčí  | ■ ethylester kyseliny octové             |

### Procentální podíl AL ve vzorku RR 10



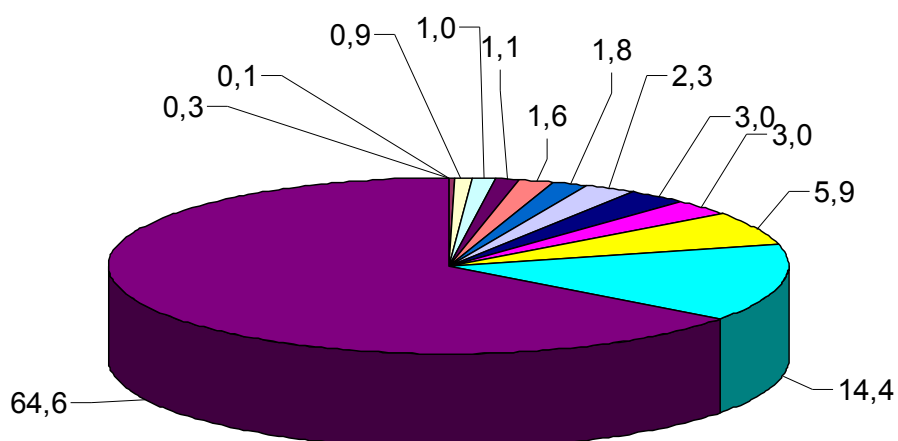
- |  |                                 |
|--|---------------------------------|
| ■ ethylester kyseliny máslé              | ■ isoamyl acetát                |
| □ ethylester kyseliny kaprinové          | □ isobutylalkohol               |
| ■ ethylester kyseliny 3-methyl pentanové | ■ propylalkohol                 |
| ■ ethylester kyseliny mléčné             | □ ethylester kyseliny kaprilové |
| ■ pentylalkohol                          | ■ ethylester kyseliny octové    |

Procentální podíl AL ve vzorku RR 11



- |  |                                  |
|--|----------------------------------|
| ■ 2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, exo- | ■ ethylester kyseliny propionové |
| □ diethyl acetyl   | □ ethylester kyseliny máselné    |
| ■ ethylester kyseliny isomáselné   | ■ isoamyl acetát                 |
| ■ ethylester kyseliny 3-methyl pentanové                                 | ■ ethylester kyseliny kaprinové  |
| ■ ethylester kyseliny mléčné   | ■ propylalkohol                  |
| ■ ethylester kyseliny kaprilové  | ■ dibutyl ester kyseliny sírové  |
| ■ isobutylalkohol  | ■ n-Butanol                      |
| ■ pentylester kyseliny mravenčí  | ■ pentylalkohol                  |
| ■ ethylester kyseliny octové   |                                  |

Procentální podíl AL ve vzorku RR 12



- |  |                                 |
|--|---------------------------------|
| ■ 2-Propenoic acid, 1,7,7-trimethylbicyclo [2.2.1] hept-2-yl ester, exo- | ■ ethylester kyseliny máselné   |
| □ propylalkohol  | □ isoamyl acetát                |
| ■ ethylester kyseliny 3-methyl pentanové                                 | ■ ethylester kyseliny kaprinové |
| ■ isobutylalkohol  | □ n-Butanol                     |
| ■ ethylester kyseliny kaprilové  | ■ 3-methylpentan                |
| ■ pentylalkohol  | ■ isoamyl acetát                |
| ■ ethylester kyseliny octové   |                                 |