

Teze disertační práce

**ZMĚNY BIOAKTIVNÍCH A SENZORICKY  
VÝZNAMNÝCH LÁTEK RÉVOVÝCH VÍN V  
PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ**

**CHANGES OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND  
SENSORIALLY SIGNIFICANT SUBSTANCES PRESENT IN  
GRAPE WINES DURING THEIR STORAGE**

Autor: **Ing. Lukáš Snopek, Ph.D.**

Studijní program: P2901 Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: 2901V013 Technologie potravin

Školitel: doc. Ing. Jiří Mlček, Ph.D.

Oponenti:  
prof. Ing. Vojtěch Řezníček, CSc.  
doc. RNDr. Tünde Juríková, Ph.D.  
doc. Ing. Martin Koudela, Ph.D.

Zlín, říjen 2019

© Ing. Lukáš Snopek, Ph.D.

Vydala **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně** v edici **Doctoral Thesis Summary**.  
Publikace byla vydána v roce 2019.

Klíčová slova: *víno, bioaktivní látky, senzoricky aktivní sloučeniny, fenolické sloučeniny, enologické ukazatele, antioxidační aktivita*

Key words: *wine, bioactive substances, sensory active compounds, phenolics, oenological parameters, antioxidant activity*

Práce je dostupná v Knihovně UTB ve Zlíně.

Tato disertační práce byla spolufinancována z projektů Interní grantové agentury Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně číslo IGA/FT/2016/008, IGA/FT/2017/006, IGA/FT/2018/006 a IGA/FT/2019/004.

ISBN 978-80-7454-916-8

*,,Il vino è la risposta della terra al sole“*

*,,Víno je odpověď Země na Slunce“*

- Margaret Fuller

### *Poděkování*

Rád bych poděkoval doc. Ing. Jiřímu Mlčkovi, Ph.D. za vedení mé dizertační práce, cenné rady a odbornou pomoc. Dále chci poděkovat konzultantům doc. Ing. Pavlu Valáškovi, CSc. a doc. Ing. Miroslavu Fišerovi, CSc. za odborné rady a pomoc. Děkuji svým obětavým kolegům z Ústavu analýzy a chemie potravin za vytvoření skvělého pracovního prostředí i všem ostatním, kteří mě během studia inspirovali, podporovali nebo jakkoliv přispěli k dokončení této práce.

Zvláštní poděkování patří mé rodině a mým blízkým za trpělivost a podporu během celého mého studia.

## **ABSTRAKT**

Víno patří k nejčastěji konzumovaným alkoholickým nápojům po celém světě, a to kvůli jeho organoleptickým vlastnostem, vzhledem k přítomnosti aromatických a chuťových látek, alkoholu, cukrům a kyselinám, minerálním látkám, které společně tvoří buketní základ vína. Důležitým faktorem je i zdravotní působení, zejména kvůli přítomnosti mnoha bioaktivních sloučenin ve víně, jakými jsou antioxidanty. Jedná se především o polyfenolické sloučeniny, kam se řadí fenolické kyseliny, flavonoidy, antokyaniny a katechiny a resveratrol, jako nejúčinnější antioxidanty vína. Disertační práce se zabývá stanovením jak důležitých enologických parametrů a senzoricky významných látek u vín ( $\text{SO}_2$ , alkohol, sacharidy (cukry), organické kyseliny, aromatické látky), tak i významných biologicky aktivních látek, které vykazují antioxidantní aktivitu (polyphenoly, flavonoidy, antokyaniny), a také sledováním jejich změn během skladování vín (1-12 měsíců) ve vybraných vzorcích bílých, červených a růžových vín. Následně jsou výsledky posouzeny pomocí korelační analýzy a také vícerozměrnou statistickou metodou, shlukovou analýzou. Lépe hodnocenými vínami z hlediska antioxidantních parametrů (celkový obsah polyfenolů, flavonoidů, antokyaninů, hodnoty antioxidantní aktivity) byly červená vína, růžová a bílá vína mají tyto hodnoty několikrát nižší. K odrůdám červených vín, které vykazují významnou antioxidantní aktivitu, patří odrůdy Zweigeltrebe, Rulandské modré a Neronet, k odrůdám bílých vín Muškát moravský, Sauvignon a Sylvánské zelené, a u vzorků růžových vín Svatovavřinecké rosé a Rulandské modré rosé. Skladováním vín dochází ke snížení uvedených parametrů, v různém rozsahu u jednotlivých druhů vín.

## **ABSTRACT**

Wine is one of the most frequently consumed alcoholic beverages worldwide due to its organoleptic qualities, such as aroma and taste, and also due to the alcohol, sugars and acids, and minerals presence that together form the bouquet of wine. Positive health effects are also an important factor, mainly due to the presence of many bioactive compounds in wine, such as antioxidants. These are mainly polyphenolic compounds, which include phenolic acids, flavonoids, anthocyanins and catechins and resveratrol, as the most effective antioxidants of wine. The dissertation thesis deals with the determination of significant oenological parameters and also sensory important substances in wines ( $\text{SO}_2$ , alcohol, saccharides (sugars), organic acids, aromatic substances) as well as relevant biologically active substances that show antioxidant activity (polyphenols, flavonoids, anthocyanins), and also by monitoring their changes during wine storage (1 – 12 months) in selected samples of white, red and rosé wines. Subsequently, the results are evaluated by correlation analysis and also by multivariate statistical method, cluster analysis. The best evaluated wines in terms of antioxidant parameters (total content of polyphenols, flavonoids, anthocyanins, antioxidant activity values) were red wines. Rosé and white wines have these values several times lower. Red wine varieties that show significant antioxidant activity include the Zweigeltrebe, Pinot Noir and Neronet varieties, to the rosé varieties with high antioxidant activity belong St. Lawrence Rosé and Pinot Noir Rosé, and to the white grape varieties Moravian Muscat, Sauvignon and Sylvaner. Storage of wines leads to a decrease of the given parameters, in various range for different types of wines.

# OBSAH

ABSTRAKT .....	4
1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY .....	7
2. CÍLE PRÁCE .....	11
2.1    Dílčí cíle.....	11
3. METODIKA PRÁCE.....	12
3.1    Materiál a chemikálie.....	12
3.1.1    Vzorky bílých vín .....	13
3.1.2    Vzorky červených vín.....	14
3.1.3    Vzorky růžových vín .....	14
3.2    Odběr vzorků .....	14
3.3    Vlastní metody stanovení.....	15
3.3.1    Stanovení oxidu siřičitého metodou OIV-MA-AS323-O4B:R 2009 .....	15
3.3.2    Stanovení sacharidů a alkoholu (etanolu) metodou HPLC - RID .....	15
3.3.3    Stanovení organických kyselin metodou HPLC - DAD.....	15
3.3.4    Stanovení obsahu celkových polyfenolů (CP) spektrofotometricky .....	15
3.3.5    Stanovení jednotlivých fenolických látek metodou HPLC - DAD .....	15
3.3.6    Stanovení obsahu celkových flavonoidů (FL) spektrofotometricky .....	16
3.3.7    Stanovení jednotlivých antokyanů metodou HPLC - DAD .....	16
3.3.8    Stanovení antioxidační aktivity spektrofotometricky.....	16
3.3.9    Stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscenční metodou PCL.....	16
3.3.10    Identifikace a stanovení aromatických látek pomocí metody GC-MS .....	17
3.4    Statistické vyhodnocení získaných dat .....	17
4. VÝSLEDKY A DISKUZE .....	18
4.1    Stanovení oxidu siřičitého ve vzorcích vína .....	18
4.2    Stanovení majoritních sacharidů.....	23
4.3    Stanovení alkoholu .....	25
4.4    Identifikace a stanovení jednotlivých organických kyselin .....	26
4.5    Stanovení celkového obsahu polyfenolů .....	28
4.6    Identifikace a stanovení obsahu jednotlivých fenolických sloučenin.....	30
4.7    Stanovení celkového obsahu flavonoidů .....	35
4.8    Identifikace a stanovení jednotlivých antokyanů.....	37
4.9    Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH.....	41

4.10 Stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS .....	43
4.11 Stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscenční metodou PCL .....	45
4.12 Identifikace a stanovení aromatických látek pomocí metody GC-MS.....	46
5. ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ POMOCÍ KORELAČNÍ A SHLUKOVÉ ANALÝZY ..	49
5.1 Korelační analýza .....	49
5.1.1 Vztah celkových polyfenolů a antioxidační aktivity.....	51
5.1.2 Vztah celkových flavonoidů a antioxidační aktivity.....	51
5.1.3 Vztah antokyanů a antioxidační aktivity.....	52
5.1.4 Vztah nejvýznamnějších fenolických sloučenin a antioxidační aktivity .....	52
5.1.5 Vztah oxidu siřičitého a antioxidačních parametrů.....	53
5.2 Shluková analýza.....	53
6. PŘÍNOS PRO VĚDU A VÝZKUM .....	58
7. ZÁVĚR .....	59
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	62
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	70
SEZNAM TABULEK.....	71
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....	72
PUBLIKAČNÍ ČINNOST AUTORA .....	73
ODBORNÝ ŽIVOTOPIS AUTORA.....	75

# 1. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

„*In vino veritas*“, latinské přísloví, v překladu „Ve víně je pravda“ výstižně naznačuje významné postavení tohoto nápoje. Mnoho civilizací v celé historii má podobné fráze vzhledem k tomu, že víno zastávalo a stále má zvláštní místo v různých náboženských, kulturních a společenských oblastech. Navzdory své téměř sedmi tisícileté historii, však naše chápání tohoto nápoje a všech jeho „pravd“ zůstává neúplné, a to i ve světle schopností moderní vědy.

Réva vinná se v Čechách a na Moravě pěstuje již od starověku, jak dokládají první písemné zprávy z Velkomoravské říše a archeologické nálezy. Výsadba vinic začala v období vrcholného středověku (11. až 13. století), kdy byly vysazeny velké vinice, zavedeny první platné právní předpisy a rozšířila se znalost vinařství mezi místními obyvateli. V současnosti je v Čechách a na Moravě více než 19 tisíc zemědělců zabývajících se vinařstvím, z nichž mnozí vyrábějí vlastní víno (Svobodová *et al.*, 2014).

Víno (lat. *vinum*) je po staletí považováno za významný alkoholický nápoj. Vyrábí se alkoholovým kvašením hroznové šťávy nebo moštu, což vede k úplné nebo částečné přeměně cukrů na etanol a CO<sub>2</sub>. Proces výroby a skladování vína vede k mnoha chemickým změnám a tvorbě alkoholu. Procesy zpracování hroznů na víno se neustále vyvíjí a řada technologických postupů se liší podle lokality, druhem pěstovaných odrůd, technickými možnostmi, tradicemi a zvyklostmi. Samotná výroba je zahájena sklizní (sběrem), následuje přejímka, třídění a zpracování hroznů na mošt, kvašení moštu na mladé víno, zráni a školení vína. Poslední částí výroby jsou závěrečné úpravy vína, stáčení a expedice (Kadlec *et al.*, 2002).

K významným složkám vína patří voda, která tvoří přibližně 86 hmot. % vína. Dále alkohol (etanol) s přibližně 11 hmot. % a 3 % tvoří ostatní látky – sacharidy (cukry), organické kyseliny, aromatické sloučeniny, minerální látky, dusíkaté látky a polyfenolické sloučeniny. Obsah jednotlivých složek je proměnlivý a je dán různými faktory, jako jsou odrůda, klimatické a geologické podmínky, nemoci a škůdci, použité vinohradnické technologie, technologické postupy výroby a skladování.

Kromě nejvíce zastoupené složky, vody, jsou ze senzorického hlediska významné přítomné cukry, které spoluvytváří chuť vína společně s organickými kyselinami a přítomným alkoholem. Glukóza (hroznový cukr) a fruktóza (ovocný cukr) tvoří největší podíl cukrů v moštu z révy vinné. V průběhu výroby pak kvasinky přeměňují tyto cukry (především glukózu) na etanol a oxid uhličitý (Zaky *et al.*, 2017). Cukr, který není spotřebován po dobu kvašení je označován jako cukr zbytkový a je povinností výrobce dle vinařského zákona jeho množství označit na etiketě jako víno suché (0 – 4 g.l<sup>-1</sup> cukru), polosuché (4,1 – 12 g.l<sup>-1</sup> cukru), polosladké (12,1 – 45 g.l<sup>-1</sup> cukru), nebo sladké (45 g.l<sup>-1</sup> cukru a více). Množství etanolu produkovaného během fermentace je závislé na koncentraci cukru, tedy vína z teplejších oblastí s delšími vegetačními obdobími

mají tendenci mít vyšší koncentrace etanolu než vína z chladnějších oblastí. Modré hrozny révy vinné jsou obvykle sklizena později než bílé hrozny, tudíž červená vína mají obvykle vyšší koncentraci etanolu než bílá vína (Waterhouse *et al.*, 2016). Obsah etanolu ve víně závisí i na druhu a kmeni použitých kvasinek, teplotě při fermentaci, množství živin v moštu a dalších faktorech. Obsah kyselin ve víně je také ovlivněn mnoha faktory, jako typ odrůdy, stupeň zralosti, klimatické podmínky a použité technologie na vinici a výrobě (Peres *et al.*, 2009). V největší míře je ve víně obsažena vinná a L-jablečná kyselina. Vysoký obsah kyseliny jablečné je především v nezralých hroznech révy vinné a během dozrávání se velmi rychle odbourává (Jackson *et al.*, 2008). V případě kvalitního révového vína však dominuje kyselina vinná.

Významný podíl při výběru vína konzumentem má i vůně, aroma vína, která u zákazníka vytváří první dojem o daném víně. Přítomné aromatické látky můžou být primárně z hroznů nebo tvořené v průběhu kvašení, případně vznikající v průběhu zrání vína. Čichový vjem závisí na typu sloučeniny a její koncentraci ve víně. Některé složky, které jsou obsaženy ve víně v jednotkách nanogramů, můžou mít v aromatu vína významnější roli než složky, které se ve víně nachází v mnohokrát vyšších koncentracích, ale na aroma vína mají jen nepatrný vliv (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). U mladých vín je ovocný aromatický charakter vytvářen obsahem etylesterů mastných kyselin a acetátů. Všechny tyto parametry jsou důležitými hodnotícími prvky při posouzení vína z hlediska chemického i senzorického (Kadlec *et al.*, 2002; Fic *et al.*, 2015).

Réva vinná má vysoký potenciál i jako zdroj bioaktivních látek (Corrales *et al.*, 2010; Katalinic *et al.*, 2010; Soleas *et al.*, 1997). Významnou skupinou bioaktivních složek, z hlediska hodnocení vína, i zdravotního, jsou polyfenolické sloučeniny. V rostlinných materiálech bylo identifikováno několik tisíc fenolických látek s rozmanitou strukturou, přičemž mají jedno nebo více aromatických jader substituovaných hydroxylovými skupinami. Hlavními skupinami polyfenolů jsou fenolové kyseliny a flavonoidy. Fenolové kyseliny zahrnují kyselinu benzoovou, kyselinu skořicovou a jejich deriváty, k flavonoidům se řadí flavanoly (katechiny a příbuzné sloučeniny), flavenoly (quercetin a jejich příbuzné glykosidy), flavony (apigenin a luteolin), flavanony (naringenin) a isoflavony (genistein a daidzein) (Escarpa a González, 2001; Manach *et al.*, 2004; Rosa *et al.*, 2010). U bílých a červených vín jsou obsaženy ve variabilním množství, což je dáno i odrůdou révy vinné. Jsou zodpovědné za senzorické parametry vína, jako barva vína, hořká a tříslavitá chuť i antioxidační vlastnosti. Ve vínech vykazují vyšší antioxidační aktivitu, tedy schopnost eliminovat radikály, než např. některé významné antioxidační vitamíny (Fic *et al.*, 2015). Technologickými postupy při výrobě vína dochází ke změnám těchto složek a ovlivnění jejich vlastností. Je to způsobeno nedokonalým lisováním a macerací, vlivem oxidace. Původní množství polyfenolů v konečném produktu, víně, klesá na 10 – 50 % proti počátečnímu obsahu v hroznech révy vinné nebo moštu (de Quirós *et al.*, 2009).

K významným přírodním zdrojům antioxidantů se tedy řadí také réva vinná (*Vitis vinifera* L.) a její hlavní produkt, víno, kterému se v řadě studií dostává velké pozornosti kvůli vysoké koncentraci a velké rozmanitosti bioaktivních látek a je jedním z parametrů hodnocení jejich kvality. Všeobecně je známo asi 4000 sloučenin vykazujících antioxidační aktivitu (Flora *et al.*, 2009). Jsou definovány jako látky, které zabraňují reakci reaktivního metabolitu s jinou látkou, případně jsou schopné zastavit řetězovou reakci způsobenou volnými radikály, molekulami, atomy nebo ionty s jedním nebo více nepárovými elektronami ve valenční sféře schopnými alespoň krátkodobé samostatné existence. Jsou to například reaktivní formy kyslíku. Právě polyfenoly můžou hrát důležitou roli v redukci a neutralizaci těchto volných radikálů (Casella *et al.*, 2007).

Ve víně je obsažen i oxid siřičitý ( $\text{SO}_2$ ), který vinaři používají přibližně už 2 století jako konzervační prostředek, díky jeho antimikrobiálním a antioxidačním vlastnostem při výrobě širokého spektra vín. Jsou rozlišovány dvě formy oxidu siřičitého ve víně, tedy volný a veškerý (celkový). Volný  $\text{SO}_2$  má ve víně dvě funkce, především slouží jako konzervant. Váže se na mikroorganismy vyskytující se ve víně a následně zabraňuje jejich množení a tím vzniku vad vína. Druhá funkce volného  $\text{SO}_2$  je antioxidační. Váže na sebe rozpuštěný kyslík a zamezuje oxidaci vína. Celkový  $\text{SO}_2$  je dán součtem volného a vázaného  $\text{SO}_2$ . Vázaný oxid siřičitý vzniká vázáním volného  $\text{SO}_2$  na látky rozpuštěné ve víně, zejména na karbonylové sloučeniny a již nemá žádné další účinky (Fic *et al.*, 2015; Pavloušek *et al.*, 2005). Množství těchto aditiv ve víně musí splňovat kritéria mezních hodnot pro obsah oxidu siřičitého ve víně (nařízení komise (ES) č. 606/2009 ze dne 10. července 2009).

V disertační práci byly u analyzovaných vzorků vín sledovány biologicky aktivní a senzoricky významné látky a jejich změny v průběhu skladování. To bylo provedeno za použití níže popsaných metod ke stanovení antioxidační aktivity, celkových a jednotlivých polyfenolů, cukrů a etanolu. Byly sledovány i aromatické látky, a u červených a růžových vín byly stanoveny také jednotlivé antokyany, které jsou ve vodě rozpustnými flavonoidy přímo zodpovědnými za zbarvení červených hroznů a vín, a jejichž vlastnosti jsou dány chemickou strukturou, stupněm hydroxylace, metylace a glykosylace (Garrido a Borges, 2013; Montealegre *et al.*, 2006). Představují nejrozšířenější skupinu polyfenolů a mají antioxidační účinky.

V České republice patří mezi nejpěstovanější odrůdy révy, které zabírají přibližně 65 % plochy vinic osázených révou vinnou, z bílých odrůd Veltlínské zelené, které je osázeno na 14 % ploch vinic, a s podobným podílem Müller Thurgau, Ryzlink rýnský a Ryzlink vlašský. Z červených vín je to odrůda Svatovavřinecké, která dosahuje 8 % osázených ploch vinic a Frankovka s mírně menší plochou vinic (Pavloušek *et al.*, 2007; Šetka *et al.*, 2018).

Analyzované vzorky odrůd bílého, červeného a růžového vína, uvedeny v kapitole 3.1, pocházely z vinařské oblasti Morava, která se vyznačuje dobrými

předpoklady k pěstování révy vinné a výrobě vína. Nalézá se zde přibližně 96 % všech registrovaných vinic v České republice. Rozloha vinařské oblasti Morava sahá od hranic se Slovenskem, kolem toku řeky Moravy a Dyje, včetně významných měst, jako je Brno, Uherské Hradiště a Znojmo, které tvoří pomyslnou hranici této oblasti. Průměrná roční teplota je 9,42 °C, průměr ročních srážek je 510 mm a průměrná roční délka slunečního svitu je, podle 80-letého průměru, 2244 hodin. Klima může být charakterizováno jako vnitrozemské s občasnými úkazy vlhkého atlantského vzduchu z pobřeží, či chladného vzduchu pocházejícího z vnitrozemí. Oproti západní Evropě je zde kratší vegetační období. Ve většině let však vyniká vyššími teplotami v letních měsících, což působí příznivě na zkracování vegetačních fenofází révy vinné. Díky tomuto jevu je zde možnost pěstovat odrůdy vína s pozdním vyzráváním hroznů, z nichž následně vznikají vysoce jakostní vína. V hroznech a vínech je proto větší rozmanitost a množství aromatických látek (Šetka *et al.*, 2018).

## **2. CÍLE PRÁCE**

Hlavním cílem předložené disertační práce je sledování biologicky aktivních a senzoricky významných složek, které se rozhodující měrou spolupodílí na celkovém charakteru révových vín. Dále pak se jedná o vytvoření uceleného souboru metodik optimalizovaných pro efektivní stanovení nejvýznamnějších biologicky aktivních látek zastoupených ve víně v různém množství. Také jde o porovnání významných změn senzoricky důležitých a biologicky aktivních látek vína v průběhu skladování po dobu 1, 6 a 12 měsíců.

### **2.1 Dílčí cíle**

- V průběhu skladování stanovit obsah volného a celkového SO<sub>2</sub> ve vzorcích vína.
- Určit množství majoritních sacharidů a alkoholu (etanolu) ve vybraných vzorcích vína pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) ve spojení s RID detekcí.
- Stanovit jednotlivé organické kyseliny ve vzorcích vín za pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s DAD detektorem.
- Určit celkové množství polyfenolů a flavonoidů ve vzorcích vín spektrofotometrickými metodami a sledování jejich změn během skladování.
- Analyzovat jednotlivé polyfenoly ve vybraných vzorcích vína moderní separační metodou, vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) s DAD detektorem, i v průběhu skladování.
- Stanovit jednotlivá antokyanová barviva v červených a růžových vzorcích vína pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV-VIS detekcí, i v průběhu skladování.
- Stanovit antioxidační aktivitu vzorků vína spektrofotometricky pomocí metod s DPPH a ABTS metodami a sledování jejich změn během skladování.
- Stanovit antioxidační aktivitu vybraných vzorků vína chemiluminiscenční metodou PCL/ACW.
- Analyzovat jednotlivé aromatické látky pomocí přesné instrumentální metody, plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC-MS).

### **3. METODIKA PRÁCE**

#### **3.1 Materiál a chemikálie**

Pro analýzu byly vybrány vzorky různých odrůd bílých a červených vín (bílá, červená a růžová vína). V rámci řešení této práce byla navázána spolupráce s 9 vinaři daných podoblastí (Slovácká a Velkopavlovická podoblast). Mezi tyto patří společnost Víno Hruška, vinař Václav Ovčáčík, malovinař Tomáš Luža, vinař František Fryšták, Rodinné vinařství Bzenec, vinařství Ludwig, vinařství Jakubík, vinný sklep Velehrad (vinařství Velehrad), vinařství Bílkovi. Skladovány byly za předepsaných teplot, a to ve vinných sklepech, vinotékách a lednicích s regulovanou teplotou a jejím zaznamenáváním.

Pro analýzy bylo vybráno celkem 58 vzorků vín z 9 vinařství. Popis vzorků je uveden v kapitole 3.1.1 – 3.1.3.

Chemikálie, které byly využity k daným analýzám, byly v kvalitě p. a., není-li uvedeno jinak. Pro stanovení obsahu vybraných bioaktivních látek pomocí kapalinové chromatografie byly zakoupeny příslušné standardy a použita rozpouštědla, která jsou k tomuto účelu speciálně určena. Pro stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscenční metodou byly zakoupeny příslušné analytické sety. Charakteristiky těchto látek (výrobce, případně další specifikace) jsou uvedeny v popisu jednotlivých metodik stanovení v kap. 3.3.

### 3.1.1 Vzorky bílých vín

Tabulka 1: Vzorky bílých vín se základními údaji

Označení	Odrůda	Vinařství	Ročník	Třídění	Kyseliny (g.l <sup>-1</sup> )	Obsah alk. (% obj.)
CDM1	Cuvée Děvín a MM	1	2016	Polosuché	6,6	11,5
CDM2	Cuvée Děvín a MM	1	2018	Polosuché	5,6	12,0
Hib	Hibernal	1	2016	Suché	6,4	12,5
Char1	Chardonnay	2	2011	Suché	7,3	13,9
Char2	Chardonnay	2	2012	Suché	6,9	13,4
MT1	Müller Thurgau	3	2015	Polosuché	6,4	12,5
MT2	Müller Thurgau	4	2017	Polosuché	3,7	12,0
MM1	Muškát moravský	2	2011	Suché	5,8	13,7
MM2	Muškát moravský	1	2013	Polosuché	6,8	11,5
MM3	Muškát moravský	1	2017	Polosuché	7,4	11,5
Pál1	Pálava	5	2013	Polosuché	5,2	12,5
Pál2	Pálava	4	2015	Polosuché	5,9	11,5
RB	Rulandské bílé	6	2011	Suché	7,1	14
RŠ	Rulandské šedé	2	2012	Suché	8,2	14,2
RR1	Ryzlink rýnský	2	2009	Suché	7,5	11,9
RR2	Ryzlink rýnský	2	2010	Suché	8,1	12,8
RR3	Ryzlink rýnský	2	2011	Suché	8,0	13,1
RR4	Ryzlink rýnský	2	2015	Polosuché	6,1	12,2
RR5	Ryzlink rýnský	4	2015	Polosuché	4,9	11,5
RR6	Ryzlink rýnský	3	2015	Polosuché	5,2	12,5
RR7	Ryzlink rýnský	1	2017	Polosuché	6,8	12,0
RR8	Ryzlink rýnský	1	2018	Suché	5,0	11,5
SG1	Sauvignon	2	2012	Suché	5,6	13,5
SG2	Sauvignon	7	2015	Suché	6,2	12,0
SG3	Sauvignon	1	2015	Suché	6,3	12,5
SG4	Sauvignon	1	2016	Polosuché	6,8	13,0
SG5	Sauvignon	1	2017	Suché	7,6	12,5
SZ1	Sylvánské zelené	1	2014	Suché	6,9	12,5
SZ2	Sylvánské zelené	1	2015	Polosuché	5,8	13,0
SZ3	Sylvánské zelené	1	2018	Polosuché	5,5	11,5
TČ1	Tramín červený	2	2003	Polosuché	6,0	15,8
TČ2	Tramín červený	2	2012	Suché	5,8	14,1
VZ1	Veltlínské zelené	4	2015	Suché	7,2	12,0
VZ2	Veltlínské zelené	8	2016	Suché	6,1	12,0
VZ3	Veltlínské zelené	1	2018	Suché	6,8	12,0

### 3.1.2 Vzorky červených vín

Tabulka 2: Vzorky červených vín se základními údaji

Označení	Odrůda	Vinařství	Ročník	Třídění	Kyseliny (g.l <sup>-1</sup> )	Obsah alk. (% obj.)
A	André	9	2016	Suché	8,8	12,5
CS	Cuvée Starohorské	2	2013	Suché	5,9	13,2
CM	Cuvée Methodus	3	2015	Suché	8,7	11,5
D	Dornfelder	1	2015	Suché	5,0	12
Fr1	Frankovka	1	2016	Suché	12,3	12,5
Fr2	Frankovka	4	2016	Suché	8,2	13,5
M	Merlot	1	2015	Suché	10,8	13,0
MP	Modrý Portugal	1	2018	Suché	9,4	12,5
N1	Neronet	2	2012	Suché	5,8	13,4
N2	Neronet	2	2015	Polosladké	5,6	12,5
RM1	Rulandské modré	2	2011	Suché	6,2	13,3
RM2	Rulandské modré	1	2016	Suché	9,3	13,0
RM3	Rulandské modré	1	2017	Suché	12,7	13,5
ZW1	Zweigeltrebe	1	2015	Suché	10,9	12,5
ZW2	Zweigeltrebe	8	2016	Suché	8,9	12,5

### 3.1.3 Vzorky růžových vín

Tabulka 3: Vzorky růžových vín se základními údaji

Označení	Odrůda	Vinařství	Ročník	Třídění	Kyseliny (g.l <sup>-1</sup> )	Obsah alk. (% obj.)
Fr-rosé	Frankovka	1	2016	Polosuché	4,6	13,0
M-rosé	Merlot	1	2018	Suché	7,9	13,5
RM-rosé1	Rulandské modré	2	2011	Suché	6,0	13,7
RM-rosé2	Rulandské modré	2	2012	Suché	6,3	13,8
RM-rosé3	Rulandské modré	1	2017	Suché	6,2	11,5
SV-rosé	Svatovavřinecké	5	2015	Polosuché	5,8	11,5
ZW-rosé1	Zweigeltrebe	4	2017	Polosuché	3,9	12,5
ZW-rosé2	Zweigeltrebe	1	2018	Polosladké	6,8	11,5

## 3.2 Odběr vzorků

Normou ČSN 56 0216 je upraveno vzorkování vína. U vín (balených nápojů ve spotřebitelských obalech) se jako vzorek odebírá ze vzorkované jednotky náhodným výběrem tolik balení (lahví), kolik je zapotřebí k provedení zkoušek. Laboratorní vzorek má objem 700 ml, tedy standardní objem jedné lahve vína. Výběr vzorků probíhá přímo v místě výroby a skladovacích prostorách (sklepě) daného vinaře. Vzorky byly skladovány ve sklepech u vinařů, ve vinotékách a lednicích za předepsaných podmínek. Teplota byla průběžně měřena a zaznamenávána, a byla stanovena na 8 °C. V místě provádění analýz byly jednotlivé lahve dle potřeb otvírány a ihned probíhaly odpovídající analýzy tak, aby bylo zamezeno zbytečné a zdlouhavé manipulaci s vínem.

### **3.3 Vlastní metody stanovení**

#### **3.3.1 Stanovení oxidu siřičitého metodou OIV-MA-AS323-O4B:R 2009**

Ke stanovení obsahu SO<sub>2</sub> ve víně byla použita akreditovaná metoda OIV-MA-AS323-O4B:R 2009, která slouží ke stanovení obsahu volného a veškerého SO<sub>2</sub> ve vínech révových, ovocných, sladových a tokajských. Standardizace odměrného roztoku jodu byla provedena na thiosíran sodný standardizovaný na dichroman draselný.

#### **3.3.2 Stanovení sacharidů a alkoholu (etanolu) metodou HPLC - RID**

Stanovení sacharidů (fruktóza a glukóza) a etanolu bylo provedeno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (RP-HPLC) za použití kolony Rezex RCM – Monosaccharide Ca<sup>2+</sup> s RI detektorem. Kvalitativní vyhodnocení bylo provedeno na základě analýzy standardů jednotlivých cukrů a etanolu. Obsah fruktózy a glukózy byl vyjádřen jako ekvivalentní množství g standardu v 1 l vzorku. Množství alkoholu se uvádí jako objemová procenta (obj. %).

#### **3.3.3 Stanovení organických kyselin metodou HPLC - DAD**

Využita byla vysokoúčiná kapalinová chromatografie (RP-HPLC) s DAD detektorem za použití kolony Synergi<sup>TM</sup> Hydro-RP, která je vhodná pro screening, identifikaci a přesnou kvantifikaci organických kyselin. Byly použity mobilní fáze A – dihydrogenfosforečnan draselný a mobilní fáze B – metanol. Kvalitativní vyhodnocení bylo provedeno na základě analýzy standardů jednotlivých organických kyselin. Obsah jednotlivých organických kyselin byl vyjádřen jako ekvivalentní množství mg standardu v 1 l vzorku.

#### **3.3.4 Stanovení obsahu celkových polyfenolů (CP) spektrofotometricky**

K určení celkového obsahu fenolických sloučenin se využívá spektrofotometrická metoda s použitím Folin-Ciocalteauova činidla. K analýze byla použita modifikovaná metoda (Singleton a Rossi, 1965; Sumczynski *et al.*, 2015). Vyhodnocení celkového obsahu polyfenolů bylo provedeno přepočtem z kalibrační křivky na standard kyselinu gallovou a výsledky byly vyjádřeny v mg ekvivalentu kyseliny gallové (GAE).l<sup>-1</sup> vzorku.

#### **3.3.5 Stanovení jednotlivých fenolických látek metodou HPLC - DAD**

Stanovení bylo provedeno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (RP-HPLC) na přístroji s DAD detektorem za použití kolony Kinetex C-18. Byly použity mobilní fáze A – destilovaná voda/kyselina octová v poměru 99 : 1, v/v) a mobilní fáze B – destilovaná voda/acetonitril/kyselina octová v poměru 67 : 32 : 1, v/v/v). Kvalitativní vyhodnocení bylo provedeno na základě analýzy standardů jednotlivých polyfenolických látek. Obsah jednotlivých polyfenolů byl vyjádřen jako ekvivalentní množství mg standardu v 1 l vzorku.

### **3.3.6 Stanovení obsahu celkových flavonoidů (FL) spektrofotometricky**

Stanovení celkových flavonoidů (FL) bylo provedeno podle modifikované metody (Li *et al.*, 2008; Saeed *et al.*, 2012). Pro vyhodnocení byla použita metoda kalibrační křivky na standard rutin. Výsledek byl vyjádřen v mg ekvivalentu rutinu (RE).l<sup>-1</sup> vzorku.

### **3.3.7 Stanovení jednotlivých antokyanů metodou HPLC - DAD**

Stanovení vybraných antokyanů (delfnidin-3-O-galaktosid chlorid, myrtillin chlorid, peonidin-3-O-glukosid chlorid, kyanidin chlorid, kallistefin chlorid, kerakyanin chlorid, pelargonidin chlorid, malvidin chlorid, peonidin chlorid, delfnidin chlorid, kyanidin-3-O-glukosid chlorid a malvidin-3-O-galaktosid chlorid) bylo provedeno u růžových a červených vzorků vín. Antokyanы byly stanoveny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (RP-HPLC) s DAD detektorem za použití kolony YMC Triart C18. Byly použity mobilní fáze A – destilovaná voda/kyselina mravenčí v poměru 90 : 10, v/v, a mobilní fáze B – acetonitril. Kvalitativní vyhodnocení bylo provedeno na základě analýzy standardů jednotlivých antokyanů. Obsah antokyanů byl vyjádřen jako ekvivalentní množství mg standardu v 1 l vzorku.

### **3.3.8 Stanovení antioxidační aktivity spektrofotometricky**

#### **Metoda DPPH**

Celková antioxidační aktivita byla stanovena modifikovanou metodou s DPPH (Rop *et al.*, 2010). Výsledky inaktivace jsou následně přepočítány pomocí lineární regresní rovnice se standardem (Trolox) a vyjádří se jako mg ekvivalentu Troloxe (TE).l<sup>-1</sup>.

#### **Metoda ABTS**

Analýza byla provedena pomocí modifikované metody (Re, 1999; Hosu, 2014). Výsledky inaktivace se uvádí jako úbytky absorbance, které jsou následně přepočítány pomocí lineární regresní rovnice se standardem (Trolox) a vyjádří se jako mg ekvivalentu Troloxe (TE).l<sup>-1</sup>.

### **3.3.9 Stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscenční metodou PCL**

Antioxidační aktivita vzorků vína byla touto metodou stanovena na přístroji Photochem (Analytik Jena AG, Jena, Německo) za použití setů reakčních roztoků (Analytik Jena AG, Jena, Německo) pro stanovení antioxidační aktivity (ACW) ve vodě rozpustných látek podle instrukcí výrobce (ACW-Kit, 2005). Vyhodnocení výsledků bylo provedeno metodou na základě hodnot z kalibrační křivky, kdy pro ACW byla jako standard použita kyselina askorbová (AK). Výsledky byly vyjádřeny v g ekvivalentu AK.l<sup>-1</sup> vzorku (ACW).

### **3.3.10 Identifikace a stanovení aromatických látek pomocí metody GC-MS**

Stanovení aromatických látek ve vybraných produktech bylo provedeno na plynovém chromatografu společnosti Agilent Technologies vybaveném hmotnostním detektorem Agilent 5975 Series MSD a kolonou Agilent 7820 A GL system s kapilární kolonou Stabilwax®. Nosným plynem bylo hélium (Ledauphin *et al.*, 2004; Winterová *et al.*, 2008; Janáčová *et al.*, 2008). Při určování struktury jednotlivých látek byla využita integrovaná knihovna hmotnostních spekter. Zjištěné složky byly identifikovány na základě jejich hmotnostních spekter a dle odpovídajícího retenčního času. Pro určení množství byla porovnána plocha píků jednotlivých aromatických látek a použitého vnitřního standardu (2-oktanol).

## **3.4 Statistické vyhodnocení získaných dat**

Získaná data byla vyjádřena jako aritmetický průměr  $\pm$  směrodatná odchylka a k jejich výpočtu byl použit program Microsoft Office Excel (Redmond, WA, USA). Všechny analýzy byly provedeny třikrát ve dvou opakováních.

Pro zjištění lineárních závislostí mezi různými veličinami stanovenými odlišnými metodami, byly vypočítány hodnoty Pearsonových korelačních koeficientů ( $r$ ) a metody popsané v práci Snedecor a Cochran (1994). Mezi použité statistické metody patřila i analýza rozptylu ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ), která zkoumá, jestli alespoň mezi dvěma středními hodnotami existuje statisticky významný rozdíl.

Mezi použité statistické metody patřila i vícerozměrná statistická metoda – shluková, klastrová analýza, která klasifikuje vzorky do shluků, klastrů – skupin. K vyhodnocení výsledků shlukovou analýzou byl použit statistický program STATISTICA CZ 7 (StatSoft, Inc., 2004, ČR).

## **4. VÝSLEDKY A DISKUZE**

V rámci disertační práce bylo analyzováno 58 vzorků vín, rozličných odrůd bílých, červených a růžových vín. Jednalo se o 12 odrůd bílých vín (35 vzorků), konkrétně Hibernal, Chardonnay, Müller Thurgau, Muškát moravský, Pálava, Rulandské bílé, Rulandské šedé, Ryzlink rýnský, Sauvignon, Sylvánské zelené, Tramín červený, Veltlínské zelené a Cuvée ze směsi odrůdy Děvín a Muškát moravský. Analyzovaná vína byly z ročníků sklizně 2003 – 2018. Z odrůd červených vín to byly vzorky vín André, Dornfelder, Frankovka, Merlot, Modrý Portugal, Neronet, Rulandské modré, Zweigeltrebe a Cuvée – Methodus a Tupleské starohorské. Hodnocená vína (15 vzorků) byly ze sklizní roků 2011 – 2018. Analyzováno bylo také 8 vzorků vín rosé, růžových vín. Do této skupiny je zařazena Frankovka rosé, Merlot rosé, Rulandské modré rosé, Svatovavřinecké rosé a Zweigeltrebe rosé. Růžová vína byly ze sklizně roků 2011 – 2018.

U uvedených vzorků vín bylo sledováno množství biologicky aktivních a senzoricky významných látek i jejich změny v průběhu skladování. K hodnocení byly využity metody a postupy popsané v kapitole 3.4. U všech stanovení bylo u všech vzorků vín provedeno stanovení ihned (0 měsíc) po otevření lahve, a u téměř všech stanovení také ještě stanovení v intervalech 1, 6 a 12 měsíců, přičemž u vín ročníku 2018 byly z časových důvodů možné provést pouze stanovení v intervalech 1 a 6 měsíců.

### **4.1 Stanovení oxidu siřičitého ve vzorcích vína**

Všechny vzorky analyzovaných bílých vín (35 vzorků vín) splnily dané mezní hodnoty dle nařízení komise (ES) č. 606/2009.

Volný oxid siřičitý se ve vzorcích bílých vín pohyboval na začátku měření (0 měsíc) v rozmezí  $14,69 - 61,08 \text{ mg.l}^{-1}$ , průměrný obsah volného  $\text{SO}_2$  ve všech vzorcích bílých vín byl  $42,54 \text{ mg.l}^{-1}$ . Nejnižší hodnota byla stanovena u vzorku RR1 (Ryzlink rýnský, ročník 2009) a MM1 (Muškát moravský, 2011), zbývající hodnoty 33 vzorků vín byly vyšší. Nejvyšší u vzorků MT2 (Müller Thurgau, 2017), VZ3 (Veltlínské zelené, 2018) a Pál1 (Pálava, 2013). Po 1 měsíci skladování došlo ke snížení volného  $\text{SO}_2$  v průměru o 3,34 %. Po 6 měsíčním skladování je stanoven nejnižší obsah volného  $\text{SO}_2$  opět u vzorku RR1, a nejvyšší u vzorku RB (Rulandské bílé, 2011). Po 6 měsících skladování opět dochází ke snížení průměrného obsahu volného  $\text{SO}_2$  u vzorků bílých vín, o 14,53 % proti prvnímu měření. Posledním časovým parametrem bylo 12 měsíční skladování s rozmezím zjištěného obsahu  $11,13 - 50,25 \text{ mg.l}^{-1}$ . Průměrná hodnota volného  $\text{SO}_2$  ve sledovaném období byla určena ve výši  $32,13 \text{ mg.l}^{-1}$ . Celkově nejnižší obsah byl stanoven opět u vzorku RR1 a nejvyšší u vzorku RB. Roční průměrný pokles volného  $\text{SO}_2$  ve vzorcích bílého vína za dané období činí průměrně 22,32 %.

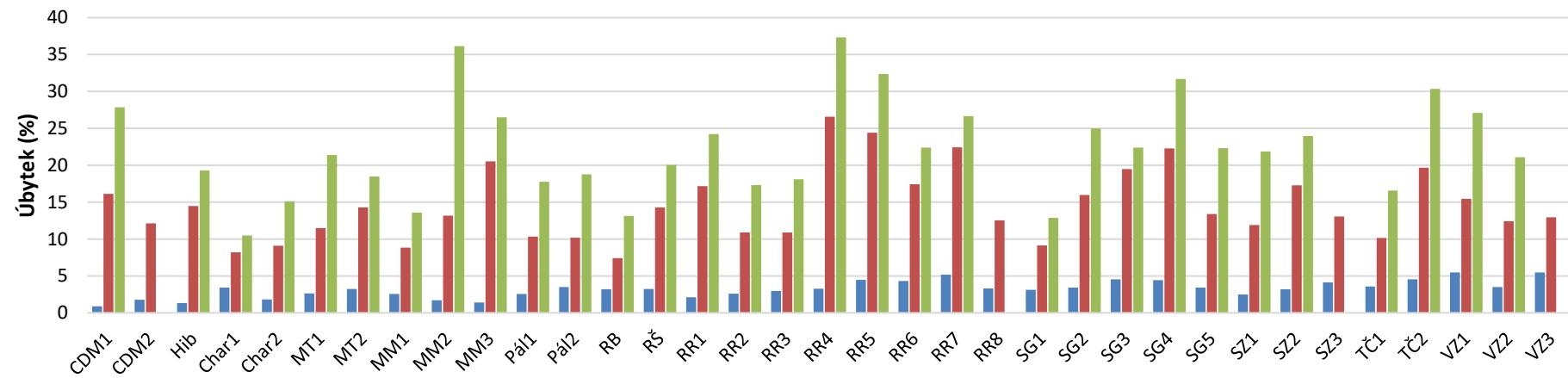
Hodnoty volného oxidu siřičitého byly také publikovány v článku Valášek *et al.* (2014), kde srovnávali vzorky bílých vín z vinařské oblasti Morava. Zjištěný průměrný obsah volného SO<sub>2</sub> z jejich analýz byl 48,63 mg.l<sup>-1</sup>, což je o 12,52 % více než námi naměřený průměr. Autoři sledovali i úbytek volného SO<sub>2</sub> ve vzorcích 6 měsíců skladovaného vína s poklesem volného SO<sub>2</sub> o 37,19 % (30,54 mg.l<sup>-1</sup>), co je v průměru o 13 % více než námi stanovený průměr po roce skladování. Také v další studii (Trávníček *et al.*, 2016) byly uvedeny vyšší obsahy volného SO<sub>2</sub> než námi analyzované. U odrůdy Veltlínské zelené byly námi naměřeny hodnoty (VZ1–3) o 29,64 % nižší než v uvedeném výzkumu, u vína Müller Thurgau (MT1–2) o 34,35% a také u vína Rulandské bílé (RB1).

Dalším ze sledovaných parametrů vín je celkový obsah SO<sub>2</sub>. Tyto hodnoty se ve vzorcích bílých vín pohybovaly na začátku měření (0 měsíc) v rozmezí 102,51 – 179,48 mg.l<sup>-1</sup>, s průměrným množstvím všech vzorků vín 137,07 mg.l<sup>-1</sup>. Nejnižší hodnota celkového SO<sub>2</sub> byla stanovena u vzorku SZ3 (Sylvánské zelené, 2018) a MM3 (Muškát moravský, 2017). Nejvyšší stanovený obsah byl ve vzorku TČ1 (Tramín červený, 2003) a Char2 (Chardonnay, 2012). Ve srovnání s publikovanými výsledky autorů Valášek *et al.* (2014) se v odrůdě Chardonnay liší výsledky obsahu celkového oxidu siřičitého pouze o 1,19 %, v porovnání s námi analyzovanými vzorky (Char1, Char2) stejně odrůdy. Studie Trávníček *et al.* (2016) uvádí u bílých vín oproti našim naměřeným hodnotám vyšší hodnoty celkového SO<sub>2</sub> ve všech jimi stanovovaných odrůdách vín (VZ, MT a RB), i když stejní autoři naměřili nižší hodnoty volného SO<sub>2</sub> u daných vzorků než uvádíme my.

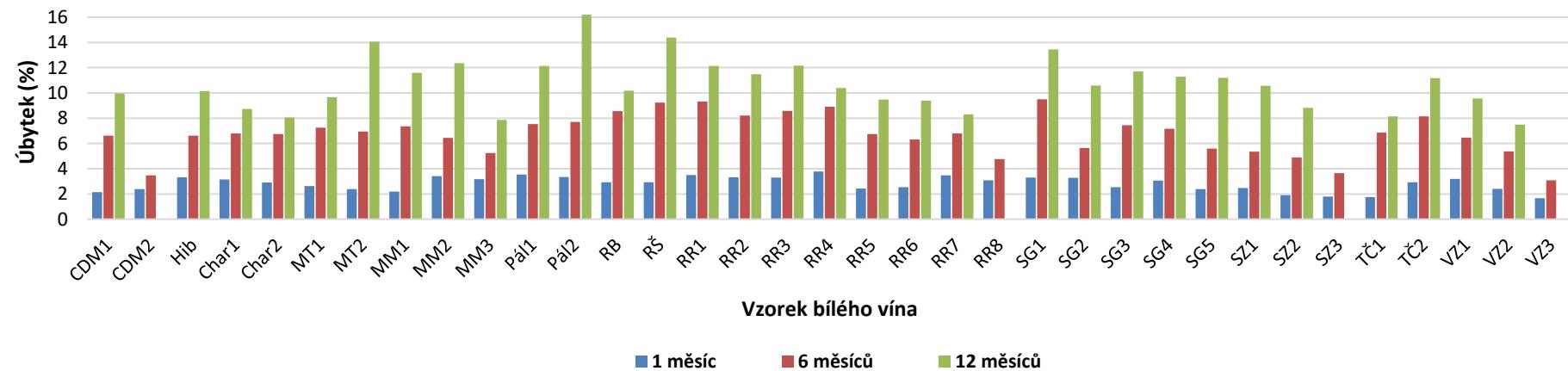
Po 1 měsíci skladování byl obsah celkového SO<sub>2</sub> stanoven v téměř totožném rozmezí jako při měření hned po otevření, a také nejméně/nejvíce SO<sub>2</sub> bylo určeno opět u vzorků MM3, SZ3, a TČ1, Char2, a stejně tak i po 6 měsících a ročním skladování. Po 12 měsících dochází ke snížení průměrného obsahu celkového SO<sub>2</sub> u vzorků bílých vín o 10,73 %, co je 2,5x méně než u hodnot volného SO<sub>2</sub>.

Obrázek 1 graficky znázorňuje jednotlivé úbytky celkového (Obr. 1a) a volného (Obr. 1b) oxidu siřičitého v jednotlivých odrůdách bílých vín, respektive 35 vzorcích.

a)



b)



Obrázek 1: Grafické znázornění úbytků (%) celkového  $SO_2$  (a) a volného  $SO_2$  (b) ve vzorcích bílých vín (0 – 1 měsíc, 0 – 6 měsíců, 0 – 12 měsíců)

Také všechny vzorky analyzovaných červených vín (15 vzorků vín) splnily dané mezní hodnoty dle nařízení komise (ES) č. 606/2009. Zjištěný průměrný obsah volného SO<sub>2</sub> u červených vín, v porovnání s naměřenými hodnotami vzorků bílých vín na začátku měření (0 měsíc), je nižší o 23,85 %, u celkového SO<sub>2</sub> jde o hodnoty nižší o 17,42 %.

Volný oxid siřičitý se ve vzorcích červených vín hned po otevření lahve pohyboval v rozmezí 25,29 – 42,94 mg.l<sup>-1</sup>, průměrný obsah byl 32,41 mg.l<sup>-1</sup>. Po 1 měsíci skladování se obsah volného SO<sub>2</sub> změnil jen minimálně, s průměrem 31,14 mg.l<sup>-1</sup>, snížení o 3,90 %. Po 6 měsících skladování dochází ke snížení obsahu o 4,93 % na 29,61 mg.l<sup>-1</sup>. U 12 měsíčního měřeného období byla průměrná hodnota volného SO<sub>2</sub> u vzorků vín stanovena ve výši 28,28 mg.l<sup>-1</sup>, tedy proti předchozímu měření pokles o 4,75 %. Celkový průměrný pokles za celé sledované období (0 – 12 měsíc) činí 11,72 %. Nejvyšší úbytek volného SO<sub>2</sub> byl naměřen u vzorku CS (C. Starohorské), kdy došlo k poklesu o 13,34 %.

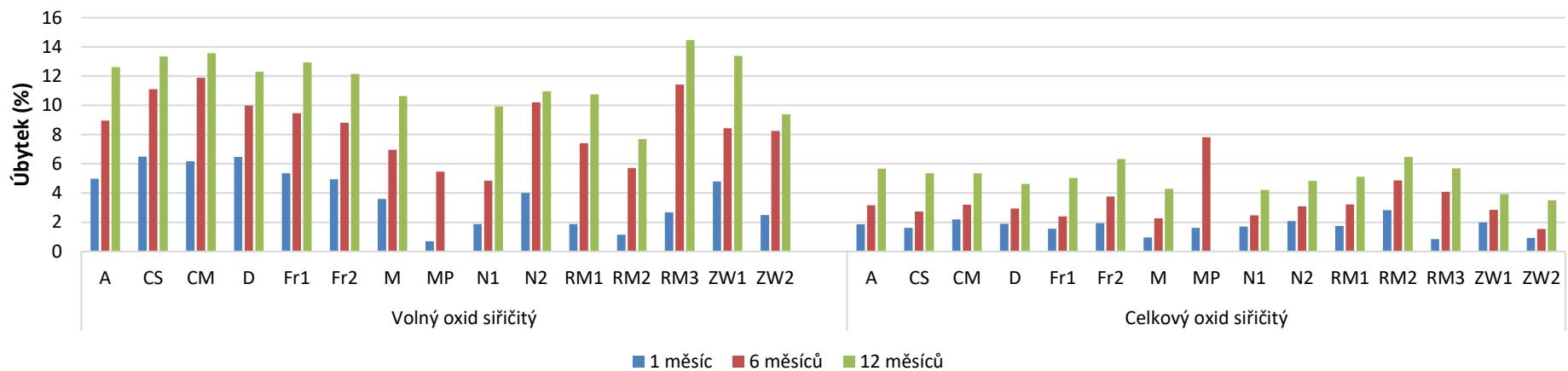
Studie (Trávníček *et al.*, 2016) zabývající se stanovením základních chemických parametrů červených vín uvádí vyšší hodnoty jimi naměřeného volného SO<sub>2</sub> u všech vzorků červených vín vzhledem k námi naměřeným. Tak např. ve vzorku vína André byla publikována hodnota vyšší až o 47,91 %. Dá se tedy konstatovat, že námi analyzované vzorky byly sířeny v menší míře.

Celkový SO<sub>2</sub> se ve vzorcích červených vín pohyboval na začátku měření v rozmezí 41,07 – 155,23 mg.l<sup>-1</sup>, průměrný obsah byl 113,19 mg.l<sup>-1</sup>. U vzorků Fr1, MP a RM2 byly stanoveny velmi nízké hodnoty celkového SO<sub>2</sub>. Ve srovnání se studií Snopek *et al.* (2018a), kdy byl měřen obsah SO<sub>2</sub> u bio vín se specifickými požadavky, se výsledky našich vzorků přibližují hodnotám jimi měřených bio vín.

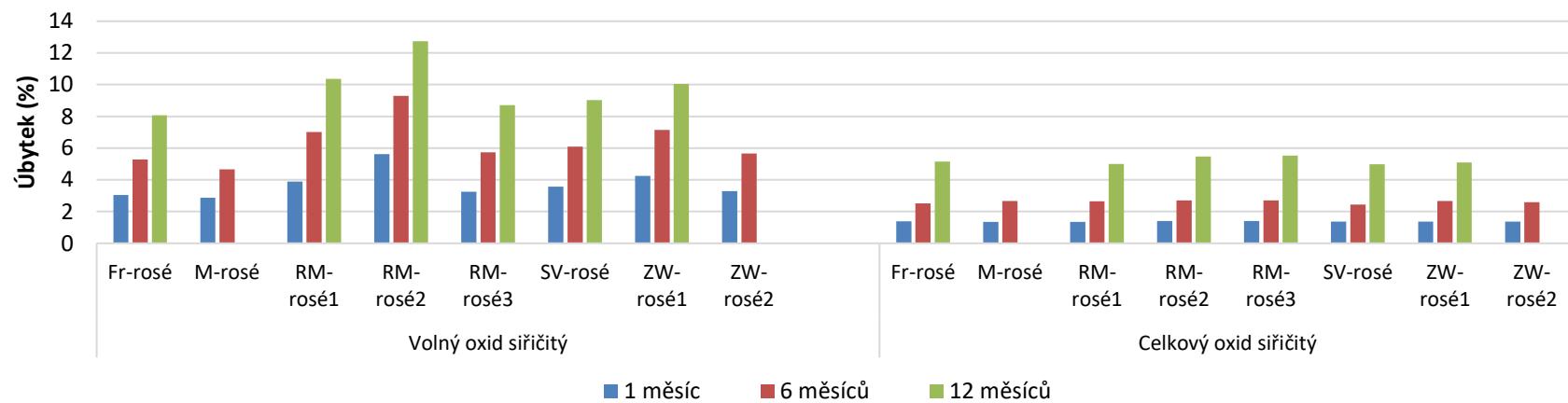
Po 1 měsíci skladování klesl obsah celkového SO<sub>2</sub> o pouhých 1,71 %, a ještě nižší pokles (1,41 %) je stanoven mezi 1 – 6 měsícem skladování. Průměrné hodnoty celkového SO<sub>2</sub> stanoveny ve 12 měsíci byly ve výši 104,62 mg.l<sup>-1</sup>, tedy celkový pokles za sledované období (0 – 12 měsíců) činí pouze 5,02 %. Nejnižší obsah a současně nejnižší pokles celkového SO<sub>2</sub> byl stanoven ve vzorku RM2. V publikaci Trávníček *et al.* (2016) prezentují autoři v průměru vyšší obsah celkového SO<sub>2</sub> v červených vínech než jsou námi naměřené hodnoty, a to v některých případech více až o 50 mg.l<sup>-1</sup>. Je tedy zřejmé, že námi analyzované vzorky byly celkově sířeny mnohem méně.

Obrázek 2 graficky znázorňuje jednotlivé úbytky volného a celkového oxidu siřičitého v jednotlivých odrůdách červených vín, respektive 15 vzorcích.

Požadavky na růžová vína, které také byly analyzovány, jsou dle platné legislativy stejné jako u vín bílých. Maximum obsahu SO<sub>2</sub> v růžovém víně může tedy být v rozmezí 200 – 350 mg.l<sup>-1</sup> dle zbytkového cukru. Námi naměřené výsledky (obrázek 3) poukazují na splnění požadovaných limitů u všech vzorků růžových vín.



Obrázek 2: Grafické znázornění úbytků (%) volného a celkového SO<sub>2</sub> ve vzorcích červených vín a průměrného úbytku v průběhu skladování (po 1, 6 a 12 měsících)



Obrázek 3: Grafické znázornění úbytků (%) volného a celkového SO<sub>2</sub> ve vzorcích růžových vín v průběhu skladování (po 1, 6, 12 měsících)

Volný SO<sub>2</sub> se ve vzorcích růžových vín pohyboval na začátku měření v rozmezí 23,17 – 62,78 mg.l<sup>-1</sup>, s průměrnou hodnotou 44,93 mg.l<sup>-1</sup>, což je vyšší než u vzorků bílých a červených vín. Po 1 měsíci skladování došlo k poklesu obsah volného SO<sub>2</sub> v průměru o 3,51 %. Po 6 měsíčním skladování jde o snížení o dalších 2,49 % oproti prvnímu měření. Posledním časově sledovaným parametrem byla analýza vzorků po 12 měsících, kdy průměrná hodnota volného SO<sub>2</sub> u vzorků růžových vín byla ve výši 37,24 mg.l<sup>-1</sup> a celkový průměrný pokles za sledované období (0 – 12 měsíců) činí 9,83 % volného SO<sub>2</sub>.

Rozmezí obsahu celkového oxidu siřičitého u růžových vín po otevření lahve bylo 100,93 – 159,29 mg.l<sup>-1</sup>. Nejnižší hodnota byla stanovena u vzorků RM-rosé2 a RM-rosé3, naopak nejvyšší stanovená hodnota byla také u vína RM-rosé1 a M-rosé. Celkový průměrný pokles za sledované období (0 – 12 měsíc) činí 10,29 mg.l<sup>-1</sup>, tedy 5,21 %. Během stanovení bylo potvrzeno, že starší ročníky vín si stabilně udržují obsah celkového oxidu siřičitého v porovnání s mladými víny, kdy lze pozorovat vyšší úbytek.

Jak je patrné ze všech námi naměřených výsledků u 58 vín, celkově nejvyšší hodnoty volného i celkového SO<sub>2</sub> byly zjištěny u bílých vín, především odrůdy Chardonnay a Tramín červený. Následně jsou to růžová vína a nejnižší množství oxidu siřičitého bylo naměřeno u červených vín, a to zvláště u vzorku Rulandské modré (RM2) a odrůdy Zweigeltrebe, kde také došlo k nejnižšímu poklesu SO<sub>2</sub> po ročním skladování.

## 4.2 Stanovení majoritních sacharidů

Cukry byly stanoveny pomocí HPLC metody s metodikou speciálně vytvořenou v rámci řešení této práce.

Obsah fruktózy ve vzorcích bílých vín byl v širokém rozmezí hodnot 0,33 – 16,94 g.l<sup>-1</sup> s průměrem 6,32 g.l<sup>-1</sup>. Nejvyšší obsah fruktózy mělo víno odrůdy Rulandské bílé (RB), které i dle zatřídění patří mezi polosladká vína (hladina zbytkového cukru dosahuje hodnot od 12 do 45 g.l<sup>-1</sup>). Také víno odrůdy Ryzlink rýnský (RR5) obsahovalo vysoké množství tohoto cukru (14,03 g.l<sup>-1</sup>), které zbývající vzorky této odrůdy neměly (průměr zbývajících RR vzorků: 3,93 g.l<sup>-1</sup>). Výrobcem je uváděno, že se jedná o víno polosuché s deklarováním obsahem zbytkových cukrů 12,3 g.l<sup>-1</sup>, což nekoreluje s námi zjištěným celkovým obsahem o více jak 4,5 g.l<sup>-1</sup>, kdy ani po korektuře s kyselinou vinnou, vzorek nesplňuje předepsané podmínky na vína polosuchá a mělo by být řazeno do kategorie polosladkých vín. Nejméně fruktózy bylo přítomno ve vzorku odrůdy Chardonnay (Char2), přičemž následující vzorky měly více než 2,5x vyšší obsah tohoto cukru v porovnání s tímto vzorkem.

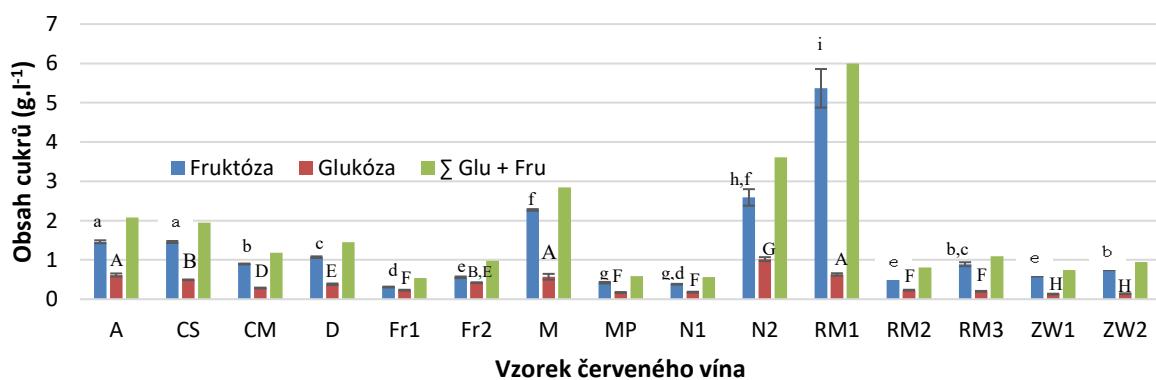
Obsah glukózy se pohyboval v užším rozmezí hodnot (0,15 – 7,70 g.l<sup>-1</sup>) než fruktóza, která je v bílém víně převažujícím cukrem. Průměrná hodnota byla 2,19 g.l<sup>-1</sup> s nižším mediánem 1,52 g.l<sup>-1</sup>. Nejnižší obsah glukózy mělo víno odrůdy Rulandské šedé (RŠ), které také mělo druhé nejnižší množství fruktózy. K nejméně sladkým vínům analyzovaných bílých vín jsou řazeny vzorky RŠ

s celkovým obsahem cukrů  $0,95 \text{ g.l}^{-1}$  a vzorek odrůdy Sauvignon (SG1) s  $1,09 \text{ g.l}^{-1}$ . K nejsladším vínům patří vzorky Cuvée odrůd Děvín a Muškát moravský (CDM) s vysokým obsahem fruktózy i glukózy, a také tři vzorky odrůdy Ryzlink rýnský (RR4,5,7) a Sauvignon (SG4).

Výsledky zjištěného množství cukrů (fruktózy a glukózy) vzorků červených vín jsou graficky znázorněny na obrázku 4.

Obecně se v červených vínech nachází menší množství cukrů než ve vínech bílých. Průměrný obsah fruktózy v červených vínech byl  $1,31 \text{ g.l}^{-1}$ , množství glukózy  $0,38 \text{ g.l}^{-1}$ . Nadprůměrný a současně nejvyšší obsah fruktózy byl zaznamenán ve vzorku odrůdy Rulandské modré (RM1;  $5,37 \text{ g.l}^{-1}$ ), nejméně pak obsahovaly vzorky odrůd Frankovka (Fr1), Neronet (N1) a Modrý Portugal (MP) v rozmezí  $0,31 - 0,42 \text{ g.l}^{-1}$ . Ve vzorku Neronet (N2) bylo stanoveno nejvíce glukózy. Zbývající vzorky červených vín měly velmi nízký obsah glukózy, který se pohyboval v rozmezí  $0,13 - 0,62 \text{ g.l}^{-1}$ . Veškeré vzorky červených vín jsou producenty uváděny jako suchá vína, a námi zjištěný celkový obsah cukrů koreluje s legislativními předpisy pro tento typ označení.

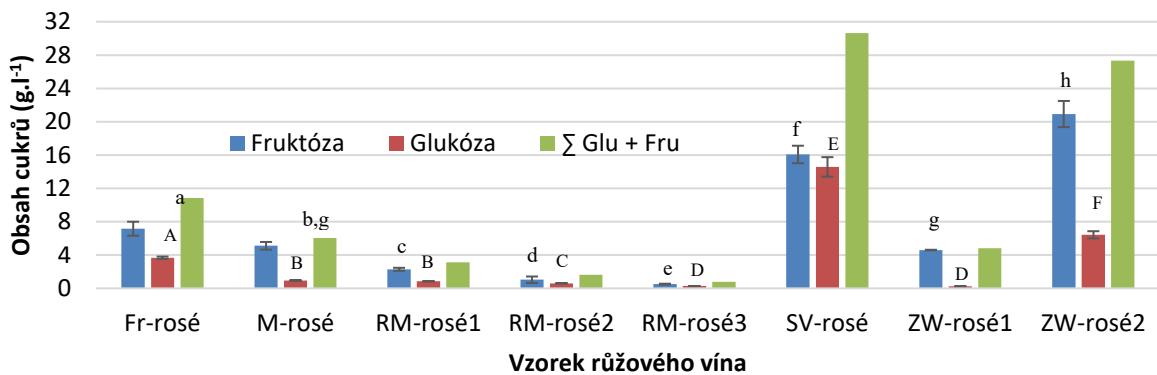
V publikaci Coelho *et al.* (2018), kteří stanovovali obsah cukrů v červených vínech, je uváděn obsah fruktózy v rozmezí  $0,16 - 0,82 \text{ g.l}^{-1}$ , což jsou sice nižší hodnoty než u našich vzorků, ale rozsah našich 35 vzorků bílých vín byl v širším rozmezí výběru. Množství glukózy v jimi analyzovaných vínech byl v rozmezí  $0,07 - 1,23 \text{ g.l}^{-1}$ . Tyto hodnoty korelují s námi naměřenými hodnotami.



Poznámky k obrázku 4: hodnoty u stejně barevných sloupců s různými indexy jsou statisticky odlišné na hladině významnosti  $p < 0,05$ .

Obrázek 4: Grafické znázornění obsahu fruktózy, glukózy a jejich sumy [ $\text{g.l}^{-1}$ ] ve vzorcích červeného vína

Výsledky získané analýzou vzorků růžových vín jsou graficky znázorněny na obrázku 5. Jsou zde patrné velmi výrazné rozdíly mezi jednotlivými vzorky, ale také mezi odrůdami, a v rámci odrůdy. Z obrázku lze ihned vypozorovat rozdíl v obsahu cukrů v odrůdě Zweigeltrebe, u vzorků ZW-rosé1 a 2, kdy rozdíl v množství cukrů u těchto vzorků činí až  $20 \text{ g.l}^{-1}$ .



Poznámky k obrázku 5: hodnoty u stejně barevných sloupců s různými indexy jsou statisticky odlišné na hladině významnosti  $p < 0,05$ .

Obrázek 5: Grafické znázornění obsahu fruktózy, glukózy a jejich sumy [ $g.l^{-1}$ ] ve vzorcích růžového vína

Průměrný obsah fruktózy v růžových vínech byl stanoven ve výši  $7,21 \text{ g.l}^{-1}$ , u glukózy ve výši  $3,45 \text{ g.l}^{-1}$ . Vysoko nadprůměrné hodnoty fruktózy byly stanoveny již u výše jmenovaného vzorku ZW-rosé2, a to až 3x vyšší než samotný průměr. Souběžně nejnižší obsah fruktózy a glukózy byl stanoven u vzorku RM-rosé3, jde o nejméně sladké růžové víno ze všech stanovovaných ( $0,79 \text{ g.l}^{-1}$  cukrů).

Dle údajů vinařů je Rulandské modré rosé zatřízeno jako suché a obsah stanovených cukrů koreluje se tímto zatříděním. Víno Svatovavřinecké rosé je definováno jako polosuché, co nekoreluje se zatříděním vzorku, které by mělo být dle obsahu stanovených cukrů uváděno jako polosladké.

Celkově lze tedy konstatovat, že nejvíce vzorků sladkých vín bylo mezi růžovými víny, bílá vína byla obecně méně sladká a nejméně sladká vína byly ve skupině červených vín.

### 4.3 Stanovení alkoholu

Obsah alkoholu, etanolu, ve vzorcích bílých, červených a růžových vín se pohyboval v rozmezí  $8,35 - 14,31 \text{ \% obj}$ . Nejnižší stanovený obsah etanolu vykazovaly vzorky vína Sauvignon (SG3) a Sylvánské zelené (SZ2), nejvyšší množství alkoholu bylo stanoveno u vzorku odrůdy Tramín červený (TČ1). Tyto tři vzorky jsou řazeny mezi vína bílá. Pickering *et al.* (1998) stanovili vliv koncentrace etanolu (rozmezí  $0 - 14 \text{ \% obj}$ ) na vnímání "plnosti" bílého vína. Bylo zjištěno, že koncentrace etanolu vysoko koreluje s vnímanou intenzitou a také fyzikálními měřeními viskozity a hustoty (Nurgel *et al.*, 2005).

Vinaři shodně na etiketách u vzorků bílých vín uvádějí obsah alkoholu od 11 do 12,5 % obj. Průměrné množství alkoholu u všech vzorků vín bylo určeno na 11,31 % obj. s obdobným mediánem (11,44 % obj.). Jednotlivé vzorky obsahovaly v průměru o 2 % obj. méně alkoholu, než jak bylo udáno výrobcem. Největší rozdíl v obsahu alkoholu byl stanoven u vzorku Sauvignon (SG3), kde

námi naměřená hodnota byla nižší o 3,15 % obj. než uvedená na etiketě. Dle platné legislativy (nařízení ES č. 479/2008) je ve víně rozlišován alkohol skutečný a celkový. Skutečný alkohol je alkohol naměřený ve víně analýzou. Celkový alkohol (uvedený na etiketě) je součet skutečného alkoholu a alkoholu, který by ještě vznikl prokvašením veškerého zbytkového cukru ve víně na nulovou hodnotu.

Obsah etanolu ve vzorcích červených vín se pohyboval v úzkém rozmezí 10,02 – 13,31 % obj. Pokud je srovnán obsah alkoholu s údaji výrobců, jisté odlišnosti byly zjištěny u vzorku Merlot (M) s udaným obsahem alkoholu 13 % obj., přičemž námi naměřená hodnota byla 10,02 % obj. U zbývajících vzorků byl rozdíl kolem 1 % obj. Breier *et al.* (2012) stanovili, že obsah alkoholu v červených vínech ze severních oblastí pěstování révy vinné se pohybuje v rozmezí 12 – 14 % obj. Kaltzin (2012) uvádí, že obsah alkoholu ve víně ovlivňuje několik faktorů, jako jsou zralost hroznů v době sklizně a technologické a fermentační zpracování hroznů. Vína s obsahem alkoholu 12 až 14 % obj. se i na základě senzorického hodnocení označují jako „silná“ vína.

Obsah alkoholu ve vzorcích růžových vín byl v poměrně širokém rozmezí 8,60 – 14,05 % obj. Nejvyšší hodnotou (14,05 % obj.) se vyznačoval vzorek Merlot (M-rosé). Nejméně alkoholu bylo určeno u vzorku odrůdy Svatovavřinecké (SV-rosé), pouhých 8,60 % obj., což se výrazně liší od údajů výrobce, který udává hodnotu 12,5 % obj. Zbývající vzorky se shodně pohybují kolem hodnoty 11 % obj. Caillé *et al.* (2018) uvádí ve vzorcích růžových vín z Francie obsah alkoholu v rozmezí 11,9 – 12,6 % obj., co odpovídá i našim stanovením.

#### 4.4 Identifikace a stanovení jednotlivých organických kyselin

Pro identifikaci a stanovení organických kyselin byla přímo v rámci řešení této práce vyvinuta metodika s využitím HPLC metody. Byly identifikovány a kvantifikovány následující organické kyseliny: kyselina vinná, jablečná, mléčná, citronová, octová a jantarová.

Celkové množství organických kyselin ve vzorcích bílých vín se pohybovalo v širokém rozmezí od 2,24 do 6,50 g.l<sup>-1</sup> s průměrem 3,99 g.l<sup>-1</sup>, pro vzorky červených vín v intervalu 2,38 – 4,10 g.l<sup>-1</sup> s průměrem 3,38 g.l<sup>-1</sup>, a ve vzorcích růžových vín 3,15 – 4,48 g.l<sup>-1</sup> s průměrem 3,65 g.l<sup>-1</sup>. Bílá vína tedy všeobecně obsahují vyšší množství organických kyselin, a to především u odrůd Veltlínské zelené (průměr 4,73 g.l<sup>-1</sup>), Sauvignon (průměr 4,47 g.l<sup>-1</sup>), Ryzlink rýnský (průměr 4,43 g.l<sup>-1</sup>) a Müller Thurgau (průměr 4,31 g.l<sup>-1</sup>). Mezi víny červenými dominuje v obsahu kyselin odrůda Modrý Portugal s obsahem 4,1 g.l<sup>-1</sup>, mezi odrůdami s více vzorky pak Rulandské modré (průměr 3,59 g.l<sup>-1</sup>) a Frankovka (průměr 3,50 g.l<sup>-1</sup>). Růžová vína jsou ve srovnání s bílými a červenými víny nejméně kyselá. Nejvyšší průměrný obsah kyselin byl

stanoven u odrůdy Rulandské modré ( $3,88 \text{ g.l}^{-1}$ ) se 3 vzorky. Následoval samostatný vzorek odrůdy Merlot (M-rosé) s  $3,70 \text{ g.l}^{-1}$  a skupina vzorků odrůdy Zweigeltrebe (ZW-rosé1,2) se stejným množstvím,  $3,47 \text{ g.l}^{-1}$ , spolu se vzorkem Svatovavřinecké (SV-rosé).

Kyselina vinná byla hlavní kyselinou přítomnou ve všech vzorcích vín. Obsah této kyseliny v našich vzorcích vín představoval více než 50 % kvantifikovaných celkových organických kyselin. U bílých vín byla kyselina vinná stanovena v množství 1,13 až  $3,37 \text{ g.l}^{-1}$ , s průměrem  $1,97 \text{ g.l}^{-1}$ . Nejmenší obsah této kyseliny byl zjištěn u vína Sauvignon (SG3) a Rulanské šedé (RŠ), nejvíce pak u odrůdy Ryzlink rýnský (RR1) a Veltlínské zelené (VZ3). Ve vzorcích červených vín bylo stanoveno  $0,71 \text{ g.l}^{-1}$  (vzorek N2) až  $1,83 \text{ g.l}^{-1}$  (vzorek Fr1) kyseliny vinné, s průměrem  $1,39 \text{ g.l}^{-1}$ . Vzorky růžových vín vykazují nejnižší průměrnou hodnotu  $1,70 \text{ g.l}^{-1}$ . Nejnižší hodnota byla stanovena u vzorku ZW-rosé1, přičemž u totožné odrůdy byla stanovena naopak i nejvyšší hodnota (ZW-rosé2) s rozdílem  $0,62 \text{ g.l}^{-1}$ . Několik studií (Soyer *et al.*, 2003; Eyduran *et al.*, 2015, Lima *et al.*, 2015) také potvrdilo naše zjištění, že hlavní kyselinou přítomnou ve víně je právě kyselina vinná, s koncentracemi v rozmezí  $0,95$  až  $6,50 \text{ g.l}^{-1}$ , co odpovídá i našim stanovením.

Koncentrace kyseliny jablečné ve vzorcích bílých vín byla stanovena v průměru  $1,14 \text{ g.l}^{-1}$ . U vzorků Ryzlink rýnský (RR4;  $0,15 \text{ g.l}^{-1}$ ) a Chardonnay (Char1;  $0,16 \text{ g.l}^{-1}$ ) bylo stanoveno nejnižší množství této kyseliny. U vzorků odrůdy Hibernal, Ryzlink rýnský (RR2) a Sauvignon (SG3) byly stanoveny nejvyšší koncentrace kyseliny jablečné ( $2,05$  –  $2,17 \text{ g.l}^{-1}$ ). Čtyři krát nižší průměrná hodnota kyseliny jablečné ( $0,27 \text{ g.l}^{-1}$ ) byla stanovena ve vzorcích červených vín než u vín bílých. U vína Neronet (N2) a Zweigeltrebe (ZW2) bylo stanoveno nejnižší množství ( $0,03$  –  $0,04 \text{ g.l}^{-1}$ ), naopak ve vzorku odrůdy Frankovka (Fr2;  $0,96 \text{ g.l}^{-1}$ ) množství nejvyšší. U vzorků růžových vín byl stanoven průměr obsahu kyseliny jablečné na  $0,70 \text{ g.l}^{-1}$ . Podobně jako v případě vinné kyseliny, bylo ve vzorku ZW-rosé2 stanoveno nejnižší množství této kyseliny ( $0,05 \text{ g.l}^{-1}$ ), a u totožné odrůdy u vzorku ZW-rosé1 a RM-rosé1 byl stanoven obsah nejvyšší ( $1,21$  –  $1,26 \text{ g.l}^{-1}$ ). Součet množství kyseliny vinné a jablečné může představovat více než 80 % celkového obsahu kyselin ve vzorcích vína a jejich koncentrace se liší v závislosti na stupni zrání, odrůdě hroznů, klimatu a faktorech souvisejících se zpracováním, jako je provedení stabilizace kyseliny vinné, což může mít za následek její snížení (Ribeiro *et al.*, 2012; Soyer *et al.*, 2003).

Množství kyseliny mléčné se ve vzorcích bílého a růžového vína pohybovalo ve velmi podobných hodnotách. U vzorků bílých vín v rozmezí od  $0,02$  do  $1,03 \text{ g.l}^{-1}$  s průměrem pouze  $0,29 \text{ g.l}^{-1}$ , a u vzorků růžových vín v rozmezí  $0,04$  –  $1,52 \text{ g.l}^{-1}$  s průměrem  $0,55 \text{ g.l}^{-1}$ . V červeném víně byla stanovena průměrná hodnota obsahu mnohem vyšší,  $1,04 \text{ g.l}^{-1}$ . Kromě obvyklého výskytu této kyseliny ve víně, může mléčná kyselina ještě dále vznikat, a to přeměnou kyseliny jablečné na kyselinu mléčnou bakteriemi mléčného kvašení při jablečně-mléčné

fermentaci (Mato *et al.*, 2007), která také vysvětluje vyšší naměřené hodnoty kyseliny mléčné ( $0,27$  až  $1,48 \text{ g.l}^{-1}$ ) u vzorků červených vín.

Pokud jde o kyselinu citronovou, zjištěné hodnoty všech vzorků se pohybovaly v rozmezí od  $0,08$  do  $1,25 \text{ g.l}^{-1}$ . Ve vzorcích bílého vína byla její průměrná hodnota stanovena ve výši  $0,26 \text{ g.l}^{-1}$ . Mírně vyšší průměrný obsah kyseliny citronové byl stanoven u vzorků červených vín ( $0,28 \text{ g.l}^{-1}$ ), u vzorků růžových vín  $0,25 \text{ g.l}^{-1}$ . Nízké koncentrace kyseliny citronové ( $< 0,2 \text{ g.l}^{-1}$ ) u 18 z 58 vzorků bílého, červeného a růžového vína by mohly být způsobeny tím, že tato kyselina je během zrání přeměněna na kyselinu jablečnou.

Druhou organickou kyselinou vyskytující se s nejmenším obsahem je kyselina jantarová. Množství této kyseliny se ve vzorcích růžových vín pohybuje v rozmezí  $0,09 - 0,84 \text{ g.l}^{-1}$  (průměr  $0,30 \text{ g.l}^{-1}$ ). Kyselina jantarová je méně zastoupena ve vzorcích bílých vín ( $0,02 - 1,33 \text{ g.l}^{-1}$ ) s průměrem  $0,24 \text{ g.l}^{-1}$  a nejméně v červených vínech ( $0,04 - 0,40 \text{ g.l}^{-1}$ ), v průměru  $0,21 \text{ g.l}^{-1}$ .

Kyselina octová byla ve vzorcích vín kvantifikována jako nejméně zastoupena organická kyselina. Její obsah byl velmi nízký, pohyboval se od  $0,02$  do  $0,58 \text{ g.l}^{-1}$ . Přítomnost této kyseliny ve vyšších a vysokých koncentracích v šťávách a vínech svědčí o nežádoucích fermentacích, které mohou být způsobeny nedostatkem hygiény související se surovinami nebo fermentačními procesy způsobenými nežádoucími mikroorganismy (Lima *et al.*, 2014). U vzorků bílých vín bylo stanoveno v průměru  $0,09 \text{ g.l}^{-1}$ , u červených vín byla tato hodnota vyšší s průměrem  $0,19 \text{ g.l}^{-1}$  a růžová vína měly sice střední průměr z hodnocených vín ( $0,14 \text{ g.l}^{-1}$ ). Ve vzorku růžového vína, konkrétně SV-rosé, bylo stanoveno nejvyšší množství této kyseliny.

Organické kyseliny mají ve víně významné postavení, a to především v podobě dotváření celkového charakteru a chutových vlastností, které tvoří celkový senzorický dojem při konzumaci vína. Jsou tedy jedním z faktorů, které určují kvalitu vína a tím také ovlivňují jeho odbyt.

#### 4.5 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Celkové množství polyfenolů (CP) bylo stanoveno prostřednictvím spektrofotometrické metody s použitím Folin-Ciocalteauova činidla.

Průměrný obsah CP ve vzorcích 35 bílých vín byl v počátku měření (0 měsíc) zjištěn v hodnotě  $286,71 \text{ mg GAE.l}^{-1}$ . Nejvyšší obsah CP byl stanoven u vína odrůdy Tramín červený (TČ1) a to v hodnotě až  $503,7 \text{ mg GAE.l}^{-1}$ , což je více než 1,3-násobek hodnoty následujícího vzorku odrůdy Sauvignon (SG3), přičemž dané vzorky si vysoké hodnoty zachovaly i po ročním skladování. V rámci odrůd měly nejvyšší průměr vzorky odrůdy Tramín červený (TČ1-2), nejméně vzorky odrůdy Ryzlink rýnský (RR1-8). Celkově nejméně polyfenolů bylo zjištěno u vzorku odrůdy Sylvánské zelené (SZ3). Paixao *et al.* (2007) hodnotili obsah polyfenolů v portugalských bílých vínech. Průměrný naměřený obsah u vín byl  $369 \text{ mg GAE.l}^{-1}$ . U další studie (Hurtado *et al.* 1997) byl uveden obsah CP bílých vín v průměru  $292 \text{ mg GAE.l}^{-1}$ . Tyto publikované hodnoty jsou

srovnatelné s námi naměřenými obsahy CP bílých vín. I výsledky práce Ricci *et al.* (2016) pro CP u vína Sauvignon s uváděnou hodnotou 222 mg GAE.l<sup>-1</sup> se přibližují hodnotám našich výsledků pro tuto odrůdu (SG1 – SG5; 260,82 – 373,39 mg GAE.l<sup>-1</sup>).

Obsah CP ve vybraných vzorcích bílého vína vykazuje v průběhu měřených intervalů (0, 1, 6 a 12 měsíc) klesající trend. Mezi 0 – 1. měsícem dochází ke snížení CP v průměru o 3,2 %. Po 6 měsících dochází u všech vzorků vína k poklesu v průměru o 6,87 % oproti prvnímu měření. Po ročním skladování je obsah CP ve vzorcích bílého vína v průměru o 11,96 % nižší. Nejvyšší pokles byl naměřen u odrůdy Ryzlink rýnský (RR5), o 29,85 %, a u totožné odrůdy (vzorek RR1) byl současně zjištěn nejnižší pokles, pouze 5,93 %. Téměř totožný úbytek CP je možné pozorovat u odrůdy Chardonnay (Char1 o 7,91 %, Char2 o 7,97 %). U testovaných vín nejmladšího ročníku 2018, dochází k úbytku CP do 10 % (6,69 – 9,57 %). Pro porovnání, u vín nejstaršího ročníku (2011) dochází k úbytku CP do 13 % (5,93 – 12,75 %).

Ve vzorcích červeného vína byl průměrný obsah CP na počátku měření stanoven na hodnotě 1585,60 mg GAE.l<sup>-1</sup>. Nejvyšší námi zaznamenaná hodnota obsahu CP v počátku měření byla u červeného vína odrůdy Neronet, a to u obou vzorků (2290,45 – 2389,55 mg GAE.l<sup>-1</sup>), které si tuto pozici udržely po celou dobu skladování (12 měsíců). Nejmenší množství CP bylo stanoveno u vzorku CM (Cuvée Methodus), který, dle našich měření, měl také nejnižší AA (DPPH). Z jednodruhových vín měl nejnižší obsah vzorek André (1228,73 mg GAE.l<sup>-1</sup>).

Hodnoty obsahu CP ve vzorcích červeného vína publikované Hosu *et al.* (2014) byly v rozmezí 1200 – 4000 mg GAE.l<sup>-1</sup>, co koresponduje se zjištěnými hodnotami námi analyzovaných vín (963,88 – 2389,55 mg GAE.l<sup>-1</sup>). Další studie (Li *et al.*, 2009) udává průměrnou hodnotu CP v červených vínech ve výši 2068,46 mg GAE.l<sup>-1</sup>, kdy naše vzorky dosahují 2/3 této publikované hodnoty.

Obsah polyfenolů ve vínech je všeobecně ovlivněn faktory, jako je typ odrůdy, lokalita, klima ve vegetačním období a při zrání révy vinné, zralost révy vinné, doba sklizně, technologické postupy a skladování (Chira *et al.*, 2011).

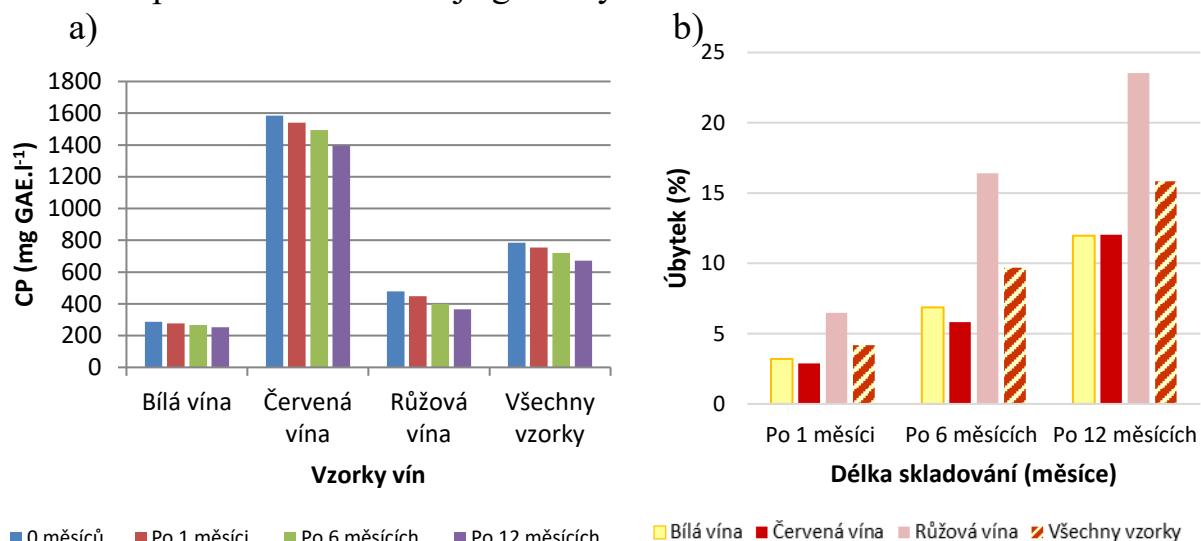
Hodnota CP se snižuje po 1 měsíci skladování u všech vybraných vzorků vína, v průměru o 2,88 %, po 6 měsících pak o 5,82 %, a nakonec při měření po 12 měsících dochází k poklesu proti počátečnímu stavu o 12,04 %. Nejvyšší úbytek je patrný u vzorku Cuvée Starohorské (CS) s úbytkem 14 %, nejméně pak u vzorku Zweigeltrebe (ZW2), kdy dojde k poklesu o pouhých 3,32 %. Úbytky u ostatních vzorků byly v rozsahu 4,92 – 13,42 %.

Hodnoty obsahů celkových polyfenolů (CP) v analyzovaných odrůdách růžových vín a jejich pokles v průběhu skladování. Průměrná hodnota CP na počátku měření byla 479,12 mg GAE.l<sup>-1</sup>. Nejvyšší obsah CP mezi odrůdami byl zaznamenán u vzorků vína Rulanské modré (RM-rosé1-3) v rozmezí 509,82 – 770,55 mg GAE.l<sup>-1</sup>. U vzorku SV-rosé byla taktéž stanovena nadprůměrná hodnota CP (521,45 mg GAE.l<sup>-1</sup>). Při srovnání hodnoty CP publikované u vzorku Svatovavřinecké rosé autory Baroň *et al.* (2017) – 52 mg GAE.l<sup>-1</sup>,

jde o podstatně nižší hodnotu než u našich vzorků vín, kde byly naměřeny obsahy CP několikanásobně vyšší, a to i po ročním skladování.

I v růžových vínech vykazují celkové polyfenoly pokles obsahu v průběhu měsíčního skladování v průměru o 6,48 %, po 6 měsících pak 16,41 % a po roku skladování 23,54 %, což je největší roční průměrný úbytek zaznamenaný během měření všech vín. Nejvyšší pokles v průběhu 12 měsíců byl zaznamenaný u vzorku Rulandské modré (RM-rosé2; 53,45 %), nejméně u vzorku stejné odrůdy (RM-rosé3; 11,72 %).

Celkové polyfenoly byly v nejvyšší míře zastoupeny u vzorků červených vín, následovaly vzorky růžových vín, kdy obsah CP byl 3x nižší. V bílých vínech bylo v průměru stanovené poloviční množství CP než ve vínech růžových. Ve vzorcích růžového vína byl zaznamenaný nejvyšší úbytek CP v průběhu 12 měsíčního skladování a dosahoval výšky 23,54 %. Bílá a červená vína dosahovala polovičního úbytku CP jak růžová vína. Za stejnou dobu pozorování byl průměrný úbytek CP v bílých vínech 11,96 %, a téměř totožný úbytek (12,04 %) byl ve vzorcích červených vín. Srovnání průměrného množství CP a hodnot úbytků ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování je graficky znázorněno na obrázku 6.



Obrázek 6: Průměrné množství CP (mg GAE.l⁻¹) - graf a), a úbytek CP (%) - graf b) ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování (1, 6 a 12 měsíců)

#### 4.6 Identifikace a stanovení obsahu jednotlivých fenolických sloučenin

K separaci a identifikaci fenolických látek ve všech vzorcích vín bylo využito metody HPLC-DAD. Zjištěné celkové množství jednotlivých fenolických sloučenin se v bílých vínech pohybovalo v rozmezí od 20,08 do 168,62 mg.l⁻¹, z toho fenolové kyseliny tvořily 3,29 – 65,87 mg.l⁻¹ a flavonoidy 3,94 – 102,75 mg.l⁻¹. Grafické znázornění obsahu uvedených látek v jednotlivých vzorcích bílého vína je uvedeno na obrázku 7. Pořadí

jednotlivých skupin dle obsahu ve víně je následující: flavanoly > deriváty benzoové kyseliny > deriváty skořicové kyseliny > flavonoly > stilbeny.

Průměrný obsah fenolických sloučenin ve vzorcích bílého vína byl v hodnotě 56,18 mg.l<sup>-1</sup>. Na obsah fenolických sloučenin je ze vzorků bílých vín nejbohatší víno Veltlínské zelené (VZ2). Nejmenší stanovené množství fenolických sloučenin bylo zjištěno ve vzorcích odrůdy Müller Thurgau (MT1) a Sylvánské zelené (SZ1), pouhých 11,91 – 12,38 % nejvyššího naměřeného obsahu u vzorků bílých vín, a jen 36 % vypočteného průměrného obsahu.

U skupiny fenolových kyselin, kde jsou řazeny deriváty benzoové a skořicové kyseliny, bylo určeno široké rozmezí jejich množství v bílých vínech 3,29 – 73,49 mg.l<sup>-1</sup> s průměrem 20,16 mg.l<sup>-1</sup>. Nejvyšší množství bylo stanovenou u odrůdy Tramín červený (TČ1). U odrůdy Müller Thurgau bylo stanovenou nejnižší množství, a to u obou zastoupených vzorků.

Flavonoidy (zahrnující flavonoly a flavanoly) se ve vzorcích bílých vín vyskytují v průměrném obsahu 36,00 mg.l<sup>-1</sup>. Tvoří tedy majoritní skupinu fenolických sloučenin, a to především flavanoly s nejvyššími stanovenými obsahy, což je trend viditelný u všech bílých vín. Nejvíce flavonoidů bylo stanovenou opět u vzorku Veltlínské zelené (VZ2; 102,75 mg.l<sup>-1</sup>). Z uvedeného množství převažují flavanoly (100,48 mg.l<sup>-1</sup>), flavonoly dosahují jen 1/50 obsahu (2,27 mg.l<sup>-1</sup>). Nejnižší obsah flavonoidů byl stanoven u vzorku odrůdy Sylvánské zelené 3,94 mg.l<sup>-1</sup> (SZ1), kdy byl zjištěn podobný trend jako u vína s nejvyšším obsahem, v tomto případě, že obsahuje 4 – 15x menší obsah flavonoidů mezi vzorky totožné odrůdy (SZ2, SZ3).

Ze skupiny flavonoidů se ve vzorcích bílých vín vyskytuje v nejvyšším množství flavanol epigallokatechin. Nejvyšší obsah tohoto flavanolu byl stanoven ve vzorku Ryzlink rýnský (RR5; 86,81 mg.l<sup>-1</sup>). Dalším významným flavanolem byl katechin, jeho nejvyšší množství bylo stanovenou ve vzorku odrůdy Veltlínské zelené (VZ2; 46,73 mg.l<sup>-1</sup>). Nejméně jsou ve vzorcích ze skupiny flavenolů přítomny kvercetin, rutin, kaempferol a ze skupiny flavenolů epikatechin, a to v množství do deseti mg.l<sup>-1</sup>.

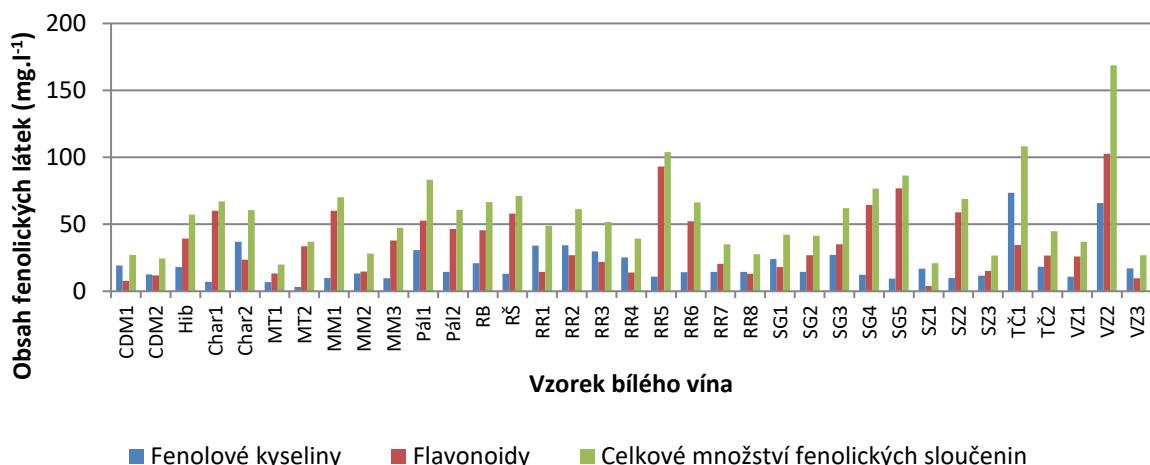
Ze skupiny fenolových kyselin se ve víně nejvíce vyskytuje derivát benzoové kyseliny (v hodnotách desítek mg.l<sup>-1</sup>). Průměrný obsah derivátů benzoové kyseliny byl 11,65 mg.l<sup>-1</sup>. U derivátů skořicové kyseliny byl stanoven nižší průměr, 8,51 mg.l<sup>-1</sup>. Kyselina gallová, přítomna v potravinách rostlinného původu, vykazuje významné antioxidační vlastnosti (Strlič *et al.*, 2002), a proto ji mnoho vědců věnuje značnou pozornost. V bílých vínech byl její obsah v jednotkách až desítkách mg.l<sup>-1</sup>, nejvíce opět u vína odrůdy Veltlínské zelené (VZ2), nejméně u odrůdy Ryzlink rýnský (RR1, RR5). Kapusta *et al.* (2017) analyzovali její obsah ve vzorku odrůdy Hibernal a určili průměrnou hodnotu 0,82 mg.l<sup>-1</sup>, což je nižší množství než námi stanovené (1,34 mg.l<sup>-1</sup>), ale její obsah ve víně může být ovlivněn už zmínovanými faktory. Z derivátů skořicové kyseliny se nejvíce ve vzorcích vyskytuje kyselina kávová a *p*-kumarová. Zbylé

kyseliny - *t*-skořicová, hydroxyskořicová, chlorogenová, neochlorogenová a ferulová nebyly detekovány.

Stilben resveratrol byl stanoven u 16 vzorků bílých vín z 35 analyzovaných. Námi naměřené hodnoty resveratrolu lze považovat za srovnatelné s obvyklými hodnotami, kdy několik autorů (Leblanc *et al.*, 2008; Natividade *et al.*, 2013) uvedlo koncentraci této sloučeniny v bílém víně z různých kultivarů, oblastí původu a zpracovaných rozdílnými procesy, s hodnotou od 0 do 0,44 mg.l<sup>-1</sup>.

Nejlépe hodnoceným vzorkem, respektive s nejvyšším obsahem fenolických sloučenin, byl vzorek odrůdy Veltlínské zelené (VZ2), ročník 2016. Mezi totožnými odrůdami vína Veltlínské zelené, dosahoval až 5-násobně vyšší hodnoty celkového obsahu fenolických sloučenin. Stanovené hodnoty u tohoto vzorku byly až o 1/3 vyšší než další nejlépe hodnocené vzorky (Tramín červený – TČ1, nejstarší hodnocený ročník, a Ryzlink rýnský – RR5, 2015).

Průměrný obsah fenolických sloučenin ve vzorcích bílého vína byl stanoven na hodnotě 56,18 mg.l<sup>-1</sup>, následně jejich množství po 6 měsících kleslo na 51,07 mg.l<sup>-1</sup> a po roce skladování na 42,27 mg.l<sup>-1</sup>. Průměrný úbytek fenolických sloučenin v bílém víně tedy činí 24,75 % za 12 měsíců skladování. Úbytek je závislý i na odrůdě, kdy nejnižší pokles byl stanoven u odrůdy Sauvignon – 17,5 %, naopak největší úbytek u odrůdy Müller Thurgau – 46 % po dobu skladování.



Obrázek 7: Obsah fenolových kyselin, flavonoidů a celkové množství fenolických sloučenin [mg.l<sup>-1</sup>] v bílém víně (0 měsíc)

V červených vínech byly v různém množství identifikovány veškeré fenolické sloučeniny. Grafické znázornění obsahu jednotlivých látek ve vzorcích červeného vína je na obrázku 8.

Z výsledků analýz je patrné, že i obsah jednotlivých fenolických sloučenin v červených vínech závisí na odrůdě. Zjištěné celkové množství jednotlivých fenolických sloučenin se v červených vínech pohybovalo v rozmezí 47,31 až 374,99 mg.l<sup>-1</sup>, s průměrem 155,57 mg.l<sup>-1</sup>. Množství fenolových kyselin bylo v rozmezí 33,54 – 134,22 mg.l<sup>-1</sup> a flavonoidů v rozsahu 35,35 – 257,36 mg.l<sup>-1</sup>.

Pořadí jednotlivých skupin dle obsahu ve vzorcích červených vín je stejné jako u bílých vín: flavanoly > deriváty benzoové kyseliny > deriváty skořicové kyseliny > flavonoly > stilbeny. Nejvyšší obsah stanovených fenolických sloučenin vykazoval vzorek vína odrůdy Zweigeltrebe (ZW2, 2016). Nejnižší hodnota byla stanovena ve vzorku odrůdy Dornfelder (2015).

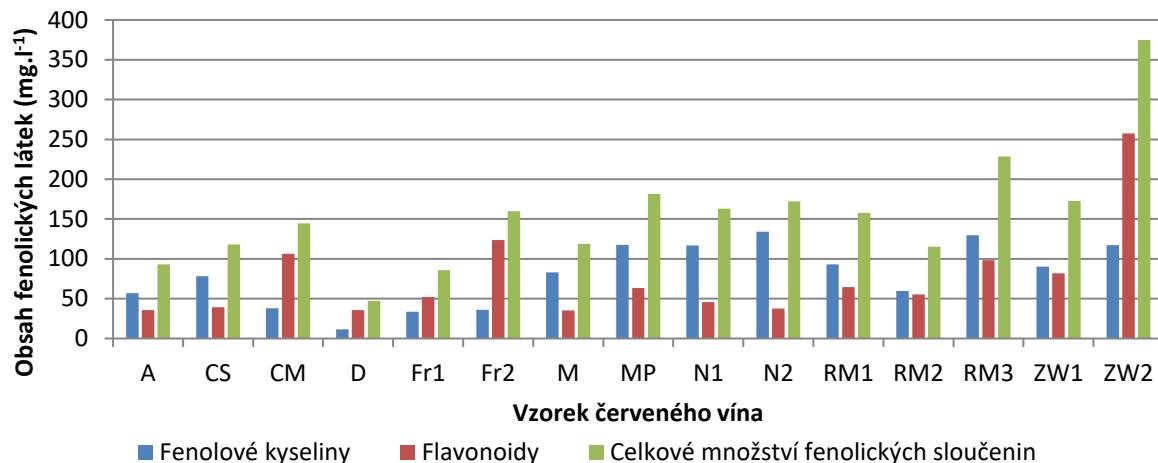
Ve vzorcích červených vín se ze skupiny flavonoidů, konkrétně flavanolů, vyskytuje nejvíce epigallokatechin, epikatechin a katechin. Jejich množství se pohybuje v řádech jednotek až stovek  $\text{mg.l}^{-1}$ . Epigallokatechin byl v nejvyšším množství stanoven opět u nejlépe hodnoceného vína, co se týče fenolických sloučenin, ZW2 –  $194,28 \text{ mg.l}^{-1}$ . Pokud je srovnán jeho obsah ve vzorku odrůdy Zweigeltrebe s publikovanou hodnotu stejné odrůdy dle Šeruga *et al.* (2011) –  $37,7 \text{ mg.l}^{-1}$ , je to hodnota mnohem nižší, což může způsobit řada faktorů.

Obsah resveratrolu se pohyboval v rozmezí  $0,16 - 0,68 \text{ mg.l}^{-1}$ . Průměrné množství resveratrolu v červeném víně bylo  $0,35 \text{ mg.l}^{-1}$ . Nejvyšší množství bylo stanoveno ve vzorcích odrůd Rulandské modré (RM3) a Neronet (N2). Nejnižší obsah byl stanoven ve vzorku Rulandské modré (RM2), kde byl u jiného vzorku této odrůdy určen nejvyšší obsah.

Fenolové kyseliny byly zjištěny v průměrném množství  $79,74 \text{ mg.l}^{-1}$ . Kapusta *et al.* (2018) ve své studii uvádějí průměrné množství fenolových kyselin v hodnotě  $110,14 \text{ mg.l}^{-1}$ , což je ve srovnání s našimi vzorky vyšší hodnota, ale vzhledem k analýze rozdílných odrůd z odlišných regionů, je to přípustné. V převážné většině vzorků je obsah fenolových kyselin vyšší než obsah flavonoidů. Množství složek ze skupiny derivátů benzoové kyseliny (průměr  $53,43 \text{ mg.l}^{-1}$ ) bylo určeno větší než u derivátů skořicové kyseliny (průměr  $26,31 \text{ mg.l}^{-1}$ ). Nejvíce bylo stanoveno u vzorku odrůdy Neronet (N2;  $134,22 \text{ mg.l}^{-1}$ ), a nad hranicí  $100 \text{ mg.l}^{-1}$  se nacházely i vzorky odrůdy Rulandské modré (RM3), Modrý Portugal a Neronet (N1). Kyselina gallová, protokatechová, chlorogenová a kávová byly nejvíce zastoupenými fenolovými kyselinami ve vzorcích červeného vína. Nejvyšší množství kyseliny gallové ( $62,79 \text{ mg.l}^{-1}$ ) bylo stanoveno ve vzorku odrůdy Zweigeltrebe (ZW2). Kapusta *et al.* (2018) stanovili průměrnou hodnotu této kyseliny v 6 vzorcích červených vín –  $61,49 \text{ mg.l}^{-1}$ , co v podstatě koreluje s námi naměřenými hodnotami. Množství kyseliny kávové bylo stanoveno v rozmezí  $4,09 - 9,14 \text{ mg.l}^{-1}$ . Tyto výsledky byly podobné výsledkům uvedeným pro španělská ( $4,09 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a italská červená vína ( $2,5 - 17,9 \text{ mg.l}^{-1}$ ) (Peña-Neira *et al.*, 2000; Gambelli a Santaroni, 2004). Horní hranice hodnoty byla stanovena ve víně Rulandské modré (RM1). Ke složkám nejméně zastoupeným v červeném víně patří rutin, kyselina ellagová, ferulová a chlorogenová.

Obsah fenolických sloučenin v červených vínech byl sledován i po 1, 6 a 12 měsících skladování vín. Bylo zjištěno, že po jednom měsíci skladování dojde k úbytku z původního množství o  $15,72 \%$ , následně jejich hodnota dále klesá a za 6 měsíců je nižší o  $17,94 \%$ . Celkový úbytek fenolických sloučenin v červených vínech po 12 měsících skladování činí  $23,06 \%$ . Nižší pokles byl

stanoven u nejlépe hodnoceného vzorku, dle celkového obsahu fenolických sloučenin, odrůdy Zweigeltrebe – 21,87 %, větší u vína odrůdy Merlot (41,92 %). U vzorků vín, ve kterých bylo na počátku měření stanoveno vyšší množství fenolových kyselin, byl zaznamenán vyšší úbytek celkového obsahu fenolických sloučenin, než pro vzorky s vyšším obsahem flavonoidů na počátku měření.



Obrázek 8: Obsah fenolových kyselin, flavonoidů a celkové množství fenolických sloučenin [mg.l⁻¹] ve vzorcích červených vín (0 měsíc)

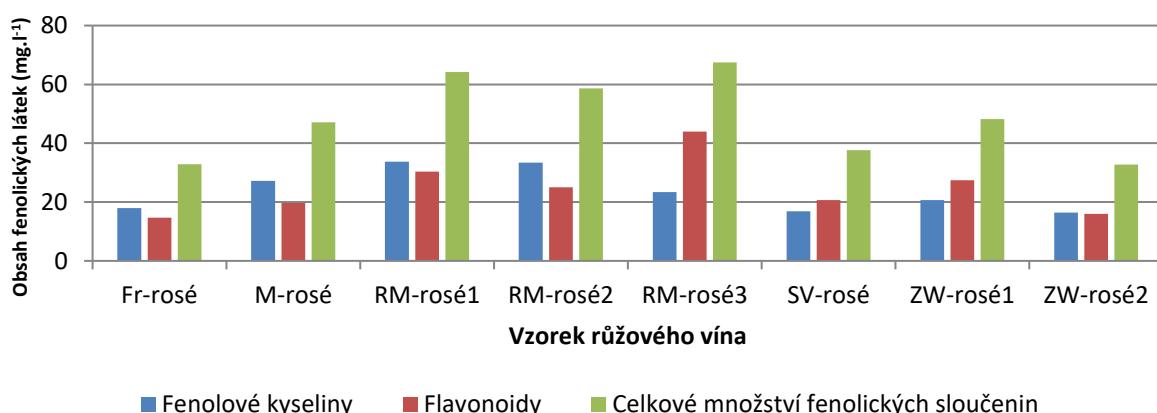
Grafické znázornění obsahů fenolových kyselin, flavonoidů a celkového množství fenolických sloučenin v růžovém víně je na obrázku 9. Suma množství jednotlivých fenolických sloučenin se v růžových vínech pohybovala v rozmezí 32,73 - 67,41 mg.l⁻¹, průměr 48,59 mg.l⁻¹. Pereira *et al.* (2010) uvádí obsah fenolických sloučenin v růžovém víně do 11,64 mg.l⁻¹. Uvedená hodnota nedosahuje množství fenolických sloučenin v našich vzorcích, což může být vysvětleno analýzou pouze jednoho vybraného vzorku, případně i jinými faktory, které mají na jejich obsah vliv. Pořadí jednotlivých skupin dle obsahu ve vzorcích je následující: flavanoly > deriváty benzoové kyseliny > deriváty skořicové kyseliny > flavonoly > stilbeny. Nejvyšší obsah stanovených fenolických sloučenin vykazoval vzorek vína odrůdy Rulandské modré (RM-rosé3). Naopak nejnižší hodnota byla stanovena ve vzorcích Zweigeltrebe (ZW-rosé2), Frankovka a Svatovavřinecké.

Ve vzorcích růžových vín se ze skupiny flavonoidů, konkrétně flavanolů, vyskytuje epigallokatechin v rádu desítek mg.l⁻¹, který je ve větším množství přítomen ve víně Rulanské modré rosé (RM-rosé1; 16,81 mg.l⁻¹). V publikaci Pereira *et al.* (2010) je stanovená hodnota epigallokatechinu ve vzorku růžového vína opět nižší (4,53 mg.l⁻¹) než námi zjištěný průměrný obsah. Důvodem může být i rozdílná lokalita a odlišné klimatické podmínky v daném ročníku.

Ze skupiny fenolových kyselin dominují v růžových vínech deriváty benzoové kyseliny - kyselina vanilová, syringová, protokatechová, gallová kyselina, a z derivátů skořicové kyseliny – kávová, sinapová a *p*-kumarová. Všechny uvedené složky byly přítomny v množství jednotek mg.l⁻¹. Kyselina

kávová byla ve vyšším množství stanovena u vzorku vína Merlot rosé ( $5,57 \text{ mg.l}^{-1}$ ), kyselina sinapová ve vzorku Fr. rosé ( $3,86 \text{ mg.l}^{-1}$ ).

Sledování obsahu fenolických sloučenin a jeho změn proběhly v růžových vínech i po 1, 6 a 12 měsících. Průměrné množství fenolických sloučenin ve vzorcích růžového vína ihned po otevření lahve bylo  $48,59 \text{ mg.l}^{-1}$ , přičemž jeho hodnota v průběhu skladování klesala. Po 1 měsíci skladování dochází k úbytku fenolických sloučenin v průměru o  $6,15 \%$ , po 6 měsících pak o  $15,46 \%$ . Za 12 měsíců klesl obsah fenolických sloučenin o  $19,78 \%$ . Nižší pokles byl stanoven u vzorku Rulandské modré rosé –  $16,23 \%$ , vyšší u vína Svatovavřinecké rosé ( $32,75 \%$ ), kdy právě tento vzorek vykazoval nižší celkové množství stanovených fenolických sloučenin, flavonoidů, i fenolových kyselin.



Obrázek 9: Obsah fenolových kyselin, flavonoidů a celkový obsah fenolických sloučenin [ $\text{mg.l}^{-1}$ ] ve vzorcích růžových vín (0 měsíc)

#### 4.7 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Celkové množství flavonoidů (FL) bylo stanoveno ve vínech spektrofotometrickou metodou. Na počátku měření bylo stanoveno průměrné množství FL u vzorků bílých vín v hodnotě  $281,44 \text{ mg RE.l}^{-1}$ . Nejvyšší množství FL na začátku skladování (0 měsíc) bylo naměřeno ve vzorku odrůdy Muškát moravský (MM3;  $496,21 \text{ mg RE.l}^{-1}$ ), což je téměř čtyřnásobek hodnoty FL vín s jejich nejnižším obsahem – vína odrůdy Ryzlink rýnský (RR4;  $120,81 \text{ mg RE.l}^{-1}$ ). Jak je z výsledků patrné, vliv různé odrůdy révy vinné se projevil i ve výsledcích obsahu flavonoidů. Li *et al.* (2009) ve své publikaci uvádí hodnotu FL ve vzorcích bílých vín původem z Číny v rozmezí  $31 - 242 \text{ mg RE.l}^{-1}$ . Horní publikovaná hodnota dosahuje výše námi stanovené průměrné hodnoty, avšak publikovaný průměr  $87,23 \text{ mg RE.l}^{-1}$  představuje přibližně 1/3 námi stanoveného průměru u vzorků bílých vín. Ivanova *et al.* (2009) uvádí průměrný obsah FL v odrůdě Ryzlink rýnský ve výši  $71 \text{ mg RE.l}^{-1}$ , co představuje třetinový obsah proti námi naměřeným výsledkům. Důvodem může být odlišnost výrobních postupů, které jsou dány především regionálními zvyklostmi, jelikož se jedná o vína produkovaná na Balkánském poloostrově,

konkrétně v Makedonii. Na povahu a množství flavonoidů ve vzorcích vín může mít vliv jak odrůda vína, tak i porušenost hroznů při sklizni, a rozdíly v postupech zpracování (Rupasinghe a Clegg, 2007).

Obsahy flavonoidů byly také ovlivněny skladováním. Po 1 měsíci skladování se hodnota snížila o 3,69 %. Za 6 měsíců pak úbytek FL o 8,57 %. Po 12 měsících se jedná o snížení proti počáteční hodnotě o 9,89 %. Nejvíce se roční skladování projevilo u odrůdy Müller Thurgau (MT2), kdy došlo k největšímu poklesu napříč vzorky, tedy snížení obsahu FL o 20,86 %. Nejlepší z odrůd v rámci sledování snížení FL byla určena odrůda Ryzlink rýnský (RR1-8), kdy u vzorku RR2 došlo k poklesu pouze o 2,52 %, což je nejméně ze všech vzorků bílých vín.

Obsah flavonoidů se pohyboval ve vzorcích červeného vína v poměrně širokém rozmezí (613,28 – 4562,08 mg RE.l<sup>-1</sup>). Průměrný obsah FL v první fázi hodnocení byl zjištěn v hodnotě 2592,68 mg RE.l<sup>-1</sup>. Nejvyšší množství bylo stanoveno na počátku měření u vzorku odrůdy Rulandské modré (RM1), naopak nejnižší hodnota u vzorku Cuvée Methodus (CM). Oba uvedené vzorky si udrželi své pozice po celou dobu ročního skladování. I mezi samotnými odrůdami je možné sledovat rozdíly v hodnotách FL, nejpatrnější u odrůdy Frankovka (Fr1; 1676,17 mg RE.l<sup>-1</sup> a Fr2; 965,46 mg RE.l<sup>-1</sup>) a Zweigeltrebe (ZW1; 3907,91 mg RE.l<sup>-1</sup> a ZW2; 2746,28 mg RE.l<sup>-1</sup>).

Obsahy flavonoidů vzorků červeného vína byly také ovlivněny skladováním, rozdíly byly v závislosti na odrůdě. Po 1 měsíci skladování dochází jen k nízkému průměrnému úbytku FL, a to pouze o 0,59 %. Třetí fází sledování je testování vín po 6 měsících skladování, zde již dochází k vyššímu úbytku FL, v průměru o 2,10 %. Poslední fází je sledování úbytku FL po roce skladování, kdy byl stanoven celkový průměrný úbytek v hodnotě 1,26 %. U jednotlivých vzorků bylo také možné pozorovat různý pokles obsahu FL v průběhu skladování. Nejnižší úbytek byl stanoven u vzorku s nejvyšším obsahem FL (RM1), kdy dochází ke snížení pouze o 1,22 %. Nejvyšší úbytek byl stanoven u odrůdy Frankovka (Fr2), který činí 17,48 %, dále Zweigeltrebe (ZW2; 13,81 %).

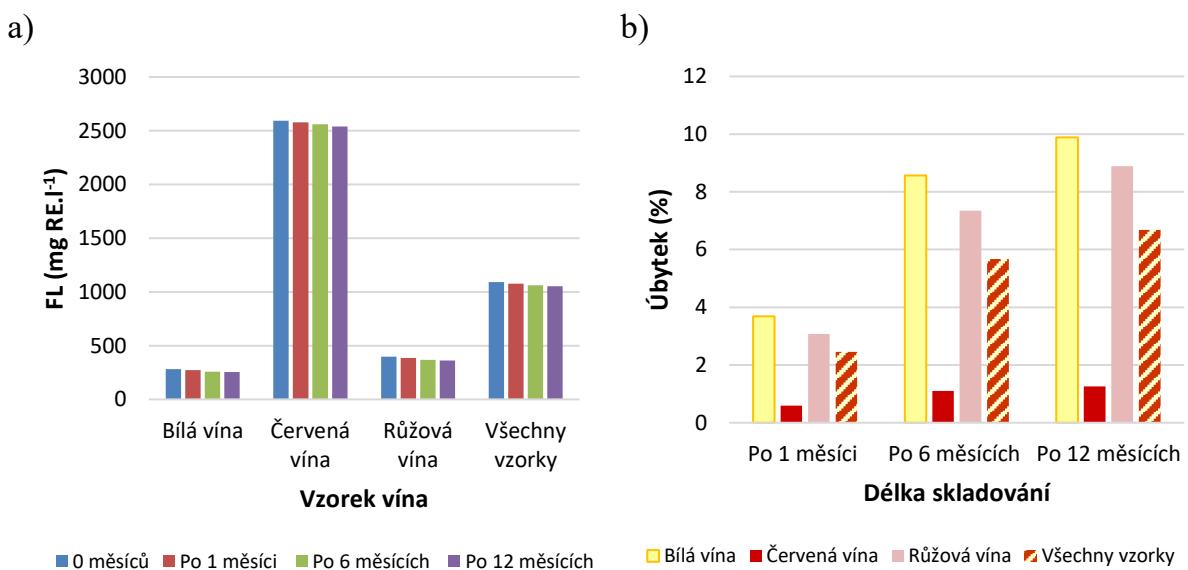
Hosu *et al.* (2014) stanovili obsah FL v červených vínech v mnohem nižších hodnotách (300 mg RE.l<sup>-1</sup>) než jsou námi stanovené, a to i po roce skladování, kdy dosahují více než dvojnásobek jimi udaného množství.

Obsah flavonoidů se ve vzorcích růžového vína pohyboval v poměrně úzkém rozmezí (275,92 – 457,74 mg RE.l<sup>-1</sup>). U vzorků je možné pozorovat téměř vyrovnaných hodnot FL, a to především u odrůdy Frankovka (Fr-rosé), Svatovavřinecké (SV-rosé) a Merlot (M-rosé.) Uvedené vzorky také překračují hranici 400 mg RE.l<sup>-1</sup>. Průměrný obsah FL v první fázi hodnocení byl zjištěn v hodnotě 397,76 mg RE.l<sup>-1</sup> s mediánem 434,20 mg RE.l<sup>-1</sup>. U vzorků odrůdy Zweigeltrebe (ZW-rosé1-2) byly stanoveny nejnižší hodnoty FL (275,92 a 308,80 mg RE.l<sup>-1</sup>).

Obsahy flavonoidů vzorků růžového vína byly také ovlivněny skladováním, rozdíly byly zjištěny dle analyzovaných odrůd. Nejlépe hodnocený vzorek na

počátku měření, odrůda Frankovka (Fr-rosé), si neudržel své prvenství po celou dobu skladování a dochází u něj ke snížení FL o 9,19 %. Nižší pokles FL po 12 měsících skladování byl určen pro Rulandské modré (RM2), o 5,98 %. Po 1 měsíci skladování je možné u vzorků růžových vín sledovat pokles o 3,08 %, následně po 6 měsících jde o více jak dvojnásobný pokles, o 7,35 %. V poslední fázi sledování je zaznamenán u vzorků ročníku 2017 a starších pokles FL o 8,89 %. U nejstaršího vzorku Rulanské modré ročník 2011 (RM1) dochází k nejnižšímu poklesu FL o 5,05 %. U mladých vín (ročník 2018) dochází po 6 měsících skladování ke stejnemu průměrnému úbytku FL ve srovnání s ostatními vzorky.

Srovnání průměrného množství FL a hodnot úbytku ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování je graficky znázorněno na obrázku 10. Nejnižší úbytek FL v celé délce sledování byl u vzorků červených vín (0,59 – 1,26 %), následovala vína růžová (3,08 – 8,89 %). Největší procentuální úbytek celkového obsahu flavonoidů byl zaznamenán ve vzorcích bílých vín (3,69 – 9,89 %). Odpovídající pořadí koreluje s výsledky dosaženými při stanovení celkového obsahu polyfenolů. V průměru u révových vín tedy dochází k poklesu flavonoidů o 6,68 %.



Obrázek 10: Průměrné množství FL ( $\text{mg RE.l}^{-1}$ ) - graf a), a úbytek FL (%) - graf b) ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování (1, 6 a 12 měsíců)

#### 4.8 Identifikace a stanovení jednotlivých antokyanů

K separaci a identifikaci antokyanů, které dodávají červeným a růžovým vínům barvu, bylo využito techniky HPLC s UV detekcí. Seznam jednotlivých identifikovaných antokyanů a jejich zjištěné obsahy jsou uvedeny v tabulce 4.

Dle zjištěného celkového množství jednotlivých antokyanů (33,41 – 671,27  $\text{mg.l}^{-1}$ ) ze skupiny námi analyzovaných červených vín atakuje horní limit

publikovaný ve studii Kapusta *et al.* (2018), kdy se koncentrace antokyanů pohybují v rozmezí od 40 do 800 mg.l<sup>-1</sup>, vzorek vína Zweigeltrebe (ZW2). Nejvíce se zde vyskytuje kallistefin – 128,95 mg.l<sup>-1</sup>, který se v jiných vybraných vínech vyskytuje pouze v řádech jednotek. V obdobné koncentraci se u tohoto vzorku nachází i malvidin – 128,40 mg.l<sup>-1</sup> a myrtillin a kyanidin. Ve vzorku vína RM1 bylo stanoveno nejméně antokyanů ze všech vzorků červených vín. Autoři studie Kapusta *et al.* (2018) také poukázali na fakt, že ve víně je množství antokyanů závislé i na aplikované technologii výroby, místě původu a stáří vína.

V průřezu všemi vzorky červených vín bylo zjištěno, že z jednotlivých antokyanů bylo nejméně malvidin-3-O-galaktosidu a peonidinu.

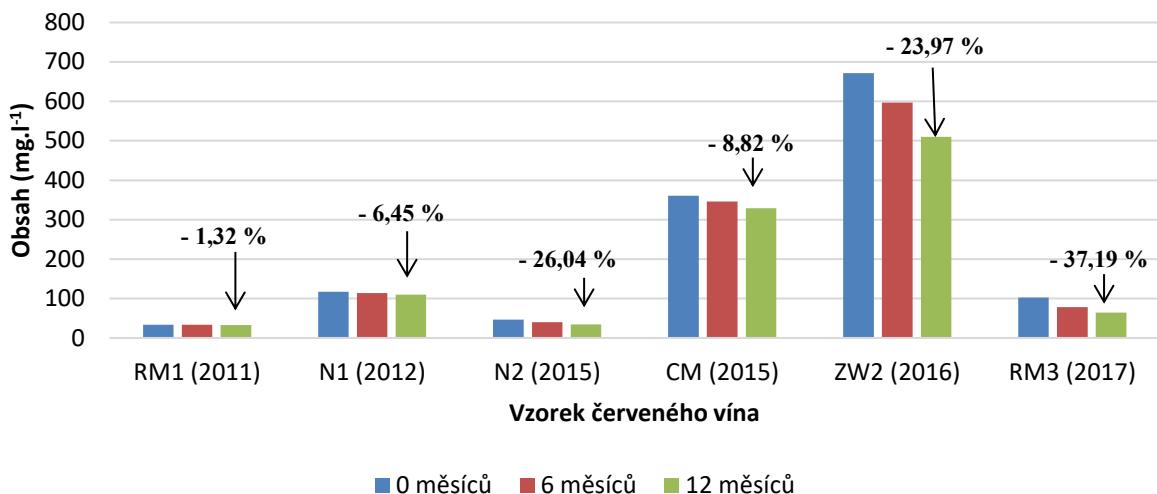
Naopak největší zastoupení ve vzorcích zastával kyanidin. Vysoké množství bylo zjištěno ve vzorku Frankovka (Fr1; 111,98 mg.l<sup>-1</sup>). Gambelli *et al.* (2004) ve své publikaci uvádí obsah malvidinu – 0,139 mg.l<sup>-1</sup>, kdy se uvedená hodnota lišila s námi stanovenými obsahy, které mnohokrát tento publikovaný obsah přesahovaly. Výjimkou jsou vzorky N1 a N2, které dosahují totožných hodnot jako publikovaná hodnota. Některé práce (Wirth *et al.*, 2012) poukazují na zvýšení koncentrace těchto látek zejména v časných stádiích stárnutí vína v lahvích, zatímco jiní autoři (Monagas *et al.*, 2005a) stanovili jejich mírný pokles.

Červená vína byla kvůli možným změnám v obsahu antokyanů sledována také v průběhu skladování. Jednou z nejvýznamnějších chemických změn červeného vína, ke kterým dochází v závislosti na stáří vína, je totiž úbytek antokyanů. Vzhledem k výsledkům několika studií (Waterhouse *et al.*, 2016; Monagas *et al.*, 2005a), které popisují chování antokyanů ve víně v závislosti na čase, bylo vybráno několik vzorových červených vín s ohledem na jejich stáří, kde bylo sledováno množství antokyanů v závislosti na čase skladování.

Změny v průběhu skladování (po 6 a 12 měsících) jsou graficky znázorněny na obrázku 11 s uvedeným procentuálním vyjádřením ztráty antokyanů (úbytku) během skladování.

Z výsledků je možné potvrdit závěry autorů uvedených studií o chování antokyanů v závislosti na čase, respektive stáří vína.

Ve vzorcích růžových vín bylo stanoveno nižší množství jednotlivých antokyanů a to z důvodu odlišné technologie výroby, kdy se do mošt dostane méně antokyanů, které jsou obsaženy ve slupkách bobulí hroznů révy vinné. Jejich prostup do mošt je dán délkou macerace rmutu, kdy u růžových vín je poznatelně kratší než u vín červených (Baron *et al.*, 2017).



Obrázek 11: Pokles celkového množství jednotlivých antokyanů ve vybraných vzorcích červených vín během skladování [ $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ] s uvedenou hodnotou úbytku (%) po 12 měsících

Výsledky jednotlivých vzorků jsou vidět v tabulce 4, suma množství jednotlivých antokyanů byla stanovena v rozmezí  $20,69 - 128,20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Maximální výše sumy množství antokyanů dosahuje se shodným množstvím vzorky Merlot (M-rosé) a Zweigeltrebe (ZW-rosé2). K hranici  $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  se blíží i vzorek ZW-rosé1. Nejméně antokyanů bylo určeno ve vzorku vína Svatovavřinecké (Sv-rosé). Ve studii Puértolas *et al.* (2011) udávají rozmezí antokyanů v růžových vínech původem ze Španělska od 15 do  $60 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Některé z námi analyzovaných vzorků tyto limity překračují, u jiných je patrná korelace s uvedeným rozpětím. Článek autorů Li *et al.* (2008) poskytuje náhled na obsah antokyanů v růžových vínech původem z Číny. Publikované hodnoty jsou srovnatelné s námi naměřenými nejnižšími hodnotami antokyanů. Důvodem rozdílných hodnot může být několik výše zmíněných faktorů, jako jsou klimatické podmínky, odlišné technologické postupy - délka macerace hroznů a samotný prostup antokyanů do moště a především stáří vína, které výrazně ovlivňuje obsah antokyanů.

Ve vzorcích námi hodnocených růžových vín bylo stanoveno vysoké množství malvidin-3-O-galaktosidu. Jeho obsah v některých vzorcích růžových vín byl až 4x vyšší než u vzorků vín červených. V nejvyšším obsahu byl stanoven u vzorku Merlot (M-rosé) a Zweigeltrebe (ZW-rosé2), Nejnižší obsah v růžových vínech byl stanoven pro pelargonidin, a to až 30x nižší proti červeným vínům. Puértolas *et al.* (2011) ve své publikaci uvádějí obsah antokyanu peonidinu-3-O-glukosidu v růžových vínech v množství  $0,89 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , tedy výrazně nižší hodnotu než námi stanovenou průměrnou hodnotu ze všech vzorků ( $10,33 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ), i když ve víně Frankovka (Fr-rosé) nebyla tato látka detekována. Důvodem mohou být již předtím zmíněné faktory.

Tabulka 4: Obsah jednotlivých antokyanů [ $\text{mg.l}^{-1}$ ] v červeném a růžovém víně

	Delfnidin-3-O-galaktosid		Myrtillin		Kyanidin-3-O-glukosid		Kerakyakin		Kallistefin		Delfnidin		Peonidin-3-O-glukosid		Malvidin-3-O-galaktosid		Kyanidin		Pelargonidin		Peonidin		Malvidin	
Červená vína	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD
A	1,38 <sup>a</sup>	0,33	2,19 <sup>a</sup>	0,09	0,08 <sup>a</sup>	0,09	0,14 <sup>a</sup>	0,11	0,04 <sup>a</sup>	0,02	4,20 <sup>a</sup>	0,67	0,12 <sup>a</sup>	0,01	0,05 <sup>a</sup>	0,03	26,33 <sup>a</sup>	0,86	2,06 <sup>a</sup>	0,22	0,07 <sup>a,b</sup>	0,05	1,24 <sup>a</sup>	0,14
CS	3,71 <sup>b</sup>	0,40	1,81 <sup>b</sup>	0,45	5,85 <sup>b</sup>	0,39	1,79 <sup>b</sup>	0,39	0,11 <sup>b</sup>	0,01	1,05 <sup>b</sup>	0,21	19,33 <sup>b</sup>	0,69	0,64 <sup>b</sup>	0,16	9,23 <sup>b</sup>	0,35	1,53 <sup>b</sup>	0,11	2,63 <sup>c</sup>	0,16	1,15 <sup>a</sup>	0,02
CM	27,00 <sup>c</sup>	0,55	52,37 <sup>c</sup>	1,55	59,96 <sup>c</sup>	2,66	75,78 <sup>c</sup>	0,05	0,37 <sup>c</sup>	0,06	19,53 <sup>c</sup>	0,09	25,22 <sup>c</sup>	0,02	3,32 <sup>c</sup>	0,13	29,06 <sup>c</sup>	0,22	17,85 <sup>c</sup>	0,23	4,97 <sup>d</sup>	0,13	45,18 <sup>b</sup>	0,07
D	23,87 <sup>d</sup>	0,69	32,56 <sup>d</sup>	0,43	106,89 <sup>d</sup>	0,34	57,63 <sup>d</sup>	0,01	33,92 <sup>d</sup>	0,22	17,39	0,65	23,71 <sup>d</sup>	0,34	3,00 <sup>d</sup>	0,05	45,02 <sup>d</sup>	0,23	15,44 <sup>d</sup>	0,35	4,46 <sup>e</sup>	0,04	14,68 <sup>c</sup>	0,23
Fr1	4,43 <sup>c</sup>	0,88	6,14 <sup>c</sup>	0,57	7,06 <sup>c</sup>	0,10	10,98 <sup>c</sup>	0,41	2,65 <sup>c</sup>	0,06	1,41 <sup>d</sup>	0,05	13,63 <sup>c</sup>	0,03	2,19 <sup>c</sup>	0,27	111,98 <sup>c</sup>	2,47	7,64 <sup>c</sup>	0,18	0,80 <sup>f</sup>	0,13	4,44 <sup>d</sup>	0,06
Fr2	5,80 <sup>c</sup>	0,42	10,90 <sup>f</sup>	0,71	29,70 <sup>f</sup>	1,41	19,30 <sup>f</sup>	1,16	3,10 <sup>f</sup>	0,27	2,60 <sup>c</sup>	0,12	27,40 <sup>a</sup>	1,77	3,10 <sup>c</sup>	0,21	48,60 <sup>f</sup>	2,52	2,10 <sup>a</sup>	0,29	0,70 <sup>f</sup>	0,14	3,50 <sup>c</sup>	0,24
M	3,33 <sup>b</sup>	0,30	6,81 <sup>c</sup>	0,14	63,41 <sup>g</sup>	0,57	16,44 <sup>g</sup>	0,54	2,29 <sup>g</sup>	0,04	6,61 <sup>f</sup>	0,34	0,01 <sup>f</sup>	0,01	3,29 <sup>c</sup>	0,14	31,93 <sup>g</sup>	0,25	1,38 <sup>f</sup>	0,22	6,05 <sup>g</sup>	0,26	4,51 <sup>d</sup>	0,03
MP	2,62 <sup>f</sup>	0,22	7,84 <sup>g</sup>	0,64	11,51 <sup>h</sup>	0,95	9,15 <sup>h</sup>	0,42	8,45 <sup>h</sup>	0,31	1,59 <sup>g</sup>	0,16	6,44 <sup>g</sup>	0,29	4,26 <sup>f</sup>	0,27	21,61 <sup>h</sup>	4,24	4,16 <sup>g</sup>	0,26	5,19 <sup>h</sup>	0,34	4,91 <sup>f</sup>	0,31
N1	2,07 <sup>g</sup>	0,12	2,60 <sup>h</sup>	0,15	2,04 <sup>i</sup>	0,17	0,21 <sup>a</sup>	0,11	8,59 <sup>h</sup>	0,36	51,28 <sup>h</sup>	4,71	1,32 <sup>h</sup>	0,16	45,20 <sup>g</sup>	3,94	2,27 <sup>i</sup>	0,19	0,24 <sup>h,i</sup>	0,11	0,53 <sup>i</sup>	0,15	0,64 <sup>g</sup>	0,09
N2	3,77 <sup>c</sup>	0,25	0,13 <sup>i</sup>	0,01	2,17 <sup>i</sup>	0,16	0,32 <sup>i</sup>	0,01	1,80 <sup>i</sup>	0,24	18,86 <sup>c</sup>	1,09	0,34 <sup>i</sup>	0,01	17,36	0,78	1,20 <sup>i</sup>	0,17	0,16 <sup>h</sup>	0,01	0,04 <sup>a</sup>	0,01	0,17 <sup>h</sup>	0,01
RM1	2,62 <sup>f</sup>	0,24	2,33 <sup>h</sup>	0,22	1,06 <sup>j</sup>	0,16	0,07 <sup>a</sup>	0,01	0,06 <sup>a</sup>	0,01	3,88 <sup>a</sup>	0,38	4,38 <sup>j</sup>	0,25	0,04 <sup>a</sup>	0,01	16,65 <sup>k</sup>	0,79	0,34 <sup>i</sup>	0,01	0,12 <sup>b</sup>	0,01	1,86 <sup>i</sup>	0,57
RM2	9,41 <sup>h</sup>	0,75	4,17 <sup>j</sup>	0,24	3,42 <sup>k</sup>	0,33	6,19 <sup>j</sup>	0,41	1,61 <sup>j</sup>	0,18	9,14 <sup>i</sup>	0,76	6,97 <sup>k</sup>	0,39	0,62 <sup>b</sup>	0,15	24,12 <sup>l</sup>	2,31	1,96 <sup>a</sup>	0,19	2,64 <sup>i</sup>	0,28	4,69 <sup>d</sup>	0,36
RM3	16,54 <sup>i</sup>	1,05	7,41 <sup>g</sup>	0,35	5,33 <sup>b</sup>	0,23	9,37 <sup>h</sup>	0,46	6,29 <sup>k</sup>	0,35	10,31 <sup>i</sup>	0,58	7,36 <sup>k</sup>	0,23	1,94 <sup>c</sup>	0,18	25,35 <sup>g,l</sup>	3,72	2,28 <sup>j</sup>	0,24	4,77 <sup>d</sup>	0,12	6,43 <sup>j</sup>	0,23
ZW1	13,25 <sup>j</sup>	1,02	46,48 <sup>k</sup>	1,78	4,95 <sup>l</sup>	0,25	1,27 <sup>b</sup>	0,13	36,76 <sup>l</sup>	3,06	17,69 <sup>c</sup>	1,15	54,64 <sup>l</sup>	4,72	5,96 <sup>h</sup>	0,13	20,19 <sup>m</sup>	2,88	13,67 <sup>k</sup>	1,15	11,33 <sup>k</sup>	1,02	76,08 <sup>k</sup>	5,35
ZW2	26,99 <sup>c</sup>	1,15	85,75 <sup>l</sup>	2,42	18,98 <sup>m</sup>	0,30	2,95 <sup>k</sup>	0,46	128,95 <sup>m</sup>	4,97	27,46 <sup>i</sup>	1,91	82,76 <sup>m</sup>	2,68	1,97 <sup>c</sup>	0,07	81,93 <sup>n</sup>	4,08	64,95 <sup>l</sup>	1,66	20,19 <sup>l</sup>	1,15	128,40 <sup>l</sup>	3,95
Růžová vína	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD	mg.l <sup>-1</sup>	SD
Fr-rosé	0,85 <sup>a</sup>	0,12	0,86 <sup>a</sup>	0,18	0,54 <sup>a</sup>	0,09	0,07 <sup>a</sup>	0,01	2,41 <sup>a</sup>	0,25	2,72 <sup>a</sup>	0,28	ND		24,40 <sup>a</sup>	2,63	0,09 <sup>a</sup>	0,01	0,03 <sup>a</sup>	0,01	0,07 <sup>a</sup>	0,01	0,42 <sup>a</sup>	0,01
M-rosé	1,61 <sup>b</sup>	0,16	2,43 <sup>b</sup>	0,19	3,58 <sup>b</sup>	0,27	1,13 <sup>b</sup>	0,11	5,55 <sup>b</sup>	0,36	0,21 <sup>b</sup>	0,01	9,04 <sup>a</sup>	0,48	96,52 <sup>b</sup>	3,241	0,29 <sup>b</sup>	0,01	0,31 <sup>b</sup>	0,01	1,10 <sup>b</sup>	0,18	6,43 <sup>b</sup>	0,26
RM-rosé1	2,57 <sup>c</sup>	0,29	0,47 <sup>c</sup>	0,11	1,16 <sup>c</sup>	0,11	0,17 <sup>c</sup>	0,01	1,31 <sup>c</sup>	0,17	30,04 <sup>c</sup>	0,98	4,96 <sup>b</sup>	0,20	29,16 <sup>c</sup>	1,75	0,53 <sup>c</sup>	0,03	0,19 <sup>c</sup>	0,01	0,28 <sup>c</sup>	0,01	0,29 <sup>c</sup>	0,01
RM-rosé2	3,13 <sup>d</sup>	0,38	1,93 <sup>d</sup>	0,13	1,36 <sup>c</sup>	0,12	1,49 <sup>d</sup>	0,28	3,08 <sup>d</sup>	0,25	0,82 <sup>d</sup>	0,09	12,90 <sup>c</sup>	0,14	0,47 <sup>d</sup>	0,14	4,76 <sup>d</sup>	0,51	1,27 <sup>d</sup>	0,31	0,14 <sup>d</sup>	0,01	0,65 <sup>d</sup>	0,11
RM-rosé3	2,29 <sup>c</sup>	0,24	1,72 <sup>d</sup>	0,11	1,49 <sup>d</sup>	0,09	1,51 <sup>d</sup>	0,15	2,83 <sup>a</sup>	0,29	7,17 <sup>a</sup>	0,48	10,33 <sup>d</sup>	0,91	41,51 <sup>c</sup>	2,05	2,31 <sup>c</sup>	0,22	0,58 <sup>c</sup>	0,03	2,15 <sup>c</sup>	0,38	4,54 <sup>c</sup>	0,38
SV-rosé	1,25 <sup>e</sup>	0,48	2,19 <sup>e</sup>	0,17	0,36 <sup>e</sup>	0,02	0,53 <sup>e</sup>	0,44	2,01 <sup>e</sup>	0,09	0,78 <sup>f</sup>	0,09	3,99 <sup>e</sup>	0,31	0,05 <sup>f</sup>	0,01	6,92 <sup>f</sup>	0,61	1,59 <sup>f</sup>	0,34	0,29 <sup>f</sup>	0,21	0,73 <sup>d</sup>	0,06
ZW-rosé1	5,68 <sup>f</sup>	0,27	2,12 <sup>e</sup>	0,12	1,18 <sup>c</sup>	0,12	6,51 <sup>f</sup>	1,04	0,13 <sup>f</sup>	0,01	15,30 <sup>g</sup>	0,61	33,13 <sup>f</sup>	0,06	0,16 <sup>g</sup>	0,01	3,39 <sup>g</sup>	0,13	0,39 <sup>g</sup>	0,03	12,33 <sup>g</sup>	1,15	14,83 <sup>c</sup>	1,04
ZW-rosé2	0,95 <sup>a</sup>	0,13	2,03 <sup>c</sup>	0,14	2,23 <sup>f</sup>	0,15	0,66 <sup>c</sup>	0,08	5,30 <sup>g</sup>	0,48	0,31 <sup>h</sup>	0,01	8,27 <sup>a</sup>	0,72	98,34 <sup>h</sup>	9,24	0,22 <sup>h</sup>	0,01	0,29 <sup>b</sup>	0,01	0,87 <sup>h</sup>	0,12	8,46 <sup>c</sup>	0,87

Poznámky k tabulce 4: SD – směrodatná odchylka; n=6; ND – pod mezí detekce; hodnoty ve stejném sloupci s různými indexy jsou statisticky odlišné na hladině významnosti  $p < 0,05$ .

## 4.9 Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity (AA) metodou s DPPH je jednou z nejčastěji používaných metod pro měření AA. Hodnocení antioxidační aktivity všech vzorků vín bylo provedeno ihned po otevření vzorků a také v době po 1, 6 a 12 měsících skladování.

Ze všech provedených stanovení v průběhu sledovaných intervalů byla nejvyšší antioxidační aktivita zjištěna na počátku měření, a to u červených vín, konkrétně u vína odrůdy Zweigeltrebe (ZW2) s hodnotou 2563,66 mg TE.l<sup>-1</sup>, a nejméně u bílých vín s nejvyšší hodnotou u vzorku odrůdy Muškát moravský (MM3, 396,99 mg TE.l<sup>-1</sup>).

Průměrná hodnota AA na počátku měření byla stanovena ve výši 236,22 mg TE.l<sup>-1</sup>. Po jednom měsíci skladování tato hodnota klesá na 227,79 mg TE.l<sup>-1</sup>, po 6 měsících na 217,41 mg TE.l<sup>-1</sup> a po roce skladování na 203,19 mg TE.l<sup>-1</sup>. Procentuální vyjádření jednotlivých úbytků jsou uvedeny níže. Fernández-Pachón *et al.* (2004) stanovili v 17 vzorcích španělských vín průměrnou hodnotu AA metodou s DPPH ve výši 207,89 mg TE.l<sup>-1</sup>, což je o něco méně než námi stanovená AA na počátku měření. V další studii (Soyollkham *et al.*, 2011), která srovnává bílá vína z oblasti Moravy a Rakouska, udává průměrnou hodnotu AA 106,37 mg TE.l<sup>-1</sup>, což je o dost nižší hodnota než námi naměřená.

Nejvyšší zaznamenaná hodnota v počátku měření byla u vína odrůdy Muškát moravský (MM3), a také i v dalších sledovaných časových rozmezích měl tento vzorek nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity. Hodnoty AA u této odrůdy publikované v práci Sýs *et al.* (2015) metodou s DPPH byly až 4x nižší (85 mg TE.l<sup>-1</sup>) než námi stanovené hodnoty po roce skladování. Nižší hodnoty, než jsme určili naší analýzou, jsou v této publikaci uvedeny i pro další vína, např. pro známou moravskou odrůdu Pálava je hodnota 2x nižší (101 mg TE.l<sup>-1</sup>). Tyto rozdíly můžou být způsobeny rozdílným ročníkem, klimatem, půdními podmínkami a také jistými rozdíly v metodice práce při stanovování AA.

Další zaznamenané vysoké hodnoty v počátku měření byly u vín odrůd Sylvánské zelené (SZ1) a Muškát moravský (MM1), nejmenší pak u odrůdy Ryzlink rýnský (RR4) s přibližně třetinovými hodnotami oproti největší aktivitě.

Hodnoty antioxidační aktivity bílých vín vykazují pokles v průběhu skladování u všech vybraných vzorků vína. Jak je patrné z obrázku 12, po 1 měsíčním skladování dochází u vín k poklesu AA v průměru o 3,57 %. Následující interval měření (6 měsíců) udává snížení AA ve všech vzorcích v průměru o 7,96 %, a po ročním skladování jde téměř o dvojnásobný úbytek, a to 13,98 %. Nejnižší úbytek AA po roce byl stanoven u vzorku MM2, kdy dojde k poklesu o 13,50 mg TE.l<sup>-1</sup>, avšak procentuálně vyjádřený nejnižší výsledek, který zahrnuje také samotnou výšku stanovené AA, byl prokázán u vzorku MM3 (5,07 %). Naopak nejvyšší úbytek byl stanoven také u této odrůdy, konkrétně u vzorku MM1, který dosahoval až 30,35 %. U nejstaršího hodnoceného ročníku (2009) u vzorku RR1 (Ryzlink rýnský) byl stanoven

pokles AA o 10,8 %, což je nejnižší zaznamenaný pokles AA v rámci této odrůdy (8 vzorků). V rámci tohoto ročníku byl úvod léta (červen a červenec) srážkově nadprůměrný, ve svém závěru (srpen a září) byly srážky spíše podprůměrné a roční úhrn činil 806 mm. Průměrná teplota v měsíci červnu byla 16,1 °C, následně měsíce červenec, srpen a září byly teplotně nadprůměrné.

U červených vín je obecně předpoklad vyšších hodnot AA, a to díky odlišné skladbě povrchových vrstev, slupek bobulí révy vinné u těchto odrůd, a také odlišné počáteční technologii výroby, kdy dojde k intenzivnímu vyluhování mnohem více složek, jako např. barviv, do moštů (Snopek *et al.*, 2018b).

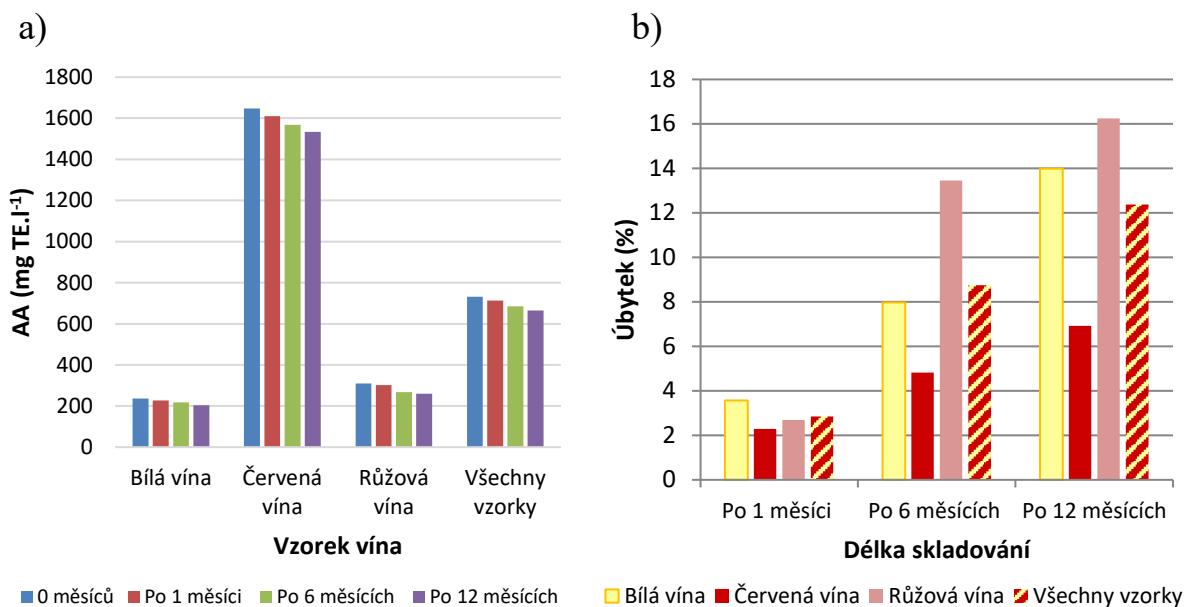
Nejvyšší zaznamenaná hodnota AA v počátku měření červených vín byla, jak už bylo zmíněno na začátku kapitoly, u vína odrůdy Zweigeltrebe (ZW2), která si taktéž udržela vysokou hodnotu AA i po roce skladování. Nejmenší AA byla u vína Cuvée Methodus (CM; 976,05 mg TE.l<sup>-1</sup>) s více než poloviční hodnotou oproti předchozímu vzorku. Vzhledem k zjištěným hodnotám AA bílých vín je zde pozorovatelný 5 až 10 násobek hodnot antioxidační aktivity.

Antioxidační aktivita červeného vína také vykazuje pokles v průběhu skladování u všech analyzovaných vzorků. Jak je patrné z obrázku 12, za 1 měsíc klesla AA průměrně o 2,29 %, následně po 6 měsících o 4,82 % a po roce dochází k poklesu o 6,92 % proti počátečnímu stavu. Nejmenší zaznamenaný pokles AA po roce skladování byl u vzorku RM1, 2,24 %, naopak u vzorku ZW2 byl stanoven pokles AA nejvyšší, 12,88 %, i když hodnota AA u tohoto vzorku dosahovala nejvyšších hodnot i s tímto úbytkem.

Cimino *et al.* (2007) ve své práci publikovali hodnoty AA v italských červených vínech s průměrem 1500 mg TE.l<sup>-1</sup>, což koreluje s hodnotami stanovenými v našich vzorcích. Naopak Staško *et al.* (2006) uvádí průměrné hodnoty AA u vzorků červených vín kolem 450 mg TE.l<sup>-1</sup>, což jsou hodnoty 3-6x nižší než v předchozí publikaci nebo u našich vzorků vín.

Nejvyšší hodnotu AA u růžových vín v počátku měření mělo víno odrůdy Rulandské modré (RM-rosé2), nejnižší pak vzorek Fr-rosé. Průměrná hodnota AA růžových vín na počátku měření dosahovala hodnoty 309,73 mg TE.l<sup>-1</sup>. I u těchto vzorků vykazují hodnoty antioxidační aktivity pokles v průběhu ročního skladování. Jak je patrné z obrázku 12, po 1 měsíci dochází ke snížení AA o 2,69 %, po 6 měsících již o 13,45 %. Po 12 měsících skladování dochází k poklesu AA v průměru o 19,36 %. V porovnání s bílými a červenými víny je to nejvyšší úbytek AA. Nejnižší úbytek AA (9,80 %) byl stanoven u vzorku RM1. U vzorků ročníku 2018 (M-rosé a ZW-rosé2) je možné pozorovat téměř totožný úbytek AA po 6 měsících, který dosahuje hodnoty 11 %.

Baroň *et al.* (2017) udávají ve své publikaci hodnotu AA u vzorku růžového vína SV rosé 107 mg TE.l<sup>-1</sup>, co je několikanásobně nižší hodnota než námi zjištěné hodnoty, i po skladování. Tento rozdíl může být způsoben několika faktory, jako je typ odrůdy, lokalita, klimatické podmínky ve vegetačním období a při zrání révy vinné, zralost révy vinné, doba sklizně, rozdílné technologické postupy a skladování.



Obrázek 12: Průměrná antioxidační aktivita stanovena metodou s DPPH (mg TE.l<sup>-1</sup>) - graf a), a úbytek AA (%) - graf b) ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování (1, 6 a 12 měsíců)

#### 4.10 Stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

Stanovení AA bylo opět provedeno ve 4 časových intervalech, a to na počátku měření (0 měsíc) a pak následně po 1, 6 a 12 měsících.

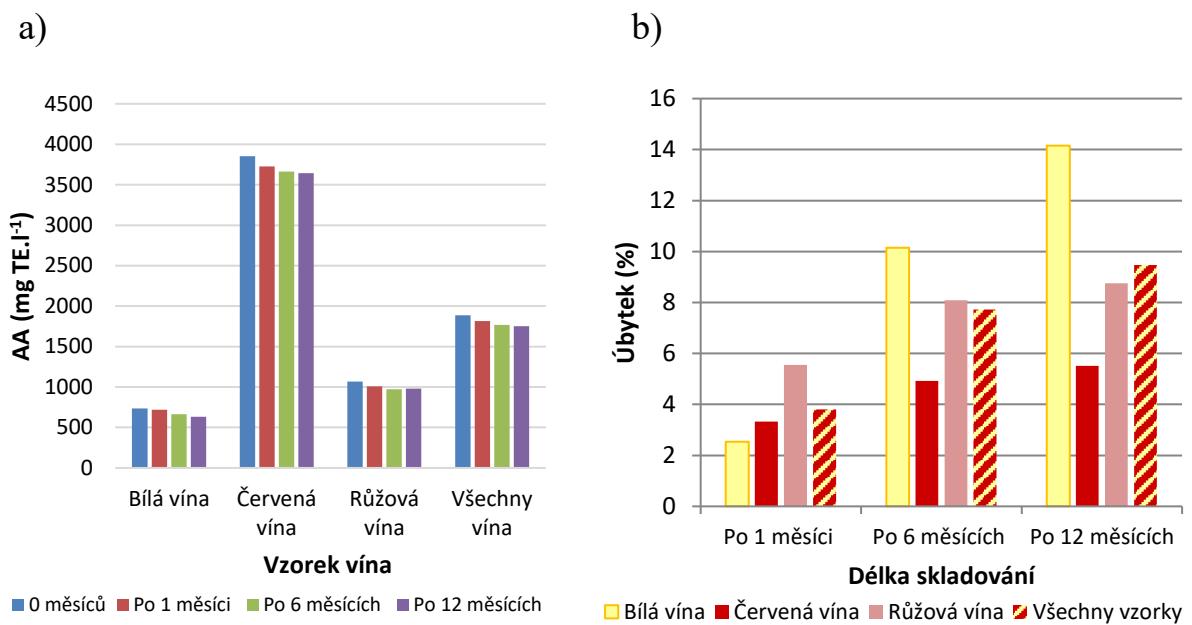
Nejvyšší hodnota antioxidační aktivity (AA) stanovena metodou s ABTS byla u bílých vín určena u vzorku MM3, u vzorků červených vín pak u ZW2, kdy výsledky korelují s výsledky stanovení metodou DPPH. U vzorků růžových vín měl nejvyšší hodnotu AA vzorek Merlot rosé (M-rosé), který byl až třetím v pořadí u výsledků stanovených metodou s DPPH.

Touto metodou byly provedeny analýzy ke stanovení antioxidační aktivity 35 vzorků bílých vín. Rozmezí hodnot AA u bílých vín na počátku měření (0 měsíců) bylo 426,94 – 1117,42 mg TE.l<sup>-1</sup>, průměrná hodnota 737,05 mg TE.l<sup>-1</sup>. V další fázi sledování dochází k poklesu průměru AA ve vzorcích bílých vín na 718,38 mg TE.l<sup>-1</sup>, tedy o 2,53 % za 1. měsíc. Následuje sledování po 6 měsících, kdy dojde již k vyššímu poklesu AA, o 10,15 % od prvního stanovení. Celkový úbytek AA za 12 měsíců u vzorků bílých vín je 14,15 %. Úbytky AA pro bílá vína jsou uvedeny na obrázku 13. Nejmenší ztráta AA byla zaznamenána u vzorku Muškát moravský (MM1), kdy došlo ke snížení AA pouze o 1,24 %, naopak nejvyšší úbytek byl zaznamenán u vzorku Müller Thurgau (MT2, 30,97 %). Fernández-Pachón et al. (2004) se ve své studii zabývají antioxidační aktivitou různých odrůd vín. Ve vzorcích bílého vína je udávána průměrná AA v hodnotě 115,87 mg TE.l<sup>-1</sup>, kdy publikovaná hodnota je několikanásobně nižší jak námi naměřená průměrná hodnota vzorků bílých vín.

Červené víno se, tak jako u metody DPPH, vyznačuje několikanásobně vyšší hodnotou AA, než mají vína bílá. Průměrná hodnota AA u vzorků červených vín byla stanovena na počátku měření na  $3853,48 \text{ mg TE.l}^{-1}$ . Vysoce nadprůměrná hodnota AA byla v počátku měření stanovena u vzorku ZW2, kdy dosahuje hodnoty  $5803,09 \text{ mg TE.l}^{-1}$ , a tuto pozici si toto víno udrží během všech stanovení v čase skladování (0 – 12 měsíců). Naopak nejnižší hodnota AA byla stanovena u stejného vzorku, jak bylo stanoveno s metodou s DPPH, Cuvée Methodus CM ( $2313,27 \text{ mg TE.l}^{-1}$ ). Ve srovnání se studií Fernández-Pachón *et al.* (2004) se vzorky červených vín původem ze Španělska, jde v našich stanoveních o více jak 3x vyšší průměrnou hodnotu AA, než publikovanou v dané studii,  $1253,66 \text{ mg TE.l}^{-1}$ . Lingua *et al.* (2016) sleduje ve své práci změny antioxidační aktivity ve víně původem z Argentiny. Ani výsledky uvedené v jejich práci nedosahují hodnot námi stanovených. Ve vzorku Merlot je uváděna AA o hodnotě  $3278,85 \text{ mg TE.l}^{-1}$ , kdy námi naměřené u totožné odrůdy vzorku M bylo v počátku  $4624,50 \text{ mg TE.l}^{-1}$  (0 měsíc) až po 12 měsíc  $4492,19 \text{ mg TE.l}^{-1}$ . Stanovení v intervalu 1 měsíc ukázalo úbytek AA ve vzorcích červeného vína o 3,32 %, po 6 měsících dochází k poklesu o 4,93 % proti prvnímu měření. Při měření po roce dochází také k poklesu AA, o 5,51 % od prvního stanovení. Jako nejstabilnější vzorek, tedy s nejnižším úbytkem AA, byl stanoven vzorek odrůdy Neronet (N1) se ztrátou AA pouhých 0,21 %.

Vzorky růžových vín byly testovány opět ve 4 časových intervalech, a to na počátku (0 měsíc) a následně po 1, 6 a 12 měsíci skladování. Průměrná hodnota AA u vzorků růžových vín při prvním měření dosahovala hodnoty  $1066,90 \text{ mg TE.l}^{-1}$ . Ve studii (Li *et al.*, 2009), která porovnává vzorky vín z Číny, je uváděn průměr AA stanoven metodou ABTS až 2x vyšší ( $2200 \text{ mg TE.l}^{-1}$ ) než námi určená hodnota. Důvodem vyšší publikované hodnoty může být především lokalita pěstování, klima a další faktory, které mohou AA ovlivňovat.

Nejvyšší hodnota AA byla na počátku měření stanovena ve dvou vzorcích růžového vína, a to M-rosé ( $1218,76 \text{ mg TE.l}^{-1}$ ) a Fr-rosé ( $1215,39 \text{ mg TE.l}^{-1}$ ). Nejnižší hodnotu AA měl vzorek ZW-rosé1 ( $801,70 \text{ mg TE.l}^{-1}$ ). V průběhu skladování dochází ke snížení AA. Jak je patrné z obrázku 13, u všech vzorků dochází po 1 měsíci ke snížení AA v průměru o 5,55 %, po 6 měsících o 8,08 %, po 12 měsících byl stanoven úbytek 8,75 %. Největší úbytek AA bylo možné pozorovat mezi prvním měřením do 1 měsíce skladování, to především u vzorků ročníku 2018 (M-rosé a ZW-rosé2). U jednotlivých vzorků byl také sledován úbytek AA v průběhu času. Nejmenší ztráta AA byla zjištěna u vzorku RM-rosé1, pouhých 0,88 %, jednalo se o nejstarší z analyzovaných růžových vín (2011).



Obrázek 13: Průměrná antioxidační aktivita stanovena metodou s ABTS (mg TE.l<sup>-1</sup>) - graf a), a úbytek AA (%) - graf b) ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování (1, 6 a 12 měsíců)

#### 4.11 Stanovení antioxidační aktivity chemiluminiscenční metodou PCL

Antioxidační aktivita u vzorků vín byla stanovena také chemiluminiscenční metodou (PCL), která umožňuje určit AA látek ve vodě rozpustných (ACW).

Z hodnocení vzorků 35 bílých vín byla zjištěna průměrná hodnota antioxidační aktivity testem na vychytávání superoxidového aniontového radikálu ve výši 245,18 mg AK.l<sup>-1</sup>. Námi stanovená průměrná hodnota koreluje s průměrnou hodnotou publikovanou autory Sánchez-Guillén *et al.* (2017), kdy v bílých vínech původem ze Španělska určili AA s průměrem 209,41 mg AK.l<sup>-1</sup>.

Z jednotlivých odrůd bílých vín byla nejvyšší AA stanovena u tří vzorků Muškátu moravského s průměrnou hodnotou 318,67 mg AK.l<sup>-1</sup>. Vysokou AA s hodnotou nad 300 mg AK.l<sup>-1</sup> se vyznačovaly i vzorek vína Ryzlink rýnský (RR3), který dosáhl nejvyšší hodnotu z 8 vzorků této odrůdy, Sauvignon (SG2), a dva ze tří vzorků odrůdy Sylvánské zelené (SZ1, SZ2). Analýzou PCL byly nejnižší hodnoty AA zjištěny u odrůdy Müller Thurgau s průměrnou hodnotou 180,60 mg AK.l<sup>-1</sup> a také u dvou vzorků odrůdy Ryzlink rýnský (RR2, RR4) s nejnižší hodnotou AA bílých vín u RR4 (101,75 mg AK.l<sup>-1</sup>).

Ve vzorcích červených vín byly stanoveny v průměru až 7x vyšší hodnoty AA než u vzorků bílých vín, co koreluje i s hodnocením AA metodou s DPPH. Z hodnocení vzorků červených vín byla zjištěna průměrná hodnota AA 1773,43 mg AK.l<sup>-1</sup>. Nejvyšší hodnota AA stanovena touto metodou byla naměřena u vzorku odrůdy Zweigeltrebe (ZW2) s hodnotou 2812,24 mg AK.l<sup>-1</sup>. U analyzovaných odrůd červených vín je možné vidět rozdíly v hodnotách AA

mezi jednotlivými vzorky, jako např. mezi vzorky odrůdy Zweigeltrebe (ZW1, ZW2) s rozdílem až 1200 mg AK.l<sup>-1</sup>. I nejnižší hodnota AA červených vín (CM; 893,17 mg AK.l<sup>-1</sup>) dosahovala více jak trojnásobek hodnoty průměru AA vzorků bílých vín. I vzorek CS (1062,88 mg AK.l<sup>-1</sup>) patří k typu vína cuvée, které je vyrobené z více odrůd (partií), smícháním několika odrůd hroznů, scelením rmutů nebo moštů. Stanovené hodnoty korelují s hodnotami stanovenými metodou s DPPH (kap. 5.1), co potvrzuje i studie Costin *et al.* (2003), kteří publikují stejné tvrzení z analýzy 12 vzorků vín.

Ze vzorků růžových vín byla stanovena průměrná hodnota AA 398,99 mg AK.l<sup>-1</sup>. Jedná se o dvojnásobek průměrné hodnoty stanovené u bílých vín, a přibližně 1/4 průměru stanoveného u červených vín. Vzorky s nejvyšší AA byly určeny z odrůd Svatovavřinecké (SV-rosé), Merlot (M-rosé) a nejvíce hodnocený vzorek odrůdy Rulandské modré – RM-rosé2 (464,66 mg AK.l<sup>-1</sup>). U této odrůdy je z výsledků patrný 27,70 %-ní rozdíl v hodnotách AA mezi vzorky, kdy nejnižší hodnota AA byla stanovena také v této odrůdě, ve vzorku RM-rosé1 (335,95 mg AK.l<sup>-1</sup>). U druhého vzorku v pořadí s nejnižší hodnotou AA (ZW-rosé2) byl stanoven větší rozdíl mezi vzorky dané odrůdy (28,82%).

Balík *et al.* (2008) ve své práci hodnotili antioxidační aktivitu v bobulích hroznů (*Vitis vinifera L.*) třech bílých a červených odrůd révy vinné. Hodnoty se pohybovaly v rozmezí 549,49 – 2254,34 mg AK.l<sup>-1</sup>. Publikovaná horní hodnota AA stanovena u odrůdy Modrý Portugal je o dost nižší než námi naměřená hodnota u totožné odrůdy, ale koreluje s námi naměřenými daty u vzorku Dormfelder (D). Publikovaná spodní hranice, výsledek odrůdy Chardonnay, je proti námi naměřeným hodnotám téměř dvojnásobná, a to i v porovnání s ostatními vzorky bílých vín.

#### 4.12 Identifikace a stanovení aromatických látek pomocí metody GC-MS

Aromatické látky identifikovány ve vzorcích bílých, červených a růžových vín, a rozsah jejich množství ve vínech, jsou uvedené v tabulce 5. U vybraných zástupců vín (Muškát moravský, Ryzlink rýnský, Veltlínské zelené, Sauvignon, Sylvánské zelené, Frankovka, Merlot, Zweigeltrebe a Rulandské modré - rosé) byly sledovány i změny (úbytky, nárůsty) některých významných aromatických složek (2,3-butandiol, furfural, 4-vinylfenol, 4-vinylguajakol, ethyl acetát, ethyl laktát, izoamylacetát) v časovém rozmezí 1 roku.

Ve vzorcích vín byl v nejvyšší míře stanoven 2,3-butandiol. Množství této aromatické látky se pohybovalo v rozmezí do 500 mg.l<sup>-1</sup>. Vysoké hodnoty byly stanoveny ve vzorcích bílého vína odrůd Sauvignon, Ryzlink rýnský, Veltlínské zelené, Sylvánské zelené a Muškát moravský. U červených a růžových vín to bylo ve vzorcích odrůd Frankovka, Merlot a Zweigeltrebe. V publikaci Velíšek (2002) je tato látka prezentována jako nejvýznamnější diol v alkoholických nápojích, avšak bez uplatnění jakožto senzoricky aktivní látky. Ribéreau-Gayon

*et al.* (2006) uvádějí, že se jedná o čirou látku bez zápachu s mírně sladko-hořkou chutí bez významu na organoleptické vlastnosti vína.

Látky ze skupiny vyšších alkoholů patří k nejvýznamnějším složkám tvořícím aroma vína. Kvantitativně se jedná o nejrozšířenější skupinu látek ve víně. Vyšší alkoholy a jejich estery se vyznačují intenzivní vůní, tím se zásadně podílejí na charakteristickém aroma jednotlivých odrůd vín (Pavelková, 2005; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). Stanoveny byly nejvýznamnější látky této skupiny, a to izopentylalkohol, 1-propanol, izobutanol a 2-fenyletanol. Hodnota jejich množství se pohybovala v rozmezí  $0,003 - 200 \text{ mg.l}^{-1}$ , a to v závislosti na dané látce, přičemž nejvíce byl zastoupen izopentylalkohol. Nižší koncentrace vyšších alkoholů (do  $300 \text{ mg.l}^{-1}$ ) dodávají vínům komplexní aroma, avšak vyšší koncentrace mají naopak negativní vliv (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). To také potvrzuje studie Clarke a Bakker (2004), která vyšším alkoholům nad koncentrací  $300 \text{ mg.l}^{-1}$ , přisuzuje negativní vliv na aroma (štiplavá vůně).

Tabulka 5: Zjištěné aromatické látky technikou GC-MS stanovené v analyzovaných vzorcích bílých, červených a růžových vín, a obvyklé aroma těchto složek

Aromatická látka	Retenční čas [Rt, min]	Zjištěné množství [ $\mu\text{g.l}^{-1}$ ]	Aroma složky
Ethyl acetát	5,034	$15000 - 3 \cdot 10^5$	Ovoce <sup>a</sup>
Ethyl izobutyryát	9,391	$0,3 - 12$	Jahody, mléčné <sup>b</sup>
1-propanol	9,627	$1000 - 25000$	Alkoholové, štiplavé <sup>b</sup>
Ethyl izovalerát	10,713	$0,2 - 250$	Ovoce <sup>d</sup>
Izobutanol	12,591	$600 - 15000$	Hořké <sup>d</sup>
Izoamylacetát	13,091	$120 - 9000$	Banány <sup>a, d</sup>
Methyl butanoát	15,224	$20 - 1500$	Jablka, ananas <sup>b, d</sup>
Acetoin	17,152	$300 - 4000$	Máslové <sup>c</sup>
Izopentylalkohol	19,003	$2400 - 2 \cdot 10^5$	Meruňky <sup>a, b</sup>
Ethyl hexanoát	19,843	$0,3 - 9000$	Ovoce (jablka) <sup>d</sup>
Hexylacetát	22,276	$5 - 9000$	Květinové <sup>d</sup>
2,3-butandiol	25,481	$10000 - 5 \cdot 10^5$	-
Ethyl laktát	27,092	$350 - 2,5 \cdot 10^5$	-
1-hexanol	28,157	$200 - 15000$	Tráva <sup>b</sup>
4-vinylguajakol	30,691	$500 - 25000$	Dřevo, kouř <sup>a, d</sup>
Ethyl oktanoát	33,933	$10 - 7500$	Meloun, dřevo <sup>c</sup>
Furfural	34,317	$10 - 1500$	Zemité <sup>b, c</sup>
Benzaldehyd	38,021	$2 - 250$	Mandle, karamel <sup>b</sup>
Linalool	40,424	$2 - 750$	Květinové, levandule <sup>d</sup>
Ethyl dekanoát	45,882	$30 - 8700$	Květinové <sup>a</sup>
4-vinylfenol	46,545	$1000 - 20000$	Plastové, spálené <sup>a, d</sup>
Diethyl sukcinát	47,905	$3 - 10000$	Ovocné <sup>d</sup>
$\alpha$ -terpineol	48,379	$15 - 250$	Koření, anýz <sup>c</sup>
$\beta$ -damascenon	53,627	$0,5 - 30$	Jablka, růže, med <sup>a, c</sup>
2-fenyletanol	56,042	$3 - 750$	Květinové, růže <sup>a</sup>

Zdroj: <sup>a</sup>Swiegers *et al.* (2005); <sup>b</sup>Ferreira *et al.* (2009); <sup>c</sup>Mayr *et al.* (2014); <sup>d</sup>Peinado *et al.* (2004)

Furfural se ve vzorcích vína nacházel v množství do  $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$ . Příčinou vyšších koncentrací tohoto aldehydu v některých vzorcích (převážně ve vzorcích červených vín) mohl být způsoben špatným skladováním, jelikož množství furfuralu se zvyšuje v důsledku nedodržení skladovacích podmínek. Práh detekce furfuralu lidským nosem je na hodnotě  $3 \text{ mg.l}^{-1}$  (Belitz *et al.*, 2009).

Z těkavých fenolů se ve víně nachází 4-vinylfenol a 4-vinylguajakol. Bílá vína obsahují různá množství vinylfenolů. Množství těchto těkavých fenolů se ve vzorcích vín pohybovalo v rozmezí  $0,5 - 2,5 \text{ mg.l}^{-1}$ , přičemž aroma vína je ovlivněno těmito látkami až při koncentracích  $1 - 3 \text{ mg.l}^{-1}$  (Belitz *et al.*, 2009; Velíšek, 2002). Ve vzorku vína odrůdy Veltlínské zelené (VZ1) byly hodnoty těchto fenolů:  $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$  4-vinylguajakolu a  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$  4-vinylfenolu, u vzorku Ryzlink rýnský (RR1) ( $0,05 \text{ mg.l}^{-1}$  4-vinylguajakolu;  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$  4-vinylfenolu). Jednalo se o vzorky s nejvyšší koncentrací těchto fenolů, v ostatních vzorcích byly stanoveny jen nízké koncentrace. Uvedené hodnoty neměly zásadní vliv na konečné aroma vína. Dugelay *et al.* (1995) ve své publikaci popisuje vysoký úbytek vinylfenolů během skladování bílého vína v lahvích.

K nejvýznamnějším buketním a aromatickým látkám ve víně se řadí estery. Jejich význam je nejvíce patrný u mladých vín, jelikož jsou zde nejintenzivnější. V průběhu skladování dochází k jejich hydrolýze a tím ke snížení intenzity a také ztrátě aromatického charakteru, kdy se snižuje typické aroma připomínající svěžest a ovocné tóny (Makhotkina *et al.*, 2012). Nejběžnějším a nejvíce zastoupeným esterem ve vzorcích vín byl ethyl acetát. Jeho výše u analyzovaných vzorků vín byla až  $50 - 200 \text{ mg.l}^{-1}$ . Nízké koncentrace tohoto esteru (kolem  $70 \text{ mg.l}^{-1}$ ) mohou pozitivně přispívat k aromatu vína. Ve vzorku červeného vína odrůdy Frankovka (Fr1) byla stanovena hodnota  $62,8 \text{ mg.l}^{-1}$ , z bílých vín ve vzorku Pálava (Pál1) to bylo  $80,7 \text{ mg.l}^{-1}$ . Uvedené vzorky (Fr1 a Pál1) se těsně přibližují k uvedené hranici pozitivního účinku esteru na aroma a současně se jedná o velmi známou a hojně vyhledávanou odrůdu bílého vína – Pálava a druhou nejvíce pěstovanou odrůdu červeného vína v České republice – Frankovku. Práh vnímání tohoto esteru je stanoven na úrovni  $160 \text{ mg.l}^{-1}$  a u vína ve vysoké koncentraci může navodit aroma octového zápachu, tudíž je pak považován za vadu vína (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006).

V průběhu zrání vína dochází k navýšování obsahu esterů. To je způsobeno především obsahem etanolu a kyselin přítomných ve víně. Díky těmto chemickým reakcím dochází ke zvyšování obsahu ethyl laktátu. U našich vzorků vín byl pozorován nárůst tohoto esteru za jeden rok skladování, a to v průměru o 32 % u vybraných bílých vín, o 26 % u červených a o 28 % u růžových vín. Tyto změny potvrzuje také studie Recamales *et al.* (2011), která popisuje zvýšení ethyl laktátu v průběhu skladování.

V průběhu skladování dochází u vzorků vín také k nárůstu obsahu diethyl sukcinátu, a naopak i ke snižování obsahu ethyl butyrátu a ethyl acetátu. Studie Recamales *et al.* (2011) zabývající se sledováním aromatických látek, potvrzuje zvyšování obsahu diethyl sukcinátu a to za různých podmínek skladování.

Izoamylacetát, vyznačující se banánovým aroma, je řazen mezi významné estery vyšších alkoholů s kyselinou octovou. Jeho obsah ve vzorcích vín byl v průměru  $4,5 \text{ mg.l}^{-1}$ . Množství izoamylacetátu nejvýznamněji klesl u vzorků vín odrůdy Muškát moravský a Sauvignon. U první jmenované odrůdy vzorku MM2 po 12 měsících skladování klesl obsah izoamylacetátu až o 30 %, u vzorku vína Sauvignon (SG2) došlo k vyššímu poklesu, konkrétně o 42 % po ročním skladování. Publikace Garde-Cerdan *et al.* (2008) uvádí obsah izoamylacetátu i jeho úbytek, které korelují s námi stanovenými hodnotami.

## 5. ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ POMOCÍ KORELAČNÍ A SHLUKOVÉ ANALÝZY

### 5.1 Korelační analýza

Pro zhodnocení výsledků, které byly naměřeny pro bílá, červená a růžová vína rozličných odrůd (celkem 58 vzorků ročníků 2003 - 2018 po prvním měření, a u vybraných parametrů také po 12 měsících skladování u 51 vzorků ročníků 2003-2017), byly zjišťovány také možné statistické závislosti. Byly tedy sledovány vzájemné vztahy vyskytující se mezi vybranými znaky (obsah celkových polyfenolů, obsah celkových flavonoidů, celkové množství jednotlivých antokyanů, hodnoty antioxidační aktivity (AA) ze stanovení spektrometrickými metodami s DPPH, ABTS a chemiluminiscenční metodou PCL). Síla lineární závislosti mezi konkrétními dvěma proměnnými byla kvantifikována pomocí Pearsonova korelačního koeficientu a v případech nejvyšších hodnot byla také regresní analýzou stanovena lineární regrese s proloženou přímkou vyjádřena rovnicí regrese.

Hodnoty korelačních koeficientů pro jednotlivé druhy vín (samostatně bílá, červená a růžová, a všechny vzorky vín) mezi celkovými polyfenoly, flavonoidy a hodnotami antioxidační aktivity (AA) jsou uvedeny v tabulkách 6 až 13 po prvním měření (0 měsíc) a 12 měsíčním skladování.

Tabulka 6: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve vzorcích bílých vín ( $n = 35$ ) po prvním měření

	AA (DPPH)	AA (ABTS)	AA (PCL)
Celkové polyfenoly	0,8635	0,8405	0,9125
Celkové flavonoidy	0,7603	0,8210	0,8304

Tabulka 7: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS) ve vzorcích bílých vín ( $n = 31$ ) po 12 měsících skladování

	AA (DPPH)	AA (ABTS)
Celkové polyfenoly	0,8179	0,7286
Celkové flavonoidy	0,8317	0,7648

Tabulka 8: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve vzorcích červených vín (n = 15) po prvním měření

	AA (DPPH)	AA (ABTS)	AA (PCL)
Celkové polyfenoly	0,8163	0,8616	0,8825
Celkové flavonoidy	0,7549	0,6754	0,7268

Tabulka 9: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS) ve vzorcích červených vín (n = 14) po 12 měsících skladování

	AA (DPPH)	AA (ABTS)
Celkové polyfenoly	0,9221	0,9499
Celkové flavonoidy	0,8616	0,7032

Tabulka 10: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve vzorcích růžových vín (n = 8) po prvním měření

	AA (DPPH)	AA (ABTS)	AA (PCL)
Celkové polyfenoly	0,8914	0,8741	0,9041
Celkové flavonoidy	0,8753	0,9124	0,8816

Tabulka 11: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS) ve vzorcích růžových vín (n = 6) po 12 měsících skladování

	AA (DPPH)	AA (ABTS)
Celkové polyfenoly	0,8892	0,8417
Celkové flavonoidy	0,8162	0,9273

Tabulka 12: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve všech vzorcích vín (n = 58) po prvním měření

	AA (DPPH)	AA (ABTS)	AA (PCL)
Celkové polyfenoly	0,9594	0,9418	0,9547
Celkové flavonoidy	0,8518	0,8348	0,8849

Tabulka 13: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS) ve všech vzorcích vín (n = 51) po 12 měsících skladování

	AA (DPPH)	AA (ABTS)
Celkové polyfenoly	0,9246	0,9335
Celkové flavonoidy	0,8438	0,8141

### **5.1.1 Vztah celkových polyfenolů a antioxidační aktivity**

Vypočtené hodnoty korelačních koeficientů mezi celkovými polyfenoly a hodnotami antioxidační aktivity u vzorků hodnocených vín je možné řadit k silným až velmi silným kladným korelacím. Nejvyšší hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu (0,954; 0,959), tedy velmi silné kladné lineární korelace byly zjištěny mezi celkovými polyfenoly a AA měřenou metodou PCL, a také DPPH, u vzorků všech vín při prvním měření (0 měsíc). Vysoké hodnoty byly také u výsledků bílých a růžových vín. Celkově lze konstatovat, že korelace celkových polyfenolů s těmito dvěma metodami měly určené vyšší korelační koeficienty než stanovené korelace s výsledky AA zjištovanými metodou ABTS. I tyto závislosti jsou řazeny mezi silné kladné korelace. Nejnižší hodnota (0,816) byla určena u červených vín po prvním měření. Korelace zjištované ve vínech rok skladovaných byly také kladné, lineární, silné až velmi silné, s nejnižší hodnotou u bílých vín (0,728; AA s DPPH). Tady byly rozdíly mezi korelacemi CP s výsledky AA s DPPH a ABTS poměrně malé.

Ze získaných výsledků se tedy dá usuzovat, že ve velké míře jsou za antioxidační aktivitu všech vín, jak bílých, tak i růžových a červených, v čerstvě otevřených vzorcích vín i těch skladovaných, zodpovědné především polyfenoly.

Podobné výsledky korelací u bílých (8 vzorků) a červených (6 vzorků) vín, původem z jižního Polska, jsou publikovány také v práci Kapusta *et al.* (2018). Autory je uváděna hodnota korelačního koeficientu mezi celkovými polyfenoly a AA v hodnotě 0,98 (s DPPH), a 0,97 (s ABTS), což je téměř totožné s námi stanovenými korelacemi. U vzorků červených (Cabernet-Merlot, Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc) a bílých (Chardonnay, Ryzlink rýnský) vín původem z Makedonie (Rupasinghe a Clegg, 2007) byl uveden taktéž velmi silný korelační koeficient (0,97) mezi celkovými polyfenoly a AA. V publikaci Staško *et al.* (2008) s analýzou 86 vzorků vín (39 červených a 47 bílých vín), původem ze Slovenska a Rakouska, jsou uváděny nižší korelační koeficienty než námi stanovené; pro červená vína 0,794 (s DPPH) a 0,803 (s ABTS), a pro bílá vína pouze 0,311 (s DPPH), a 0,605 (s ABTS).

### **5.1.2 Vztah celkových flavonoidů a antioxidační aktivity**

Mezi celkovými flavonoidy a antioxidační aktivitou (AA) byly vypočteny celkově nižší korelační koeficienty než mezi celkovými polyfenoly a AA. Avšak i tyto hodnoty jsou řazeny do silných korelací.

U vzorků bílých vín ihned po otevření, i po 12 měsících skladování, byly zjištěny podobné korelační koeficienty v rozmezí 0,760 – 0,831, kdy vyšší závislost byla nalezena u AA určené PCL metodou, podobně jako u výše hodnocených polyfenolů. U vzorků červených vín byla souvislost mezi těmito proměnnými nejmenší. Pearsonovy korelační koeficienty mezi celkovými flavonoidy a výsledky AA s ABTS u růžových vín byly nejvyšší, a to v případě

hodnocení po prvním měření i po 12 měsících. Šlo o velmi silnou kladnou lineární závislost (0,912; 0,927). Celkově byly rozdíly mezi korelacemi celkových flavonoidů s výsledky AA ihned po prvním měření a po roce skladování poměrně malé. Při hodnocení korelací ze všech zkoumaných vzorků vín (n = 58) byl ve vztahu flavonoidů s AA stanoven nižší korelační koeficient než ve vztahu CP s AA. U této závislosti jde o střední až silné korelace, ze kterých se dá usuzovat, že nejenom flavonoidy, ale i jiné polyfenolické látky, jsou zodpovědné za ovlivnění antioxidační aktivity.

Výsledné korelace mezi flavonoidy a AA publikované v článku Kapusta *et al.* (2018) u 8 bílých a 6 červených vín, původem z jižního Polska, však nabízejí nižší hodnoty v rozmezí slabých až středních korelací. Li *et al.* (2009) naopak stanovili u 24 červených, 11 bílých a 2 vín rosé, původem z Číny, mezi těmito parametry vyšší korelace, konkrétně s výsledky AA stanovené metodou DPPH hodnotu Pearsonova korelačního koeficientu 0,94, s metodou ABTS 0,91.

### 5.1.3 Vztah antokyanů a antioxidační aktivity

V tabulce 14 jsou uvedeny korelace mezi celkovým množstvím jednotlivých antokyanů a antioxidační aktivitou (AA) ve vzorcích červených a růžových vín.

Tabulka 14: Korelační koeficienty mezi celkovým množstvím jednotlivých antokyanů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve vzorcích červených (n = 15) a růžových vín (n = 8) po prvním měření

	AA (DPPH)	AA (ABTS)	AA (PCL)
Antokyany - červená vína	0,9592	0,8770	0,8664
Antokyany - růžová vína	0,8495	0,7406	0,8430

U červených vín byla zjištěna silnější souvislost mezi celkovým množstvím jednotlivých antokyanů a antioxidační aktivitou než je tomu u růžových vín. Jde o velmi silnou lineární korelaci, a to jak pro vztah mezi množstvím antokyanů a AA stanovenou metodou s DPPH (0,959), tak i dalšími metodami (ABTS a PCL). U růžových vín je menší souvislost mezi množstvím antokyanů a AA, a to pro všechny metody na kvantifikaci AA, i když v případě DPPH a PCL metody byla závislost silnější.

### 5.1.4 Vztah nejvýznamnějších fenolických sloučenin a antioxidační aktivity

Kyselina gallová je řazena mezi nejvýznamnější fenolické sloučeniny ve víně. Korelační koeficient mezi touto kyselinou a antioxidační aktivitou stanovenou PCL metodou byl jen mírně vyšší než pro zbývající metody pro AA (s DPPH, ABTS), kdy měl hodnotu v rozmezí 0,86 – 0,96 pro jednotlivé druhy vín, což je velmi silná lineární korelace. U této i dále zmínovaných látek jsou korelace s výsledky AA (DPPH a ABTS metodou) v obdobných hodnotách. Další důležitou fenolickou sloučeninou je kyselina protokatechová, kdy byla

hodnota korelačního koeficientu mezi jejím obsahem a AA stanovena pro jednotlivé druhy vín na 0,82 - 0,92 (pro DPPH a ABTS jen mírně nižší). Epigallokatechin (0,79 - 0,91) a epikatechin (0,73 - 0,79) se vyznačují také silnou lineární korelační závislostí mezi jejich množstvím a antioxidační aktivitou. Následuje střední až silná korelační závislost u kyseliny sinapové (0,65 - 0,81), a se střední korelací i kyselina kávová (0,54 - 0,88).

Soyollkham *et al.* (2011) uvádějí hodnoty korelačních koeficientů u 32 vzorků bílých a červených vín z Moravy a Rakouska mezi jednotlivými fenolickými sloučeninami (kyselina gallová, katechin, kyselina sinapová) a AA (DPPH) v téměř totožných hodnotách jako námi stanovené. Studie provedená de Quirós *et al.* (2009) na 8 vzorcích bílých vín ze Španělska potvrzuje silné korelační vztahy u majoritních fenolických sloučenin a AA.

Stilben resveratrol vykazoval u červených vín, kde se nachází v mnohem vyšším množství než v růžových vínech, slabou koreaci mezi jeho obsahem a AA (0,44 – 0,47; všechny metody AA), u růžových vín měl nízký korelační koeficient s korelací 0,22 – 0,26 (všechny metody AA). Podobné korelace u červených vín stanovili i Soyollkham *et al.* (2011).

Kyselina gallová, protokatechová, epigallokatechin a epikatechin patří k těm fenolickým sloučeninám ve víně, které ve velké míře ovlivňují jejich schopnost zháset volné radikály.

### 5.1.5 Vztah oxidu siřičitého a antioxidačních parametrů

I pro zjištění možných souvislostí jednoho z nejvýznamnějších analytických ukazatelů (obsah SO<sub>2</sub> – volný, celkový) s antioxidačními parametry (obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, AA s ABTS a AA-PCL) ve všech vzorcích vín byla provedena korelační analýza (tabulka 15).

Touto analýzou byly mezi všemi hodnocenými parametry určeny korelační koeficienty s hodnotami v rozmezí 0,32 – 0,43, tedy obsah SO<sub>2</sub>, jak volný, tak i celkový, vykazuje jen nízké korelace v těchto hodnoceních.

Tabulka 15: Korelační koeficienty mezi volným a celkovým SO<sub>2</sub> a antioxidačními parametry (CP, FL, AA s DPPH, AA s ABTS a AA-PCL) ve všech vzorcích vín (n = 58) po prvním měření

	CP	FL	AA DPPH	AA ABTS	AA PCL
Volný SO <sub>2</sub>	0,412	0,370	0,435	0,406	0,414
Celkový SO <sub>2</sub>	0,352	0,349	0,341	0,362	0,327

## 5.2 Shluková analýza

Vzhledem k velkému množství naměřených výsledků u vín byla pro možnost vhodně tyto data zpracovat a vyhodnotit vybrána vícerozměrná statistická metoda, konkrétně shluková, neboli klastrová analýza. Pomocí této metody je možné seskupit získané výsledky na základě jejich podobnosti a umístit je tak do shluků, klastrů – skupin, kdy objekty patřící do stejné skupiny jsou více podobné

objektům v rámci této skupiny. Významná je i vzdálenost, při které se shluky spojily (vodorovné čáry spojující dvojice shluků u analýzy parametrů vín (proměnných), svislé čáry u analýzy jednotlivých vzorků vín).

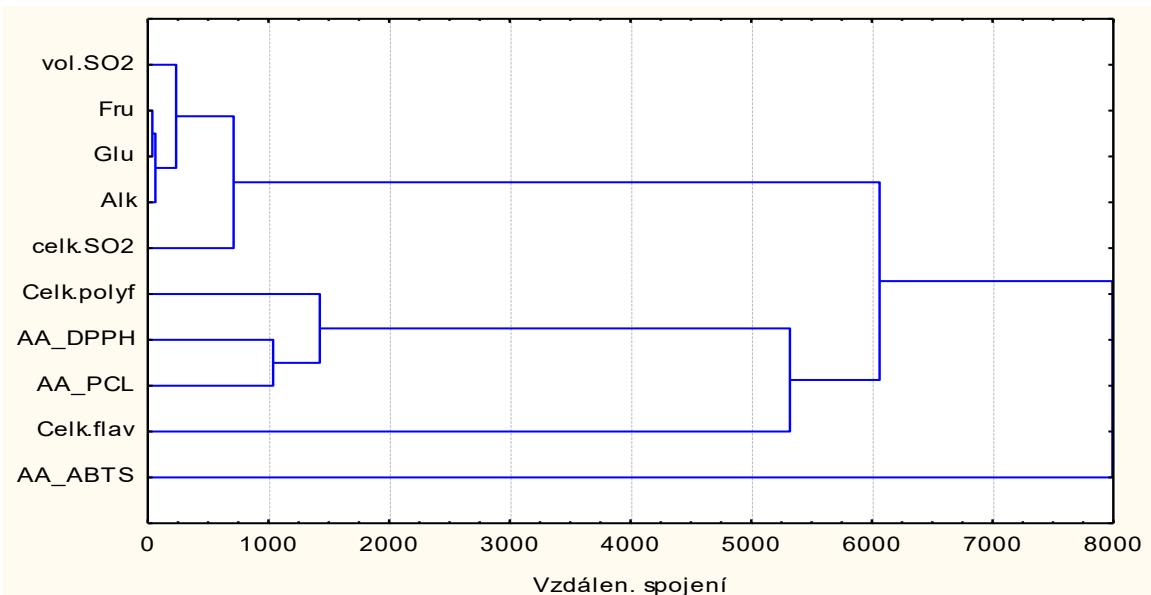
K vyhodnocení podobnosti u parametrů, a také jednotlivých vzorků, byla využita hierarchická shluková analýza prostřednictvím stromové struktury, grafu tzv. dendrogramu. Shluky byly v našem případě spojovány na základě jednoduchého spojování, kdy jde o vliv nejbližších subobjektů ve dvou sousedních objektech, vzhledem k tomu, že bylo ověřeno, že i jiné typy shlukování poskytly přibližně stejné výsledky v tvorbě klastrů. Jako vhodná byla vybrána euklidovská míra vzdálenosti.

V rámci shlukové analýzy byly hodnoceny jednotlivé stanovené parametry (proměnné) a vzorky, souhrnně u všech vzorků révových vín, a také samostatně u bílých, a společně červených a růžových vín. Růžová vína byla přiřazena k červeným vínům vzhledem k jejich menšímu počtu.

Na obr. 14 je znázorněn dendrogram pro 10 vybraných významných parametrů vín (obsah volného SO<sub>2</sub> a celkového SO<sub>2</sub>, obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah celkových polyfenolů, obsah celkových flavonoidů, hodnoty antioxidační aktivity (AA) ze stanovení spektrometrickými metodami s DPPH, ABTS a chemiluminiscenční metodou PCL) hodnocených u všech vzorků révových vín ihned po otevření vzorků vín (0 měsíc).

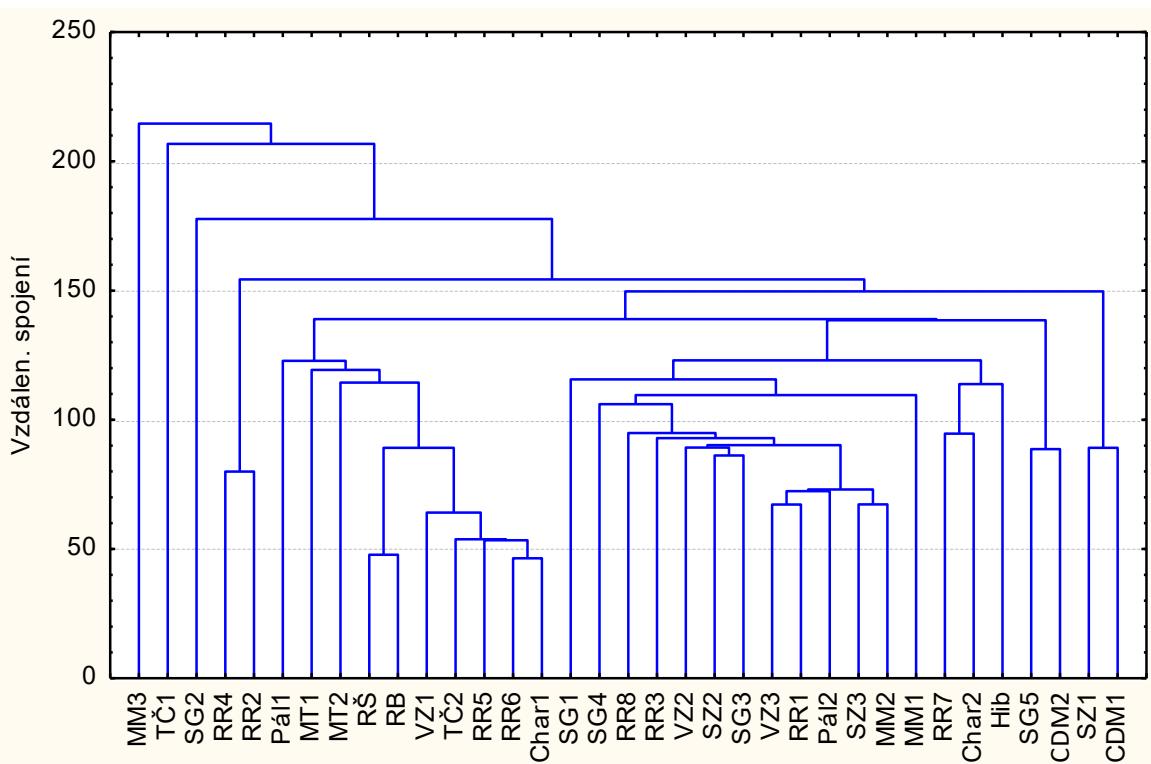
Jak je vidět z uvedeného dendrogramu, byly vytvořeny 3 základní shluky, které byly rozděleny na základě podobnosti u těchto vlastností. V prvním shluku se nachází 5 základních, analytických charakteristik, které se běžně hodnotí u všech révových vín – obsah volného SO<sub>2</sub>, dále ve velmi těsném klastru obsah fruktózy, glukózy a alkoholu, a ve větší vzdálenosti obsah celkového SO<sub>2</sub>. Jde o shluk s analytickými parametry. Druhý shluk je tvořen více specifickými parametry vín, které se týkají jejich antioxidačního působení, jde o shluk s analytickými parametry - celkové polyfenoly, které úzce souvisí s antioxidační aktivitou (AA) měřenou metodami s DPPH a chemiluminiscenční metodou PCL, což bylo prokázáno také korelační analýzou, kde korelace těchto parametrů byly velmi silné (kap. 5.1.1). Samostatně, ale pořád v rámci tohoto klastru, se nachází i celkové flavonoidy (nižší zjištěné korelace než u celkových polyfenolů, kap. 5.1.2). Ve třetím, samostatném shluku se nachází antioxidační aktivita (AA) měřena metodou s ABTS, která se vyznačovala velmi vysokými hodnotami v porovnání s ostatními metodami měření AA, a také dle korelační analýzy byly zjištěny nižší korelace pro vztah CP a AA\_ABTS.

I když byly vykonány také analýzy samostatně pro jednotlivé skupiny parametrů v rámci shluků (samostatně analytické parametry, samostatně antioxidační parametry) se vsemi vzorky, i pro bílá vína, červená a růžová vína, dělení u shluků se nezměnilo, pouze jednotlivé vzdálenosti byly v jiném rozmezí, i když poměrově podobně vzhledem k dendrogramu na obr. 14.



Obrázek 14: Dendrogram hodnocení všech vybraných parametrů (obsah volného a celkového  $SO_2$ , obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, ABTS a PCL) u všech vzorků révových vín

Na obrázku 15 je uveden dendrogram pro vzorky bílých vín (35) při hodnocení s 10 vybranými parametry (obsah volného a celkového  $SO_2$ , obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, ABTS a PCL), ihned po otevření vzorků vín (0 měsíc).



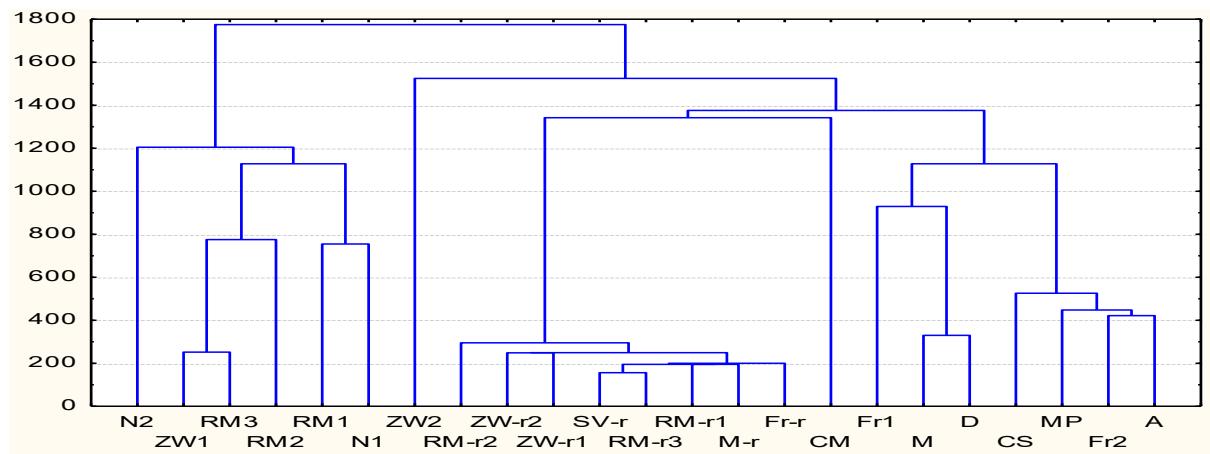
Obrázek 15: Dendrogram hodnocení 35 vzorků bílých vín na základě všech vybraných parametrů (obsah volného a celkového  $SO_2$ , obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, ABTS a PCL)

Při shlukové analýze vzorků bílých vín se všemi vybranými parametry došlo k rozdelení dendrogramu na několik základních shluků. Tři vzorky v levé části grafu vytvořily 3 samostatné shluky, co vypovídá o rozdílnosti každého z těchto vzorků. Vzorek vína MM3, Muškát moravský, ročník 2017, byl vyhodnocen jako nejvíce odlišný od ostatních vzorků – z bílých vín měl velmi vysoké až nejvyšší všechny antioxidační parametry a z tohoto pohledu ho lze považovat za nejlepší vzorek bílého vína. Jako další vzorek samostatného klastru byl TČ1, u kterého byl zjištěn sice nejvyšší obsah celkových polyfenolů, ale jen nízké množství celkových flavonoidů a průměrné hodnoty antioxidační aktivity. Třetí z tohoto výčtu je vzorek SG2, který měl naopak vysoké hodnoty antioxidační aktivity a průměrné hodnoty celkových polyfenolů a flavonoidů.

Následující klastr obsahuje 2 vzorky odrůdy Ryzlink rýnský (RR2,4) s nízkými až velmi nízkými hodnotami u téměř všech antioxidačních parametrů, kromě AA stanovené metodou ABTS, kde dosahovaly průměrných hodnot.

Další klaster je tvořen zbývajícími 30 vzorky. Jeho součástí jsou 4 klastry, různě početné. První z nich je vytvořený z 10 vzorků s průměrnými hodnotami antioxidačních parametrů. Druhý, sousední shluk už je mnohem početnější s 16 podobnými vzorky, především s ohledem k hodnotám antioxidačních parametrů. Následující shluk obsahuje pouhé 2 vzorky SG5, CDM2 se spíše nižšími antioxidačními parametry a nijak rozdílnými analytickými parametry. Poslední klastr v rámci daného dendrogramu je od předchozích tří shluků oddělen. Je tvořen 2 vzorky SZ1 a CDM1 s vyššími hodnotami většiny parametrů z antioxidační skupiny, i když jen průměrným obsahem celkových flavonoidů.

Dendrogram pro shlukovou analýzu vzorků červených vín (15) a růžových vín (8) s hodnocením všech vybraných parametrů (obsah volného a celkového SO<sub>2</sub>, obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, ABTS a PCL) ihned po otevření vzorků vín (0 měsíc) je na obr. 16.



Obrázek 16: Dendrogram hodnocení 15 vzorků červených vín a 8 vzorků růžových vín na základě všech vybraných parametrů (obsah volného a celkového SO<sub>2</sub>, obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, ABTS a PCL)

Dendrogram hodnocení červených a růžových vín obsahuje 2 základní shluky, kde levý klastr byl na základě podobnosti rozdělen na další 2 podshluky. První z nich je tvořen jen jedním samostatným vzorkem N2, který byl i v rámci hodnocení všech vzorků vín oddělen od ostatních, patrně z důvodu velmi vysokého obsahu polyfenolů. V druhém podshluku se nachází 5 vzorků podobných vín (ZW1, RM1-3, N1) s vysokými hodnotami celkových flavonoidů, vyšších hodnot AA\_ABTS a průměrnými hodnotami AA stanovených dalšími metodami. V následujícím shluku je od ostatních oddělen vzorek ZW2 jako nejlépe hodnocený vzorek z hlediska antioxidačních parametrů. V dalším shluku jsou tři podshluky, kdy v jednom jsou zařazeny všechny vzorky růžových vín v poměrně těsných vzdálenostech, jsou si tedy podobné, i když vzorek RM-rosé2 je od zbývajících růžových vín oddělen patrně z důvodu nejvyššího obsahu CP a vysokého obsahu FL a vyšších hodnot AA. Také vzorek červeného vína CM, cuvée, je v samostatném podshluku, tentokrát z důvodu velmi nízkých naměřených hodnot zaměřených na určení antioxidačních vlastností. Poslední shluk 7 podobných vzorků (Fr1, M, D, CS, MP, Fr2, A) jsou vzorky červených vín vyznačující se průměrnými hodnotami antioxidačních parametrů.

Dá se tedy konstatovat, že růžová vína jsou si naměřenými hodnotami dosti podobné, lišící se od červených vín nižšími antioxidačními parametry. U vzorků červených vín jsou do samostatných shluků umístěny dva odlišné vzorky od ostatních, konkrétně vzorek odrůdy Zweigeltrebe ročníku 2016, který se vyznačuje vysokými hodnotami antioxidačních parametrů, a vzorek vína Cuvée Methodus, který má naopak velmi nízké zjištěné hodnoty antioxidačních parametrů. U bílých vín byl vyhodnocen jako nejvíce odlišný od ostatních vzorků vzorek vína Muškát moravský, ročník 2017, který měl velmi vysoké až nejvyšší všechny antioxidační parametry.

## **6. PŘÍNOS PRO VĚDU A VÝZKUM**

Vinařství prochází neustále proměnami a rozvojem nejenom v oblasti pěstování révy vinné, ale také technologie výroby vína, skladování a principů konzumace finálního výrobku, vína samotného. Zákazník a současné trendy udávají směr vývoje produkce a odbytu. V popředí je tak produkce bio vín nebo integrální výroba vína. Avšak nejdůležitější aspekt, jakost vína, zůstává nezměněna, a je možné ji udržet díky kontrole a sledování parametrů vína.

### **Přínos pro vědu a výzkum:**

- Modifikace a optimalizace metody pro identifikaci a kvantifikaci majoritních sacharidů (glukóza a fruktóza) a alkoholu ve víně. Uvedenou metodou je nyní možné v podmírkách laboratoří UTB ve Zlíně standardně stanovovat obsah nejenom těchto cukrů, ale i dalších monosacharidů, i v jiných potravinách a alkoholu i v dalších nápojích.
- Modifikace a optimalizace metody pro identifikaci a kvantifikaci nejvýznamnějších organických kyselin (kyselina vinná, jantarová, citronová, octová, jablečná a mléčná) a aromatických látek ve víně (metodou GC-MS), které můžou výrazně ovlivnit organoleptické vlastnosti vína. V podmírkách laboratoří UTB ve Zlíně je nyní možné standardně stanovovat obsah těchto kyselin i v dalších potravinách.
- Ověření a validace metody pro stanovení jednotlivých antokyanů v červených a růžových vínech, a také v jiných matricích.
- Možnost využití získaných dat pro další výzkum v této oblasti, použití validovaných metod a rozšíření znalostí této problematiky.

### **Přínos pro praxi a aplikace:**

- Získané výsledky poskytují ucelený přehled základních enologických vlastností typických odrůd révových vín z největší vinařské oblasti Morava, podoblastí Slovácké a Velkopavlovické.
- Optimalizované metody pro stanovení různých složek vín přispějí k jejich snadné a rychlé identifikaci a následné kvantifikaci.
- Poznatky získané tímto výzkumem mohou být dále rozšiřovány, a to za účelem optimalizace výrobních procesů vína, podmínek skladování apod., pro co nejlepší udržení vysokých antioxidačních hodnot vína.
- Pro vinařskou praxi možnost poskytnout přehled o výskytu a konkrétním množství bioaktivních a senzoricky významných látek ve víně a navrhnut tak možné technologické úpravy při výrobě vína pro dosažení maximálních hodnot těchto významných látek ve víně.
- Soustavná spolupráce s vinaři, i dle získaných informací z tohoto výzkumu, umožňuje produkci vín s vysokými hodnotami antioxidační aktivity a také další možnosti rozvoje tohoto tématu.

## 7. ZÁVĚR

Stanovení bioaktivních látek vykazujících antioxidační aktivitu a senzoricky významných látek v bílých, červených a růžových vínech je hlavním tématem předložené disertační práce. Sledování změn těchto parametrů probíhalo i během skladování za podmínek standardního uskladnění ve vinných sklepech.

Vzorky vín byly podrobeny vybraným stanovením enologických ukazatelů, především určení obsahu oxidu siřičitého (volný a celkový), majoritních sacharidů (glukózy a fruktózy), alkoholu (etanolu), identifikovány a stanoveny byly majoritní i minoritní organické kyseliny (kyselina vinná, mléčná, jablečná, octová, jantarová a citronová). V rámci monitoringu biologicky aktivních látek byl stanoven obsah celkových polyfenolů a flavonoidů, také byly identifikovány a stanoveny obsahy jednotlivých fenolických sloučenin a jednotlivých antokyanů. Analyzována byla i celková antioxidační aktivita třemi metodami, a to spektrofotometricky s DPPH, s ABTS a chemiluminiscenční metodou PCL. Tyto parametry byly určeny ihned po otevření vzorků vín a sledovány i v průběhu doby skladování, a to od prvního měření po 12 měsíc.

Výsledky stanovení analyzovaných parametrů v konkrétních vínech mohou být ovlivněny mnoha faktory, jako je typ odrůdy, lokalita, klimatické podmínky ve vegetačním období a při zrání révy vinné, zralost révy vinné, doba sklizně, metabolizmus jednotlivých chemických složek v rostlině, složení rostlinné matrice, ale i rozdílné metody extrakce v rámci technologických postupů výroby, a také metodikou stanovení jednotlivých parametrů.

Ze všech námi naměřených výsledků u 58 vín, celkově nejvyšší hodnoty volného i celkového SO<sub>2</sub> byly zjištěny u bílých vín, především odrůdy Chardonnay a Tramín červený. Následně jsou to růžová vína a nejnižší množství oxidu siřičitého bylo naměřeno u červených vín, a to zvláště u vzorku Rulandské modré a odrůdy Zweigeltrebe, kde také došlo k nejnižšímu poklesu SO<sub>2</sub> po ročním skladování.

K vínům s nejvyšším obsahem majoritních sacharidů se řadila růžová vína, bílá vína byla obecně méně sladká. Nejmenší obsah glukózy a fruktózy byl ve skupině červených vín.

Průměrné množství alkoholu u vín bylo určeno na 11,31 % obj. Vzorky vín obsahovaly v průměru o 2 % obj. méně alkoholu, než jak bylo udáno výrobcem, patrně jednak kvůli možnosti zvýšení obsahu alkoholu prokvašením veškerého zbytkového cukru ve víně na nulovou hodnotu, případně z důvodu využití přesnější instrumentální metody stanovení alkoholu ve víně.

Organické kyseliny mají ve víně významné postavení, a to především v podobě dotváření celkového charakteru a chuťových vlastností, které tvoří celkový senzorický dojem při konzumaci vína. Jsou tedy jedním z faktorů, které určují kvalitu vína a tím také ovlivňují jeho odbyt. Za využití metody HPLC

s DAD byla identifikována a kvantifikována kyselina vinná, jablečná, mléčná, a v minoritním množství také kyselina citronová, octová a jantarová.

U vybraných zástupců vín byly sledovány i změny některých významných aromatických složek (2,3-butandiol, furfural, 4-vinylfenol, 4-vinylguajakol, ethyl acetát, ethyl laktát, isoamyl acetát). Ve vzorcích vín byl v nejvyšší míře stanoven 2,3-butandiol v rozmezí do  $500 \text{ mg.l}^{-1}$ . Vyšší hodnoty byly stanoveny ve vzorcích bílého vína odrůd Sauvignon, Ryzlink rýnský, Veltlínské zelené, Sylvánské zelené a Muškát moravský, u červených a růžových vín to bylo ve vzorcích odrůd Frankovka, Merlot a Zweigeltrebe.

Celkové polyfenoly (CP) byly v nejvyšší míře zastoupeny u vzorků červených vín, následovaly vzorky růžových vín, kdy obsah CP byl 3x nižší. V bílých vínech bylo v průměru stanoveno poloviční množství CP než ve vínech růžových. Ve vzorcích růžového vína byl zaznamenán nejvyšší úbytek CP v průběhu 12 měsíčního skladování a dosahoval výšky 23,54 %. U bílých a červených vín byl zjištěn poloviční úbytek CP než u růžových vín. Za stejnou dobu pozorování byl průměrný úbytek CP v bílých vínech 11,96 %, a téměř totožný úbytek (12,04 %) byl ve vzorcích červených vín. Celkové flavonoidy byly v nejvyšší míře zastoupeny u vzorků červených vín, následovaly vzorky růžových vín a nejmenší množství bylo určeno u vín bílých. Nejnižší úbytek flavonoidů v celé délce sledování byl u vzorků červených vín (0,59 – 1,26 %), následovala vína růžová (3,08 – 8,89 %). Největší procentuální úbytek celkového obsahu flavonoidů byl zaznamenán ve vzorcích bílých vín (3,69 – 9,89 %). Dané pořadí koreluje s výsledky zjištěnými při stanovení celkového obsahu polyfenolů. U révových vín tedy dochází k poklesu flavonoidů v průměru o 6,68 % za 12 měsíců skladování.

V průřezu vsemi vzorky červených vín bylo zjištěno, že z jednotlivých antokyanů největší zastoupení ve vzorcích zastával kyanidin, který je významný především pro svou červeno-purpurovou barvu. Ve vzorcích růžových vín bylo stanoveno vysoké množství malvidin-3-O-galaktosidu. Jeho obsah v některých vzorcích růžových vín byl až 4x vyšší než u vzorků vín červených. Nejméně z antokyanů bylo ve vínech malvidin-3-O-galaktosidu a peonidinu. V průběhu skladování dochází ke změnám obsahu jednotlivých antokyanů, a to v závislosti na odrůdě a stáří vína.

Ze všech provedených stanovení v průběhu sledovaných intervalů byla nejvyšší antioxidační aktivita (AA), stanovena spektrofotometricky s DPPH, zjištěna u červených vín, konkrétně u vína odrůdy Zweigeltrebe ( $2563,66 \text{ mg TE.l}^{-1}$ ), méně u růžových vín s maximem hodnoty AA u odrůdy Rulandské modré ( $460,47 \text{ mg TE.l}^{-1}$ ), a nejméně u bílých vín s nejvyšší hodnotou u vzorku odrůdy Muškát moravský ( $396,99 \text{ mg TE.l}^{-1}$ ). Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS a také chemiluminiscenční metodu PCL korelují s výsledky stanovení metodou DPPH. Lépe hodnocenými viny z hlediska antioxidačních parametrů (celkový obsah polyfenolů, flavonoidů, antokyanů, hodnoty antioxidační aktivity) byly tedy červená vína, růžová a bílá vína mají

tyto hodnoty několikrát nižší. K odrůdám červených vín, které vykazují významnou antioxidační aktivitu, patří odrůdy Zweigeltrebe, Rulandské modré a Neronet, k odrůdám růžových vín Svatovavřinecké rosé a Rulandské modré rosé, k odrůdám bílých vín Muškát moravský, Sauvignon, Sylvánské zelené. Skladováním vín dochází ke snížení uvedených parametrů, v různém rozsahu u jednotlivých druhů vín.

Na základě výsledků statistické analýzy lze konstatovat, že ve velké míře jsou za antioxidační aktivitu všech vín, jak bílých, tak i růžových a červených, v čerstvě otevřených vzorcích vín i těch skladovaných, zodpovědné především polyfenoly. Kyselina gallová, protokatechová, epigallokatechin a epikatechin patří k těm fenolickým sloučeninám ve víně, které ve velké míře ovlivňují jejich schopnost zháset volné radikály. Polyfenoly, antokyany, katechiny, resveratrol patří mezi nejúčinnější antioxidanty vín a mohou být efektivní při prevenci některých onemocnění, jako jsou kardiovaskulární choroby. Pozitivní účinky antioxidačních látek se uplatňují na základě přítomnosti a množství jednotlivých bioaktivních látek, případně i jejich synergii. Proto je tato problematika neustále aktuální a vyžaduje další výzkum.

Z dosažených výsledků bude možné optimalizovat metody stanovení jednotlivých složek ve víně, pro vinařskou praxi půjde o možnost poskytnutí přehledu o výskytu a množství jednotlivých bioaktivních a senzoricky významných látek ve vínech. Z těchto závěrů pak bude možné navrhnout příslušné technologické úpravy při výrobě vína pro dosažení maximálních hodnot bioaktivních a senzoricky významných látek ve víně, co je aplikováno i ve spolupráci s vinařskými společnostmi.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- BALÍK, J., KYSELÁKOVÁ, M., VRCHOTOVÁ, N., TŘÍSKA, J., KUMŠTA, M., VEVERKA, J., HÍC, P., TOTUŠEK, J. a LEFNEROVÁ D. Relations between polyphenols content and antioxidant activity in vine grapes and leaves. *Czech J. Food Sci.* 2008, roč. 26, s. 25 - 32. Dostupné z: <https://doi.org/10.17221/246/2008-CJFS>
- BARON, M., SOCHOR, J., TOMASKOVA, L., PRUSOVA, B., a KUMSTA, M. Study on Antioxidant Components in Rosé Wine Originating from the Wine Growing Region of Moravia, Czech Republic. *Erwerbs-Obstbau*. 2017, roč. 59, č. 4, s. 253-262. ISSN 1439-0302. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10341-016-0317-3>
- BELITZ, H., D. Food Chemistry. 4th rev. and extended ed. Berlin: Springer, 2009, s. 1070. ISBN 978-3-540-69933-0
- BREIER N. Individuelle Weine. *Der Winzer*. 2012, roč. 23, s. 9, s. 250-252.
- CAILLÉ, S., SALMON, J., M., SAMSON, A. Effect of storage in glass and polyethylene terephthalate bottles on the sensory characteristics of rosé wine. *Australian J. of Grape and Wine Research*, 2018. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/ajgw.12335>
- CASELLA, I. G., COLONNA, C., CONTURSI, M. Electroanalytical Determination of Some Phenolic Acids by High-Performance Liquid Chromatography at Gold Electrodes. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*. 2007, roč. 19, č. 14, s. 1503-1508. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/elan.200703882>
- CIMINO, F., SULFARO, V., TROMBETTA, D., SAIJA, A., a TOMAINO, A. Radical-scavenging capacity of several Italian red wines. *Food Chemistry*. 2007, roč. 103, č. 1, s. 75-81. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.042>
- CLARKE, J. a J. BAKKER. Wine Flavour Chemistry. Oxford, UK: Blackwell Publishing. 2004, ISBN 978-1-4051-5004-1
- COELHO, E., M. Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2018, roč. 66, s. 160-167. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.017>
- CORRALES, M., FERNANDEZ, A., PINTO, M., G., V., BUTZ, P., FRANZ, C., M., A., P., SCHUELE, E. a TAUSCHER, B. Characterization of phenolic content, in vitro biological activity, and pesticide loads of extracts from white grape skins from organic and conventional cultivars. *Food Chem. Toxicol.* 2010, roč. 48, s. 3471–3476. ISSN 0278-6915. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.025>
- ČESKO, Zákon o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o vinohradnictví a vinařství). In: *Sbírka zákonů ČR*. Česká republika, 2004, číslo 321.
- DE QUIRÓS, A., LAGE-YUSTY, R., B., LÓPEZ-HERNÁNDEZ, M., A. HPLC-analysis of polyphenolic compounds in Spanish white wines and determination of their antioxidant activity by radical scavenging assay. *Food Research International*. 2009,

roč. 42, č. 8, s. 1018-1022. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.04.009>

DUGELAY, I., BAUMES, R., L., GUNATA, Z., RAZUNGLES, A., a BAYONOVE, C., L. Aroma evolution during wine ageing: formation of 4-(1-ethoxyethyl)-phenol et 4-(1-ethoxyethyl)-gaiacol. *Science des Aliments*, 1995, roč. 15, č. 5, s. 423 – 433

ESCARPA, A. a GONZALEZ, M. C. An Overview of Analytical Chemistry of Phenolic Compounds in Foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2001, roč. 31, č. 2, s. 57-139, Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/20014091076695>

EYDURAN, S., P., AKIN, M., ERCISLI, S., EYDURAN, E., MAGHRADZE, D. Sugars, organic acids, and phenolic compounds of ancient grape cultivars (*Vitis Vinifera* L.) from Iğdır province of eastern Turkey). *Turkey. Biol. Res.* 2015, roč. 48, s. 1–8. ISSN 0717-6287. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/0717-6287-48-2>

FERREIRA, V., SAN JUAN, F., ESCUDERO, A., CULLERE, L., FERNANDEZ-ZURBANO, P., SAENZ-NAVAJAS, M., P., a CACHO, J. Modeling quality of premium Spanish red wines from gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009, roč. 57, č. 16, s. 7490–7498. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf9006483>

FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S., VILLANO, D., GARCIA-PARRILLA, M. C., & TRONCOSO, A. M. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*. 2004, roč. 513, č. 1, s. 113-118. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.02.028>

FIC, Vlastimil. Víno: analýza, technologie, gastronomie. 1. vydání. Český Těšín: 2 THETA. 2015, 299 s. ISBN 978-80-86380-77-3.

FLORA, S., J., S. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2009, roč. 2, č. 4, s. 191-206. Dostupné z: [doi.org/10.4161/oxim.2.4.9112](https://doi.org/10.4161/oxim.2.4.9112)

GARRIDO, J. a BORGES, F. Wine and grape polyphenols — A chemical perspective. *Food research international*, 2013, roč. 54, č. 2, s. 1844-1858. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>.

HOSU, A., CRISTEA, V., M., a CIMPOIU, C. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. *Food chemistry*. 2014, roč. 150, s. 113-118. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.153>

HUANG, W.-J., ZHANG, X. a CHEN, W.-W. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease (Review). *Biomedical Reports*. 2016, roč. 4, č. 5, s. 519-522. ISSN 2049-9442. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/br.2016.630>

HUI, Y. H., ed. Handbook of plant-based fermented food and beverage technology. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. 2012. ISBN 9781439849040.

HURTADO, I., CALDU, P., GONZALO, A., RAMON, J.M., MINGUEZ, S., FIOL, C. Antioxidative capacity of wine on human LDL oxidation in vitro: effect of skin contact in winemaking of white wine. *J Agric Food Chem.* 1997. roč. 45, s.1283–1289.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf960583p>

IVANOVA, V., STEFOVA, M. a CHINNICI, F. Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 2010, roč. 75, č. 1, s. 45-59. Dostupné z: <http://eprints.ugd.edu.mk/id/eprint/314>

JACKSON, R., S. Wine Science: Principles and Applications. 3rd ed. Burlington: Elsevier. 2008, s. 747. ISBN 978-0-12-373646-8

JANÁČOVÁ, A. The identification of aroma-active compounds in Slovak brandies using GC-sniffing, GC-MS and sensory evaluation. *Chromatographia*. 2008, roč. 67, s. 113-121. Dostupné z: <https://doi.org/10.1365/s10337-008-0635-1>

JU, Z., HOWARD, L., R. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. *J. Food Sci.* 2005, roč. 70, s. 270–276. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07202.x>

KADLEC, P. Technologie potravin. Praha: *Vysoká škola chemicko-technologická*, 2002. ISBN 80-7080-510-2.

KALTZIN, W. Natural wines, als Trend. *Der Winzer*. 2012, roč. 10, č. 4, s. 85-87.

KAPUSTA, I., CEBULAK, T., OSZMIAŃSKI, J. Characterization of polish wines produced from the interspecific hybrid grapes grown in south-east Poland. *European Food Research and Technology*. 2018, roč. 244, č. 3, s. 441-455. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2972-5>

KATALINÍC, V., MOŽINA, S., SKROZA, D., GENERALIĆ, I., ABRAMOVIČ, H., MILOŠ, M., LJUBENKOV, I., PISKERNIK, S., TERPINC, P., BOBAN, M. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food Chem.* 2010, roč. 119, s. 715–723. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.019>

LEBLANC, M., R., JOHNSON, C., E., WILSON, P., W. Influence of pressing method on juice stilbene content in Muscadine and Bunch Grapes. *Journal of Food Science*. 2008, roč. 73, s. 1–4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00733.x>

LEDAUPHIN, J., SAINT-CLAIR, J., F., LABLANQUIE, O., GUICHARD, H., FOUNIER, N., GUICHARD, E. a BARILLIER, D. Identification of Trace Volatile Compounds in Freshly Distilled Calvados and Cognac Using Preparative Separations Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, roč. 52, č. 16, s. 5124-5134 ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf040052y>

LI, H., WANG, X., LI, Y., LI, P., a WANG, H. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food chemistry*. 2009, roč. 112, č. 2, s. 454-460. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.111>

LIMA, M., D., S., SILANI, I., D., S., V., TOALDO, I., M., CORRÊA, L., C., BIASOTO, A., C., T., PEREIRA, G., E., BORDIGNON-LUIZ, M., T., NINOW, J., L. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. *Food Chem.*

2014, roč. 161, s. 94–103. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.109>

LIMA, M., D., S., DUTRA, M., D., C., P., TOALDO, I., M., CORRÊA, L., C., PEREIRA, G., E., OLIVEIRA, D., D., BORDIGNON-LUIZ, M., T., NINOW, J., L. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. *Food Chem.* 2015, roč. 188, s. 384–392. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.014>

LINGUA, M. S., FABANI, M. P., WUNDERLIN, D. A., a BARONI, M. V. From grape to wine: changes in phenolic composition and its influence on antioxidant activity. *Food chemistry.* 2016, roč. 208, s. 228-238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.009>

LÓPEZ, E. F., a E. F. GÓMEZ. Simultaneous Determination of the Major Organic Acids, Sugars, Glycerol, and Ethanol by HPLC in Grape Musts and White Wines. *Journal of Chromatographic Science.* 1996, s. 254-57. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/chromsci/34.5.254>

MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., a JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American j. of clinical nutrition.* 2004, roč. 79, č. 5, s. 727-747. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>

MONAGAS, M., BARTOLOMÉ, B., GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle. *European Food Research and Technology.* 2005, roč. 220, č. 3-4, s. 331-340. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1109-9>

MONTEALEGRE, R., R., PECES, R., R., VOZMEDIANO, J., C., GASCUEÑA, J., M., a ROMERO, E., G. Phenolic compounds in skins and seeds of ten grape *Vitis vinifera* varieties grown in a warm climate. *Journal of Food Composition and Analysis,* 2006, roč. 19, č. 6-7, s. 687-693. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.05.003>

NATIVIDADE, M., M., P., CORRÊA, L., C., SOUZA, S., V., C., PEREIRA, G., E., LIMA, L., C., O. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal.* 2013, roč. 110, s. 665–674. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.08.010>

NURGEL, C., PICKERING, G. Contribution of glycerol, ethanol and sugar to the perception of viscosity and density elicited by model white wines. *Journal of texture studies.* 2005, roč. 36, č. 3, s. 303-323. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2005.00018.x>

OLIVEIRA, J. M. Changes in aromatic characteristics of Loureiro and Alvarinho wines during maturation. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2008, roč. 21, č. 8, s. 695-707. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.08.002>

OLIVEIRA, D. A., SALVADOR, A. S., SMÂNIA, E. F. A., MARASCHIN, M., FERREIRA, S. R. S. Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *J. Biotechnol.* 2013, roč. 164, s. 423–432. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biote.2012.09.014>

PAIXAO, N., PERESTRELO, R., MARQUES J. C., CAMARA, J. S. Relationship

between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines. *Food Chem.* 2007, roč. 105, s. 204–214. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.017>

PANOUILLÉ, M., RALET, M., BONNIN, E., THIBAULT, J. F. Recovery and reuse of trimmings and pulps from fruit and vegetable processing. In *Handbook of Waste Management and Co-Product Recovery in Food Processing*; Woodhead Publishing: Abington Hall, 2007, s. 417–447.

PAVELKOVÁ, I. Kvasinky a aroma vína. *Vinařský obzor*. 2005, roč. 98, č. 11, s. 557 – 559. ISSN 1212-7884

PAVLOUŠEK, P. Aktuální postřehy z vinice k aromatické a fenolické zralosti hroznů. *Vinařský obzor*, 2005. roč. 10, s. 493 ISSN 1212-7884

PEINADO, R., A., MORENO, J., BUENO, J., E., MORENO, J., A., a MAURICIO, J., C. Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*. 2004, roč. 84, č. 4, s. 585–590. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00282-6)

PEÑA-NEIRA, A., HERNÁNDEZ, T., GARCÍA-VALLEJO, C., ASTRELLA, I., SUAREZ, J. A. A survey of phenolic compounds in Spanish wines of different geographical origin. *Eur. Food Res. Technol.* 2000, roč. 210, s. 445-448.

PEREIRA, A., WURLITZER, N., DIONÍSIO, A., SOARES, M., BASTOS, M., ALVES, R. a I. BRASIL. Synergistic, additive and antagonistic effects of fruit mixtures on total antioxidant capacities and bioactive compounds in tropical fruit juices. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2015, roč. 65, s. 119-127. ISSN 0004-0622. Dostupné z: <http://alanjournal.com/index.php/path/article/download/99/101>

PEREIRA, V. HPLC-DAD methodology for the quantification of organic acids, furans and polyphenols by direct injection of wine samples. *Journal of separation science*. 2010, roč. 33, č. 9, s. 1204-1215. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jssc.200900784>

PERES, R. G., E. P. MORAES, G. A. MICKE, F. G. TONIN, M. F. M. TAVARES a D. B. RODRIGUEZ-AMAYA. Rapid method for the determination of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *Food Control*. 2009, roč. 20, č. 6, s. 548-552. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.08.004>

PICKERING, G., HEATHERBELL, D., BARNES, D. a VANHANEN, L., P. The effect of ethanol concentration on the temporal perception of viscosity and density in white wine. *Am. J. Enol. Viticolt.* 1998, roč. 49, s. 306–318.

PUÉRTOLAS, E., SALDAÑA, G., ÁLVAREZ, I., a RASO, J. Experimental design approach for the evaluation of anthocyanin content of rosé wines obtained by pulsed electric fields. Influence of temperature and time of maceration. *Food Chemistry*. 2011, roč. 126, č. 3, s. 1482-1487. Dostupné z: [doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.164](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.164)

RECAMALES, A., F., GALLO, V., HERNANZ, D., GONZÁLEZ-MIRET, M., L., a HEREDIA, F., J. Effect of time and storage conditions on major volatile compounds of Zalema white wine. *Journal of Food Quality*. 2011, roč. 34, č. 2, s. 100 – 110. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2011.00371.x>

RIBEIRO, T., P., DE LIMA, M., A., C., ALVES, R., E. Maturação e qualidade de uvas para suco em condições tropicais, nos primeiros ciclos de produção. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 2012, roč. 47, s. 1057–1065. Dostupné z: <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/12481/7665>

RIBÉREAU-GAYON, P., DUBOURDIEU, D. a DONÈCHE, B. *Handbook of enology*. 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley. 2006, 450 s. ISBN 0470010371.

RICCI, A., PARPINELLO, G., P., VERSARI, A. Modelling the evolution of oxidative browning during storage of white wines: effects of packaging and closures. *International journal of food science & technology*. 2017, roč. 52, č. 2, s. 472 - 479. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13303>

ROP, O., JURÍKOVÁ, T., MLČEK, J., KRAMÁŘOVÁ, D. a SENGE, Z. Antioxidant activity and selected nutritional values of plums (*Prunus domestica* L.) typical of the White Carpathian Mountains. *Scientia Horticulturae*. 2009, roč. 122, č. 4, s. 545-549. ISSN 03044238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.06.036>

ROSA, L. A., ALVAREZ-PARRILLA, E. a GONZÁLEZ-AGUILAR, G. Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell. 2010, ISBN 978-0-8138-0320-3.

RUPASINGHE, H. P., CLEGG, V. S. Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements, and histamine concentrations in wines of different fruit sources. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2007, roč. 20, č. 2, s. 133-137. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.06.008>. ISSN 08891575.

SAEED, N., KHAN, M. R. a SHABIR, M. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012, roč. 12, č. 221, s. 1-12, ISSN 1472-6882. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-221>

SÁNCHEZ-GUILLÉN, M. M., GARCÍA-MORENO, M. V., GUILLÉN-SÁNCHEZ, D. A., a GARCÍA-BARROSO, C. Determination of Antioxidant Activity of Brandy and Other Aged Beverages by Electrochemical and Photochemiluminescence Methods. *Food analytical methods*. 2017, roč. 10 č. 4, s. 1045-1053. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0667-3>

SIMS, A., 1995. HPLC analysis of sugars in foods containing salt. *J. Agric. Food Chem.* 43 (2), 377–380.

SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 1965, roč. 16, č. 3, s. 144-158.

SINGLETON, V. L., TROUSDALE, E. White wine phenolics - Varietal and processing differences as shown by HPLC. reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 1983, 34, pp. 27–34.

SNEDECOR, G. W. a W. G. COCHRAN. Statistical methods. 8 ed. Ames, Iowa: *Iowa State Univ. Press*, 1994. ISBN 978-081-3815-619.

SNOPEK, L., MLČEK, J., FIC, V., HLAVÁČOVÁ, I., ŠKROVÁNKOVÁ, S.,

FIŠERA, M., VELICOVÁ, H., a ONDRÁŠOVÁ, M. Interaction of polyphenols and wine antioxidants with its sulfur dioxide preservative. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2018, roč. 12, č. 1, s. 180-185. Dostupné z: <https://doi.org/10.5219/899>

SNOPEK, L., MLCEK, J., SOCHOROVÁ, L., BARON, M., HLAVACOVA, I., JURIKOVA, T., KIZEK, R., SEDLACKOVA, E. a SOCHOR, J. Contribution of red wine consumption to human health protection. *Molecules*. 2018, roč. 23, č. 7, s. 1684. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules23071684>

SOLEAS, G., J., DIAMANDIS, E., P., GOLDBERG, D., M. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *J. Clin. Lab. Anal.* 1997, roč. 11, s. 287–313. Dostupné z: [doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2825\(1997\)11:5%3C287::AID-JCLA6%3E3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2825(1997)11:5%3C287::AID-JCLA6%3E3.0.CO;2-4)

SOYER, Y., KOCA, N., KARADENIZ, F. Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices. *J. Food Compos. Anal.* 2003, roč. 16, s. 629–636. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00065-6](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00065-6)

STAŠKO, A., POLOVKA, M., BREZOVÁ, V., BISKUPIČ, S., a MALÍK, F. Tokay wines as scavengers of free radicals (an EPR study). *Food Chemistry*. 2006, roč. 96, č. 2, s. 185-196. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.022>

STAŠKO, A., BREZOVÁ, V., MAZÚR, M., CERTÍK, M., KALIŇÁK, M., a GESCHEIDT, G. A comparative study on the antioxidant properties of Slovakian and Austrian wines. *LWT – Food Science and Technology*. 2008, roč. 41, s. 2126–2135. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.11.021>

STEIDL, R. Sklepni hospodářství. Valtice: *Národní salon vín*, 2005. ISBN 8090320104.

SUMCZYNSKI, D., BUBELOVA, Z., SNEYD, J., ERB-WEBER, S., a MLCEK, J. Total phenolics, flavonoids, antioxidant activity, crude fibre and digestibility in non-traditional wheat flakes and muesli. *Food chemistry*. 2015, roč. 174, s. 319-325. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.065>

SVOBODOVÁ, I., VĚŽNÍK, A., KRÁL, M. Viticulture in the Czech republic: some spatio-temporal trends. *Moravian Geographical Reports*. 2014, roč. 22 č. 1, s. 2-14. Dostupné z: <https://doi.org/10.2478/mgr-2014-0001>

SWIEGERS, J., H., BARTOWSKY, E., J., HENSCHKE, P., A., a PRETORIUS, I., S. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2005, roč. 11, č. 2, s. 139–173. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x>

SÝS, M; METELKA, R; VYTŘAS, K. Comparison of tyrosinase biosensor based on carbon nanotubes with DPPH spectrophotometric assay in determination of TEAC in selected Moravian wines. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*. 2015, roč. 146, č. 5, s. 813-817. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00706-014-1404-5>

ŠERUGA, M.; NOVAK, I.; JAKOBEC, L. Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*. 2011, roč. 124, č. 3, s. 1208-1216. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.047>

ŠETKA, M., DVOŘÁK, I., PŘIBYL, J., NOVOTNÝ, J. A SÜSS, R. Nejlepší vína České republiky - Průvodce 2018/2019. *WINE & Degustation*, 2018. ISBN 978-80-907416-0-7.

VALÁŠEK, P., MLČEK, J., FIŠERA, M., FIŠEROVÁ, L., SOCHOR, J., BAROŇ, M., a JURÍKOVÁ, T. Effect of various sulphur dioxide additions on amount of dissolved oxygen, total antioxidant capacity and sensory properties of white wines. *Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Früch.* 2014, roč. 64, č. 4, s. 193-200. Dostupné z: [www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2015/20153089851.pdf](http://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2015/20153089851.pdf)

VELÍŠEK, J. and J. HAJŠLOVÁ. Chemie potravin I. 3. vydání. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.

VELÍŠEK, J. and J. HAJŠLOVÁ. Chemie potravin II. 3. vydání. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.

VELÍŠEK, J. Chemie potravin III. Tábor: OSSIS, 2002. 343 s. ISBN 80-86659-02-X.

WATERHOUSE, A. L., SACKS, G. L., a JEFFERY, D. W. *Understanding wine chemistry*. Chichester, West Sussex: Wiley, 2016. ISBN 9781118627808.

WINTEROVÁ R., MIKULÍKOVÁ R., MAZÁČ J. a HAVELEC P. Assessment of the Authenticity of Fruit Spirits by Gas-Chromatography and Stable Isotope ratio Analysis. *Czech J. Food Sci.* 2008, roč. 26, č. 5, s. 368 - 375. Dostupné z: <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/02513.pdf>

WIRTH, J. Impact of post-bottling oxygen exposure on the sensory characteristics and phenolic composition of Grenache rosé wines. *Food chemistry*. 2012, roč. 132, č. 4, s. 1861-1871. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.019>

XU, J., Y. WANG, Y. XIAN, M. LIU, L. JIN a K. TANAKA. Determination of electroinactive organic acids in red wine by ion-exclusion chromatography using a poly-o-phenylenediamine film modified electrode. *Chromatographia*. 2003, roč. 57, 11-12, s. 751-756. ISSN 0009-5893. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02491761>

ZAKY, A. S. A new HPLC method for simultaneously measuring chloride, sugars, organic acids and alcohols in food samples. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2017, roč. 56, s. 25-33. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.010>

ZHANG, W., W., LI, J., XU, F., TANG, Y., CHENG, S. a CAO, F. Isolation and characterisation of a phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL) promoter from *Ginkgo biloba* and its regulation of gene expression in transgenic tobacco plants. *Plant Omics Journal*. 2014, roč. 7, č. 5, s. 353-360. ISSN 1836-3644. Dostupné z: [http://www.pomics.com/xu\\_7\\_5\\_2014\\_353\\_360.pdf](http://www.pomics.com/xu_7_5_2014_353_360.pdf)

# SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Grafické znázornění úbytků (%) celkového SO <sub>2</sub> (a) a volného SO <sub>2</sub> (b) ve vzorcích bílých vín (0 – 1 měsíc, 0 – 6 měsíců, 0 – 12 měsíců) .....	20
Obrázek 2: Grafické znázornění úbytků (%) volného a celkového SO <sub>2</sub> ve vzorcích červených vín a průměrného úbytku v průběhu skladování (po 1, 6 a 12 měsících) .....	22
Obrázek 3: Grafické znázornění úbytků (%) volného a celkového SO <sub>2</sub> ve vzorcích růžových vín v průběhu skladování (po 1, 6, 12 měsících) .....	22
Obrázek 4: Grafické znázornění obsahu fruktózy, glukózy a jejich suma [g.l <sup>-1</sup> ] ve vzorcích červeného vína .....	24
Obrázek 5: Grafické znázornění obsahu fruktózy, glukózy a jejich suma [g.l <sup>-1</sup> ] ve vzorcích růžového vína .....	25
Obrázek 6: Průměrné množství CP (mg GAE.l <sup>-1</sup> ) - graf a), a úbytek CP (%) - graf b) ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování (1, 6 a 12 měsíců) .....	30
Obrázek 7: Obsah fenolových kyselin, flavonoidů a celkové množství fenolických sloučenin [mg.l <sup>-1</sup> ] v bílém víně (0 měsíc).....	32
Obrázek 8: Obsah fenolových kyselin, flavonoidů a celkové množství fenolických sloučenin [mg.l <sup>-1</sup> ] ve vzorcích červených vín (0 měsíc).....	34
Obrázek 9: Obsah fenolových kyselin, flavonoidů a celkový obsah fenolických sloučenin [mg.l <sup>-1</sup> ] ve vzorcích růžových vín (0 měsíc) .....	35
Obrázek 10: Průměrné množství FL (mg RE.l <sup>-1</sup> ) - graf a), a úbytek FL (%) - graf b) ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování (1, 6 a 12 měsíců) .....	37
Obrázek 11: Pokles celkového množství jednotlivých antokyanů ve vybraných vzorcích červených vín během skladování [mg.l <sup>-1</sup> ] s uvedenou hodnotou úbytku (%) po 12 měsících .....	39
Obrázek 12: Průměrná antioxidační aktivita stanovena metodou s DPPH (mg TE.l <sup>-1</sup> ) - graf a), a úbytek AA (%) - graf b) ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování (1, 6 a 12 měsíců) .....	43
Obrázek 13: Průměrná antioxidační aktivita stanovena metodou s ABTS (mg TE.l <sup>-1</sup> ) - graf a), a úbytek AA (%) - graf b) ve vzorcích bílých, červených, růžových vín a u všech vzorků v průběhu skladování (1, 6 a 12 měsíců) .....	45
Obrázek 14: Dendrogram hodnocení všech vybraných parametrů (obsah volného a celkového SO <sub>2</sub> , obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, ABTS a PCL) u všech vzorků révových vín .....	55
Obrázek 15: Dendrogram hodnocení 35 vzorků bílých vín na základě všech vybraných parametrů (obsah volného a celkového SO <sub>2</sub> , obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, ABTS a PCL) .....	55
Obrázek 16: Dendrogram hodnocení 15 vzorků červených vín a 8 vzorků růžových vín na základě všech vybraných parametrů (obsah volného a celkového SO <sub>2</sub> , obsah fruktózy a glukózy, obsah alkoholu, obsah CP, obsah FL, hodnoty AA s DPPH, ABTS a PCL) .....	56

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Vzorky bílých vín se základními údaji.....	13
Tabulka 2: Vzorky červených vín se základními údaji .....	14
Tabulka 3: Vzorky růžových vín se základními údaji.....	14
Tabulka 4: Obsah jednotlivých antokyanů [mg.l <sup>-1</sup> ] v červeném a růžovém víně.....	40
Tabulka 5: Zjištěné aromatické látky technikou GC-MS stanovené v analyzovaných vzorcích bílých, červených a růžových vín, a obvyklé aroma těchto složek .....	47
Tabulka 6: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve vzorcích bílých vín (n = 35) po prvním měření .....	49
Tabulka 7: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS) ve vzorcích bílých vín (n = 31) po 12 měsících skladování.....	49
Tabulka 8: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve vzorcích červených vín (n = 15) po prvním měření .....	50
Tabulka 9: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS) ve vzorcích červených vín (n = 14) po 12 měsících skladování.....	50
Tabulka 10: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve vzorcích růžových vín (n = 8) po prvním měření .....	50
Tabulka 11: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS) ve vzorcích růžových vín (n = 6) po 12 měsících skladování.....	50
Tabulka 12: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve všech vzorcích vín (n = 58) po prvním měření .....	50
Tabulka 13: Korelační koeficienty mezi obsahy celkových polyfenolů, flavonoidů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS) ve všech vzorcích vín (n = 51) po 12 měsících skladování.....	50
Tabulka 14: Korelační koeficienty mezi celkovým množstvím jednotlivých antokyanů a hodnotami antioxidační aktivity (DPPH, ABTS a PCL) ve vzorcích červených (n = 15) a růžových vín (n = 8) po prvním měření.....	52
Tabulka 15: Korelační koeficienty mezi volným a celkovým SO <sub>2</sub> a antioxidačními parametry (CP, FL, AA s DPPH, AA s ABTS a AA-PCL) ve všech vzorcích vín (n = 58) po prvním měření .....	53

## **SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AA	Antioxidační aktivita
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolin-6-sulfonát)
ACW	Antioxidační aktivita látek rozpustných ve vodě
AK	Ekvivalent askorbové kyseliny
ANOVA	Variační analýza
CP	Celkové polyfenoly
DAD	Detektor diodového pole
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
ES	Nařízení Evropského parlamentu a Rady
f	přepočítávací faktor
FL	Celkové flavonoidy
GAE	Ekvivalent kyseliny gallové
GC	Gas chromatography (plynová chromatografie)
HPLC	High-performance liquid chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
MS	Mass spektrometry (hmotnostní spektrometrie)
OIV	International Organisation of Vine and Wine
PCL	Chemiluminiscenční metoda
RID	Refraktometrický detektor
RE	Ekvivalent rutinu
TE	Ekvivalent troloxy
UV-VIS	Spektrometrie v ultrafialové a viditelné části spektra

# PUBLIKAČNÍ ČINNOST AUTORA

## J<sub>imp</sub>

Jurikova, T., Mlcek, J., Skrovankova, S., Sumczynski, D., Sochor, J., Hlavacova, I., **Snopek, L.** and Orsavova, J. (2017). Fruits of black chokeberry aronia melanocarpa in the prevention of chronic diseases. *Molecules*, roč. 22, č. 6, s. 944.

**Snopek, L.**, Mlcek, J., Sochorová, L., Baron, M., Hlavacova, I., Jurikova, T., Kizek, R., Sedlackova, E. and Sochor, J. (2018). Contribution of red wine consumption to human health protection. *Molecules*, roč. 23, č. 7, s. 1684.

Orsavová, J., Hlaváčová, I., Mlček, J., **Snopek, L.**, a Mišurecová, L. (2019). Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of currant (*Ribes L.*) and gooseberry (*Ribes uva-crispa L.*) fruits. *Food chemistry*, roč. 284, s. 323-333.

Jurikova, T., Skrovankova, S., Mlcek, J., Balla, S., a **Snopek, L.** (2019). Bioactive compounds, antioxidant activity, and biological effects of european cranberry (*Vaccinium oxycoccus*). *Molecules*, roč. 24, č. 1, s. 24.

## J<sub>sc</sub>

Juríková, T., Viczayová, I., Hegedűsová, A., Mlček, J., Kontra, J., **Snopek, L.**, and Golian, M. (2017). Comparative study on natural plant antibiotics-Vegetable and their consumption among college students. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*.

Škrovánková, S., Mlček, J., **Snopek, L.**, and Planetová, T. (2018). Polyphenols and antioxidant capacity in different types of garlic. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*.

**Snopek, L.**, Mlček, J., Fic, V., Hlaváčová, I., Škrovánková, S., Fišera, M., Velichová, H. and Ondrášová, M. (2018). Interaction of polyphenols and wine antioxidants with its sulfur dioxide preservative. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*.

Valšíková, M., Mlček, J., **Snopek, L.**, Rehuš, M., Škrovánková, S., Juríková, T., Sumczynski, D., Paulen, O. (2018). Monitoring of Bioactive Compounds of Tomato Cultivars as Affected by Mulching Film. *Scientia Agriculturae Bohemica*, roč. 49, č. 4, s. 267-273.

**Snopek, L.**, Mlček, J., Fic, V., Sytařová, I., a Škrovánková, S. (2019). Natural fruit beverages fortified by biologically active substances of grape vines. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, roč. 13, č. 1, s. 167-173.

Škrovánková, S., **Snopek, L.**, Mlček, J., a Volaříková, E. (2019). Bioactive compounds evaluation in different types of Czech and Slovak honeys. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, roč. 13, č. 1, s. 94-99.

## Konferenční příspěvky

**Snopek, L.**; Fic, V.; Škrovánková, S.; Mlček, J. Analýzy enologických ukazatelů pro posouzení vín. In *Mikroelementy 2017*. Český Těšín: Ing. Václav Helán - 2 THETA, 2017, s. 5-8. ISBN 978-80-86380-88-9.

Škrovánková, S., Mlček, J., **Snopek, L.**, Fišera, M., Hnátková, E., Budinský, P. Biochemické analýzy stanovení antioxidační kapacity pro posouzení vín. In *Mikroelementy 2017*. Český Těšín: Ing. Václav Helán - 2 THETA, 2017, s. 5-8. ISBN 978-80-86380-88-9.

Fišera, M., Velichová, H., Škrovánková, S., Mlček, J., **Snopek, L.** Stanovení prvků ve vínech pro jejich autentifikaci In *Mikroelementy 2017*. Český Těšín: Ing. Václav Helán - 2 THETA, 2017, s. 5-8. ISBN 978-80-86380-88-9.

**Snopek L.**, Mlček J., Škrovánková S., Hlaváčová I. Facilitation in the Communication between Different Parts of a Small Hotel. In *Hotelnictví, turismus a vzdělávání 2018*. Vysoká škola hotelová v Praze 8, spol. s r.o., 2018, s. 157 – 169.

**Snopek, L.**, Škrovánková, S., Mlček, J., Podsedník, L. Analytical parameters and evaluation of bioactive compounds of horseradish. In *Hygiena alimentorum XL: Bezpečnosť a kvalita mliečnych a rastlinných komodít: Recenzovaný zborník prednášok a posterových prezentácií z medzinárodnej vedeckej konferencie*. 1. vyd. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2019, s. 263-267. ISBN 978-80-8077-620-6.

Škrovánková, S., **Snopek, L.**, Mlček, J., Volková, G. Antioxidant capacity of selected culinary plants in tioxidant capacity of selected culinary plants in different forms. In *Hygiena alimentorum XL: Bezpečnosť a kvalita mliečnych a rastlinných komodít*. 1. vyd. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2019, s. 263-267. ISBN 978-80-8077-620-6.

## Konference a semináře

„Mikroelement 2017“ o metodice stanovení a významu stopových prvků v biologickém materiálu a v životním prostředí, 14. - 15. 6. 2017 Valtice (přednáška a článek ve sborníku)

XV. kurz „Odběry vzorků“, 11. – 13. 9. 2017 Lednice (přednáška)

IX. Mezinárodní vědecká konference „Hotelnictví, turismus a vzdělávání“, 18. 10. 2017 Praha (pasivní účast)

Odborný seminář „Kvalita a bezpečnost potravín – Nové trendy a výzby v oblasti gastoronómie“, 9. 11. 2017 Nitra (osvědčení 34/2017)

XV. Vědecká konference s mezinárodní účastí „Bezpečnosť a kontrola patravín“, 22. - 23. 3. 2018 Piešťany (příspěvek formou posteru)

X. Mezinárodní vědecká konference „Hotelnictví, turismus a vzdělávání“, 17. 10. 2018 Praha (článek ve sborníku)

XVI. Vědecká konference s mezinárodní účastí „Bezpečnosť a kontrola patravín“, 28. - 29. 3. 2019 Piešťany (příspěvek formou posteru)

Hygiena Alimentorum XL. Mezinárodní vědecká konference „Bezpečnosť a kvalita mliečnych a rastlinných komodít“, 15. – 17. 5. 2019 Štrbské Pleso (článek ve sborníku, příspěvek formou posteru)

## Patent, užitný vzor, funkční vzorek

**Užitný vzor** - Fic V., Kuchař O., **Snopek L.**, Škrovánková S. Přírodní révový nápoj na bázi červeného moštů modrých hroznů révy vinné (2017)

**Funkční vzorek** - Fic V., Kubáň V., Hlaváčová I., **Snopek L.**, Svobodová B., Řemenovská J., Míšková Z., Škrovánková S. Víno se sníženým obsahem SO<sub>2</sub> a zachovaným obsahem BAL (2016)

**Funkční vzorek** - Fic V., **Snopek L.**, Mlček J., Fojtíková L., Škrovánková S. Přírodní nápoj se zdravotními efekty (2017)

# **ODBORNÝ ŽIVOTOPIS AUTORA**

## **CURRICULUM VITAE**

### **OSOBNÍ ÚDAJE**

Jméno a příjmení:	Ing. Bc. et Bc. Lukáš Snopek, Ph.D.
Datum narození:	5. 9. 1989
Adresa:	Salaš 15, 687 06
Telefon:	+420 736 165 944
E-mail:	lsnopek@utb.cz
Státní příslušnost:	ČR
Národnost:	moravská
Rodinný stav:	svobodný

### **VZDĚLÁNÍ**

- 2015 – 2019: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, doktorský studijní program: Technologie potravin
- 2014 – 2016: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta humanitních studií, bakalářský studijní program: Učitelství odborných předmětů pro SŠ (chemicko-technologické předměty)
- 2012 – 2015: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta logistiky a krizového řízení, bakalářský studijní program: Ochrana obyvatelstva
- 2012 – 2014: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, navazující magisterský studijní program: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin
- 2009 – 2012: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, bakalářský studijní program: Chemie a technologie potravin, studijní obor: Technologie a řízení v gastronomii ukončen
- 2005 – 2009: Střední průmyslová škola potravinářské technologie ve Bzenci, obor Technologie potravin, zaměření Konzervárenské technologie

### **ÚČAST NA PROJEKTECH**

- 2019 IGA/FT/2019/004 - Analýza nutričních hodnot a bioaktivních látek v netradičních surovinových komponentech a výrobcích z nich (člen řešitelského týmu)
- 2018 IGA/FT/2018/006 - Stanovení nutričních znaků rostlinných surovinových komponent (člen řešitelského týmu)
- 2018 1/2018/FSR - Snížení obsahu oxidu siřičitého ve víně a dalších nápojích pro jeho antimikrobiální účinky – 2. etapa (člen řešitelského týmu)

- |      |   |
|------|---|
| 2017 | IGA/FT/2017/006 - Stanovení obsahů biologicky aktivních látek v rostlinných produktech a sledování jejich změn vlivem technologického zpracování (hlavní řešitel) |
| 2017 | GAMA - Projekt TG0301005 – Přírodní nápoje se zdravotními efekty, Komercializace na Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně (člen řešitelského týmu)                      |
| 2017 | 7/2017/FSR - Snížení obsahu oxidu siřičitého ve víně a dalších nápojích pro jeho antimikrobiální účinky – 1. etapa (člen řešitelského týmu)                       |
| 2016 | IGA/FT/2016/008 - Stanovení bioaktivních látek v netradičních surovinách a produktech rostlinného původu (člen řešitelského týmu)                                 |
| 2016 | 2/2016/FSR – Aplikace biologicky aktivních látek ve vinařství (člen řešitelského týmu)  |

PRAXE

6 – 8/2018 Zahraniční stáž Erasmus+ Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Ak. rok 2016/2017 - zimní semestr T5VT Vinařská technologie (vedení semináře a cvičení)

Ak. rok 2017/2018 – zimní semestr TQORS Organizace a řízení služeb (vedení semináře)

Ak. rok 2018/2019 – letní semestr L4CCH Laboratoř chemie (cvičící)

Ak. rok 2016/2017 a 2017/2018 – asistent pro studenty se specifickými potřebami

## ZNALOSTI A DOVEDNOSTI

Jazyky angličtina – aktívny znanost na úrovni C1

Práce s PC Microsoft Office (Word, Excel, PowerPoint) – pokročilý uživatel



Ing. Lukáš Snopek, Ph.D.

**Změny bioaktivních a senzoricky významných látek révových vín  
v průběhu skladování**

Changes of Bioactive Compounds and Sensorially Significant Substances  
Present in Grape Wines during their Storage

Teze disertační práce

Vydala Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,  
nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín.

Náklad: vyšlo elektronicky

Sazba: Ing. Lukáš Snopek, Ph.D.

Publikace neprošla jazykovou ani redakční úpravou.

Rok vydání 2019

Pořadí vydání: první

ISBN 978-80-7454-916-8