

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

Využití analytických technik a chemometrie k autentifikaci vín

*Autoreferát doktorské disertační práce k získání vědecké hodnosti
„Doktor“ ve zkratce PH.D.*

Brno 2015

Ing. Jaromír Pořízka

Doktorská práce byla sepsána v rámci doktorského studijního programu na Vysokém učení technickém v Brně, na ústavu Chemie potravin a biotechnologií.

Uchazeč: Ing. Jaromír Pořízka
Ústav chemie potravin a biotechnologií
FCH VUT Brno

Školitel: doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Školitel specialista: doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ústav chemie potravin a biotechnologií
FCH VUT Brno

Oponenti: doc. Ing. Jolana Karovičová, Ph.D.
STU Bratislava

Prof. Ing. Alžběta Jarošová, Ph.D.
MZLU Brno

Abstrakt

Tato dizertační práce se zabývá využitím analytických technik ke stanovení prvkového profilu vín doplněné o analýzu vybraných polyfenolických látek. Pro účely prvkové analýzy byly použity dvě spektrometrické techniky a to Hmotnostní a Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS a ICP-OES). Analýza organických konstituentů ve víně byla provedena kapalinovým chromatografu s detekcí na diodovém poli (HPLC-DAD). Na základě znalostí o chemickém složení známých vzorků vín byly z těchto dat pomocí vícerozměrných statistických metod (shluková analýza, analýza hlavních komponent a kanonická diskriminační analýza) sestaveny matematické modely ke klasifikaci moravských vín dle geografického původu a odrůdy. Pro diskriminaci a klasifikaci moravských vín do 4 moravských vinařských podoblastí byly vytvořeny dva separátní modely pro bílá a červená vína. Úspěšnost klasifikace známých vzorků bílých vín byla 100% a u červených model pracoval s 96,43% úspěšností. Křížový validační test poté pomocí vytvořených modelů vykazoval 95% úspěšnost klasifikace neznámých vzorků bílých vín a 82,15% vzorků červených. Dále byl vytvořen matematický model pro odrůdovou klasifikaci vín, založený na prvkovém profilu zdrojových vzorků vín. Odrůdy vín Müller Thurgau, Ryzlink rýnský a Veltlínské zelené byly od sebe diskriminovány na základě 8 prvkových parametrů. Bylo dosaženo 95,83% diskriminace vstupních vzorků a 70,83% klasifikační úspěšnosti zařazení neznámých vzorků. Poslední oblast, do které byl směřován výzkum, se zabývala vyhodnocením možností využití prvkové analýzy a analýzy celkové antioxidační aktivity k určení agrotechnického systému produkce hroznů. Bylo zjištěno, že prvky jako je Cu, Zn a Mn mohou sloužit jako diskriminační parametry pro rozdělování vín dle systému produkce hroznů. Tyto rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny tím, že každá agrotechnika využívá k ochraně rozdílných přístupů v aplikaci ochranných látek. Rozdíly v antioxidační aktivitě biovín a vín z hroznů z integrované produkce nevykazovaly statisticky významné rozdíly.

Klíčová slova

Víno, Réva vinná, autenticita, geografický původ, chemometrie, prvková analýza, HPLC, EPR

Obsah

1	ÚVOD	5
2	TEORETICKÁ ČÁST	6
2.1	Vinohradnictví a vinařství v Čechách a na Moravě	6
2.1.1	<i>Vinařské oblasti České republiky</i>	<i>6</i>
2.1.2	<i>Odrůdy pěstované v České republice</i>	<i>7</i>
2.1.3	<i>Agrotechnické produkční systémy ve vinohradnictví České republiky</i>	<i>7</i>
2.1	Autenticita vína	9
2.1.1	<i>Odrůdová autenticita vína</i>	<i>9</i>
2.1.2	<i>Autenticita geografického původu vína</i>	<i>11</i>
2.1.3	<i>Autenticita produkčního systému</i>	<i>13</i>
3	CÍLE PRÁCE	14
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	15
5	VÝSLEDKY A DISKUSE	16
5.1	Autentifikační modely vín z Moravské oblasti	16
5.1.1	<i>Diskriminace a klasifikace moravských bílých vín dle geografického původu</i>	<i>17</i>
5.1.2	<i>Diskriminace a klasifikace moravských červených vín dle geografického původu</i>	<i>23</i>
5.1.3	<i>Odrůdová autenticita</i>	<i>29</i>
6	ZÁVĚR	34
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	35
8	SEZNAM PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA	39

1 ÚVOD

Víno je jedinečný alkoholický nápoj, historicky úzce spojený s vývojem lidské civilizace. Postupem času se víno stalo také významným obchodním artiklem. Cenná byla vždy především vína věhlasných regionů, který si získala reputaci díky své výjimečné kvalitě (Luykx a kol. 2008). S nárůstem obchodu s víny se také stále více začal projevovat problém s falšováním, neboť víno je díky svému složení snadno padělatelné mnoha způsoby (Lees 2003). V dnešní době jsou Státní zemědělská a potravinářská inspekce a další kontrolní instituce často konfrontovány s výrobky, které jsou nesprávně či falešně označené a jsou vydávány za originální produkt s cílem generovat vyšší zisk. Tento problém nabyl na vážnosti s otevřením globálního trhu s víny.

K určení autenticity a ke klasifikaci vín (určení geografického původu, odrůdy a typu agrotechniky) se využívá celá řada analytických technik rozdělených do 4 základních skupin – hmotnostní spektrometrické techniky, spektroskopické techniky, separační techniky a techniky ostatní. K popisu tak komplexní směsi, jakou je víno, je třeba analýzy značného množství analytů. Informace o jednom vzorku tak může být charakterizována, pro účely klasifikace vín, desítkami parametrů. Pro zpracování takto velkého objemu dat je nutné ke zpracování výsledků analýz využít vědní disciplíny zvané **Chemometrie**, která využívá matematických a statistických metod k získávání maxima relevantních informací z experimentálních dat. Pomocí chemometrické analýzy je možné zpracovat velké množství chemicko-fyzikálních parametrů, které charakterizují specifický „otisk prstů“ jednotlivých skupin vín (Eckschlager 1991). V nedávné době byla vypracována řada studií, které prokázaly, že je možné rozlišit odrůdy, ročník či původ vína z chemického složení. Často ale ke klasifikaci využívají pouze omezenou skupinu parametrů (prvkový profil, izotopová analýza, organická analýza) (Luykx a kol. 2008).

Cílem této disertační práce bylo vytvořit robustní diskriminační a klasifikační matematicko-statistický model, sloužící k určení autenticity a klasifikaci moravských vín, konkrétně k zařazení vín do skupin podle geografického původu, odrůdy a typu agrotechniky použité při pěstování révy vinné. Modely byly založeny na kombinaci parametrů získaných multielementární analýzou vín a révy na ICP-MS a ICP-OES a analýzou vybraných organických analytů pomocí kapalinové chromatografie (HPLC). Pro stanovení vlivu agrotechniky na antioxidační aktivitu vín bylo využito techniky Elektronové paramagnetické rezonance (EPR). K vyhodnocení dat byly využity techniky vícerozměrné analýzy, jako je analýza rozptylu (ANOVA), diskriminační analýza (DA), kanonická diskriminační analýza (DA), analýza hlavních komponent (PCA) a shluková analýza.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 VINOHRADNICTVÍ A VINAŘSTVÍ V ČECHÁCH A NA MORAVĚ

Réva vinná se na Moravě poprvé objevila za vlády římského císaře Marka Aurelia Proba (Pavloušek 2007). V současné době registrované vinice na území České republiky zaujímají plochu 17 463,51 ha (Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2014). ČR spadá do severně položených oblastí a řadí se mezi státy s vinohradnictvím chladného podnebí, které vytváří vhodné podmínky pro zrání hroznů. Teplé dny a studené noci kladně stimulují biosyntézu aromatických a fenolických látek (Pavloušek 2011).

2.1.1 Vinařské oblasti České republiky

Členění vinařských oblastí bylo poprvé stanoveno zákonem v roce 1994. Dle aktuálního platného zákona 321/2004 Sb. existují na území České republiky dvě vinařské oblasti – **Česká a Moravská**. Jedná se o dvě geologicky a klimaticky rozdílné oblasti produkující vína s rozdílným chemickým složením (Linhart a kol. 2007 a Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2014).

2.1.1.1. Česká oblast

Oblast se vyznačuje nesouvislým vysázením vinic, které jsou vysázeny většinou kolem říčních toků Vltavy, Labe, Berounky a Ohře. Dělí na dvě podoblasti – litoměřická a mělnická a zasahuje do Ústeckého, Středočeského a Libereckého kraje. V oblasti je zaregistrováno 72 vinařských obcí s celkovou osázenou plochou 640 ha. Díky krajinné a geologické různorodosti je tato oblast charakteristická produkcí vín s rozmanitým chemickým složením (Kraus 2008 a Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2014). Hlavní odrůdy pěstované v této oblasti jsou Müller Thurgau, Ryzlink rýnský, Modrý Portugal a Svatovavřínecké (Pavloušek 2011). Česká oblast je zařazena do evropské zóny A, s povoleným doslazováním vín (Linhart a kol. 2007).

2.1.1.2. Moravská oblast

Tato oblast se rozprostírá v oblasti moravských krajů a dělí se na 4 podoblasti – slováckou, velkopavlovickou, mikulovskou a znojemskou. S rozlohou vinic 16 698 ha zaujímá více než 96 % všech osázených ploch v České republice a zaregistrováno je zde celkem 312 vinařských obcí (Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2011). Vyznačuje se vyššími průměrnými teplotami než oblast Česká (Kraus 2008). Moravské vinice se řadí do evropské zóny B společně s navazujícími vinohrady ze Slovenska a Rakouska. V této zóně jsou nastavena přísná pravidla pro doslazování

(Linhart a kol. 2007). Nejpěstovanější odrůdy v moravské oblasti jsou Müller Thurgau, Veltlínské zelené, Svatovavřínecké, Frankovka, Ryzlink vlašský a Ryzlink rýnský (Pavloušek 2011).

2.1.2. Odrůdy pěstované v České republice

Podstatou vinařství a vinohradnictví v České republice je produkce odrůdových vín, proto je výběr odrůd velice široký. Všechny pěstované odrůdy pro komerční účely musely projít zkouškami pro registraci odrůd a byly zapsány do Státní odrůdové knihy České republiky. Tyto zkoušky musí být v souladu ustanovením podle §30 směrnice Komise 2004/29/ES ze dne 4. 4. 2004. Pro výrobu jakostních vín jsou povolené registrované odrůdy uvedeny v zákoně č. 321/2004 Sb. o vinohradnictví a vinařství. Zkoušky odrůd musely potvrdit schopnost dosáhnout dobrou produkci v našich geografických podmínkách. Do odrůdové knihy jsou každoročně registrovány nové odrůdy (Pavloušek 2007). V letech 2011-2013 bylo registrováno celkem 9 nových odrůd. V odrůdové knize je k 31. 12. 2013 zapsáno celkem 30 bílých a 27 modrých moštových odrůd révy vinné. Nejčastější odrůdy a jejich podíl v zatříděných vínech jsou uvedeny níže, na obrázku 1.

2.1.3. Agrotechnické produkční systémy ve vinohradnictví České republiky

Zemědělství v Evropě prošlo během posledního desetiletí mnoha změnami. Produkční systémy stále více směřují k ekologickému přístupu pěstování plodin. Dle vypracovaných studií veřejnost vnímá potraviny pěstované ekologickým způsobem jako zdravější a bezpečnější než ty pěstované způsobem konvenčním (Brandt a kol. 2001; Woese a kol 1999). Tento trend kopíruje i vinohradnictví v České republice. Ze situačních a výhledových zpráv vydávaných ministerstvem zemědělství ČR je patrný od roku 2006 rapidní přechod k regulovanému hospodaření (Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2007 – 2014). V současnosti je v ČR využíváno tří systémů produkce hroznů (Pavloušek 2011):

- Konvenční produkce hroznů
- Integrovaná produkce hroznů
- Ekologická produkce hroznů

Konvenční produkční systém

Jedná se o způsob ošetřování a vedení vinohradu používaný v podstatě v celém období 20. století. Cílem tohoto systému je maximalizovat výnosy plodiny bez

ohledu na vliv na životní prostředí. K dosažení tohoto cíle se používá celá řada syntetických chemikálií používaných jako pesticidy nebo hnojiva. Důsledkem aplikace těchto chemikálií je snížení biodiverzity ve vinohradu. Mechanickým udržováním půdy dochází k jejímu extrémnímu utužení, což má negativní vliv na funkci kořenového systému révy (Pavloušek 2007). Na rozdíl od regulovaných agrotechnik (integrovaná a bio) se ošetřuje vinohrad v předem stanovených intervalech na základě fenofází, bez ohledu na náhodný tlak patogenů. V současné době je tento systém na ústupu a nahrazuje jej systém integrované produkce (Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2014).

Integrovaná produkce hroznů

Tento regulovaný systém hospodaření je v současné době nejpoužívanějším ve vinohradnictví. Dle situační zprávy ministerstva zemědělství je v tomto systému registrováno téměř 12 000 ha vinic (2/3 celkových registrovaných viničních ploch). Cowell a Clift (1995) prezentovali ideu, že výnosy z integrovaného hospodářství jsou někde mezi výnosy konvenčního a ekologického systému. Od té doby je integrovaný systém přijímán jako třetí cesta v zemědělství – je ekonomicky realistický, šetrný k životnímu prostředí a dlouhodobě udržitelný ve smyslu § 6 zákona č. 17/1992 Sb. o životním prostředí (Pavloušek 2011; Morris a Winter 1999). Celý systém českého integrovaného vinohradnictví je řízen směnicí Integrované produkce v ČR z roku 2010 popisující důsledný systémový přístup k celé technologii pěstování a zpracování révy. Aplikace ochranných látek je možná jen na základě krátkodobé prognózy a signalizace. Přednostně je využíváno ekologických prostředků pro ochranu rostlin a je zakázáno používat pesticidy, které nejsou schváleny pro integrovanou produkci. Nejčastěji využívanými ochrannými prostředky v systému integrované produkce hroznů jsou fungicidy na bázi mědi a zinku v anorganických i organických formách. Aplikační dávky těchto přípravků jsou limitovány konkrétními směnicemi integrované produkce hroznů. Například maximální přípustné množství čisté Cu^{2+} je stanovené na 2 kg/ha za rok (aktuálně v roce 2015) (Směrnice integrované produkce hroznů 2010).

Biologická produkce hroznů

Ochrana vinohradu v ekologickém vinohradnictví je založena na kombinaci preventivních opatření a na podpoře přirozeně se vyskytujících organismů (Ochrana révy vinné v ekologickém vinohradnictví 2007). V současné době se v ČR tímto systémem hospodaří na 649 ha registrovaných vinic. Ekologické vinohradnictví se řídí Nařízením Rady (EHS) č. 2092/91 o ekologické produkci zemědělských produktů a potravin a zákonem č. 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství, včetně vyhlášky 53/2001 Sb. Vinař využívající tento systém musí přihlásit svoje produkty ke kontrole k jedné z akreditovaných organizací v ČR (Pavloušek 2011).

V ekologickém vinohradnictví není povoleno používání pesticidů ani minerálních syntetických hnojiv. Místo toho se využívají metody sázení směsí bylin do mezířadí vinice pro podporu výživy révy, aplikace přípravků na bázi jílovitých zemín, fenyklových olejů, vodního skla, feromonů a přípravků na bakteriální bázi. Jedinou výjimkou v restrikci využívání syntetických ochranných prostředků je možnost použití prostředků obsahující měď (hydroxid měďnatý, oxichlorid měďnatý, síran měďnatý), proti plísni révové a plísni šedé a to v množství 6 kg/ha za rok, což je 3x více ve srovnání s integrovanou produkcí hroznů (Ochrana révy vinné v ekologickém vinohradnictví 2007). Popis dostupných prostředků ochrany rostlin v ekologickém vinohradnictví je součástí legislativních předpisů uvedených výše.

2.1. AUTENTICITA VÍNA

Autentický, neboli pravý produkt má identitu právě takovou, za jakou je vydávána a za jakou ji považujeme (Sun 2008). Korektní značení má garantovat spotřebiteli původ, kvalitu a stanovit komerční hodnotu vyráběných vín. Víno je díky svému složení snadno padělatelné. Odborníci odhadují podíl falšovaných vín na trhu na 5% (Lerner K. a Lerner W. 2006). Cílem falšování vín je generovat vyšší zisk prodejem neoriginálního produktu. Způsobů padělání je více. Nejčastěji se jedná o použití falešných etiket, udávající nepravý původ, ročník či odrůdu vína. Další obvyklý způsob padělání vína je jeho ředění vodou nebo levnější variantou vína a modifikace vína použitím aromat a barviv (Lerner K. a Lerner W. 2006; Almeida a kol. 2001).

Evropská unie od roku 1992 aktivně chrání autenticitu regionálních potravin (včetně vín) vydáním nařízení 2081/82 a 2082/92 (novelizovaném v roce 2006 - 510/2006 a 509/2006) o ochraně údajů geografického původu a kontrole označení zemědělských a potravinářských produktů. V České republice se problematikou falšování vína zabývá Státní zemědělská a potravinářská inspekce. Stále sofistikovanější postupy falšování vína iniciovaly zvýšenou vědeckou aktivitu v této oblasti. Během posledních dvou desetiletí se vědci z celého světa zabývají vývojem metod, schopných odhalovat podvodné praktiky označování a falšování vín, založených na analýze chemických konstituentů vína pomocí široké škály analytických technik a jejich kombinací (Arvanitoyannis 1999).

2.1.1. Odrůdová autenticita vína

V České republice jsou vyráběna především odrůdová vína. Jak bylo zmíněno výše, ve Státní odrůdové knize je zapsáno celkem 25 bílých a 17 modrých moštových odrůd révy vinné. Falšování odrůd záměnou za jinou odrůdu či směs je v České republice poměrně časté (Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2014).

Odrůdovou autenticitu vín lze hodnotit na základě analýzy **organických kyselin, fenolických a aromatických látek, aminokyselin, bílkovin, prvkové analýzy a**

analýzy DNA. Obsah těkavých **aromatických látek a aminokyselin** ve víně je úzce spjatý nejen s biologickými vlastnostmi rostliny, ale i s biochemickou aktivitou kvasinek a jiných mikroorganismů, která je kromě jiných vlivů závislá na dané odrůdě révy vinné (Hernández-Orte a kol. 2002). Například botrytizovaná vína obsahují zvýšenou koncentraci primárních alifatických aminů, jakožto důsledek infekce *Botrytis cinerea*. To vytváří charakteristický profil těchto vín (Grindlay a kol. 2011; Sass-Kiss a Hájos 2005). K odrůdovému aromatu nejvýrazněji přispívají těkavé **terpenické sloučeniny** (Mateo a Jiménez 2000). Je známo přibližně 50 terpenických sloučenin. Převážně se jedná o monoterpenické alkoholy (např. linalol, geraniol, nerol, citronelol), přítomných nejčastěji ve slupkách muškátových odrůd (Pavloušek 2007). Kromě terpenů má vliv na charakteristické aroma odrůd také přítomnost **norisoprenoidů**, (hlavně u odrůdy Chardonnay - actinodol, vitispiran aj.), **methoxypyrazinů** (odrůdy Sauvignon, Cabernet Sauvignon a Cabernet Franc - 2-methoxy-3-isobutyl, 2-methoxy-3-isopropyl, 2-methoxy-sec-butyl a 3-methoxy-3ethyl), **esterů, aromatických alkoholů a acetátů vyšších alkoholů** (Jackson 2008). Další skupinou organických látek vhodných pro diferenciaci vín dle odrůdy jsou **fenolické sloučeniny**. Jedná se o komplexní skupinu molekul s rozličnou strukturou, vlastnostmi a velikostí (od monomerů až po polymery). Biochemické dráhy syntézy polyfenolů jsou silně ovlivňovány genetickou a enzymatickou výbavou rostliny. Obsah těchto látek se v révě se tak liší mezi jednotlivými odrůdami (Makris a kol. 2006). K účelu stanovení odrůdové autenticity se dá využít parametrů ze široké skupiny polyfenolů, ale „otisk prstů“ barevných antokyanů lze aplikovat pouze u vín z hroznů modrých odrůd (Brossaud a kol. 1999; Czochanska a kol. 1979).

Pro odrůdovou autentifikaci vín je možné využít také **prvkovou analýzu**, i když její použití pro tyto účely je méně časté. Rozdíly v kořenovém systému jednotlivých odrůd révy se projevují odlišným příjmem rozpuštěných minerálních látek z půdy. Růst kořenů je ovlivněn genetickou výbavou rostliny, environmentálními vlivy, vlastnostmi půdy a typem výsadby. Réva vinná má svůj kořenový systém složený ze starých a nových kořenů, které se často obnovují. Staré dřevnaté kořeny jsou zakořeněny hluboko (až 6m) v zemi, vytváří oporu rostlině a dodávají vodu a živiny z větších hloubek. Starší a autochtonní odrůdy mají obvykle rozsáhlejší kořenový systém než odrůdy moderní a obecně se liší poměrem nových a starých kořenů (Siddique 1990). Odrůdy se také liší v ranosti produkce plodů, citlivostí na nedostatek kyslíku v půdě, tolerancí zamokření kořenů a v neposlední řadě přístupností kořenových buněk k mykorhizální symbióze. Tato symbióza s houbovými mikroorganismy silně ovlivňuje příjem anorganických látek, zejména P, NH₃, Ni, S, Mn, B, Fe, Zn, Cu, Ca a K. Chrání proti toxickým prvkům jako je Pb a Cd. V období sucha tvoří houby chelatační látky a tím zvyšují dostupnost kovů (Eshel a Beeckman 2013). Kromě kořenů se také různé odrůdy révy vinné liší svou fyziologií – výška, velikost listů, plodů atd. To se také projevuje na distribuci látek v rostlině (Jackson 2008). Všechny zmíněné faktory potenciálně mohou ovlivňovat prvkový profil vinného moštu, respektive vína a mohou být využity pro diskriminaci a

klasifikaci odrůdových vín. Jelikož ale dochází k mnoha interakcím genotyp- prostředí -výrobní proces, může být prvkové složení ovlivněno natolik, že ho nelze využít pro klasifikaci vín. Je vhodné multielementární analýzu zkombinovat s analýzou organických látek ve víně a rozšířit tak skupinu parametrů vstupujících do klasifikačního modelu z jiných analytických technik (Greenough a kol. 2005; Almeida a kol. 2003; Charlton a kol. 2010).

Nově se pro diferenciaci vín dle odrůdy začíná využívat analýza rostlinné **DNA**, využitím polymerázové řetězové reakce (PCR). Je schopna odhalit drobné genetické odlišnosti jednotlivých odrůd. Problémem ale často bývá nízká koncentrace DNA, přítomnost jiných DNA (z kvasinek, bakterií) a vysoký obsah polyfenolů, inhibující polymerázovou řetězovou reakci. Tento problém lze částečně korigovat volbou vhodné metody pro extrakci DNA. Přes všechny komplikace se momentálně jedná o nejpřesnější metodu charakterizace odrůd (Jackson 2008).

2.1.2. Autenticita geografického původu vína

Geografická pozice, půdní podmínky, vlivy geologického podloží, klimatické a mikroklimatické vlivy jsou faktory, které spolupůsobením vytváří jedinečné vlastnosti vín, typické pro danou oblast (Linhart a kol. 2007; Suk 1995). Fyzikální a chemické vlastnosti **půd** mají hlavní podíl na výsledné podobě vín. Vznik půdy je dlouhodobý proces, závislý na parametrech stanoviště, geologického substrátu, klimatických podmínkách a na okolním porostu. Horniny a geologické útvary se často příliš neliší v rámci mnoha km², naopak diverzita půd se může měnit i na několika m². České vinařské oblasti mají v půdě menší podíl spraší než v krajině moravské, bohatší na obsah vápníku. Jedná se hlavně o hnědozemě a hnědé půdy. V údolí Labe zase převládají těžší jílovité půdy z křídových sedimentů. V oblasti Litoměřicka a Žernoseků obsahují navíc příměs vulkanického skeletu. Na druhou stranu, složení moravských půd je velice pestré a není výjimkou, když se v rámci jednoho vinohradu vyskytuje více půdních typů. Díky hluboké orbě je viniční půda často směsí několika rozdílných materiálů.

Další významným faktorem, vytvářejícím charakteristické znaky vín z daných oblastí, jsou **hydrogeologické podmínky**. Vodní srážky na jižní Moravě jsou v průměru nižší než v oblastech českých vinic. Deficit je zčásti nahrazován přítomností hlubinných vod a částečně umělým zavlažováním. Hlubinné vody obsahují rozpuštěné minerální látky a stopové prvky. Kromě podoblasti Mikulovské a části podoblasti Znojenské je téměř všude na vinicích jižní Moravy přítomnost souvislé hladiny podzemní vody (Linhart a kol. 2007).

Linhart a kol. 2007 zhodnotili rozdíly vinařských oblastí a podoblastí České republiky a konstatovali, že Česká oblast, včetně obou podoblastí je velice nehomogenní, co se týče podmínek pěstování révy. Obě oblasti netvoří souvislé území a dá se využívat jen určitých vhodných míst. Moravské podoblasti jde také velice dobře oddělit. **Znojenská podoblast** má v půdě převahu spraší i příznivé

řečištní sedimenty. Má také charakteristické klima, se splývajícími znaky klimatu oceánského a kontinentálního. Svou homogenitou podmínek se Znojemské oblasti blíží **podoblast Slovácká**. Má však odlišné klima (pronikají nevhodné severní větry) a jiné půdní složení. Mikulovská podoblast se dělí na dvě odlišné části – Pavlovské vrchy a podhůří s vápnitými půdami s výjimečným profilem stopových prvků a Wienské pánve s mohutnými sprašemi a říčními náplavami. **Velkopavlovická podoblast** je tvořena všemi geologickými útvary jižní Moravy. Tyto skutečnosti se odrážejí na chemickém složení révy vinné, respektive vína.

Stanovení **prvkového profilu** vína je vysoce efektivní pro určení geografického původu, díky přímé spojitosti se složením půdy ve vinohradu. Charakteristickým znakem může být koncentrace makroprvků (K, Na, Ca, Mg), i prvků stopových a ultrastopových (Medina 1996). Minerální profil však může být ovlivněn vlivy agrotechniky, výrobní technologií nebo skladováním, což může vést k ovlivnění správnosti zařazení vín do jednotlivých kategorií. Li, B, Mg, Ca, Mn, Zn, Rb, Sr, Cs, Pb a prvky vzácných zemin vykazují minimální změny koncentrace v moštu během výrobního procesu (Nicolini a kol. 2004). Jsou tak vhodné pro zařazení do klasifikačního modelu. Výhodné je pomocí multielementární techniky ICP-MS stanovit kompletní prvkový profil vín a na základě analýzy rozptylu a dalších chemometrických metod vybrat prvky mající vliv na rozdělení vzorků do skupin dle podoblastí (Luykx a kol. 2008).

Izotopické poměry stabilních prvků přijímaných rostlinou zůstávají již neměnné a jejich stanovením lze získat vynikající ukazatel geografického původu. Nejčastěji se jedná o poměry $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ v molekulách vody a ethanolu obsažených ve víně. Například $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ je poměr závislý na vzdálenosti od oceánu a nadmořské výšce vinohradu (Luykx a kol. 2008). Dalším izotopickým indikátorem je poměr izotopů Stronciumu. Rozpadová řada Rubidia ^{87}Rb vede ke vzniku izotopu ^{87}Sr . V horninách se tak v závislosti na geologickém stáří mění poměr $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ (Almeida a kol. 2003).

Kromě anorganické a izotopové analýzy se pro klasifikaci vín dle geografického původu využívá také analýzy organických složek vína. **Polyfenolický profil** je ovlivněn klimatickými podmínkami stanoviště, na kterém je réva pěstována. Rozdílné teploty, doba slunečního záření, vlhkost a dostupnost vody ovlivňují biochemické dráhy a enzymy zodpovědné za syntézu těchto látek (Makris a kol. 2006). Etievéant a kol. (1989) a Shimoda a kol. (1993) prokázali, že koncentrace **těkavých organických sloučenin** (např. alkanů, aldehydů, alkoholů) je vhodný parametr ke klasifikaci vín dle geografického původu. Jednu z nejstarších dostupných studií zabývajících se diskriminací vín dle geografického původu vypracoval Derde a kol., již v roce 1983. K diskriminaci francouzských vín do různých francouzských regionů použili fingerprintingu založený na **aminokyselinovém profilu** zkoumaných vzorků. Využili faktu, že obsah aminokyselin v hroznech je závislý na klimatických podmínkách stanoviště, kde réva roste. Analyzovanými aminokyselinami byly arginin, alanin, tyrozin, valin a leucin. Na základě obsahu těchto látek byli schopni zařadit vzorky z různých regionů se 100% úspěšností.

2.1.3. Autenticita produkčního systému

Biovína mají na trhu obecně vyšší komerční hodnotu než vína z hroznů z vinic obhospodařovaných konvenčními postupy. Falšování je v tomto případě velice snadné. Pouhou záměnou etikety je možné konvenční víno vydávat za bio produkt. V současné době existuje jen velmi malé množství publikací, které by řešily problematiku autenticity produkčních systémů. Výběr parametrů pro klasifikační statistický model tedy závisí na publikacích, popisujících vliv ochranných prostředků, hnojiv a obdělávání na révu vinnou a víno. V kapitole o agrotechnických produkčních systémech ve vinohradnictví České republiky byly shrnuty zásadní rozdíly mezi jednotlivými systémy. V ekologickém vinohradnictví se přísun živin do půdy realizuje využitím kompostů a chlévské mrvy. Jedná se o živiny v organické formě. Konvenční systém používá hnojiva obsahující dusík a další nutriety v rozpuštěné anorganické formě, rychleji a snáze dostupné kořenovému systému rostliny. Dostupnost anorganických specií dusíku má potenciál ovlivnit syntézu sekundárních rostlinných metabolitů jako jsou **proteiny a rozpuštěné pevné látky** (Rapisarda a kol. 2005). Hrozny pěstované regulovanými ekologickými systémy se vyznačují delším obdobím zrání v porovnání se systémem konvenčním, což je způsobené pomalejším uvolňováním dodávaných živin (Brandt a kol. 2001). Ve fázi zrání jsou formovány **polyfenolické sloučeniny** a díky delšímu období zrání je jejich koncentrace v bobulích vyšší. Fakt, že produkční systém může ovlivňovat mechanismy tvorby těchto sloučenin, se dá využít ke klasifikaci vín. Vybrané polyfenolické sloučeniny jsou prezentovány v tabulce 1 (Gambelli a Santaroni 2004).

Antokyany	Malvidin	Peonidin	Petunidin	Cyanidin	Delphinidin
Flavonoidy	Quercetin	Apigenin	Myricetin	Resveratrol	Prokyanidiny
Fenolické kyseliny	Galová	Kávová	Kumarová		
Ostatní	Resveratr				

Tabulka 1: Vybrané fenolické sloučeniny ke klasifikaci vín dle produkčního systému (Jackson 2008)

Konvenční systém je úzce spojený s využitím pesticidů. Salvo a kol. (2003) publikovali studii, zabývající se vlivem použití konvenčních pesticidů na koncentraci Cd, Cu, Pb a Zn ve vínech. Konvenční vína vykazovaly vyšší absolutní koncentrace těchto prvků. Vrček a kol. (2011) studovali vliv konvenční a bio agrotechniky na obsah polyfenolických látek, antioxidační aktivitu a obsah kovů v chorvatských vínech. Tato studie prokázala vyšší obsah Zn, Pb, As, Al, Cr a Ni u konvenčních vín. Obsah polyfenolů pak koreloval s antioxidační aktivitou a byl vyšší u vín z bio produkce.

Parametry koncentrace Cu a Zn se dá efektivně využít i pro rozlišení vín z produkce integrované a ekologické. Dají se očekávat vyšší koncentrace Cu ve vzorcích bio vín, z důvodu vyšší povolené dávky pro ošetřování bio vinic, v množství 6 kg/ha za rok, proti 2kg/ha za rok u vinohradů s integrovaným systémem. Koncentrace zinku budou

pravděpodobně vyšší u produkce integrované, kde je povolena aplikace fungicidů Mancozeb, který obsahuje zinek v organické komplexní formě. Tyto fungicidy jsou u bio produkce zakázány (Směrnice integrované produkce hroznů 2010; Ochrana révy vinné v ekologickém vinohradnictví 2007).

3 CÍLE PRÁCE

Cílem práce bylo vytvořit robustní matematicko-statistický model, sloužící ke klasifikaci moravských vín, konkrétně k zařazení vín do skupin dle geografického původu pěstované odrůdy. Modelování bylo založeno na kombinaci parametrů získaných multielementární analýzou na ICP-MS a ICP-OES a analýzou vybraných organických konstituentů pomocí kapalinové chromatografie s detekcí na diodovém poli (HPLC-DAD). Dále byly vyhodnoceny možnosti využití prvkové analýzy révy a vína a analýzy antioxidační aktivity vín k diskriminaci vín dle produkčního systému. Antioxidační aktivita byla stanovována pomocí elektronové paramagnetické rezonance (EPR). K vyhodnocení dat byly využity techniky vícerozměrné analýzy, jako je diskriminační analýza (DA), analýza hlavních komponent (PCA), kanonická diskriminační analýza (DA) a další.

Za účelem splnění cílů byly v rámci disertační práce řešeny tyto dílčí úlohy:

- Zpracování literární rešerše shrnující současný stav řešené problematiky
- Na základě rešerše byly vybrány analyty potencionálně vhodné pro klasifikaci vín dle geografického původu, odrůdy a typu agrotechniky
- Bylo zajištěno dostatečné množství vzorků s deklarovaným původem ze všech moravských vinařských podoblastí
- Byly vytvořeny a validovány metody ke stanovení vybraných sloučenin a prvků ve vzorcích vína
- Pomocí vícerozměrných statistických metod byly zpracovány naměřené data a byly vytvořeny jednotlivé autentifikační modely
 - Diskriminace a klasifikace vín dle geografického původu
 - Diskriminace a klasifikace vín dle odrůd
 - Vyhodnocení možností využití prvkové analýzy a analýzy antioxidační aktivity k určení produkčního systému hroznů
- Ověření správnosti modelu

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Pro účely sestavení jednotlivých autentifikačních modelů bylo separátně pro modré a bílé odrůdy vyselektováno 53 vzorků bílých a 28 vzorků červených vín. Vzorky byly vybrány tak, aby rovnoměrně pokrývaly všechny moravské podoblasti. K orientačnímu porovnání také byly přiřazeny vzorky bílých vín z české vinařské oblasti. Pro stanovení odrůdové autenticity byly vybírány vzorky nejčastěji zastoupených odrůd v ČR. Pro zvýšení robustnosti modelu bylo třeba do modelu zařadit vína z různých ročníků pro minimalizaci vlivů stárnutí vína a rozdílných klimatických podmínek v jednotlivých obdobích. Nejvíce zastoupené ročníky v modelu byly 2011 a 2012, nejstarším vínem bylo Rulandské modré z Dolních Dunajovic z roku 2006, nejmladší vína byla z produkce 2013. Pro experimenty týkající se autenticity produkčního systému byly získány vzorky vína odrůdy Sauvignon z bioprodukce a integrované produkce hroznů (ročník 2013), z vinařství Holánek. Vína byla stabilizována SO₂ a transportována do laboratoře ve skleněných lahvích s korkovým uzávěrem. Všechny vzorky byly před analýzou skladovány v chladicím boxu.

Kromě vzorků vín byly pro testy určení autenticity produkčního systému vzorkovány bobule a listy z odrůd Sauvignon a Rulandské modré. Vzorky byly odebírány z vinohradu v době plné zralosti. Bio vzorky dosáhly zralosti týden po vzorcích z integrované produkce. Společně se vzorky hroznů byly odebírány i listy, ze spodní, střední a svrchní části keře.

Pro účel stanovení vybraných chemických parametrů vín a vzorků révy bylo využito celkem čtyř instrumentálních technik - optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, vysoce účinné kapalinové chromatografie s DAD detekcí a EPR spektrometrie. Byly vyvinuty a validovány postupy analýz. Pro stanovení prvkového profilu byly záměrně zvoleny dvě techniky elementární analýzy. Majoritní většina vybraných prvků byla stanovována pomocí ICP-MS. Prvky, které mají své majoritní izotopy při měření zatížené spektrálním překryvy způsobené polyatomickými a molekulárními interferencemi a elementy vyskytující se ve vzorcích ve vysokých koncentracích (Mg, Ca, K, Na), byly analyzovány pomocí ICP-OES (Thomas 2008)

Pomocí ICP-MS a ICP-OES stanovení bylo ve **vínech** a vzorcích révy měřeno celkem 39 prvků (tabulka 1)

Tabulka 1: *Vybrané izotopy stanovované ve vzorcích vín*

⁷ Li, ⁹ Be, ¹¹¹ Cd, ¹¹⁸ Sn, ¹²¹ Sb, ¹³⁷ Ba, ¹³⁹ La, ¹⁴⁰ Ce, ¹⁴¹ Pr, ¹⁴⁶ Nd, ¹⁴⁷ Sm, ¹⁵³ Eu, ¹⁵⁷ Gd, ¹⁵⁹ Tb, ¹⁶³ Dy, ¹⁶⁵ Ho, ¹⁶⁶ Er, ¹⁶⁹ Tm, ¹⁷² Yb, ¹⁷⁵ Lu, ²⁰⁸ Pb, ²⁰⁹ Bi, ⁵¹ V, ⁵² Cr, ⁵⁹ Co, ⁶⁰ Ni, ⁶⁵ Cu, ⁷⁵ As, ⁸⁹ Y, ⁹⁵ Mo – ICP-MS Al, Fe, Mg, Mn, Sr, Zn, Ca, K, Na – ICP-OES
--

Stanovení radikál zhášejících vlastností vín z bio produkce a z integrované produkce hroznů bylo provedeno na EPR spektrometru Magnetech MS300 (Magnetech, Německo). Jako radikálový systém byl zvolen roztok 2-2-diphenylpicrylhydrazylu (DPPH) v ethanolu (Garcia-Alonso a kol. 2005; Arvanitoyannis a kol. 2006; Petrisor a kol. 2007). Samotné měření bylo realizováno v plochých kyvetách, kvůli potlačení dielektrického efektu polárních roztoků (Garcia-Alonso a kol. 2005).

Pro rozšíření jednotlivých autentifikačních modelů založených na prvkové analýze byly ve vínech stanoveny vybrané organické látky s fenolickou a polyfenolickou strukturou. Ve vínech byly stanoveny (+-)katechin, kyselina kávová, kyselina kumarová, rutin, myricetin, resveratrol a kvercetin. Tyto fenolické sloučeniny byly zvoleny na základě jejich významného vlivu na základní charakteristiku vína, jako je barva, aroma, chuť a další (Mitič a kol. 2010 a Jackson 2008).

Analýza a statistické vyhodnocení naměřených dat bylo realizováno pomocí technik Analýzy rozptylu (analysis of variance - ANOVA), shlukové analýzy (cluster analysis - CA), analýzy hlavních komponent (principal component analysis - PCA) a diskriminační analýzy (diskriminant analysis – DA). Vše bylo realizováno pomocí softwarů Excel (Microsoft, USA), Statistica (Statsoft, USA), Unistat (Unistat, Velká Británie), XLstat (Addinsoft, Francie) a IBM SPSS (IBM, USA).

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1 AUTENTIFIKAČNÍ MODEL Y VÍN Z MORAVSKÉ OBLASTI

Z naměřených dat byly zpracovány celkem 3 diskriminační a klasifikační modely:

- Diskriminace a klasifikace moravských bílých vín dle geografického původu
- Diskriminace a klasifikace moravských červených vín dle geografického původu
- Diskriminace a klasifikace vybraných odrůd

Jednotlivé matematické modely byly postaveny na základě analýz celkem 74 chemických parametrů, z toho bylo 40 parametrů z elementární analýzy a 7 z analýzy fenolických látek a 27 poměrů prvků. V ideálním případě mají mít modely následující vlastnosti.

- Vzorky by vždy měly být zařazeny do správné skupiny - diskriminace známých vzorků a predikce neznámých by se měla rovnat 100%
- Model by měl být založen na co nejmenším množství parametrů. Ideální situace je využití pouze jednoho parametru

Prvním krokem analýzy dat bylo testování datasetu na odlehle výsledky. K tomuto účelu byl aplikován Grubbsův test, vhodný pro data s normální distribucí. Na základě

tohoto testování byly odstraněny z klasifikačního modelu vzorky vín, které vykazovaly extrémy v chemickém složení v rámci dané testované skupiny (podoblast, odrůda).

Dalším krokem testování byla analýza rozptylu (ANOVA) k posouzení statistické významnosti rozdílů mezi podoblastmi v rámci jednotlivých proměnných na hladině významnosti 95%. Pracovalo se s dvěma hypotézami. Nulová hypotéza (H_0) předpokládá, že průměrné hodnoty konkrétního parametru se statisticky významně neliší mezi podoblastmi respektive mezi odrůdami. Alternativní hypotéza (H_1) předpokládá opak. H_0 byla zamítnuta, pokud hodnota $P < 0,05$ a poměr $F > F_{kritické}$. Čím nižší vypočítaná hodnota P u konkrétního parametru, tím více se liší v rámci jednotlivých skupin. Naopak čím je vyšší poměr F , tím větší byly rozdíly mezi průměrnými hodnotami parametrů v rámci srovnávaných skupin. Parametry s potvrzenou alternativní hypotézou byly vyselektovány do klasifikačních modelů.

Data vyselektovaná analýzou rozptylu byla dále podrobena vícerozměrné analýze dat (popsané v teoretické části) pro určení společných znaků vín ze stejné testované skupiny. Na základě těchto testů byla provedena diskriminace a klasifikace vín do určených kategorií. Vícerozměrné statistické techniky byly aplikovány v tomto pořadí:

- Shluková analýza (CA – cluster analysis)
- Analýza hlavních komponent (PCA – principal component analysis)
- Diskriminační analýza (DA)

5.1.1 Diskriminace a klasifikace moravských bílých vín dle geografického původu

Proces klasifikace bílých vín se sestával z několika fází analýzy dat. Grubsov test odlehlých výsledků a analýza rozptylu byly první selektivní analýzou. Na ty navazovaly klasifikační metody shlukové analýzy, analýzy hlavních komponent a analýzy diskriminační. Výchozí soubor vzorků bílých vín čítal 53 vín, z toho bylo 50 vín z moravských podoblastí a 3 vína z litoměřické podoblasti pro orientační srovnání.

Analýzou rozptylu parametrů naměřených ve vzorcích 43 bílých vín bylo prokázáno, že celkem 16 parametrů (21,5% z výchozího počtu) vykazovalo statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými podoblastmi (P blízké nebo $< 0,05$ a $F > F_{crit}$; $F_{crit} = 2,87$). Tyto vybrané parametry jsou uvedeny v tabulce 2 a seřazeny podle statistické významnosti. ANOVA byla nastavena na interval spolehlivosti 95%. Tyto statisticky významné parametry byly základními kameny dalších vícerozměrných statistických analýz.

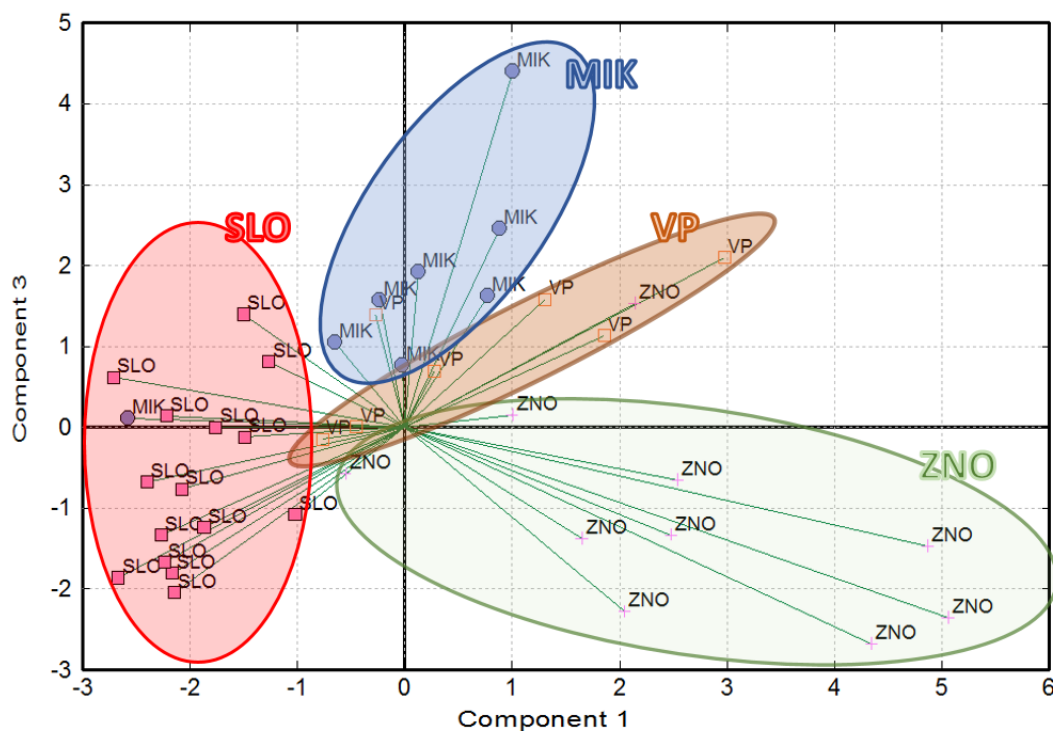
Tabulka 2: Chemické parametry vína, vyselektované pomocí ANOVA v rámci klasifikace bílých vín dle geografického původu

Parametr	F	P
Be	18,8779	< 0,0001
Pb	12,2478	< 0,0001
Li	8,3837	< 0,0001
Mg/Ca	7,6697	0,0001
Sb	6,7129	0,0003
Bi	6,2939	0,0005
Sr	5,9344	0,0008
Sr/Mg	5,7862	0,0010
Katechin	5,3238	0,0017
Na	4,8768	0,0028
Mg	4,6328	0,0038
Kyselina Kávová	4,0623	0,0077
Mo	3,8837	0,0097
V	3,5278	0,0152
Kyselina Kumarová	2,8828	0,0353
Gd	2,1771	0,0901

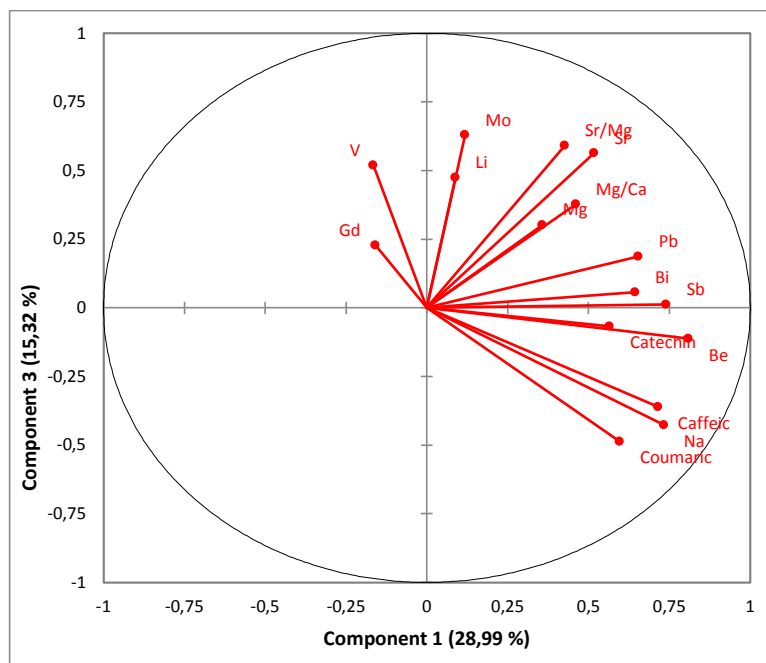
Analýzou hlavních komponent (metoda Pearsonovy korelace) moravských bílých vín byly informace z vybraných 16 parametrů rozděleny do 16 hlavních komponent. Míra uložené variability v jednotlivých komponentech byla popsána hodnotou eigenvalue. Čím vyšší je eigenvalue dané komponenty, tím větší je množství informací v této komponentě uloženo. Dle Kaiserova kritéria byly dále vyřazeny všechny komponenty s eigenvalue < 1, kdy množství informací uložené v takové komponentě odpovídá informaci parametru výchozího, nebo je menší. V tomto případě bylo na základě Kaiserova kritéria stanoveno **5 hlavních komponent** popisujících dohromady 77,96% celkové variability.

Na obrázku 1 a 2 je graficky znázorněna disperze jednotlivých pozorování (vzorků vín) a proměnných do faktorové roviny komponent 1 a 3. Je patrné, že na základě této analýzy došlo k oddělení jednotlivých vzorků vín do 4 zón. Skóre vín ze znojenské podoblasti se pohybovaly ve 4 kvadrantu s pozitivním skóre u první komponenty a negativním u komponenty 3. Porovnáním s disperzí výchozích proměnných bylo stanoveno, že tato vína obsahují v průměru vyšší koncentrace sodíku, beryllia a fenolických látek. Naopak obsahují menší množství hořčíku, stroncia, lithia, molybdenu, vanadu a gadolinia. U vín z velkopavlovické podoblasti se potvrdilo, že obsahují v průměru vyšší koncentrace stroncia a hořčíku. Projekce PCA skóre těchto vín do faktorové roviny odpovídala oblasti rozptylového grafu, kde parametry Mg a Sr daným způsobem korelovaly s hlavními komponenty 1 a 3. Podobně jako u shlukové analýzy vykazovala velkopavlovická vína určité přechodové znaky mezi všemi podoblastmi, což je dáno geografickou polohou. Vína ze slovácké podoblasti

se profilovala tím, že dle PCA obsahovaly v průměru nižší koncentrace všech vybraných chemických konstituentů. Tento fenomén byl viditelný i z krabicových grafů v kapitole analýza rozptylu. Mikulovská vína byla charakteristická vyšším obsahem gadolinia, vanadu a spíše menším obsahem stanovovaných fenolických sloučenin.



Obr. 1: Projekce vzorků bílých vín do faktorové roviny hlavních komponent 1 a 3

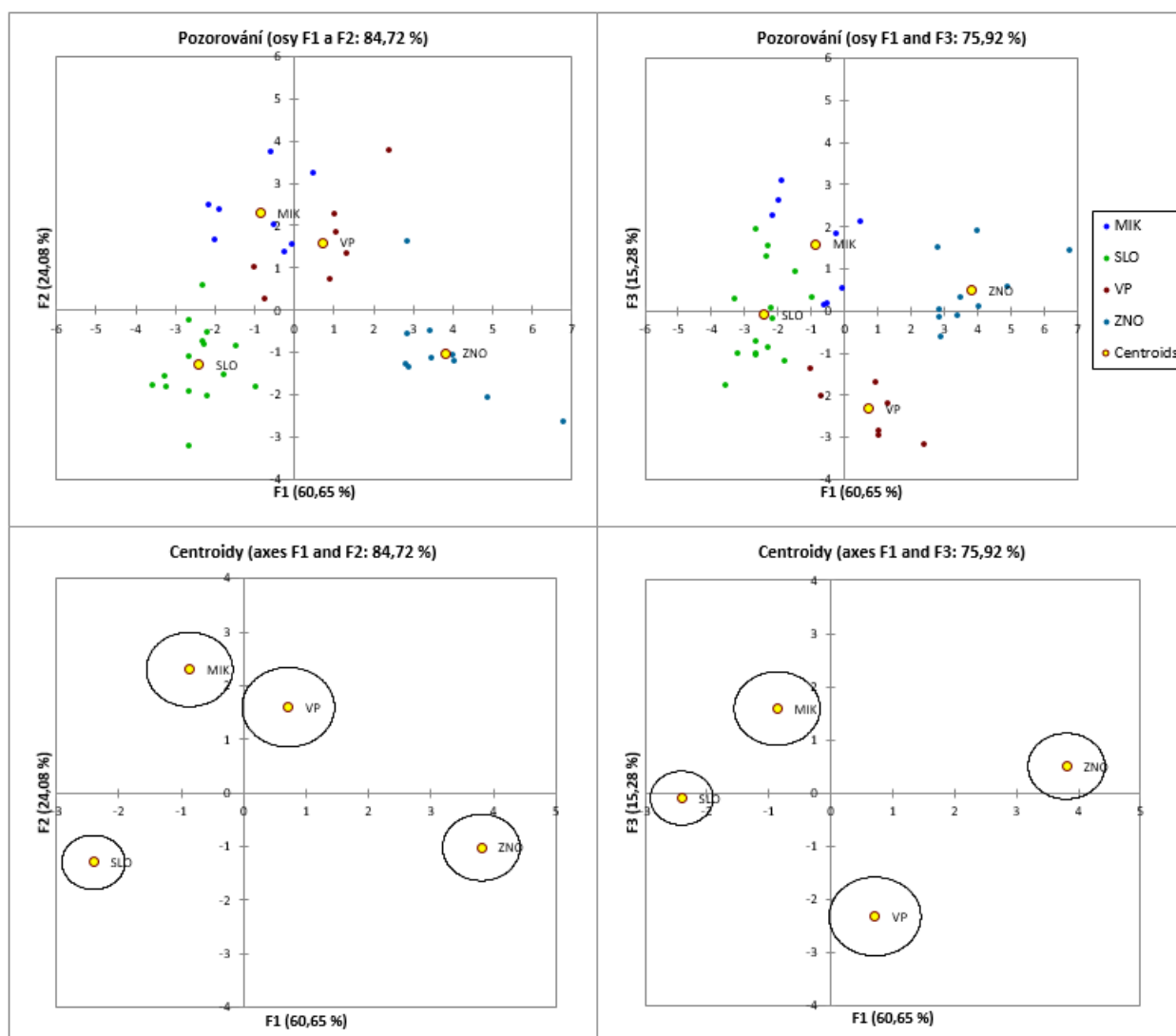


Obr. 2: Rozptylový graf - Projekce proměnných do faktorové roviny hlavních komponent 1 a 3 (bílá vína)

Kanonickou diskriminační analýzou byly rozdělovány a klasifikovány vzorky bílých moravských vín dle geografického původu, kdy klasifikačním diskriminátorem byly jednotlivé vinařské podoblasti. Na rozdíl od analýzy hlavních komponent nebo například shlukové analýzy tato parametrická metoda využívá znalosti o počtu skupin a příslušnosti vzorků k maximalizaci rozdílnosti mezi vinařskými podoblastmi a minimalizaci rozdílností vín patřících do stejné kategorie. Byly vymodelovány diskriminační a klasifikační funkce pro jednotlivé podoblasti.

Vstupní parametry byly do DA vybrány na základě analýzy rozptylu. Sekundární třídění proměnných dle významu pro přesnost klasifikace bylo prováděno pomocí kritéria Wilksovy lambdy (Tabulka 33). Čím blíže je lambda hodnotě 0, tím významnější vliv má proměnná na klasifikaci. Krokovou dopřednou selekci byly postupně přidávány do modelu proměnné na základě hodnoty lambda do té doby, dokud rostla přesnost modelu, respektive efektivita rozdělení podoblastí. Nakonec byly do modelu zařazeny všechny proměnné vyselektované analýzou rozptylu. Byly vypočítány tři statisticky významné diskriminační funkce popisující vnitřní propojení mezi proměnnými a vzorky, kde Be bylo nejvýznamnější korelační proměnnou pro funkci 1, Mg/Ca pro funkci 2 a Mo pro funkci 3.

Rozptylový graf (obr. 3) vizualizuje rozdělení vzorků do jednotlivých skupin. Dle centroidů a kružnic spolehlivosti (spodní část obrázku 3) je patrné úplné rozdělení moravských podoblastí. Znojemská podoblast, podobně jako u shlukové analýzy a analýzy hlavních komponent, tvoří izolovanou skupinu výrazně vzdálenou od ostatních grup. Zbylé tři podoblasti jsou si blíže, ale stále dostatečně mezi sebou rozlišené se vzdáleností centroidů > 4 . Největší vzdálenost mezi centroidy jednotlivých podoblastí byla stanovena mezi podoblastmi slováckou a znojemskou (6,2838). Tyto dvě podoblasti tak nejsou vzdáleny pouze geograficky, výrazně se také liší i chemickým složením vín. Nejblíže si byly centroidy podoblastí mikulovské a slovácké a mikulovské a velkopavlovické. Tím se potvrdily výsledky přechozích statistických analýz, kdy vína z těchto geograficky si bližších podoblastí vykazovaly určité vzájemné podobnosti v chemickém složení.



Obr. 3: Rozptylový graf klasifikačních funkcí pro bílá vína, včetně zobrazení centroidů a vzorků

Primárním výstupem diskriminační analýzy jsou vytvořené klasifikační a predikční funkce matematicky popisující jednotlivé podoblasti. Tyto funkce dále slouží ke klasifikaci vzorků s neznámým původem, kdy na základě dosažení změřených vyselektovaných proměnných lze s určitou pravděpodobností zařadit vzorek do jedné ze 4 podoblastí, nebo konstatovat, nebo že daný vzorek pochází či nepochází z moravské vinařské oblasti. Samotná diskriminace a klasifikace vín byla založena na Mahalanobisových čtvercových vzdálenostech pozorování od centroidů a posteriorních pravděpodobnostech pro každý vzorek a každou skupinu. Vína jsou tak rozdělována do podoblastí na základě výpočtu vzdáleností od modelových centroidů z klasifikačních funkcí. Stanovené klasifikační funkce umožnily rozdělení **známých** vzorků vín dle podoblastí s 100% úspěšností (Tabulka 3).

Tabulka 3: Predikční klasifikační funkce pro bílá vína

	MIK	SLO	VP	ZNO	Celkem	Správnost zařazení %
MIK	8	0	0	0	8	100,00%
SLO	0	15	0	0	15	100,00%
VP	0	0	7	0	7	100,00%
ZNO	0	0	0	10	10	100,00%
Celkem	8	15	7	10	40	100,00%

Pro ověření správnosti klasifikačního modelu bylo třeba provést křížovou validaci. Jedná se o testování vyřazením vždy jednoho konkrétního vzorku z modelu. Predikční schopnosti jsou po té ověřeny na nově sestaveném modelu, podle kterého je konkrétní vyřazený vzorek klasifikován. Výsledkem této validace bylo 100% zařazení znojemských a slováckých vín. Vína z mikulovské podoblasti byla křížovou validací zařazena správně v 87,5% případů. Velkopavlovická na tom byla, co se týče predikce nejhůře - 71,4% správně zařazených vzorků. Snižující se predikční schopnost modelu při této validaci je způsobena malým počtem vzorků z těchto dvou podoblastí. Křížovou validací se vždy z modelu vyřadí jeden vzorek, což v případě mikulovské podoblasti tvoří úbytek 12,5% vstupních dat a v případě velkopavlovické podoblasti dokonce 14,3%, což výrazně narušuje integritu modelu. Je jasné, že s rostoucím počtem vstupních dat roste i přesnost modelu. V absolutním počtu vín se však je jedná o celkem tři špatně zařazená vína. Kombinovaná predikční úspěšnost je 95%.

Tabulka 4: Matice křížové validace modelu pro bílá vína

	MIK	SLO	VP	ZNO	Celkem	Správnost zařazení %
MIK	7	0	1	0	8	87,50%
SLO	0	15	0	0	15	100,00%
VP	2	0	5	0	7	71,40%
ZNO	0	0	0	10	10	100,00%
Celkem	9	15	6	10	40	95,00%

Diskriminační analýza je jednou z nejčastěji využívaných metod pro stanovení autenticity geografického původu bílých vín. Frías a kol. (2003) využili lineární diskriminační analýzu k diferenciaci vín z Kanárských ostrovů na založenou na prvkovém profilu. Dosáhli 100% klasifikační a 95,6% predikční úspěšnosti, tedy úspěšnosti na podobné úrovni jako zde předkládaný systém. Podobné výsledky publikovali Baxter a kol. (1997), kdy na základě prvkové analýzy 112 španělských a anglických vín dosáhli modelováním pomocí DA kombinované úspěšnosti klasifikace 93 %.

Vytvoření dokonale fungujícího diskriminačního modelu pro určení geografického původu moravských vín bude do budoucna vyžadovat rozšíření databanky vzorků, hlavně z mikulovské a velkopavlovické podoblasti. Výsledky naznačily, že vliv rozdílných odrůd lze jednotlivými statistickými analýzami odfiltrout. Podobně tak i

vliv odlišných ročníků vína. Pro 100% jistotu je nutné model pravidelně aktualizovat novými vzorky a testovat jeho klasifikační a predikční efektivitu.

5.1.2 Diskriminace a klasifikace moravských červených vín dle geografického původu

Podobně jako u klasifikace vzorků bílých vín dle geografického původu, tak i data z analýz vzorků červených vín procházela víceetapovým vyhodnocováním. Byl zpracován Grubsov test odlehlých výsledků, analýza rozptylu, shluková analýza, analýza hlavních komponent a diskriminační analýza. Výchozí soubor vzorků červených vín obsahoval 28 vín ze 4 moravských podoblastí.

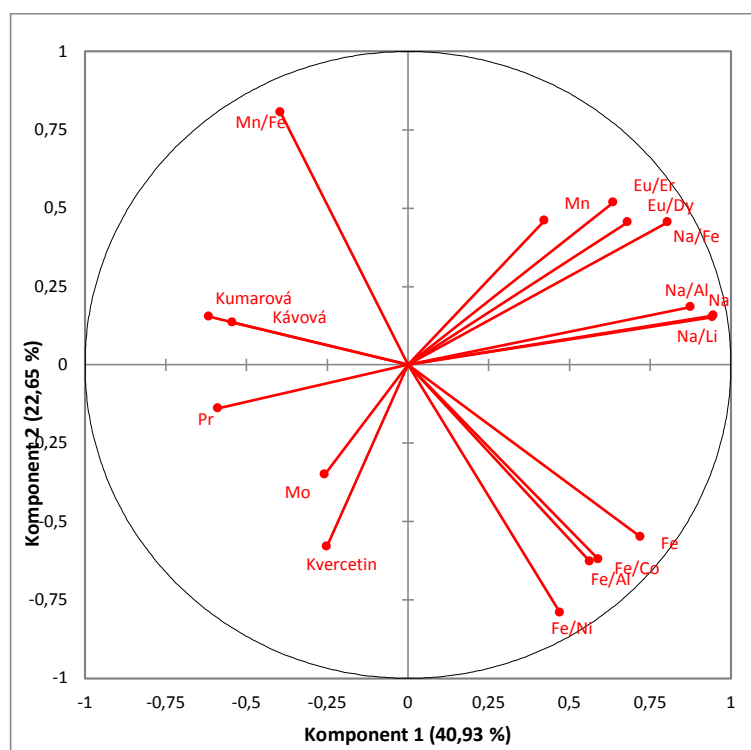
Analýzou rozptylu dat z měření chemických parametrů ve vzorcích 28 červených vín bylo prokázáno, že celkem 17 proměnných (23,9% z výchozího počtu) vykazovalo statisticky významné rozdíly v koncentracích mezi podoblastmi (P blízké nebo $< 0,05$ a $F > F_{\text{crit}}$; $F_{\text{crit}} = 3,01$). Tyto vybrané proměnné jsou uvedeny v tabulce 5 a seřazeny podle statistické významnosti. ANOVA byla nastavena na interval spolehlivosti 95%. Tyto statisticky významné parametry byly základními kameny dalších vícerozměrných statistických analýz.

Tabulka 5: Chemické parametry vyselektované pomocí ANOVA, v rámci klasifikace červených vín dle geografického původu

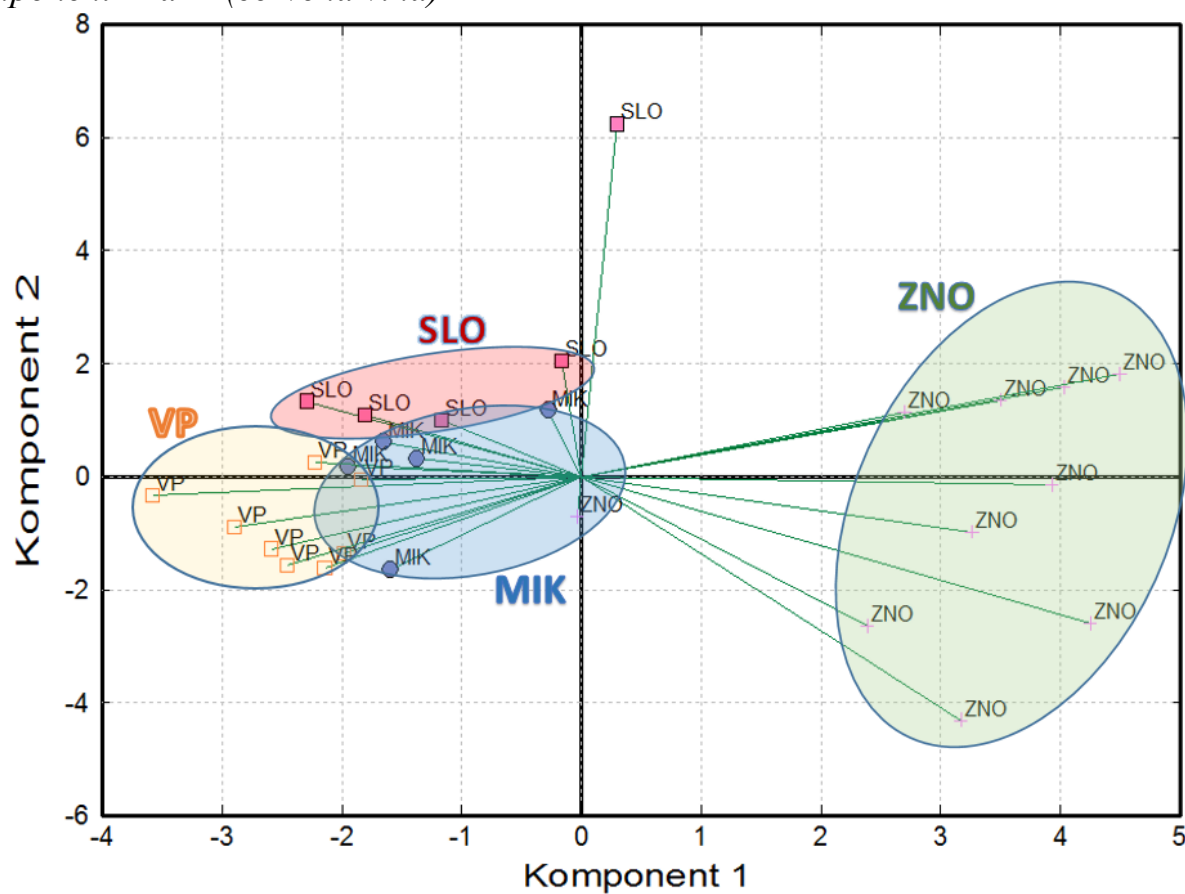
Parametr	F	P
Na	67,5762	$< 0,0001$
Na/Fe	29,1440	$< 0,0001$
Na/Al	28,3116	$< 0,0001$
Na/Li	48,1562	$< 0,0001$
Kvercetin	7,1133	0,0014
Mn/Fe	6,1663	0,0029
Fe	5,5614	0,0048
Mo	5,3398	0,0058
Kyselina Kávová	5,1960	0,0066
Fe/Ni	5,0488	0,0075
Eu/Dy	5,0051	0,0078
Eu/Er	4,6948	0,0102
Kyselina Kumarová	4,3574	0,0138
Mn	4,1261	0,0171
Pr	3,7549	0,0242
Fe/Al	3,7220	0,0250
Fe/Co	3,4845	0,0314

Analýzou hlavních komponent (metoda Pearsonovy korelace) v rámci diskriminace a klasifikace moravských červených vín podle vinařských podoblastí byly informace z vybraných 17 parametrů rozděleny do 17 hlavních komponent. Hlavním cílem bylo snížení počtu výchozích parametrů a zkoncentrování výchozí informace do menšího počtu komponent. V tomto případě byly na základě Kaiserova kritéria stanoveny **4 hlavní komponenty** popisujících dohromady 80,20% celkové variability. Na základě hlavních komponent byly sestaveny grafy (obrázek 48, 49 a 50) zobrazující jednotlivé projekce do faktorového prostoru a faktorových rovin.

Na obrázku 4 a 5 je graficky znázorněna disperze jednotlivých proměnných a pozorování (vzorků vín) do faktorové roviny komponent 1 a 2. Je patrné, že na základě této analýzy došlo k oddělení jednotlivých vzorků vín do 4 zón. Skóre vín ze znojemské podoblasti byly distribuovány do faktorové roviny v rámci 2. a 4. kvadrantu, s výrazně pozitivním skóre u první komponenty a v průměru neutrálním u komponenty 3. Při porovnání s rozptylovým grafem projekce proměnných se dá usuzovat, že tato vína obsahují obecně vyšší koncentrace sodíku, železa (včetně poměrů těchto prvků) a také poměry Eu/Er a Eu/Dy. K podobným výsledkům se dopracoval i Škařupa ve své práci, kdy projekcí vín ze znojemské podoblasti do faktorové roviny hlavních komponent došlo ke korelaci se sodíkem a poměrem Fe/Al (Škařupa 2012). Vína ze znojemské podoblasti naopak obsahovaly, v porovnání s víny z ostatních podoblastí, menší množství fenolových kyselin, praseodymu, molybdenu a kvercetinu. Disperzí pozorování z ostatních moravských podoblastí vznikly 3 těsně oddělené zóny, kdy dochází k částečným překryvům vzorků z jednotlivých podoblastí. Pozorování byla distribuována v záporné hemisféře komponenty 1. Dle rozptylového grafu byla vína ze slovácké podoblasti charakteristická vyšší hodnotou poměru Mn/Fe a relativně nižším obsahem kvercetinu. Vína z mikulovské podoblasti byla dle PCA specifická vyšším obsahem fenolových kyselin. Relativně dobře oddělený shluk velkopavlovických vín byl výrazně pozitivně korelován obsahem praseodymu a nejvíce negativně korelován sodíkem a železem. Jediným značně odlehlým vzorkem byl vzorek číslo 64, z východního cípu slovácké podoblasti. Zde se opět projevila slabina dělení moravské vinařské oblasti na pouhé 4 podoblasti. Na vzorku číslo 64 z Blatnice pod svatým Antonínkem s ověřeným původem vína originální certifikace Blatnice, se dá dobře demonstrovat nehomogenita podoblastí. Tento vzorek se svým chemickým složením výrazně odlišuje od slováckých vín z okolí Kyjova, která byla v modelu v převaze. Jediným efektivním řešením je, jak bylo již dříve zmíněno, rozčlenění na menší geografické úseky, v ideálním případě po vzoru Vín originální certifikace, jako jsou kromě blatnických VOC, VOC Znojmo, VOC Mikulov, VOC Modré hory, VOC Pálava, kdy jsou vytvořeny jasné ohraničené oblasti se specifickým terroirem.



Obr. 4: Rozptylový graf - Projekce proměnných do faktorové roviny hlavních komponent 1 a 2 (červená vína)

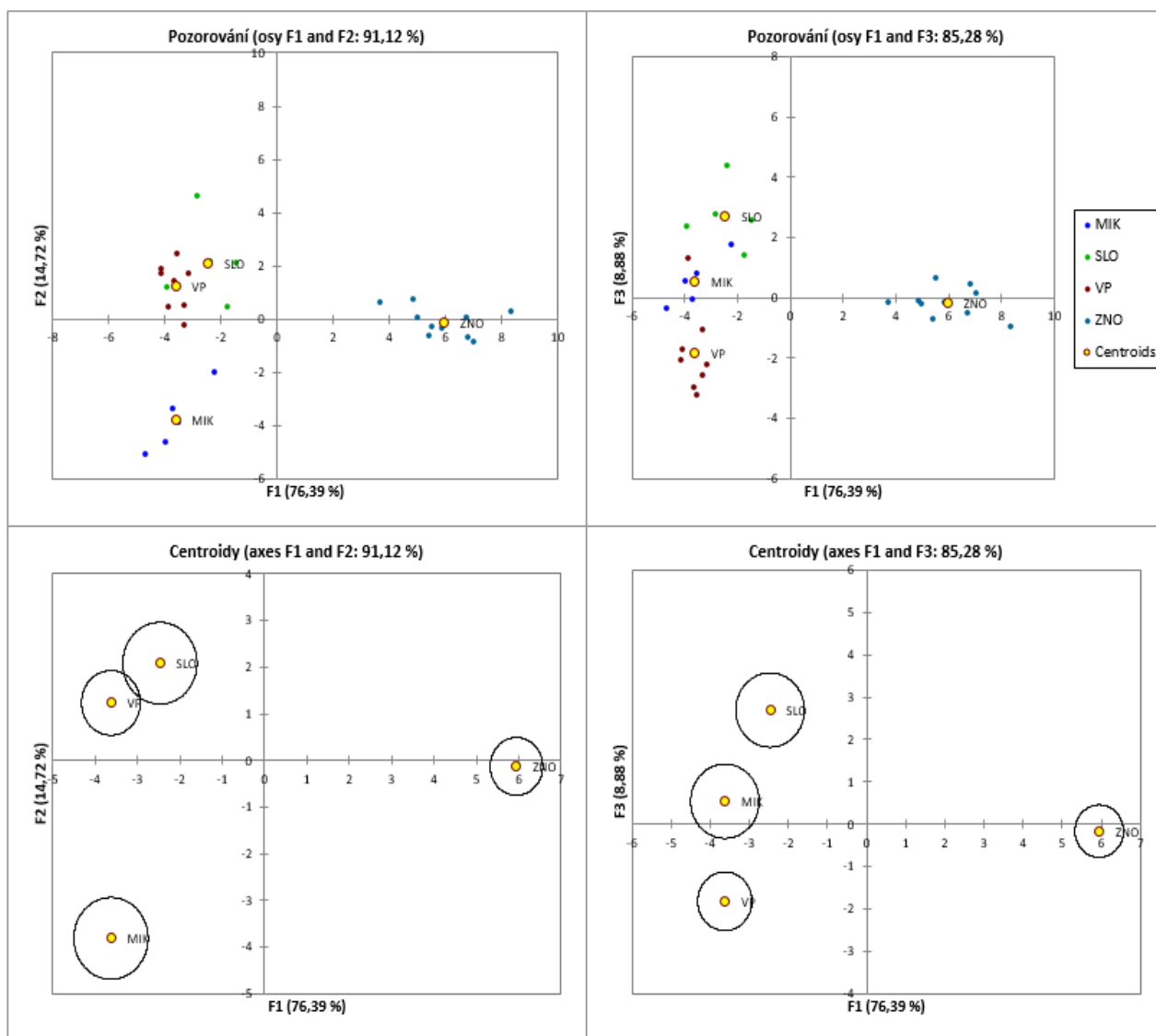


Obr. 5: Projekce vzorků červených vín do faktorové roviny hlavních komponent 1 a 2

Kanonickou diskriminační analýzou byly rozdělovány a klasifikovány vzorky červených moravských vín podle geografického původu, kdy klasifikačním diskriminátorem byly jednotlivé vinařské podoblasti.

Vstupní parametry byly do DA vybrány na základě analýzy rozptylu. Sekundární třídění proměnných dle významu pro přesnost klasifikace bylo prováděno pomocí kritéria Wilksovy lambdy. Krokovou dopřednou selekci byly postupně přidávány do modelu proměnné na základě hodnoty lambda do té doby, dokud rostla přesnost modelu, respektive efektivita rozdělení podoblastí. Nakonec byly do modelu zařazeny všechny proměnné vyselektované analýzou rozptylu ($W. \text{Lambda} < 1$). Byly vypočítány tři statisticky významné diskriminační funkce popisující vnitřní propojení mezi proměnnými a vzorky, kde Na byl nejvýznamnější korelační proměnnou pro funkci 1, kvercetin pro funkci 2 a Fe/Ni pro funkci 3.

Rozptylový graf (obr. 6) vizualizuje rozdělení vzorků do jednotlivých skupin. Dle centroidů a kružnic spolehlivosti (spodní část obr. 6) je patrné úplné rozdělení moravských podoblastí. Znojemská podoblast, podobně jako u shlukové analýzy a analýzy hlavních komponent, tvoří izolovanou skupinu výrazně vzdálenou od ostatních grup. Zbylé tři podoblasti mají centroidy lokalizované těsněji, ale stále dostatečně mezi sebou rozlišené. Největší vzdálenosti mezi centroidy jednotlivých byly naměřeny k podoblasti znojenské (>9), čímž se potvrdily jak výsledky z analýz bílých vín, tak i shluková analýza a PCA vín červených. V porovnání s bílými víny byly posteriorní vzdálenosti centroidů mezi znojemským regionem a ostatními moravskými regiony dokonce výrazně vyšší. Nejbližší si byly centroidy podoblastí slovácké a velkopavlovické (4,7349). Databáze slováckých vín byla založena převážně na vínech z okolí Kyjova a hraniční oblasti s oblastí velkopavlovickou. Tím se vysvětluje tato nejmenší vzdálenost mezi centroidy. Předchozí analýzy ukázaly problematické zařazení vín ze slovácké podoblasti způsobené malým počtem vzorků a jejich nehomogenním pokrytím regionu. Spolehlivá klasifikace nebyla možná jak s pomocí shlukové analýzy tak ani PCA. S použitím diskriminátorů se již podařilo tato vína správně klasifikovat.



Obr. 6: Rozptylový graf klasifikačních funkcí pro červená vína včetně zobrazení centroidů a vzorků

Hlavním výstupem kanonické diskriminační analýzy byly vytvořené klasifikační predikční funkce, matematicky popisující jednotlivé podoblasti. Tyto funkce dále slouží ke klasifikaci vzorků s neznámým původem, kdy na základě dosazení změřených vyselektovaných proměnných lze s určitou pravděpodobností zařadit vzorek do jedné ze 4 podoblastí, nebo konstatovat, nebo že daný vzorek pochází či nepochází z moravské vinařské oblasti. Samotná diskriminace vín byla založena na Mahalanobisových čtvercových vzdálenostech pozorování od centroidů a posteriorních pravděpodobnostech pro každý vzorek a každou skupinu. Vína jsou tak klasifikována do podoblastí na základě výpočtu vzdáleností od modelových centroidů z klasifikačních funkcí. Stanovené funkce umožnily rozdělení **známých** vzorků červených vín dle podoblastí s 96,43% úspěšností (tabulka 6).

Tabulka 6: *Klasifikační matice modelu pro červená vína*

	MIK	SLO	VP	ZNO	Celkem	Správnost zařazení %
MIK	5	0	0	0	5	100,00%
SLO	0	5	0	0	5	100,00%
VP	0	1	7	0	8	87,50%
ZNO	0	0	0	10	10	100,00%
Celkem	5	6	7	10	28	96,43%

Stejně jako v případě bílých vín, i pro červená vína byla pro ověření správnosti modelu provedena křížová validace. Jednalo se o testování vyřazením vždy jednoho konkrétního vzorku z modelu. Predikční schopnosti pak byly ověřeny na nově sestaveném modelu, podle kterého byl konkrétní vyřazený vzorek klasifikován. Výsledkem této validace bylo 100% zařazení znojenských vín. Relativně vysoká úspěšnost křížové validace byla také vypočítána pro klasifikační modely mikulovských (80%) a velkopavlovických (87,5%) vín. Horší výsledek byl stanoven v případě modelu klasifikujícího červená vína ze slovácké podoblasti. Křížová validace vykazovala neuspokojivé výsledky, kdy bylo správně zpětně klasifikováno pouze 40% vzorků. Při bližším zhodnocení matice křížové validace je patrné, že se vzrůstajícím počtem vzorků v modelu roste i jeho přesnost. Křížová validace umocňuje nepřesnosti modelu způsobené malým množstvím vstupních dat tím, že je založena na mechanismu vyřazování vždy jednoho vzorku z databáze. V případě červených vín z MIK a SLO, kterých bylo k dispozici pouze 5 vín, šlo o propad zdrojových dat modelu o 20% (1 víno z 5). Model mikulovské podoblasti si díky větším posteriorním vzdálenostem centroidů zachoval relativní robustnost a zařadil správně 80% vzorků.

Tabulka 7: *Matice křížové validace modelu pro červená vína*

	MIK	SLO	VP	ZNO	Celkem	Správnost zařazení %
MIK	4	1	0	0	5	80,00%
SLO	1	2	2	0	5	40,00%
VP	0	1	7	0	8	87,50%
ZNO	0	0	0	10	10	100,00%
Celkem	5	4	8	11	28	82,15%

Nedostatečný predikční potenciál modelu pro slovácká červená vína jen potvrdil výsledky předchozích statistických analýz. Ani pomocí diskriminační analýzy se nepodařilo správně predikovat geografický původ a takto sestavený klasifikační model bude pro tuto podoblast fungovat jen s omezenou přesností. Dá se očekávat, že rozšířením modelu o další geograficky homogenně distribuované vzorky by se funkčnost modelu značně vylepšila. Diskriminační a klasifikační systém pro **bílá vína** zahrnoval 15 vzorků vín ze slovácké podoblasti, což byl dostatečný počet pro 100% efektivní predikci původu.

5.1.3 Odrůdová autenticita

Mechanismus diskriminace odrůdových vín je založen na fyziologických rozdílech jednotlivých odrůd révy. Určité rozdíly mezi odrůdami se daly očekávat v příjmu anorganických a organických látek kořenovým systémem a také v charakteristice rostlinných metabolických drah (v syntéze zejména sekundárních rostlinných metabolických produktů) (Eshel a Beeckman 2013; Gregory 2006). K vytvoření pilotního modelu pro diferenciaci a klasifikaci vín dle odrůd bylo použito stejného datasetu jako v případě modelu pro určení geografického původu vín. Výchozí soubor odrůdových vín čítal 24 bílých vín tří odrůd (Veltlínské zelené VZ, Ryzlink rýnský RR a Müller thurgau MT), vybraných dle četnosti osázení na moravských vinicích (Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2014).

Analýzou rozptylu dat (ANOVA byla nastavena na interval spolehlivosti 90%) z měření chemických parametrů ve vzorcích 24 bílých odrůdových vín bylo prokázáno, že celkem 7 proměnných (10,6% z výchozího počtu 66 parametrů) vykazovalo statisticky významné rozdíly v hodnotách parametrů mezi testovanými odrůdovými skupinami ($P < 0,1$ a $F > F_{\text{crit}}$, $F_{\text{crit}} = 2,42$). Tyto vybrané proměnné jsou uvedeny v tabulce 8 a seřazeny podle statistické významnosti.

Tabulka 8: Chemické parametry vybrané pomocí analýzy rozptylu, v rámci diskriminace a klasifikace bílých vín dle odrůd

Parametr	F	P
Tm/Yb	5,0668	0,0160
Al	4,3627	0,0260
Yb/Lu	4,3330	0,0266
Gd	3,3261	0,0556
Mo/Sn	3,2413	0,0593
Sn	3,1259	0,0648
Mn/Cr	3,0051	0,0712
Tb	2,6033	0,0977

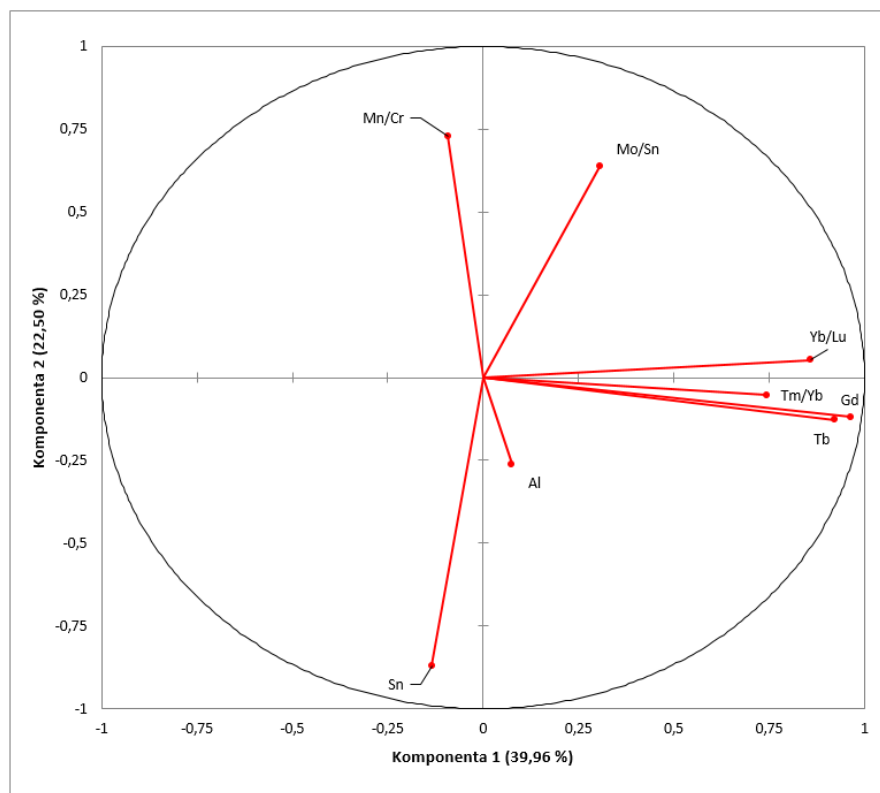
Analýza hlavních komponent bílých odrůdových vín sloužila k vizualizaci a vyhodnocení charakteristik vzorků založených na 8 proměnných vybraných analýzou rozptylu. Hlavním cílem bylo snížení počtu výchozích parametrů a zkoncentrování výchozí informace do menšího počtu komponent. Informace z vybraných 8 parametrů byly pomocí PCA (metoda Pearsonovy korelace, varimax rotace) rozděleny do 8 hlavních komponent. Míra uložené variability v jednotlivých komponentech byla popsána hodnotou eigenvalue. Čím vyšší byla eigenvalue, tím více informací bylo v dané komponentě uloženo. Dle Kaiserova kritéria byly dále vyřazeny všechny komponenty s eigenvalue < 1 , kdy množství informací uložené v takové komponentě odpovídá informaci parametru výchozího, nebo je menší.

V tomto případě byly na základě Kaiserova kritéria stanoveny **3 hlavní komponenty** popisujících dohromady 79,29% celkové variability.

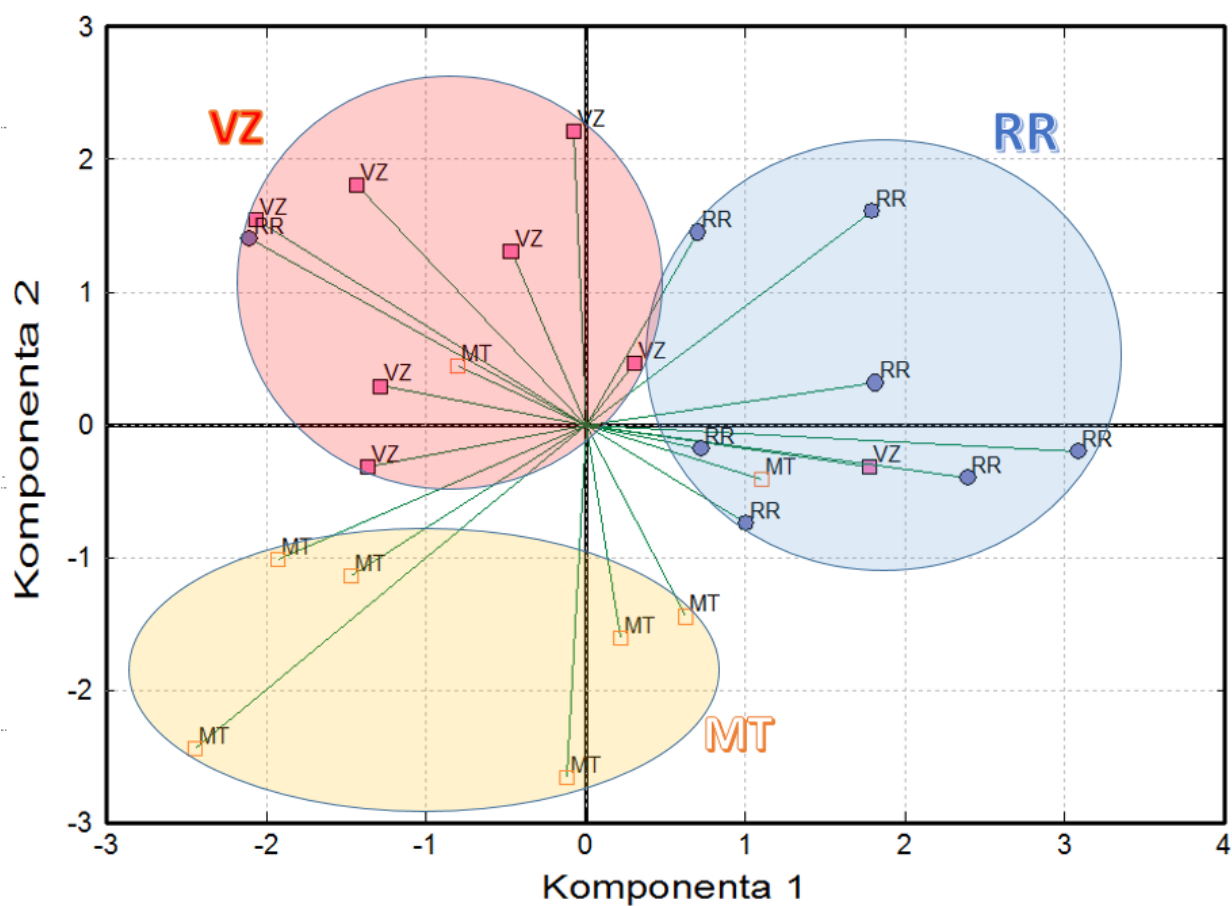
Z grafického zobrazení disperze PCA skóre jednotlivých odrůdových vín (obr. 8) do faktorové roviny hlavních komponent 1 a 2, je na první pohled zřejmé rozdělení pozorování do 3 oblastí sdružující až na několik výjimek vína vždy jedné odrůdy. Skóre jednotlivých vzorků vín odrůdy Veltlínské zelené byly zařazeny do 1. kvadrantu faktorové roviny s pozitivním skóre u druhé komponenty, Ryzlink rýnský do 2. a 4. kvadrantu s pozitivním skóre jak u první, tak u druhé komponenty a relativně široká oblast grafu v 3. a 4. kvadrantu byla obsazena pozorováními z kategorie vín Müller Thurgau v zóně negativního skóre 1. i 2. komponenty. Propojením 2D rozptylových grafů **proměnných a vzorků** lze vyhodnotit (obrázek 7 a 8), v čem jsou jednotlivé odrůdy specifické relativně k ostatním studovaným. Vzorky vín odrůdy RR mají pozitivní skóre pro komponentu 1, což znamená, že obsahují v průměru vyšší koncentrace prvků vzácných zemin, než vína MT a VZ. Vína odrůdy MT mají záporné skóre jak pro první tak i druhou komponentu, které jsou v této oblasti korelovány koncentrací Sn. To znamená, že vína MT v průměru obsahují vyšší množství cínu relativně k ostatním testovaným odrůdám. Z pozice v rozptylovém grafu lze také vyčíst, že tato vína obsahují relativně menší množství RRE než vína RR. To stejné platí pro vína odrůdy VZ. Ty jsou dále oproti ostatním analyzovaným odrůdám dle PCA charakteristické vyšší průměrnou hodnotou poměru Mn/Cr.

Při podrobnějším studiu PCA faktorové roviny lze dále pozorovat, že ne vždy došlo k úplnému rozdělení vzorků do skupiny, kam dle označení patří. Do zóny vín Veltlínské zelené byl na základě PCA zařazen i jeden vzorek Ryzlinku rýnského a jeden vzorek Müller Thurgau. Podobné prolínání špatně zařazených vín bylo pozorováno i v rámci izolované oblasti PCA grafu odpovídající vínům odrůdy Ryzlink rýnský. Tyto diskriminační nedostatky jsou spojeny s minimálními rozdíly mezi těmito třemi odrůdami v rámci prvkového složení. Kromě faktorů ovlivňujících prvkové složení vína tak mohou do výsledného faktorového skóre PCA promluvit i malé chyby při analýze v laboratoři. PCA i shluková analýza charakterizují vína a jejich vzájemné podobnosti a rozdílnosti bez použití diskriminátoru, tedy bez znalosti skupiny, do které vzorek patří. Nepřikládají tak větší či menší váhu proměnným, aby maximalizovaly pravděpodobnost správného zařazení, všechny původní proměnné mají vždy shodný význam. Pomocí PCA tak nedošlo k dokonalé diskriminaci všech analyzovaných vín, přesto byla úspěšnost na úrovni 83,3%.

Diskriminační analýzou byly diskriminovány a klasifikovány vzorky vín dle odrůdy révy vinné, kdy klasifikačním diskriminátorem byly právě jednotlivé vybrané odrůdy (Müller thurgau, Veltlínské zelené a Ryzlink rýnský).



Obr. 7: Rozptylový graf – Projekce proměnných do faktorové roviny 1 a 2

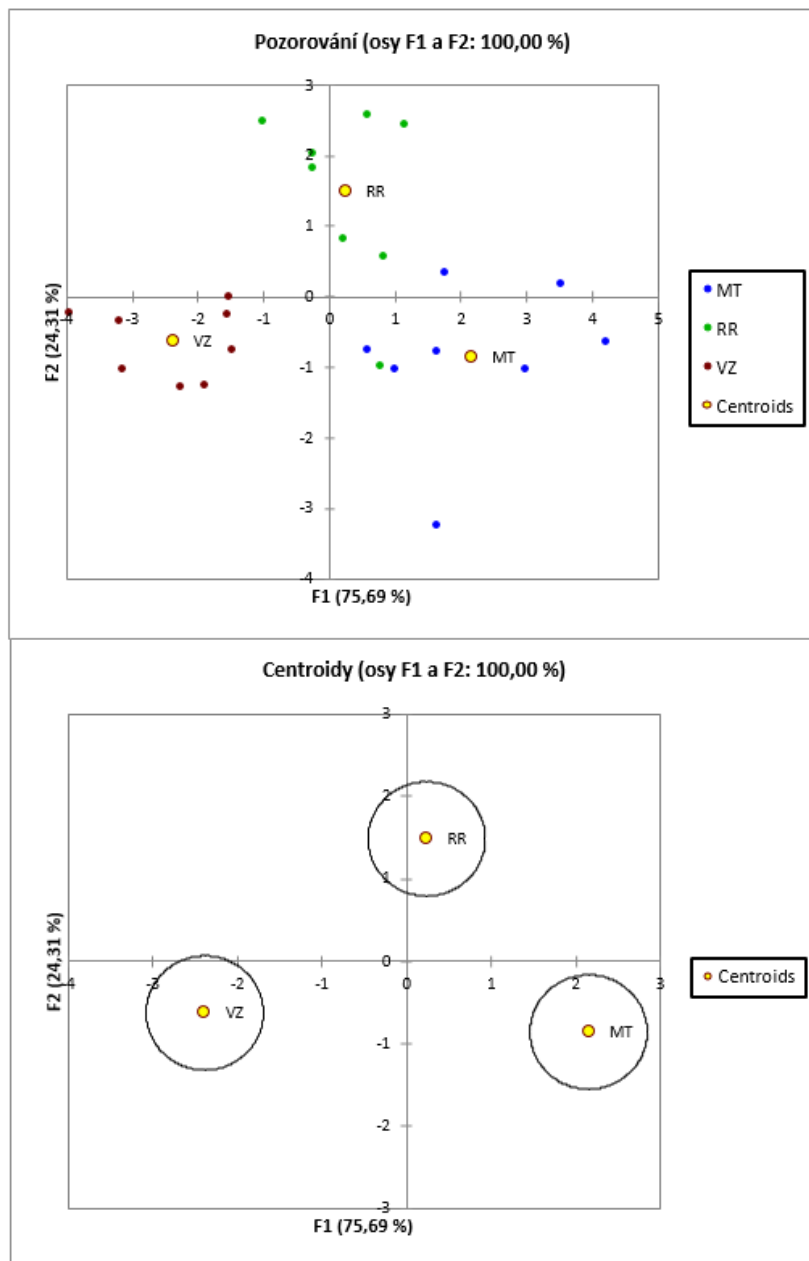


Obr. 8: Projekce vzorků odrůdových vín do faktorové roviny komponent 1 a 2

Diskriminační analýzou byly diskriminovány a klasifikovány vzorky vín dle odrůdy révy vinné, kdy klasifikačním diskriminátorem byly právě jednotlivé vybrané odrůdy (Müller thurgau, Veltlínské zelené a Ryzlink rýnský).

Vstupní parametry byly do DA vybrány na základě analýzy rozptylu. Sekundární třídění proměnných dle významu pro přesnost klasifikace bylo prováděno pomocí kritéria Wilksovy lambdy. Do modelu byly zařazeny všechny proměnné vyselektované analýzou rozptylu. Byly vypočítány dvě statisticky významné diskriminační funkce popisující vnitřní propojení mezi vzorky vín a proměnnými. Podíl Mo/Sn bylo nejvýznamnější korelační proměnnou pro funkci 1 a poměr Yb/Lu pro funkci 2.

Rozptylový graf (obr. 9) vizualizuje rozdělení vzorků do jednotlivých skupin podle diskriminačních funkcí. Dle centroidů a kružnic spolehlivosti (spodní část obrázku 9) je patrné téměř úplné rozdělení testovaných odrůd. Všechny tři grupy jsou dostatečně mezi sebou rozlišené se vzdáleností centroidů > 3 . Největší vzdálenost mezi centroidy jednotlivých odrůdových skupin byla stanovena mezi Veltlínským zeleným a Müller thurgau (4,55). Nejblíže jsou si v modelu grupy zahrnující pozorování vín odrůd RR a MT. Odrůda Müller thurgau má genetického předka právě RR, který byl křížen s odrůdou Madlenka Královská (Sedlo a Ludvíková 2014). Toto křížení bylo pravděpodobně hlavním důvodem relativně malých vzdáleností mezi centroidy v modelu.



Obr. 9: Rozptylový graf klasifikačních funkcí včetně zobrazení centroidů a vzorků

Primárním výstupem diskriminační analýzy byly vytvořené klasifikační predikční funkce, matematicky popisující jednotlivé podoblasti. Tyto funkce sloužily ke klasifikaci vzorků známého původu i vzorků s neznámým původem, kdy na základě dosazení změřených vyselektovaných proměnných lze s určitou pravděpodobností zařadit vzorek do jedné z 3 odrůdových skupin, nebo konstatovat, nebo že daný vzorek pochází či nepochází z dané odrůdy hroznů révy vinné. Samotná diskriminace a klasifikace vín byla založena na Mahalanobisových čtvercových vzdálenostech pozorování od centroidů a posteriorních pravděpodobnostech pro každý vzorek a každou skupinu. Vína jsou tak klasifikována do skupin na základě výpočtu vzdáleností od modelových centroidů z klasifikačních funkcí. Stanovené funkce umožnily klasifikaci známých vzorků vín dle odrůd se 95,83% úspěšností (tabulka 9).

Tabulka 9: *Klasifikační matice modelu pro odrůdová vína*

Odrůda	MT	RR	VZ	Celkem	Správnost zařazení %
MT	8	0	0	8	100,00%
RR	1	7	0	8	87,50%
VZ	0	0	8	8	100,00%
Celkem	9	7	8	24	95,83%

Pro ověření správnosti klasifikačního modelu bylo třeba provést křížovou validaci. Jedná se o testování vyřazením vždy jednoho konkrétního vzorku z modelu, který se poté chová jako neznámý vzorek. Predikční schopnosti jsou po té ověřeny na nově sestaveném modelu, podle kterého je konkrétní vyřazený vzorek klasifikován. Výsledkem této validace bylo zařazení „neznámých“ vzorků se 70,83% úspěšností. Snižující se predikční schopnost modelu oproti základní klasifikaci, která byla téměř stoprocentní, je způsobena dvěma faktory. Vyřazený neznámý vzorek není klasifikován s pomocí diskriminátoru konkrétní odrůdy. Druhým významným vlivem je fakt, že křížovou validací se vždy z modelu vyřadí jeden vzorek. V případě, že je model postavený na 3x 8 vzorcích odrůdových vín, vždy dojde při jednotlivých krocích křížové validace k poklesu modelových dat o 12,5% v rámci skupiny ze které je vzorek odebrán. V absolutním počtu vín se jedná o 7 nesprávně zařazených vzorků z 24. Stejně jako v případě autentifikace vín dle geografického původu se dá očekávat, že rozšířením databáze by se zvyšovala robustnost klasifikačního modelu.

Tabulka 10: *Matice křížové validace modelu pro bílá vína*

Odrůda	MT	RR	VZ	Celkem	Správnost zařazení %
MT	5	3	0	8	62,50%
RR	2	6	0	8	75,00%
VZ	0	2	6	8	75,00%
Celkem	7	11	6	24	70,83%

6 ZÁVĚR

Na základě analýz vybraných moravských vín byly s využitím vícerozměrných statistických technik (Shluková analýza, PCA, DA) vytvořeny diskriminační a klasifikační modely pro autentifikaci vín podle geografického původu a odrůdy. Databáze vzorků se sestávala z 53 bílých a 27 červených odrůdových vín. Vzorky byly vybrány tak, aby rovnoměrně pokrývaly všechny moravské vinařské podoblasti. Pro stanovení odrůdové autenticity byly vybrány vzorky nejčastěji zastoupených odrůd v ČR. Pro zvýšení robustnosti modelu bylo třeba do modelu zařadit vína z různých ročníků pro minimalizaci vlivů stárnutí vína a rozdílných klimatických podmínek v jednotlivých obdobích. Nejvíce zastoupené ročníky v modelu byly 2011 a 2012, nejstarším vínem bylo Rulandské modré z Dolních Dunajovic z roku 2006, nejmladší vína byla z produkce 2013.

Největší část zdrojových dat byla tvořena výsledky prvkové analýzy vín (stanovené pomocí ICP-MS a ICP-OES), doplněná o data z analýz vybraných polyfenolických látek (stanovené pomocí HPLC). Byly zpracovány dva separátní modely pro určení geografického původu moravských vín, pro bílá a červená vína. Analýzou rozptylu naměřených chemických parametrů byly vybrány statisticky významné proměnné pro diskriminaci a klasifikaci vín dle geografického původu. Pro bílá vína bylo vybráno celkem 16 parametrů a pro červená parametrů 17. Pomocí kanonické diskriminační analýzy poté byly vypočítány diskriminační a klasifikační funkce. Klasifikační model pro bílá vína umožnil rozdělení známých vzorků vín do podoblastí se 100% úspěšností. Křížovou validací modelu poté byla určena predikční efektivita modelu na 95%. Model pro červená vína vykazoval o něco horší výsledky s 96,43 % správně zařazených známých vzorků a 82,15% úspěšností predikce původu neznámých vzorků. Při bližším zhodnocení matice křížové validace bylo patrné, že se vzrůstajícím počtem vzorků v modelu roste i jeho přesnost. Model pro bílá vína byl postaven na 53 vzorcích, zatímco model pro červená pouze na 27, což se projevilo na predikční úspěšnosti. Dalším významným faktorem, který výrazně ovlivňoval robustnost modelu, byla homogenita rozložení vzorků v podoblasti. Jednotlivé moravské vinařské podoblasti jsou zóny, které mají určitá specifika ve složení půd, podloží a klimatických podmínkách. Samotné vinařské regiony se ale skládají z vinařských obcí, které mohou být i v rámci jedné podoblasti vzdálené desítky kilometrů. Pokud není celá podoblast homogenně pokryta vzorky ze všech úseků, nebude ani predikční model fungovat spolehlivě při určování původu neznámých vzorků. Řešením je rozčlenění na menší geografické úseky, v ideálním případě po vzoru Vín originální certifikace, jako jsou kromě blatnických VOC, VOC Znojmo, VOC Mikulov, VOC Modré hory, VOC Pálava, kdy jsou vytvořeny jasně ohraničené oblasti se specifickým terroirem.

Kromě autentifikace geografického původu vín byl také zpracován model pro diskriminaci a klasifikaci odrůdových vín. Mechanismus diskriminace odrůdových vín byl založen na fyziologických rozdílech jednotlivých odrůd révy. Určité rozdíly mezi odrůdami se daly očekávat v příjmu anorganických a organických látek

kořenovým systémem a také v charakteristice rostlinných metabolických drah. Výchozí soubor dat čítal 24 bílých vín tří odrůd – Veltlínské zelené, Ryzlink rýnský a Müller Thurgau. Analýzou rozptylu bylo určeno celkem 7 statisticky významných parametrů pro rozdělení vín dle odrůd. Jednalo se čistě o parametry z prvkového složení, rozdíly v obsahu stanovovaných organických látek mezi odrůdami v tomto případě nebyly zaznamenány. Klasifikační model z kanonické diskriminační analýzy pracoval s úspěšností 95,83% správně zařazených známých vzorků podle odrůdy. Predikční schopnosti pro zařazení neznámých vzorků byly testovány pomocí křížové validace. Zde model prokázal neuspokojivou správnost zařazení – 70,83%. Je patrné, že současný model postavený pouze na prvkovém složení bude třeba rozšířit o organické látky různých druhů. Především těkavé látky vytvářející charakteristický aromatický profil specifických odrůd by mohly být silným diskriminačním parametrem.

Poslední oblast, do které byl směřován výzkum v rámci této dizertační práce bylo vyhodnocení možností využití prvkové analýzy a analýzy celkové antioxidační aktivity vín k určení systému produkce hroznů. Byl srovnáván vliv dvou odlišných agrotechnik (bio a integrovaná produkce hroznů) na prvkové složení révy a vína a na antioxidační aktivitu vín. Výsledky naznačily, že množství a způsob aplikace pesticidů je velice významný faktor ovlivňující prvkový profil v révě vinné (listy a bobule) i ve víně. Réva pěstovaná na stejné vinici obdělávaná odlišným způsobem se lišila hlavně v obsahu Cu, Mn, Zn. Byla vytvořena hypotéza, že obsah těchto prvků by mohl být základním kamenem ke zkonstruování klasifikačního modelu pro stanovení zemědělského systému produkce hroznů. Stejný trend byl potvrzen i ve vínech. Rozdílný vliv obou agrotechnik na antioxidační aktivitu vín nebyl pozorován.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

LUYKX, Dion M.A.M. a Saskia M. VAN RUTH. 2008. An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*. **107**(2): 897-911. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.09.038. ISSN 03088146. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814607009533>

LEES, Michèle. 2003. *Food authenticity and traceability*. Boca Raton, FL: CRC Press, xvii, 612 p. ISBN 08-493-1763-0.

LINHART, Pavel, Miloš SUK a Vratislav VÁLEK. 2007. *Vinařský atlas území České republiky: Weinatlas des Gebietes der Tschechischen Republik*. 1. vyd. Brno: Moravské zemské muzeum, 226 s. ISBN 978-807-0283-110.

KRAUS, Vilém. 2008. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica, 2 v. ISBN 97880867670932.

LERNER, K a Brenda Wilmoth LERNER. 2006. *World of forensic science*. Detroit: Thomson/Gale, 2 v. (812 p.). ISBN 14144029612.

ECKSCHLAGER, Karel. 1991. *Chemometrie*. 1. vyd. Praha: Universita Karlova, 156 s. ISBN 80-706-6487-8.

ALMEIDA, C. Marisa a M. Teresa S. D. VASCONCELOS. 2001. ICP-MS determination of strontium isotope ratio in wine in order to be used as a fingerprint of its regional origin. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. **16**(6): 607-611. DOI: 10.1039/B100307K. ISSN 02679477. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b100307k>

ARVANITOYANNIS, I. 1999. Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics). *Trends in Food Science*. **10**(10): 321-336. DOI: 10.1016/S0924-2244(99)00053-9. ISSN 09242244. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224499000539>

ALMEIDA, C. Marisa R. a M. Teresa S. D. VASCONCELOS. 2003. Multielement Composition of Wines and Their Precursors Including Provenance Soil and Their Potentialities As Fingerprints of Wine Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**(16): 4788-4798. DOI: 10.1021/jf034145b. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf034145b>

PAVLOUŠEK, Pavel. 2007. *Encyklopedie révy vinné*. Vyd. 1. Brno: Computer Press, 316 s. ISBN 978-80-7084-982-8.

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

PETRISOR D, DAMIAN G., SIMON S., SCHMUTZER G., HOSU A. a MICLAUS V. 2007. EPR investigation of antioxidant characteristics of some irradiated natural extracts. *J Optoelectron Adv Mater* **9**:760-763.

Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno: Duben 2014. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2014. ISBN 978-80-7434-176-2

Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno: Červenec 2011. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2011. ISBN 978-80-7084-982-8.

BRANDT, Kirsten a Jens Peter MOLGAARD. 2001. Organic agriculture: does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **81**(9): 924-931. DOI: 10.1002/jsfa.903. ISSN 0022-5142. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.903>

BROSSAUD, F, V CHEYNIER, C ASSELIN a M MOUTOUNET. 1999. Flavonoid Compositional Differences of Grapes Among Site Test Plantings of Cabernet franc. *American journal of enology and viticulture*. (50, no. 3, pp. 277-284).

WOESE, Katrin, Dirk LANGE, Christian BOESS a Klaus BÖGL. 1999. A Comparison of Organically and Conventionally Grown Foods—Results of a Review of the Relevant Literature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **74**(281–293). DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010(199707)74:3r/-. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010.

VRČEK, Ivana Vinkovič, Mirza BOJIČ, Irena ŽUNTAR, Gordana MENDAŠ a Marica MEDIČ-ŠARIČ. 2011. Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chemistry*. **124**(1): 354-361. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.05.118. ISSN 03088146. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610007016>

COWELL, S. a R CLIFT. 1995. Life cycle assessment for food production systems. *The fertiliser society proceedings*. (375).

CHARLTON, A. J., M. S. WROBEL, I. STANIMIROVA, M. DASZYKOWSKI, H. H. GRUNDY a B. WALCZAK. 2010. Multivariate discrimination of wines with respect to their grape varieties and vintages. *European Food Research and Technology*. **231**(5): 733-743. DOI: 10.1007/s00217-010-1299-2. ISSN 1438-2377. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007>

MORRIS, Carol a Michael WINTER. 1999. Integrated farming systems: the third way for European agriculture? *Land Use Policy*. **16**(4): 193-205. DOI: 10.1016/S0264-8377(99)00020-4. ISSN 02648377. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264837799000204>

MORRISON, Donald F. 1967. *Multivariate statistical methods*. New York: McGraw-Hill. ISBN 978-007-0431-850.

MAKRIS, Dimitris P., Stamatina KALLITHRAKA a Andreas MAMALOS. 2006. Differentiation of young red wines based on cultivar and geographical origin with application of chemometrics of principal polyphenolic constituents. *Talanta*. **70**(5): 1143-1152. DOI: 10.1016/j.talanta.2006.03.024. ISSN 00399140. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914006002086>

MEDINA, B. 1996. Wine authenticity. BLACKIE ACADEMIC AND PROFESSIONAL. *Food authentication*. Londýn, (pp. 60-107).

MATEO, J.J a M JIMÉNEZ. 2000. Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography A*. **881**(1-2): 557-567. DOI: 10.1016/S0021-9673(99)01342-4. ISSN 00219673. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967399013424>

MITIĆ, Milan N., Mirjana V. OBRADOVIĆ, Zora B. GRAHOVAC a Aleksandra N. PAVLOVIĆ. 2010. Antioxidant Capacities and Phenolic Levels of Different Varieties of Serbian White Wines. *Molecules*. **15**(3): 2016-2027. DOI: 10.3390/molecules15032016. ISSN 1420-3049. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/15/3/2016/>

NICOLINI, G, R LARCHER, P PANGRAZZI a L BONTEMPO. 2004. Changes in the contents of micro- and trace-elements in wine due to winemaking treatments. *Vitis*. (43, no.1, pp. 41-45).

Ochrana révy vinné v ekologickém vinohradnictví před hlavními chorobami a škůdci. 1. vyd. Olomouc: Bioinstitut, 2007, 16 s. ISBN 978-80-87080-12-2.

Směrnice integrované produkce hroznů. In: 2010. Available from: www.ekovin.cz

SUN, Da-Wen. 2008. *Modern techniques for food authentication*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press. ISBN 978-012-3740-854.

SUK, Miloš. 1995. *Geologie a víno*. Ilustrace Jan Steklík. Brno: Nadace Litera, 68 s. ISBN 80-702-8067-0.

SASS-KISS, A. a Gy. HAJÓS. 2005. Characteristic biogenic amine composition of Tokaj aszú-wines. *Acta Alimentaria*. **34**(3): 227-235. DOI: 10.1556/AAlim.34.2005.3.4. ISSN 0139-3006. Dostupné také z: <http://www.akademiai.com/openurl.asp?genre=article>

SHIMODA, Mitsuya., Takayuki. SHIBAMOTO a Ann C. NOBLE. 1993. Evaluation of headspace volatiles of cabernet sauvignon wines sampled by an on-column method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **41**(10): 1664-1668. DOI: 10.1021/jf00034a028. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00034a028>

SIDDIQUE, K. H. M., R. K. BELFORD a D. TENNANT. 1990. Root: shoot ratios of old and modern, tall and semi-dwarf wheats in a mediterranean environment. *Plant and Soil*. **121**(1): 89-98. DOI: 10.1007/BF00013101. ISSN 0032-079x. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00013101>

SALVO, Francesco, Lara LA PERA, Giuseppa DI BELLA, Mariano NICOTINA a Giacomo DUGO. 2003. Influence of Different Mineral and Organic Pesticide Treatments on Cd(II), Cu(II), Pb(II), and Zn(II) Contents Determined by Derivative Potentiometric Stripping Analysis in Italian White and Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**(4): 1090-1094. DOI: 10.1021/jf020818z. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf020818z>

HERNÁNDEZ-ORTE, Purificación, Juan F. CACHO a Vicente FERREIRA. 2002. Relationship between Varietal Amino Acid Profile of Grapes and Wine Aromatic Composition. Experiments with Model Solutions and Chemometric Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**(10): 2891-2899. DOI: 10.1021/jf011395o. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf011395o>

GRINDLAY, Guillermo, Juan MORA, Luis GRAS a Margaretha T.C. DE LOOS-VOLLEBREGT. 2011. Atomic spectrometry methods for wine analysis: A critical evaluation and discussion of recent applications. *Analytica Chimica Acta*. **691**(1-2): 18-32. DOI: 10.1016/j.aca.2011.02.050. ISSN 00032670. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267011002753>. DOI: 663.2:543.421.

GREENOUGH, J, L MALLORY-GREENOUGH a B FRYER. 2005. Geology and Wine 9: Regional Trace Element Fingerprinting of Canadian Wines. *Geoscience Canada*. **32**(3).

GAMBELLI, L a G.P SANTARONI. 2004. Polyphenols content in some Italian red wines of different geographical origins. *Journal of Food Composition and Analysis*. **17**(5): 613-618. DOI: 10.1016/j.jfca.2003.09.010. ISSN 08891575. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157503001492>

GARCIA-ALONSO, Maria, Gerald RIMBACH, Masaaki SASAI, Meiko NAKAHARA, Seiichi MATSUGO, Yuzo UCHIDA, Julian C. RIVAS-GONZALO a Sonia DE PASCUAL-TERESA. 2005. Electron spin resonance spectroscopy studies on the free radical scavenging activity of wine anthocyanins and pyranoanthocyanins. *Molecular Nutrition*. **49**(12): 1112-1119. DOI: 10.1002/mnfr.200500100. ISSN 1613-4125. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.200500100>

GREGORY, Peter. 2006. *Plant Roots: Growth, Activity and Interaction with Soils*. 1. Blackwell Publishing. ISBN 978-1-4051-1906-1.

JACKSON, Ronald S. 2008. *Wine science: principles and applications*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press. ISBN 978-012-3736-468.

CZOCHANSKA, Zofia, Lai Yeap FOO, Roger H. NEWMAN, Lawrence J. PORTER, Wayne A. THOMAS a William T. JONES. 1979. Direct proof of a homogeneous polyflavan-3-ol structure for polymeric proanthocyanidins. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. (8): 375-383. DOI: 10.1039/C39790000375. ISSN 0022-4936. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c39790000375>

ESHEL, Amram a Tom BEECKMAN. 2013. *Plant roots: the hidden half*. 4th ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1 v. (various pagings). ISBN 14-398-4649-9.

ETIÉVANT, Patrick, Pascal SCHLICH, Jean-Claude BOUVIER, Patrick SYMONDS a Alain BERTRAND. 1988. Varietal and geographic classification of French red wines in terms of elements, amino acids and aromatic alcohols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1998. **45**(1): 25-41. DOI: 10.1002/jsfa.2740450105. ISSN 00225142. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.2740450105>

DERDE, M. P., D. L. MASSART, W. OOGHE a A. DE WAELE. 1983. Use of pattern-recognition display techniques to visualize the data contained in complex data-bases. A case study. *The Journal of Automatic Chemistry*. **5**(3): 136-145. DOI: 10.1155/S1463924683000346. ISSN 0142-0453. Dostupné také z: <http://www.hindawi.com/journals/jamc/1983/195270/abs/>

RAPISARDA, Paolo, Maria Luisa CALABRETTA, Gabriella ROMANO a Francesco INTRIGLIOLO. 2005. Nitrogen Metabolism Components as a Tool To Discriminate between Organic and Conventional Citrus Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **53**(7): 2664-2669 [cit. 2015-03-19]. DOI: 10.1021/jf048733g. ISSN 00218561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf048733g>

THOMAS, Robert. 2008. *Practical guide to ICP-MS: A tutorial for beginners*. 2. CRC Press. ISBN 978-1-4200-6786-6.

8 SEZNAM PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA

Publikace v impaktovaných časopisech

CETKOVSKÁ, J.; DIVIŠ, P.; VESPALCOVÁ, M.; POŘÍZKA, J. a kol. Basic nutritional properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) cultivars grown in the Czech Republic. ACTA ALIMENTARIA, 2015, roč. 44, č. 3, s. 357-364. ISSN: 0139- 3006.

DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J.; VESPALCOVÁ, M.; MATĚJÍČEK, A.; KAPLAN, J. Elemental composition of fruits from different Black elder (*Sambucus nigra* L.) cultivars grown in the Czech Republic. JOURNAL OF ELEMENTOLOGY, 2015, roč. 20, č. 3, s. 549-557. ISSN: 1644- 2296.

Publikace v recenzním řízení v impaktovaných časopisech 2015

POŘÍZKA, J.; DIVIŠ, P.; OLŠOVCOVÁ, Z.; OMELKOVÁ, J. Impact of different viticulture systems on elemental composition of *Vitis Vinifera* and wine and on total antioxidant activity of wine. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin

Publikace v recenzovaných časopisech

KOUTNÝ, O.; OPRAVIL, T.; POŘÍZKA, J. Application of Metakaoline in Autoclaved Aerated Concrete Technology. Advanced Materials Research, 2014, roč. 2014, č. 1000, s. 174-177. ISSN: 1022- 6680.

KŘENOVÁ, A.; MATĚJÍČEK, A.; DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J. Antioxidační aktivita vybraných odrůd černých rybízů. Vědecké práce ovocnářské 24, 2015 v tisku. ISSN: 0231-6900.

KŘENOVÁ, A.; MATĚJÍČEK, A.; DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J. Antioxidační aktivita vybraných odrůd červených a bílých rybízů. Vědecké práce ovocnářské 24, 2015 v tisku. ISSN: 0231-6900.

SUCHÝ, R.; POŘÍZKA, J.; WASSERBAUER, J.; KALINA, L. Reduction of efflorescence in the alkali activated systems. Advanced Materials Research, 2014, roč. 2014, č. 1000, s. 318-321. ISSN: 1022- 6680.

VOSYNEK, P.; NÁVRAT, T.; PEČ, M.; POŘÍZKA, J.; DIVIŠ, P. How the Decrease of Collagen or Mineral Affect the Fracture in the Turkey Long Bones. World Academy of Science, Engineering and Technology, 2014, roč. 8, č. 12, s. 1753-1756. ISSN: 1307- 6892.

Konferenční příspěvky v podobě abstraktu

CETKOVSKÁ, J.; VESPALCOVÁ, M.; DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J. Analysis of non traditional fruits (*Hippophae Rhamnoides* and *Cornus Mas*). Chemické listy. 2011. s. s1002 (s1002 s.)ISSN: 0009- 2770.

CETKOVSKÁ, J.; VESPALCOVÁ, M.; POŘÍZKA, J. Determination of some important nutritive compounds in various cultivars of cornelian cherry fruit. In Studentská odborná konference Chemie a Společnost 2011/12, Sborník příspěvků. 1. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. s. 49-53. ISBN: 978-80-214-4425- 6.

CETKOVSKÁ, J.; VESPALCOVÁ, M.; POŘÍZKA, J.; ŘEZNÍČEK, V. Cornelian cherry (*Cornus mas*) as a good source of antioxidants. 11th International Nutrition & Diagnostics Conference; Book of Proceedings. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2011. s. 104-104. ISBN: 978-80-7395-378- 2.

DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J. Prvková analýza moravských vín a její využití v praxi. In Mikroelementy 2012. 2012. s. 100-106. ISBN: 978-80-86380-63- 6.

DIVIŠ, P.; POŘÍZKA, J.; ŠKAŘUPA, P. Application of ICP- MS and chemometrics for determination of the wine origin. European symposium on atomic spectrometry 2012 - Book of abstracts. 2012. s. 124-124. ISBN: 978-80-223-3292- 7.

DVOŘÁK, M.; GREGUŠOVÁ, B.; ŠURANSKÁ, H.; TURKOVÁ, K.; POŘÍZKA, J.; VESPALCOVÁ, M.; RITTICH, B. Optimization of the capillary zone electrophoresis method with indirect photometry detection for monitoring of selected organic acid in biotechnological processes. In Studentská odborná

konference Chemie je život 2012 - Sborník příspěvků. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. s. 271-275. ISBN: 978-80-214-4644- 1.

KRATOCHVÍLOVÁ, R.; KLUČÁKOVÁ, M.; SEDLÁČEK, P.; POŘÍZKA, J.; STRÍTEŽSKÁ, S. Superabsorbent Polymers with the Function of Controlled Release. NANOCON 2014 Conference proceedings. 1. 2014. s. 159-159. ISBN: 978-80-87294-55- 0.

KRATOCHVÍLOVÁ, R.; KLUČÁKOVÁ, M.; SEDLÁČEK, P.; POŘÍZKA, J.; STRÍTEŽSKÁ, S. Superabsorbent Polymers for Agricultural Usage. 6th International Conference on Polymer Behaviour, Programme and Abstract Booklet. 2014. s. 47-47.

OBRUČA, S.; KUČERA, D.; DINGOVÁ, T.; BENEŠOVÁ, P.; POŘÍZKA, J.; MÁROVÁ, I. Biotechnological production of polyhydroxyalkanoates on various lignocellulose- based agricultural wastes. Chemistry and Life 2015, Book of Abstracts. 1. Brno: Fakulta chemická VUT v Brně, 2015. s. 38-39. ISBN: 978-80-214-5228- 2.

POŘÍZKA, J.; DIVIŠ, P.; OMELKOVÁ, J. Elemental composition and total antioxidant capacity of Czech wines deriving from grapes growned by different agriculture methods. Chemické listy. 2011. s. s1025 (s1025 s.)ISSN: 0009- 2770.

POŘÍZKA, J.; DIVIŠ, P.; OMELKOVÁ, J. Influence of the agriculture on elemental content of vineyard components and total antioxidant activity of Czech wines (pilot study). 2nd International ISEKI_ Food Conference. Milan, Italy: ISEKI Food Association, 2011. s. 232-232. ISBN: 978-88-905-9890- 6.

POŘÍZKA, J.; DIVIŠ, P.; OMELKOVÁ, J. Influence of the different farming systems on elemental content of Vitis vinifera and on antioxidant properties of wine. European symposium on atomic spectrometry 2012 - Book of abstracts. 2012. s. 181-181. ISBN: 978-80-223-3292- 7.

SÁSKOVÁ, D.; POŘÍZKA, J.; ŠPANOVÁ, A.; DIVIŠ, P.; KULICH, P.; RITTICH, B. Silver nanoparticles production with probiotic bacteria. Chemistry and life 2015, Bool of abstracts. Brno: Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, 2015. s. 42-43. ISBN: 978-80-214-5228- 2.