VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno, 2018 Kateřina Michálková



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STANOVENÍ ORGANICKÝCH KYSELIN VE VÍNĚ
DETERMINATION OF ORGANIC ACIDS IN WINE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE — **Kateřina Michálková**
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — **Ing. Veronika Řezáčová, Ph.D.**
SUPERVISOR

BRNO 2018

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA CHEMICKÁ

Zadání bakalářské práce

Číslo práce:	FCH-BAK1211/2017
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka:	**Kateřina Michálková**
Studijní program:	Chemie a chemické technologie
Studijní obor:	Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce:	**Ing. Veronika Řezáčová, Ph.D.**
Akademický rok:	2017/18

Název bakalářské práce:

Stanovení organických kyselin ve víně

Zadání bakalářské práce:

1. Literární rešerše na téma vlastností, složení a (ne)prospěchu vína.
2. Experimentální stanovení organických kyselin ve víně.
3. Přehledné zpracování a zhodnocení získaných výsledků.

Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

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

Kateřina Michálková student(ka)	Ing. Veronika Řezáčová, Ph.D. vedoucí práce	prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc. vedoucí ústavu

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

V Brně dne 31.1.2018

ABSTRAKT
Tato bakalářská práce se zabývá stanovením organických kyselin ve víně metodou kapilární zónové izotachoforézy. Teoretická část je věnována vlastnostem vína, složení, jeho prospěchu na zdraví člověka a kapilární zónové iztachoforéze a jejímu praktickému využití. Praktická část se zabývá stanovením organických kyselin ve víně kapilární zónovou izotachoforézou. Organické kyseliny jsou stanovovány ve třech fázích výroby bílého a červeného vína.

ABSTRACT
This bachelor thesis deals with determination of organic acids in wine by capillary zone isotachophoresis method. The theoretical part is devoted to the properties of wine, its composition, its benefit to human health and capillary zone isotachophoresis and its practical use. The practical part deals with determination of organic acids in wine by capillary zone isotachophoresis. Organic acids are determined in three phases of white and red wine production.

KLÍČOVÁ SLOVA
Izotachoforéza, organické kyseliny, víno
KEY WORDS
Isotachophoresis, organic acides, wine

MICHÁLKOVÁ, K. *Stanovení organických kyselin ve víně.* Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 32 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Veronika Řezáčová, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že tato bakalářská práce byla vypracována samostatně, a že všechny použité literární zdroje jsou správně a úplně citovány. Tato práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické Vysokého učení technického v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

Kateřina Michálková

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala mé vedoucí bakalářské práce Ing. Veronice Řezáčové Ph.D. za ochotu, pomoc a cenné rady při psaní této bakalářské práce.

Dále bych ráda poděkovala přátelům za pomoc při psaní bakalářské práce a v neposlední řadě Vinařství Baláž za pomoc a poskytnutí vzorků pro měření.

Obsah

1 Úvod 8

2 Základní látky ovlivňující charakter vín 8

2.1 Voda 8

2.2 Sacharidy 8

2.2.1 Monosacharidy 9

2.2.2 Oligosacharidy 9

2.2.3 Polysacharidy 10

2.3 Kyseliny 10

2.3.1 Kyselina vinná 10

2.3.2 Kyselina jablečná 10

2.3.3 Kyselina citronová 11

2.3.4 Kyselina mléčná 11

2.3.5 Kyselina octová 11

2.3.6 Kyselina mravenčí 11

2.4 Alkoholy 12

2.4.1 Ethanol 12

2.4.2 Vyšší alkoholy 12

2.5 Minerální látky 12

2.6 Dusíkaté sloučeniny 12

2.6.1 Amoniakální dusík 13

2.6.2 Aminokyseliny 13

2.6.3 Peptidy 13

2.6.4 Bílkoviny 13

2.7 Enzymy 13

2.7.1 Oxidoreduktázy 14

2.7.2 Transferázy 14

2.7.3 Hydrolázy 14

2.7.4 Pektinázy 14

2.8 Estery 15
3 Vliv vína na zdraví 15
3.1 Srdeční infarkt 15
3.2 Krevní tlak 16
3.3 Mozková mrtvice 16
3.4 Cukrovka 16
4 Kapilární izotachoforéza (ITP) 17
4.1 Princip 17
4.2 Detekce 17
4.3 Vyhodnocení 17
4.4 Kvalitativní analýza 17
4.5 Kvantitativní analýza 18
5 Experimentální část 19
5.1 Použité chemikálie 19
5.2 Vzorky 19
5.3 Použité přístroje 20
5.4 Příprava elektrolytů 20
5.4.1 Vedoucí elektrolyt 20
5.4.2 Koncový elektrolyt 21
5.5 Metoda 21
5.6 Kalibrace metody 21
5.7 Meze detekce a kvantifikace 21
6 Výsledky a diskuze 22
6.1 RSH faktory a délky zón 22
6.2 Kalibrační křivky 24
6.3 Reálné vzorky 28
7 Závěr 31

1 Úvod

Víno je považováno za jeden z nejstarších alkoholických nápoj vůbec. Nejstarší nález potvrzující tuto teorii je starý 7000 let. Do České republiky se víno dostalo během vpádu Římanů na moravské území v 3. stol. n. l., kdy historické prameny praví, že římští vojáci míchali vodu s vínem jako desinfekci. Dovoz vína z Říma byl ovšem velmi nákladný, a proto vysadili pod Pálavskými vrchy nové vinice. V současné době se již víno jako desinfekce nepoužívá, ale konzumace kvalitního vína stále stoupá. V České republice je v současnosti 17 531 ha vinic a nacházejí se zde dvě vinařské oblasti, Čechy a Morava, kdy každá z těchto oblastí je rozdělena na několik podoblastí.

Vinařská oblast Čechy je nejseverněji položenou vinařskou oblastí v Evropě. Největšího rozvoje dosáhla za vlády Rudolfa II., ale základy vinohradnictví v Čechách položil Karel IV. Tato vinařská oblast je rozdělena na dvě podoblasti - Mělnickou a Litoměřickou. Obě se rozprostírají kolem významných řek, jako jsou Vltava, Labe, Berounka a Ohře.

Vinařská oblast Morava je svým charakterem předurčena k výrobě především bílých vín, která vynikají svou kořeněnou chutí, minerálností a vyniká širokým spektrem vůní. To vše je doplněno obsahem svěžích kyselin. Červená vína mají v chuťovém projevu zemitost a ovocitý charakter. Morava je rozdělena do čtyř podoblastí - Mikulovské, Slovácké, Velkopavlovické a Znojemské, *Obrázek 1*, [1, 2, 3]



Obrázek 1: Moravské podoblasti **[2]**

2 Základní látky ovlivňující charakter vín

2.1 Voda

Voda je základní a nejhojněji zastoupená chemická látka v bobulích, moštu i víně. Může se vyskytovat jako volná, absorbovaná nebo vázaná. Díky svým vlastnostem je výborným rozpouštědlem pro polární látky a při spojení s etanolem se do roztoku dostává i řada nepolárních látek. Voda je klíčovou látkou pro správný průběh všech chemických a biochemických reakcí. Vlivem zrání se obsah vody postupně snižuje [4, 5, 6].

2.2 Sacharidy

Sacharidy jsou organické molekuly obsahující aldehydickou nebo ketonickou funkční skupinu. Jsou základní stavební jednotkou buněčných stěn a slouží jako základní zdroj

energie pro rostliny. Největší podíl tvoří monosacharidy, D-glukóza a D-fruktóza, jež jsou nositelem sladké chuti a významně ovlivňují charakter vína. Při jejich nedostatečném obsahu se v chuti začíná projevovat hořkost, třísloviny a kyselost [4, 7].
Sacharidy se obecně dělí podle počtu uhlíků:

- Triózy – řetězec je tvořen třemi atomy uhlíku
- Tetrózy - řetězec je tvořen čtyřmi atomy uhlíku
- Pentózy - řetězec je tvořen pěti atomy uhlíku
- Hexózy - řetězec je tvořen šesti atomy uhlíku

Dále lze sacharidy dělit podle počtu jednotek ve struktuře:

- Monosacharidy – základní stavební složka všech složitějších sacharidů
- Oligosacharidy – jsou složeny z 2 až 10 monosacharidových podjednotek. Svými vlastnostmi jsou velmi podobné monosacharidům a jsou nositelem sladké chuti.
- Polysacharidy – jsou tvořeny vice než 10 podjednotkami monosacharidů. Jsou spojeny glykosidovou vazbou a nenesou sladkou chuť.

2.2.1 Monosacharidy

Glukóza
Triviální název: hroznový cukr.
Patří mezi hexosy, ve strukturním vzorci obsahuje šest uhlíků a obsahuje aldehydickou skupinu R-CHO. Při zrání se v bobulích révy vinné vytváří jako první sacharid a je přímo přeměňována na ethanol [4, 5].
Fruktóza
Triviální název: ovocný cukr.
Patří také mezi hexosy, tj. ve strukturním vzorci obsahuje šest uhlíků, a obsahuje ketoskupinu R_2=C=O. Vzniká až po glukóze. Je to nejsladší přírodní cukr.
Glukóza a fruktóza se v hroznech vyskytují v poměru 1:1. Jsou významnými cukry pro alkoholové kvašení. Cukry jsou kvasinkami přeměňovány na ethanol a oxid uhličitý podle *Rovnice 1* [4, 5]:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CO_2 + 2C_2H_5OH$$

Rovnice 1: Přeměna cukru na oxid uhličitý a ethanol

2.2.2 Oligosacharidy

Ve víně se oligosacharidy vyskytují pouze ve stopovém množství. Nejdůležitějšími zástupci jsou disacharidy, které jsou dobře rozpustné ve vodě a mají sladkou chuť.
Maltosa
Sladový cukr, který je tvořen dvěma molekulami glukózy spojené α-1→ 4 glykosidovou vazbou. Ve víně je zastoupena pouze ve stopovém množství, při vyšším obsahu je ukazatelem podvodného doslazení vína [7].
Sacharosa
Triviální název: řepný cukr
Jedná se o disacharid, skládající se z molekuly glukózy a fruktózy, který může být ve stopovém množství obsažen v bobulích. Sacharóza je vlivem vlastních kyselin nebo enzymem invertázou štěpena na molekuly glukózy a fruktózy [5].

2.2.3 Polysacharidy

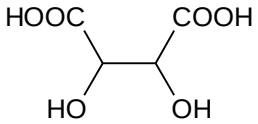
Jsou tvořeny více jak 10 polysacharidovými podjednotkami. Mohou být lineární i větvené. Ve víně tvoří většinu koloidních sloučenin a mohou působit potíže při jeho dalším zpracování, např. při filtraci. Obsah polysacharidů závisí na odrůdě a vyzrálosti hroznů a také na jejich kvalitě [7].

2.3 Kyseliny

Kyseliny vznikají asimilací v listech z vody a oxidu uhličitého. Celkový obsah kyselin ve víně závisí na odrůdě, vyzrálosti hroznů, ročníku a viniční trati. Během zrání kyseliny vznikají postupně v pořadí: kyselina jablečná; kyselina vinná; kyselina citronová; kyselina glukonová. Největší množství a zároveň nejdůležitější kyseliny jsou jablečná a vinná, ze kterých pochází 90 až 95% kyselosti moštu. V hotovém víně obsah organických kyselin klesá vlivem vysrážení vinného kamene či jablečno-mléčné fermentace. Obsah kyselin v moštu a hotovém víně se může lišit až o několik gramů na litr.
Většina kyselin ve víně je rostlinného původu, s výjimkou kyseliny octové, která vzniká jako produkt metabolismu bakterií [5, 7, 8].

2.3.1 Kyselina vinná

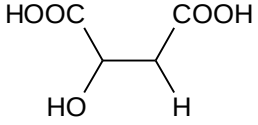
Kyseliny vinná, *Obrázek 2*, je nejdůležitější a nejhojněji zastoupená kyselina v moštu. V révě vinné se vyskytuje výhradně jako (L+)-enantiomer. Dobře rozpustná ve vodě, alkoholu a při pokojových teplotách je stabilní a nedochází k jejímu odbourávání. Při reakci s chloridem draselným dojde k jejímu vysrážení v podobě hydrogenvinanu draselného, mezi vinaři známého spíše pod označením vinný kámen. Díky špatnému rozkladu této draselné soli může dojít ke vzniku vinného kamene již v hroznech, díky čemuž dojde ke snížení obsahu kyseliny vinné v moštu. S rostoucím obsahem alkoholů vlivem postupného kvašení se rozpustnost hydrogenvinanu snižuje [5, 7].



Obrázek 2: Strukturní vzorec kyseliny vinné

2.3.2 Kyselina jablečná

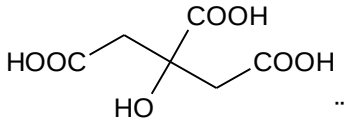
Kyselina jablečná, *Obrázek 3*, se při zpracování nevyzrálých hroznů stává nejhojněji zastoupenou kyselinou v moštu. Vlivem zrání se její obsah snižuje. Vyskytuje se převážně jako L(-)enantiomer. Její obsah ve víně je velmi proměnlivý a záleží na odrůdě a také na klimatických podmínkách.
Kyselina jablečná patří mezi zkvasitelné kyseliny. Je zkvašována především bakteriemi mléčného kvašení při jablečno-mléčné fermentaci. Je vyhledávána především u červených vín, neboť díky ní dochází ke zjemnění chuti [7].



Obrázek 3: Strukturní vzorec kyseliny jablečné

2.3.3 Kyselina citronová

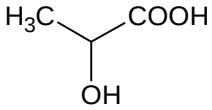
Řada bakterií má schopnost kyselinu citronovou, *Obrázek 4*, rozkládat, čímž dochází ke snižování jejího obsahu. Nejčastějšími bakteriemi rozkládajícími kyselinu jsou bakterie mléčného kvašení. Vlivem rozkladu může vznikat nežádoucí máselná pachuť [7].



Obrázek 4: Strukturní vzorec kyseliny citronové

2.3.4 Kyselina mléčná

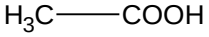
Kyselina mléčná, *Obrázek 5*, vzniká při kvašení za vyšší teploty a také přeměnou kyseliny jablečné při zrání mladých vín. Kyselina mléčná je zvláště žádaná u červených vín, kdy zjemňuje ostrost chuti kyseliny jablečné na jemnější kyselinu mléčnou a oxid uhličitý působením mléčných bakterií při jablečno-mléčné fermentaci.



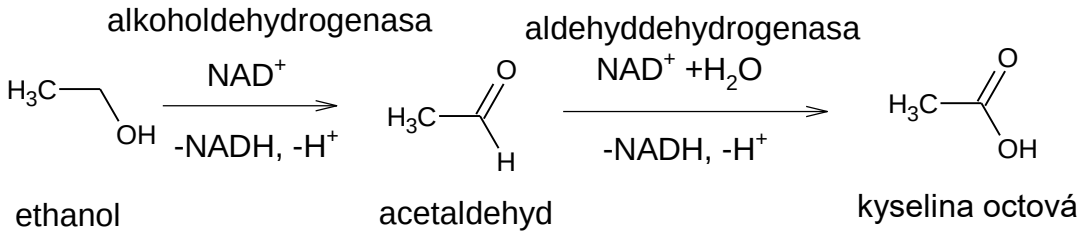
Obrázek 5: Strukturní vzorec kyseliny mléčné

2.3.5 Kyselina octová

Kyselina octová, *Obrázek 6*, ve víně vzniká v průběhu metabolismu kvasinek a mléčných bakterií a je rovněž produktem metabolismu octových bakterií. Část vzniká již při alkoholovém kvašení, *Obrázek 7*, a část působením octových bakterií. Množství kyseliny záleží na kmeni kvasinek. Její přítomnost ve víně je nežádoucí, signalizuje přítomnost bakterií a víno znehodnocuje.



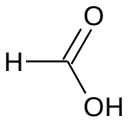
Obrázek 6: Strukturní vzorec kyseliny octové



Obrázek 7: Vznik kyseliny octové z ethanolu [9]

2.3.6 Kyselina mravenčí

Kyselina mravenčí, *Obrázek 8*, vzniká při fermentaci z leucinu v zanedbatelném množství. Při provzdušňování vína se rozkládá na CO_2 a vodu.



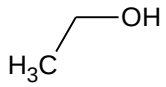
Obrázek 8: Strukturní vzorec kyseliny mravenčí

2.4 Alkoholy

Alkoholy tvoří druhou nejdůležitější složku vín. Ve víně jich bylo identifikováno 30, kdy většina je zastoupena pouze ve stopovém množství. Z volných nebo esterifikovaných alkoholů přispívají k buketu nejvíce methanol, ethanol a vyšší alkoholy [4, 7].

2.4.1 Ethanol

Ethanol, *Obrázek 9*, vzniká při alkoholovém kvašení. Jeho množství závisí na obsahu cukru v hroznech. Při vysokém obsahu ethanolu ve víně může dojít k nepříznivému ovlivnění chuti vína. U bílých vín se obsah ethanolu pohybuje mezi 11 – 12,5 %obj., u červených vín 13 - 15 %obj [10].



Obrázek 9: Strukturní vzorec ethanolu

2.4.2 Vyšší alkoholy

Vyšší alkoholy jsou produkty metabolismu kvasinek během alkoholového kvašení. Obsah ovlivňuje především množství asimilovatelného dusíku v bobulích, délka macerace hroznů před kvašením a vlastní teplota kvašení. Koncentrace vyšších alkoholů pod 300 $mg \cdot dm^{-3}$ dodávají vínům komplexnost a plnost, koncentrace nad 400 $mg \cdot dm^{-3}$ vedou k silné, svíravé vůni a chuti. Celková koncentrace vyšších alkoholů se pohybuje v rozmezí 100 – 500 $mg \cdot dm^{-3}$ [10].

2.5 Minerální látky

Spolu s vodou jsou kořenovým systémem přijímány i minerální látky, jejichž množství je závislé především na druhu půdy, hnojení a odrůdě. V sušších a chudších půdách je obsah minerálních látek velmi nízký. Podle obsahu minerálních látek lze poznat charakterové vady vína. Největší negativní účinek na aroma, barvu a chuť mají zejména kovy jako Fe, Cu, Sc, Ni, Al a Zn. Tyto látky se mohou do hroznů dostat z půdy či nadměrným užíváním insekticidů a fungicidů při ochraně révy vinné [11].

2.6 Dusíkaté sloučeniny

Dusíkatými sloučeninami ve víně mohou být peptidy, aminokyseliny a amonné sloučeniny. Jsou to látky důležité pro výživu kvasinek. Rozmezí výskytu dusíkatých látek v moštu se pohybuje mezi 0,2 a 1,4 $g \cdot dm^{-3}$. Tato koncentrace plně postačuje k rozběhnutí a průběhu kvašení. U některých systémů, u nichž se vyskytuje ušlechtilá plíseň *Botrytis cinerea*, dochází k dramatickému snížení obsahu dusíkatých látek, a to díky využití aminokyselin plísňovou houbou pro její vlastní látkovou přeměnu. Díky aminokyselinám vzniká již při kvašení tzv. kvasný buket, který je pro každou odrůdu charakteristický. Obsah dusíku ovlivňuje nejen původ révy a klimatické podmínky, ale také následná vinifikace. Během kvašení může docházet buď k asimilaci dusíku kvasinkami či k vyloučení dusíkatých látek mikroorganismy. Původci peptidů jsou především třapiny a semena, se kterými dochází mošt do kontaktu při zpracování. U některých vín proto může být hladina peptidů vysoká vlivem intenzivního lisování. Uvolněné dusíkaté látky jsou pak vhodným prostředím pro bakterie a jablečno-mléčné kvašení [7].

2.6.1 Amoniakální dusík

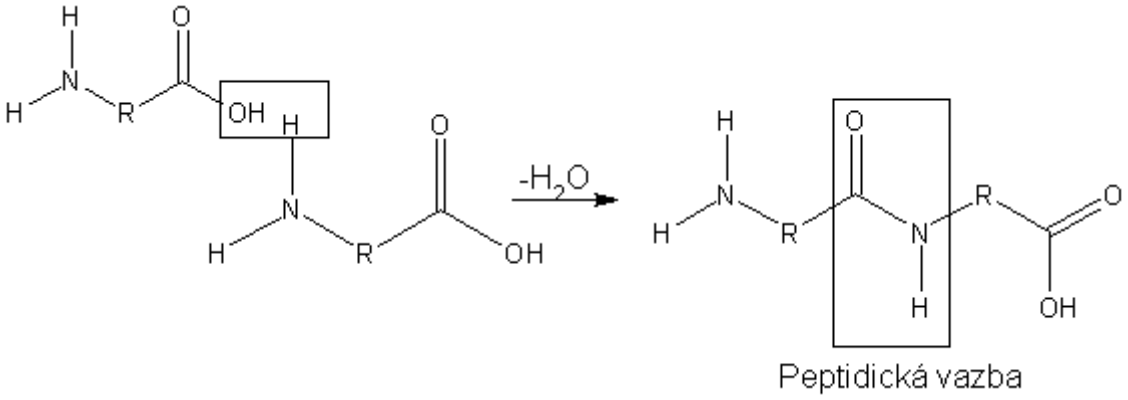
Přítomnost amoniakálního dusíku usnadňuje počátek alkoholového kvašení. Hrozny jsou jím bohatě zásobeny, a to v koncentracích 20 až 240 $mg \cdot dm^{-3}$, s výjimkou hroznů přezrálých. V tomto případě je nutno jej doplnit přídavkem amonných solí, jako např. $(NH_4)_2HPO_4$. Vlivem toho, že amonný kationt je pro kvasinky dobře vstřebatelný, hladina dusíku rychle klesá a v hotovém víně se vyskytuje pouze malé množství [7].

2.6.2 Aminokyseliny

Aminokyseliny jsou základní složkou proteinů. V hroznech vznikají vazbou mezi dusíkem a organickými kyselinami. Jejich obsah, stejně jako obsah dusíku, závisí na stavu révy, klimatických podmínkách a následném zpracování. V hroznech se nachází veškeré známé aminokyseliny. Největší zastoupení mají však prolin, arginin a glutamin. Hladina prolinu se vlivem dozrávání zvyšuje, a proto může sloužit jako ukazatel zralosti hroznů. Naopak pouze ve stopovém množství se ve víně objevují aminokyseliny obsahující síru [7].

2.6.3 Peptidy

Sloučeniny vznikající spojením dvou a více aminokyselin peptidovou vazbou. Reagují spolu dvě sousední aminokyseliny, dochází ke kondenzaci a následné eliminaci vody, *Rovnice 2*.



Rovnice 2: Vznik peptidické vazby

Peptidy dělíme podle počtu aminokyselin v řetězci na:

- Oligopeptidy – obsahují 2 až 10 aminokyselin
- Polypeptidy – obsahují vice jak 10 aminokyselin
- Bílkoviny – obsahují vice jak 100 aminokyselin

Obsah peptidů je navázán na kondici rostlin, klimatické podmínky a na látky používané při ochraně rostlin [7].

2.6.4 Bílkoviny

Na tvorbě bílkovin se kromě peptidické vazby podílí i vazby disulfidové, esterové a amidové. Bílkoviny plní důležité funkce v organismu, a to konkrétně strukturní, transportní, katalytickou, obrannou, zásobní, aj. Na molekuly bílkovin se také váže voda a anorganické anionty [7].

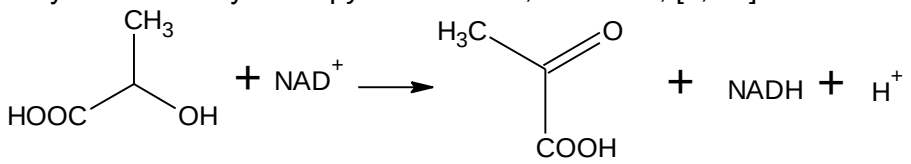
2.7 Enzymy

Enzymy jsou bílkoviny specifické svou katalytickou aktivitou. Určují povahu a rychlost reakce. Můžeme je rozdělit na jednoduché a složené. Jednoduché enzymy jsou tvořeny pouze bílkovinou, nazývaná také apoenzym, složené obsahují navíc složku nebílkovinou, kofaktor. Složené enzymy jsou také označovány jako holoenzym. Enzymy jsou nezbytnou součástí

biologického procesu. Urychlují odbourání pektinů, zvyšují výlisnost hroznů a urychlují výrobní proces. Ve víně se nachází několik stovek enzymů, z toho nejdůležitějšími zástupci jsou oxidoreduktázy, transferázy a hydrolázy [7, 12].

2.7.1 Oxidoreduktázy

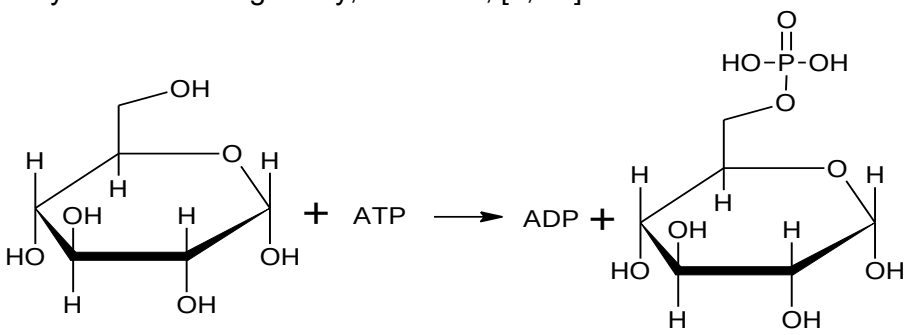
Oxidoreduktázy jsou enzymy zodpovědné za přenos elektronů mezi molekulami. Obsahují řadu kofaktorů, jako NAD^+, NADP, FAD. Mezi oxidoreduktázy patří alkoholdehydrogenáza, která způsobuje odbourání alkoholu a acetaldehyd, a laktátdehydrogenáza, jejímž úkolem je oxidace kyseliny mléčné na kyselinu pyrohroznovou, *Rovnice 3*, [7, 13].



Rovnice 3:Oxidace kyseliny mléčné na kyselinu pyrohroznovou

2.7.2 Transferázy

Transferázy katalyzují reakce, při kterých dochází k přenosu funkčních skupin jako např. $-CH_3$, $-NH_2$. Do kategorie transferáz spadá mimo jiné enzym hexokináza, který je zodpovědný za vznik glukózy-5-fosfátu z D-glukózy, *Rovnice 4*, [7, 13].



Rovnice 4: Vznik glukóza-5-fosfátu z D-glukózy

2.7.3 Hydrolázy

Hydrolázy katalyzují hydrolytické štěpení vazeb. Jako jedny z mála enzymů pracují bez přítomnosti kofaktoru. Ten je nahrazen vodou. Hydrolázy jsou schopny štěpit peptidové, glykosidické a esterové vazby. Pro víno jsou nejdůležitějšími hydrolázami proteázy a invertázy.

Proteázy jsou enzymy štěpící bílkoviny, z nichž jsou uvolňovány aminokyseliny. Aktivita proteáz je limitována obsahem alkoholu. S jeho přibývajícím množstvím během alkoholového kvašení dochází z jejich postupné inhibici.

Invertázy jsou enzymy, které štěpí sacharózu na monomery, glukózu a fruktózu, čímž umožňují kvašení [13, 7].

2.7.4 Pektinázy

Jedná se o enzymy štěpící polymerní strukturu pektinů. Pektinázy se v posledních letech využívají k usnadnění lisování hroznů, zejména odrůd s pevnou dužninou, k rychlejšímu a lepšímu odkalení moštu, k sedimentaci kalů ve víně. Další zvyšují extrakci barevných látek, čehož se využívá hlavně u červených odrůd, a v neposlední řadě mají vliv na zvýšení obsahu vonných látek. Ke správnému působení enzymu musí být dostatečná koncentrace substrátu. Inhibitory pektinázy jsou těžké kovy, třísloviny, oxid siřičitý, vysoká koncentrace alkoholu a bentonit. V reálných podmínkách se nejčastěji využívají bentonity [5].

2.8 Estery

Estery jsou nejvýznamnější buketní a aromatické látky. Vznikají reakcí alkoholů s kyselinami za přítomnosti kvasinek. Udávají vínům vůni, chuť a celkový odrůdový charakter. Nejvíce esterů vzniká při kvašení a s jeho postupem se množství vznikajících esterů snižuje. Malé množství se tvoří i při dokvašení a zrání vína. Dělí na estery neutrální, které vznikají reakcí s kyselinou octovou a kysele estery, které jsou produkty kyselin jablečné a vinné.
Ve víně se vyskytuje mnoho esterů, jejichž krátký přehled i charakteristika příslušného aroma je uveden v *Tabulka 1*.

Tabulka 1: Příklady esterů a jejich charakteristika [5]

Ester	Charakteristika aromatu
Ethylacetát	kyselá, ovocná, lak na nehty
Izoamylacetát	banán, hruška
2-fenyletylacetát	květinová, růže, ovocná
Izobutylacetál	banán, ovocná
Hexylacetát	sladká, parfémová
Ethylbutanoát	květinová, ovocná
Ethylhexanoát	zelené jablko
Ethyloktanoát	mýdlová
Ethyldekanoát	květinová, mýdlová

3 Vliv vína na zdraví

Víno se jako léčebný prostředek využívalo již v prehistorii. Lidé neznali původ nemocí a přisuzovali je tedy zlým bůžkům, čarodějnicím a jiným mystickým postavám. Léčili je tedy pomocí rostlin, krve, vnitřností a také pomocí alkoholu, nejčastěji vína.
V současné době se již k léčení nemocí používají nejrůznější léčiva k tomuto účelu určená, ale konzumace vína stále prokazatelně lidské zdraví ovlivňuje. Pozitivní účinky střídmé konzumace vína jsou sledovány nejčastěji u nemocí jako srdeční infarkt, cévní mozkové příhody, zvýšený krevní tlak a cukrovka. Víno funguje také jako prevence před fyzickým a psychickým úpadkem u seniorů. V neposlední řadě může konzumace vína prodlužovat život [14].

3.1 Srdeční infarkt

Srdeční infarkt je příčinou více než poloviny úmrtí v České republice. Nejvíce ohroženou skupinou jsou muži starší 50let.
Největší průlom v této oblasti byl zaznamenán v roce 2011, kdy bylo prokázáno, že alkohol snižuje úmrtnost na infarkt a celkově tak úmrtnost obecně. Bylo provedeno několik studií, ve kterých byli srovnáváni střídmí konzumenti vína a abstinenti. Všechny potvrdily snížení úmrtnosti [14].

Tabulka 2: Příklady studií potvrzující snížení úmrtnosti [14]

Studie	Snížení úmrtnosti v %
Harvardova universita – 44 000 mužů	37
USA – 38 077 zdravotníků	50
Francie – 34 000 mužů	30
Americká kardiologická společnost	30-50

Víno však působí nejen jako prevence proti prvnímu infarktu, ale také významně snižuje riziko jeho častého opakování.
Z výše zmíněných studií vyplývá, že střídmé pití vína, v porovnání s abstinencí, výrazně snižuje výskyt prvního akutního infarktu a snižuje celkovou úmrtnost [14].

3.2 Krevní tlak

Při zvýšeném krevním tlaku je snahou lékařů udržet hodnotu tlaku na normální úrovni pomocí léků. Dříve platilo, že konzumace, i malého množství alkoholu, krevní tlak zvyšuje. Vědci z Harvardovy univerzity však zjistili, že střídmé pití vína krevní tlak nejen nezvyšuje, ale také jej dokáže snížit. V této studii bylo mladým osobám denně podáváno 36 g čistého alkoholu a jejich tlak prokazatelně klesl. Studie také prokázala, že u žen, které zkonzumují 14 g čistého alkoholu denně, kleslo riziko vysokého tlaku o 15 % oproti abstinentkám.
Toto tvrzení bylo potvrzeno i další studií, které byla provedena v Americe, kdy výsledkem byl při střídmé konzumaci alkoholu pokles tlaku u mužů o 12 % a u žen o 11 % [14].

3.3 Mozková mrtvice

Mozková mrtvice může mít dvě příčiny. Jedna příčina, tzv. hemoragické mrtvice, je prasknutí cévy v mozku, kdy vytékající krev je v hlavě zadržována hlavovými kostmi. Druhá příčina, tzv. ischemické mrtvice, je přerušení krevního průtoku tepnou, která zásobuje mozek krví.

Vliv vína na mozkovou mrtvici byl poprvé popsán již v roce 1725. Víno ovšem nepůsobí na oba typy mrtvice stejně. U osob, které pily do 12 g čistého alkoholu za den bylo prokázáno snížení rizika výskytu obou mrtvic o 20 %. Riziko ischemické mrtvice kleslo více než riziko hemoragické mrtvice [14]. Studie provedená v roce 2011 Americkou společností pro kardiologii a Společností pro mozkovou mrtvici potvrdila, že konzumace malého množství vína chrání proti ischemické formě mozkové mrtvice, ale naopak výskyt hemoragického typu mrtvice nepatrně zvýšit [14].

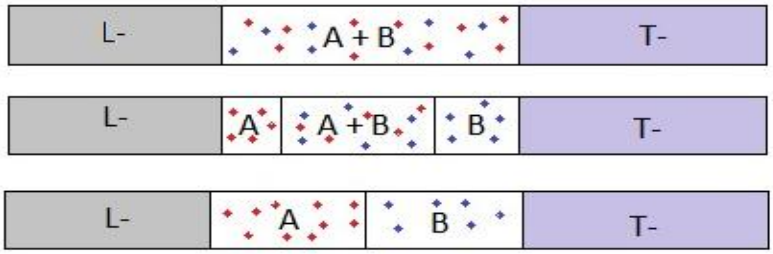
3.4 Cukrovka

Podle vědců z Harvardovy univerzity pití malého množství vína denně snižuje riziko výskytu onemocnění diabetes mellitus 2. typu. Zkoumaným osobám bylo dlouhodobě podáváno 30 g čistého alkoholu za den. V porovnání s abstinenty nebo nepravidelnými konzumenty vína klesl výskyt cukrovky o 60 %. Někteří lékaři však pacientům s diabetem pravidelnou konzumaci vína nedoporučují. Především díky obsahu zbytkového cukru ve víně [14].

4 Kapilární izotachoforéza (ITP)

4.1 Princip

Izotachoforéza je elektromigrační technika založená na rozdílných pohyblivostech iontů v jednosměrném elektrickém poli. Během jedné analýzy je možno dělit pouze kationty nebo anionty. Pro analýzu se používají 2 základní elektrolyty. Vodicí a koncový. V případě analýzy aniontů má vodicí elektrolyt L^- nejvyšší pohyblivost iontů a koncový elektrolyt T^- obsahuje aniont, který má nižší pohyblivost, než jakýkoliv analyzovaný aniont. Vzorek je vkládán na rozhraní těchto elektrolytů. Při průchodu proudu systémem dochází k migraci iontů podle pohyblivostí a dochází k vytváření zón. Po dosažení ustáleného stavu jsou všechny složky separovány a vytváří ostře oddělené zóny, které migrují stejnou rychlostí. První zóna je tvořena vodicím elektrolytem, následně jsou seřazeny zóny separovaných aniontů podle klesajících mobilit a poslední zóna je tvořena koncovým elektrolytem. Každá zóna tedy obsahuje pouze jeden druh aniontů a liší se specifickým odporem a intenzitou elektrického pole, *Obrázek 10*. Když se aniont A^- dostane do zóny pro aniont B-, kde je vyšší intenzita, bude urychlen a vrácen zpět do zóny pro A^-. Pokud se naopak dostane aniont B^- do zóny pro A^-, je zpomalen a vrácen zpět [15, 16].



Obrázek 10: Průběh ITP

4.2 Detekce

Detektor je umístěn na konci kapiláry. Nejpoužívanější typ detektoru je vodivostní, který využívá rozdíl vodivosti a gradientu v jednotlivých zónách.
Separované vzorky prochází postupně měrnou celou a jejich odezva je zapisována do izotachoforegramu [17].

4.3 Vyhodnocení

Výstupem z izotachoforézy je izotachoforegram. Jedná se o schodovitý záznam, kdy každý schod reprezentuje jeden iont. Výška schodu je pro každou separovanou látku specifická a délka schodu je úměrná jejímu množství [18].

4.4 Kvalitativní analýza

Kvalitativní analýzu udává výška schodu v izotachoforegramu. Výška zóny je vyjádřena číslem RSH, které vyjadřuje poměr výšky zóny dané látky h_I k výšce zóny vedoucího h_L a koncového h_T elektrolytu, *Rovnice 5*.

$$RSH = \frac{h_I - h_L}{h_T - h_L}$$

Rovnice 5: Výpočet RSH faktoru

Získaný RSH faktor je pak porovnán s RSH faktory iontů, které jsou ve vzorku očekávány [19].

4.5 Kvantitativní analýza

Pro kvantitativní analýzu je důležitá délka schodu, která se po dosažení ustáleného stavu nemění a je úměrná koncentraci iontu ve vzorku.
Nejjednodušším způsobem vyhodnocení koncentrace analytu je metoda kalibrační křivky. Pro určení koncentrace je využívána závislost délky zóny na koncentraci [19].

5 Experimentální část

5.1 Použité chemikálie

Název	Vzorec	Výrobce
Kyselina chlorovodíková	HCl	Sigma Aldrich, Rakousko
β-alanin	$C_3H_7NO_2$	Sigma Aldrich, Rakousko
Hydroxyethylcelulóza	-	MERCK-Schuchardt, Německo
Kyselina kapronová	$C_6H_{12}O_2$	Sigma Aldrich, Rakousko
Histidin	$C_6H_9N_3O_2$	Sigma Aldrich, Rakousko
Kyseliny vinná	$C_4H_6O_6$	Lachema, ČR
Kyselina octová	CH_3COOH	Fluka, Německo
Kyselina jablečná	$C_4H_6O_5$	Lachema, ČR
Kyseliny citronová	$C_4H_6O_6$	Lachema, ČR
Kyselina mléčná	$C_3H_6O_3$	Lachema, ČR
Deionizovaná voda	H_2O	-
Nativa	-	Vinařství Baláž
Ryzlink vlašský	-	Vinařství Baláž

Ryzlink vlašský – jeho původ je zatím neznámý, ale předpokládá se, že byl vyšlechtěn ve Francii. V České republice patří mezi jednu z nejpěstovanějších odrůd, kdy většinu produkce pokrývá Mikulovská oblast. Jedná se o pozdní odrůdu, pro kterou je obvyklá doba dozrávání polovina října. Hrozen je menší tvořený malými, těsně k sobě přisedlými bobulemi, proto je pro jeho pěstování nejlepší slunné, teplé stanoviště, aby došlo k optimálnímu vyzrátí hroznů. Pro víno je typický vyšší obsah kyselin, které tvoří harmonii se zbytkovým cukrem. Vyznačuje se zlatavě žlutou barvou a na vápenatých půdách příjemnou lipovou vůní [20].

Nativa – jedná se o modrou odrůdu, využívanou nejčastěji pro výrobu ovocných moštů. Vznikla křížením odrůd Frankovka x Svatovavřinecké x Merlot x Seibel 13 666. Pro pěstování Nativy jsou nejvýhodnější polohou suché a slunné svahy. Obvyklá doba dozrávání je stejně jako u Ryzlinku vlašského polovina října. Víno se vyznačuje vysokou barvou a ovocným aroma, kdy převládají tóny třešní a višní [20].

5.2 Vzorky

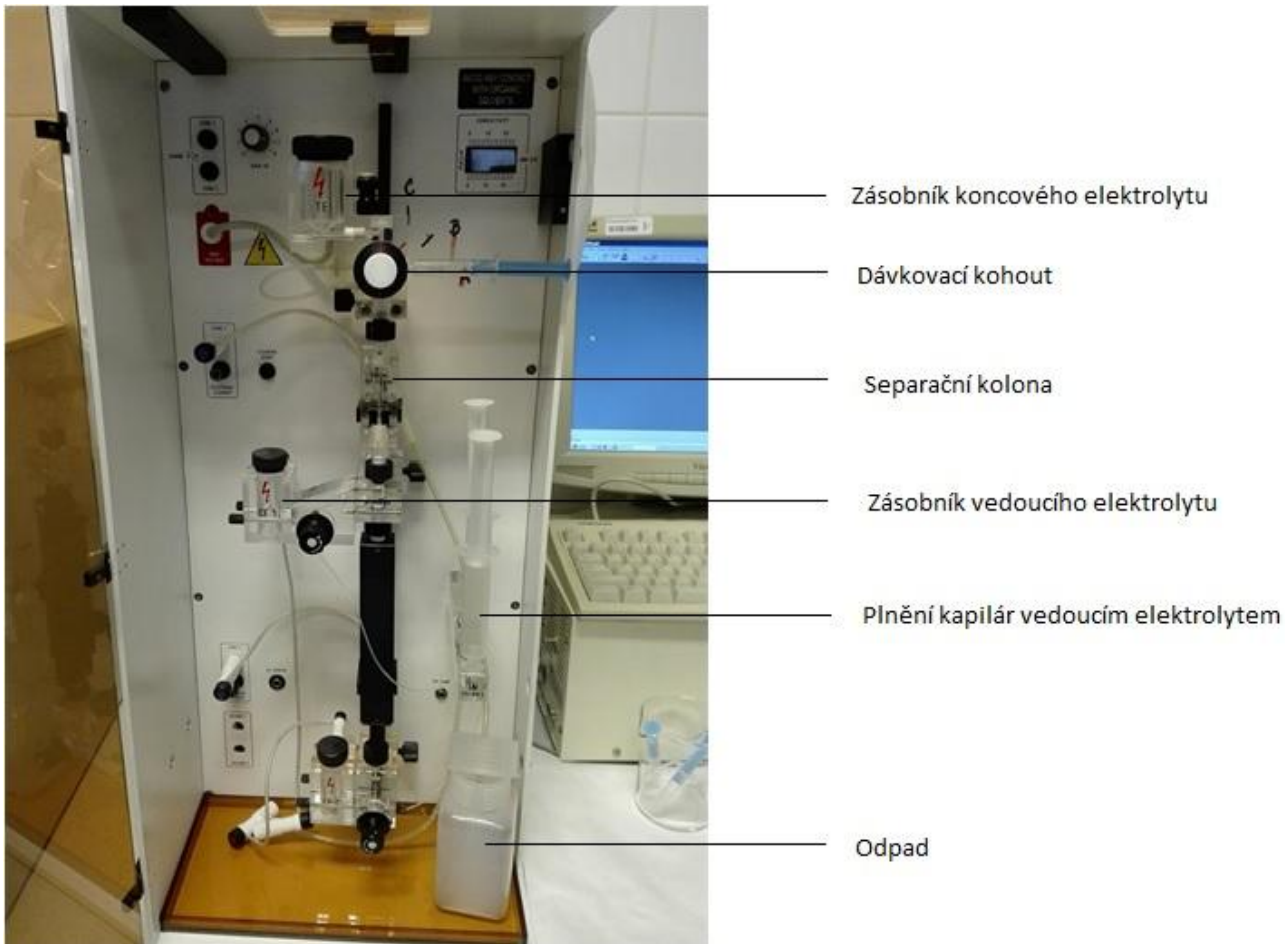
Pro stanovení organických kyselin byly odebrány vzorky čerstvě vylisované šťávy, částečně zkvašeného moštu a vína u odrůd Ryzlink vlašský a Nativa ve Vinařství Baláž. Vzorky byly ihned po odběru zmrazeny. Vzorky byly odebírány v různých fázích kvasného procesu. Seznam vzorků je uveden v *Tabulka 3*.

Tabulka 3: Seznam vzorků

Odrůda	Fáze procesu	Datum odběru	Označení vzorku
Ryzlink vlašský	Šťáva	5. 10. 2017	RV1
	Částečně zkvašený mošt	10. 10. 2017	RV2
	Víno	3. 5. 2018	RV3
Nativa	Šťáva	10. 10. 2017	NAT1
	Částečně zkvašený mošt	16. 10. 2017	NAT2
	Víno	3. 5. 2018	NAT3

5.3 Použité přístroje

Pro navážení pevných látek byly použity analytické váhy Scalter SPB 31. Pro stanovení organických kyselin ve vzorcích byl použit kapilární elektroforetický analyzátor EA 100, Villa Labeco s.r.o, Spišská Nová Ves, *Obrázek 11*. Pro získání výsledků byly použity software ITPwin a ITPpro. Pro vyhodnocení výsledků byl použit Microsoft Excel.



Obrázek 11: Kapilární elektroforetický analyzátor AE 100

5.4 Příprava elektrolytů

5.4.1 Vedoucí elektrolyt

Jako vedoucí elektrolyt byl zvolen elektrolyt se složením:

- 0,01 mol·dm^{-3} 35% HCl
- 0,01 mol·dm^{-3} β -alanin
- 0,02% hydroxyethylcelulosa

Sypké suroviny byly odváženy s přesností na čtyři desetinná místa a byly převedeny do odměrné baňky o objemu 0,5 l s uzávěrem obsahující neionizovanou vodou. Hmotnost β-alaninu byla spočítána na *0,0754 g*. Hmotnost navážky hydroxyethylcelulosy na *0,4455 g*. Objem koncentrované 36% kyseliny chlorovodíkové odpovídající objemu 0,5 l a koncentraci 10 mmol·dm^{-3} byl spočítán na 441 µl.

5.4.2 Koncový elektrolyt

Jako koncový elektrolyt byla zvolena směs:

- 0,01 mol·dm^{-3} kyselina kapronová
- Histidin

Do objemu 0,25 l neionizované vody bylo nepipetováno 313 µl kyseliny kapronové a odváženo 0,4 g histidinu.

5.5 Metoda

Pro analýzu byl dle doporučení výrobcem zvolen proud 300 µA. Celkový čas analýzy byl nastaven na 800 s. Prvních 400 s nebylo zaznamenáno na izotachoforegram, protože se jednalo o odezvu pouze vedoucího elektrolytu.
Izotachoforetické stanovení probíhalo v kapiláře s průměrem 0,8 mm a délkou 80 mm.

5.6 Kalibrace metody

Jako kalibrační metoda byla zvolena metoda kalibračních křivek. U všech stanovovaných kyselin byly namíchány standardy o koncentraci $c_1 = 1{\cdot}10^{-2}$ mol·dm^{-3}, *Tabulka 4.* Postupným ředěním byla získána kalibrační řada o následujících koncentracích: $c_2 = 5{\cdot}10^{-3}$ mol·dm^{-3}, $c_3 = 1{\cdot}10^{-3}$ mol·dm^{-3}, $c_4 = 5{\cdot}10^{-4}$ mol·dm^{-3}, $c_5 = 1{\cdot}10^{-4}$ mol·dm^{-3}, $c_6 = 5{\cdot}10^{-5}$ mol·dm^{-3}. Každá z těchto koncentrací byla změřena 2krát.

Tabulka 4: Navážky kyselin

Kyselina	Navážka [g]	Objem [ml]	Koncentrace [mol·dm^{-3}]
vinná	0,1501	100	$1{\cdot}10^{-2}$
jablečná	0,1341	100	$1{\cdot}10^{-2}$
citronová	0,1921	100	$1{\cdot}10^{-2}$
octová	0,0601	100	$1{\cdot}10^{-2}$
mléčná	0,0901	100	$1{\cdot}10^{-2}$

5.7 Meze detekce a kvantifikace

Mez detekce LOD (Limit of detection), *Rovnice 6*, udává nejnižší možnou koncentraci analytu, která ještě poskytne analytický signál.
Mez kvantifikace LOQ (Limit of quantification), *Rovnice 7*, udává koncentraci, u které je možné provést kvantitativní analýzu.

$$LOD = \frac{(3 \cdot S) - q}{k}$$

Rovnice 6: Mez detekce

$$LOQ = \frac{(10 \cdot S) - q}{k}$$

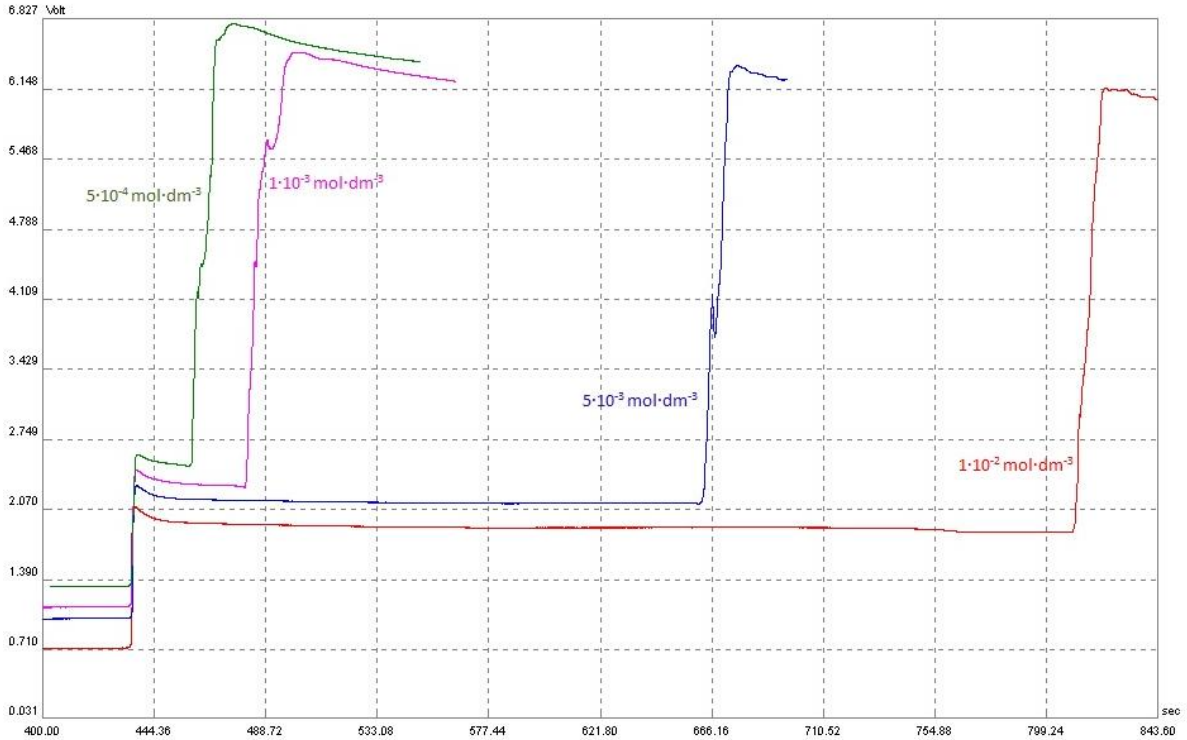
Rovnice 7: Mez kvantifikace

kde *S* je chyba střední hodnoty, která byla získána v programu Microsoft Excel pomocí funkce Analýza dat, *k a q* jsou konstanty získané s regresní rovnice přímky ve tvaru $y = k \cdot x + q$.

6 Výsledky a diskuze

6.1 RSH faktory a délky zón

RSH faktory a délky zón byly stanoveny na základě izotachoforegramů jednotlivých kyselin o známých koncentracích. Jako příklad je uveden izotachoforegram kalibrační řady pro kyselinu citronovou, *Obrázek 12*.



Obrázek 12: Izotachoforegram pro kalibrační řadu kyseliny citronové

Z izotachoforegramu je patrné, že při poklesu množství analytu dochází k významnému zkrácení délky schodu (a celkového času analýzy), což slouží k sestavení kalibračních křivek a následnému kvantitativnímu stanovení kyselin ve vzorcích. Pro kvalitativní stanovení je významný fakt, že relativní výška schodu je stejné, bez ohledu na koncentraci. Díku tomu je možné stanovit obecně platný RSH faktor.

Výsledky analýz pro kvalitativní i kvantitativní vyhodnocení neznámých vzorků shrnují *Tabulka 5-9.*

Tabulka 5: RSH faktory a délky zón kyseliny vinné

Kyseliny vinná		
c [mol·dm^{-3}]	Délka zóny [s]	RSH (-)
1·10^{-2}	365,26	0,166
5·10^{-3}	180,05	0,159
1·10^{-3}	37,41	0,174
5·10^{-4}	18,42	0,172
1·10^{-4}	2,48	0,178

Tabulka 6: RSH faktory a délky zón kyseliny citronové

Kyseliny citronová		
c [mol·dm^{-3}]	Délka zóny [s]	RSH (-)
1·10^{-2}	382,88	0,215
5·10^{-3}	213,95	0,217
1·10^{-3}	41,83	0,221
5·10^{-4}	19,09	0,222
1·10^{-4}	2,25	0,229

Tabulka 7: RSH faktory a délky zón kyseliny jablečné

Kyseliny jablečná		
c [mol·dm^{-3}]	Délka zóny [s]	RSH (-)
1·10^{-2}	384,08	0,233
5·10^{-3}	180,11	0,234
1·10^{-3}	45,01	0,233
5·10^{-4}	20,80	0,234
1·10^{-4}	3,80	0,243

Tabulka 8: RSH faktory a délky zón kyseliny octové

Kyseliny octová		
c [mol·dm^{-3}]	Délka zóny [s]	RSH (-)
1·10^{-2}	231,65	0,760
5·10^{-3}	138,9	0,717
1·10^{-3}	14,55	0,705
5·10^{-4}	7,35	0,711

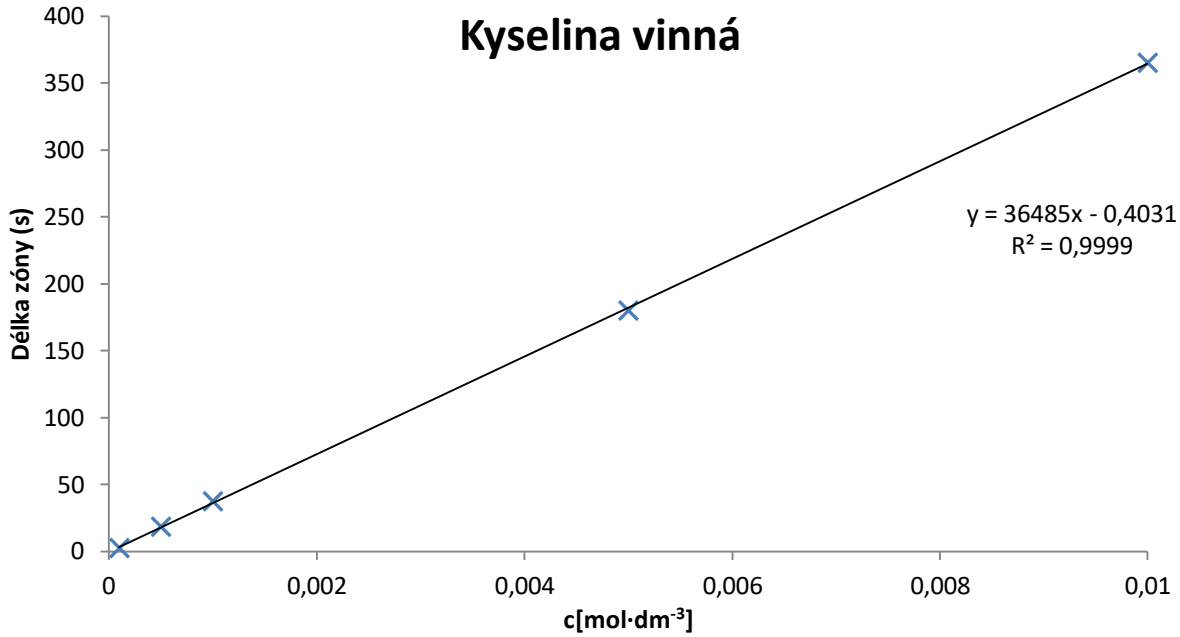
Tabulka 9: RSH faktory a délky zón kyselin mléčné

Kyseliny mléčná		
c [mol·dm^{-3}]	Délka zóny [s]	RSH (-)
1·10^{-2}	48,80	0,683
5·10^{-3}	25,33	0,686
1·10^{-3}	3,35	0,684

U kyselin octové a mléčné nebylo možné detekovat nejnižší koncentrace v důsledku velmi nízké odezvy analyzovaných iontů.

6.2 Kalibrační křivky

Kalibrační křivky byly stanoveny z výsledků uvedených v kapitole 6.1 pro každou analyzovanou kyselinu.

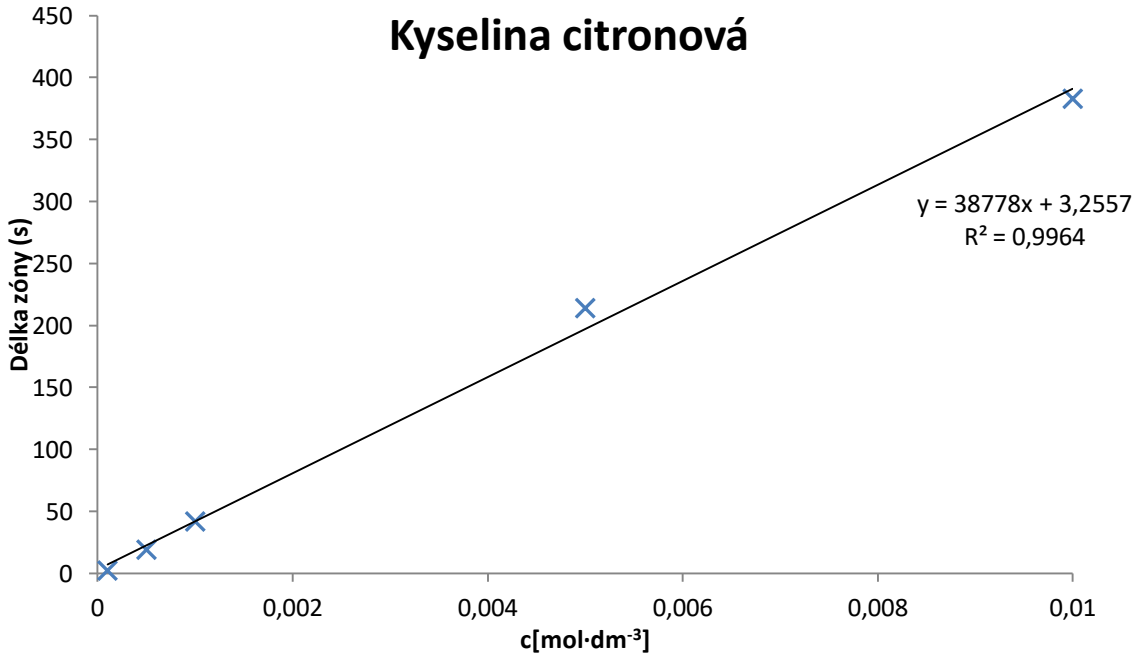


Obrázek 13: Kalibrační křivka kyseliny vinné

Pro stanovení hodnot LOD a LOQ pro kyselinu vinnou byla použita rovnice kalibrační přímky. Hodnoty jsou uvedeny v *Tabulka 10*.

Tabulka 10: LOD a LOQ pro kyselinu vinnou

LOD	$1{,}158 \cdot 10^{-4}$	$mol \cdot dm^{-3}$
LOQ	$3{,}603 \cdot 10^{-4}$	$mol \cdot dm^{-3}$

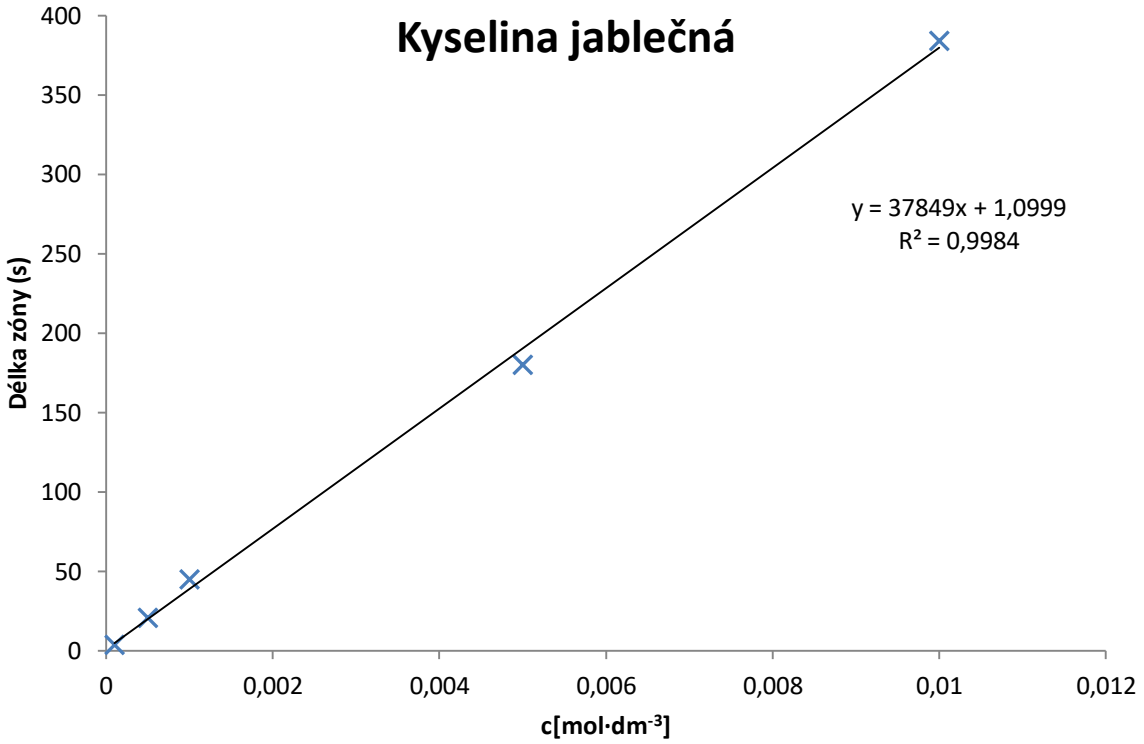


Obrázek 14: Kalibrační křivka kyseliny citronové

Pro stanovení hodnot LOD a LOQ pro kyselinu citronovou byla použita rovnice kalibrační přímky. Hodnoty jsou uvedeny v *Tabulka 11*.

Tabulka 11: Hodnoty LOD a LOQ pro kyselinu citronovou

LOD	$1{,}952 \cdot 10^{-5}$	$mol \cdot dm^{-3}$
LOQ	$6{,}443 \cdot 10^{-5}$	$mol \cdot dm^{-3}$

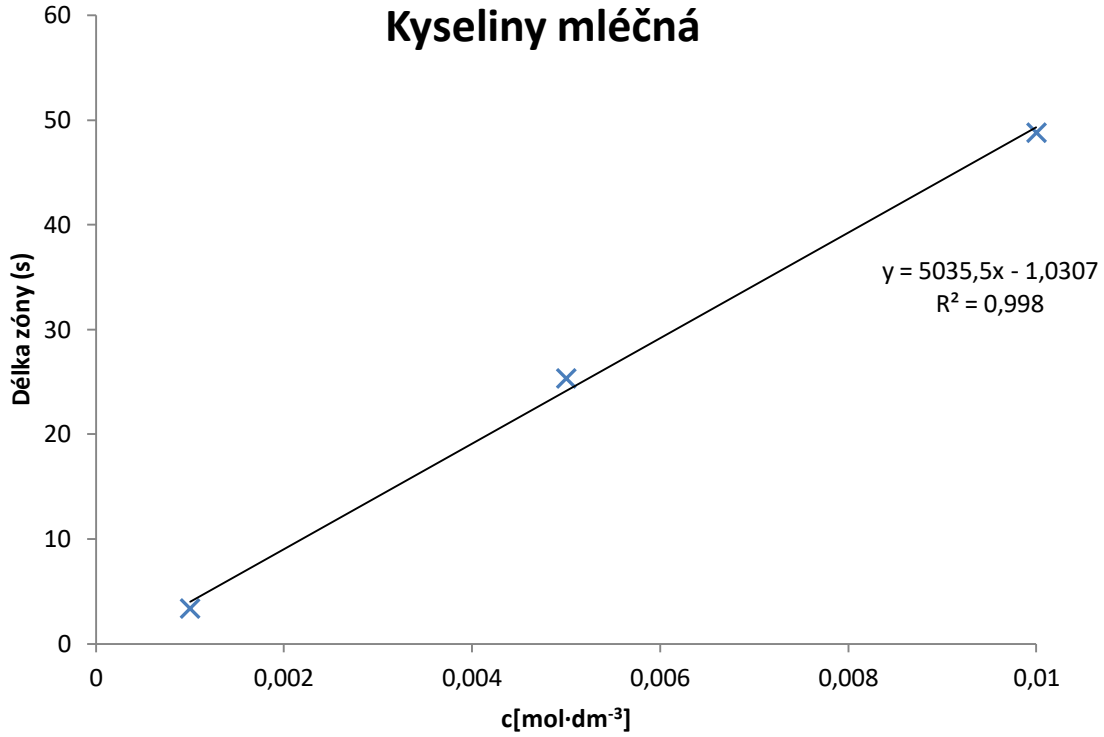


Obrázek 15: Kalibrační křivka kyseliny jablečné

Pro stanovení hodnot LOD a LOQ pro kyselinu jablečnou byla použita rovnice kalibrační přímky. Hodnoty jsou uvedeny v *Tabulka 12*.

Tabulka 12:Hodnoty LOD a LOQ pro kyselinu jablečnou

LOD	$3{,}554 \cdot 10^{-4}$	$mol \cdot dm^{-3}$
LOQ	$1{,}253 \cdot 10^{-3}$	$mol \cdot dm^{-3}$

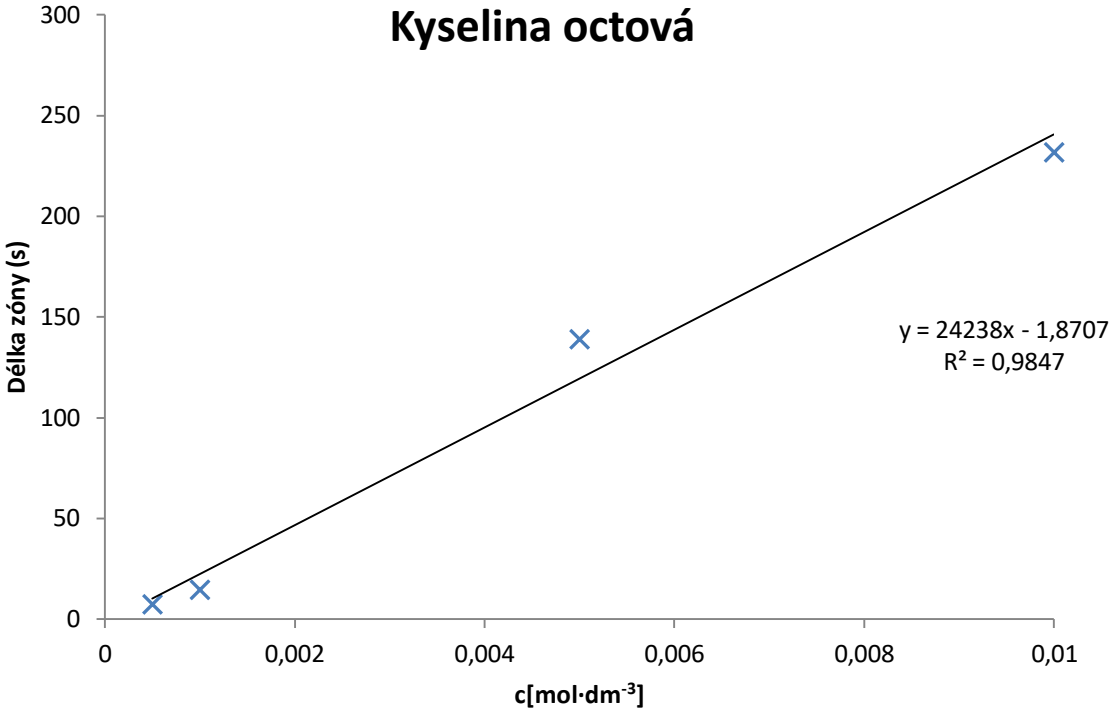


Obrázek 16: Kalibrační křivka kyseliny mléčné

Pro stanovení hodnot LOD a LOQ pro kyselinu mléčnou byla použita rovnice kalibrační přímky. Hodnoty jsou uvedeny v *Tabulka 13*.

Tabulka 13:Hodnoty LOD a LOQ pro kyselinu mléčnou

LOD	$2{,}047 \cdot 10^{-4}$	$mol \cdot dm^{-3}$
LOQ	$6{,}755 \cdot 10^{-4}$	$mol \cdot dm^{-3}$



Obrázek 17: Kalibrační křivka kyseliny octové

Pro stanovení hodnot LOD a LOQ pro kyselinu octovou byla použita rovnice kalibrační přímky. Hodnoty jsou uvedeny v *Tabulka 13*.

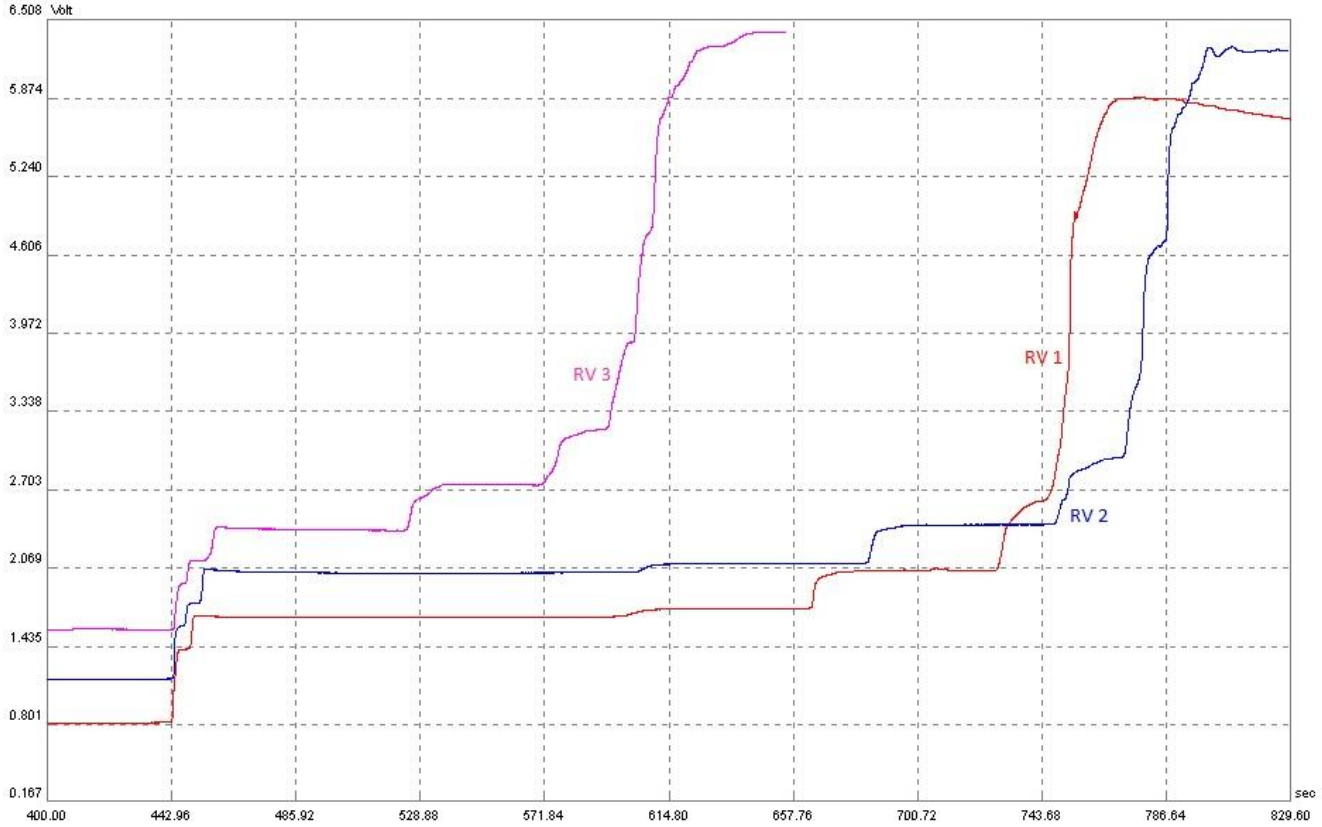
Tabulka 14:Hodnoty LOD a LOQ pro kyselinu mléčnou

LOD	$7{,}609 \cdot 10^{-4}$	$mol \cdot dm^{-3}$
LOQ	$2{,}356 \cdot 10^{-3}$	$mol \cdot dm^{-3}$

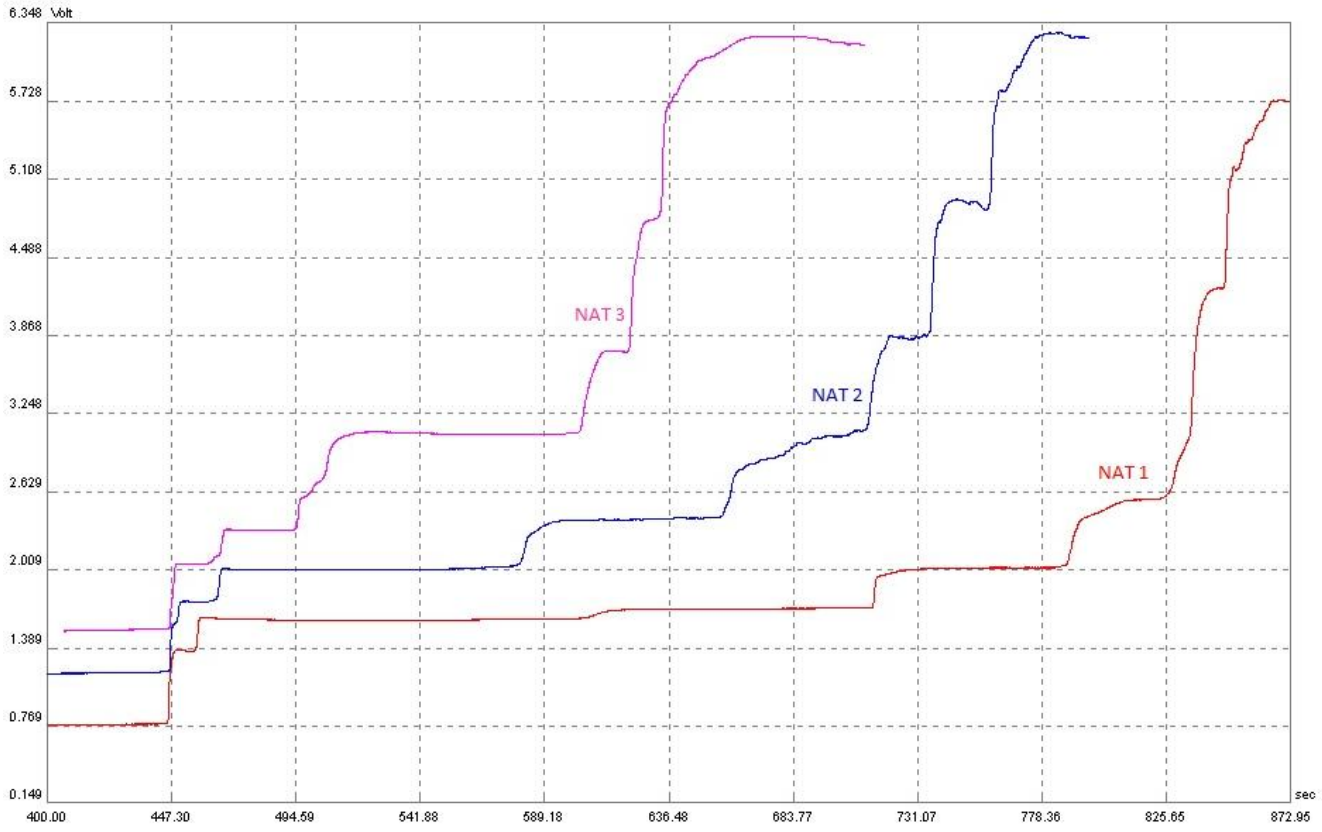
6.3 Reálné vzorky

Pro měření reálných vzorků bylo zvoleno jako optimální ředění 10krát. Při nižším ředění byla koncentrace kyselin ve vzorku příliš vysoká a nedošlo tak k úplné separaci kyselin v nastaveném čase.

Výstupem z analýzy byly izotachoforegramy, které jsou vyobrazeny na *Obrázek 18* a *Obrázek **19***.



Obrázek 18: Izotachoforegram pro vzorky Ryzlinku vlašského



Obrázek 19: Izotachoforegram pro vzorky Nativy

Pro přesné určení kyselin byly použity RSH faktory získané při měření standardních roztoků. Pro výpočet koncentrací kyselin byly použity rovnice regrese z kalibračních přímek uvedených v kapitole 6.2.

Tabulka 15: Výsledky pro vzorky Ryzlinku vlašského

Ryzlink vlašský					
Vzorek	RSH [-]	Délka zóny [s]	Příslušná kyselina dle RSH	Koncentrace [mol·dm^{-3}]	Koncentrace [g·dm^{-3}]
RV1	0,172	207,08	Vinná	0,0057	0,8535
	0,243	62,10	Jablečná	0,0016	0,2161
RV2	0,173	213,53	Vinná	0,0059	0,8800
	0,243	63,08	Jablečná	0,0016	0,2196
	0,685	2,20	Mléčná	0,0006	0,0578
RV3	0,168	70,03	Vinná	0,0019	0,2897
	0,222	7,88	Citronová	0,0001	0,0229
	0,240	41,23	Jablečná	0,0011	0,1422
	0,675	5,75	Mléčná	0,0013	0,1213

Tabulka 16: Výsledky pro vzorky Nativy

Nativa					
Vzorek	RSH [-]	Délka zóny [s]	Příslušná kyselina dle RSH	Koncentrace [mol·dm^{-3}]	Koncentrace [g· dm^{-3}]
NAT1	0,179	253,80	Vinná	0,0069	1,0457
	0,252	72,18	Jablečná	0,0019	0,2518
	0,713	4,70	Octová	0,0003	0,0163
NAT2	0,164	114,68	Vinná	0,0032	0,4734
	0,219	5,20	Citronová	0,0001	0,0096
	0,240	72,25	Jablečná	0,0019	0,2521
	0,268	2,00	Mléčná	0,0006	0,0542
	0,735	2,33	Octová	0,0002	0,0104
NAT3	0,170	28,65	Vinná	0,0008	0,1195
	0,228	4,60	Citronová	0,00003	0,0067
	0,240	88,13	Jablečná	0,0023	0,3083
	0,690	7,13	Mléčná	0,0016	0,1459

Získaná data dokazují, že během procesu kvašení a zrání vína dochází u některých kyselin k postupnému poklesu koncentrace.

Nejhojněji zastoupenou kyselinou v moštu je kyselina vinná, která se během fermentace a zrání vysráží jako hydrogenvinan draselný. Kyselina jablečná je oproti kyselině vinné v moštu zastoupena v mnohem menší koncentraci, což značí optimální vyzrálost hroznů při zpracování. Kyselina citronová je naopak zastoupena ve stopovém množství pouze v některých vzorcích, a to vlivem dobré rozložitelnosti bakteriemi mléčného kvašení. Kyselina mléčná se objevuje až v částečně zkvašeném moštu, kdy její koncentrace výrazně stoupá, až do ukončení procesu jablečno-mléčné fermentace.

Kyselina octová se projevuje pouze ve Vzorcích NAT1 a NAT2, a to díky pravděpodobnému výskytu ušlechtilé plísně *Botrytis cynerea*, která se vyskytovala v hroznech.

7 Závěr

Tato bakalářská práce se ve své teoretické části zabývá vlastnostmi, složením a (ne)prospěchem vína.

V rámci experimentální části práce bylo stanoveno 5 vybraných organických kyselin (vinná, jablečná, citronová, mléčná a octová). Analýze byly podrobeny tři fáze výroby vína, a to mošt, částečně zkvašený mošt a víno. Všechny vzorky byly odebrány ve Vinařství Baláž. Jako zástupce bílých odrůd byl zvolen Ryzlink vlašský, jako zástupce červených odrůd Nativa. Organické kyseliny byly stanoveny pomocí kapilární izotachoforézy.

Pro kvalitativní i kvantitativní stanovení byla využita metoda kalibračních křivek. Pro každou kyselinu byly stanoveny mez detekce a mez kvantifikace.

Všechny vzorky bylo nutné před analýzou 10x zředit, aby došlo k optimální separaci kyselin.

Získané výsledky byly porovnány s teoretickými předpoklady obsahu kyselin v daných fázích. U obou odrůd byla potvrzena dobrá vyzrálost hroznů a u odrůdy Nativa byl v důsledku obsahu kyseliny octové v moštu odhalen pravděpodobný výskyt plísně *Botrytis cynerea.*

Literatura

[1] A. DOMINÉ, Wine, Köln: Könemann, 2004.

[2] „www.wineofczechrepublic.cz," [Online]. Available: https://www.wineofczechrepublic.cz/nase-vina/vinarske-regiony/vinarska-oblast-morava.html.

[3] P. Pavloušek a B. Pavla, Vše, co byste měli vědět o víně: a nemáte se koho zeptat, Praha: Grada, 2015.

[4] V. FIC, Víno: analýza, technologie, gastronomie, Český Těšín: 2 THETA, 2015.

[5] R. STEIDL, Sklepní hospodářství, Valtice: Národní vinařské centrum, 2010.

[6] J. Farkaš, Biotechnológia vína. 2. vydání, Bratislava: Alfa, 1983.

[7] M. MICHLOVSKÝ, Lexikon chemického složení vína: příručka praktického vinaře, Rakvice: Vinselekt Michlovský, 2014.

[8] J. Vlček, „Kyseliny obsažené ve vínech," Mendelova univerzita v Brně, 2 Květen 2012. [Online]. Available: http://www.chempoint.cz/kyseliny-obsazene-ve-vinech.

[9] J. DYR, Organické kyseliny a rozpouštědla Díl II. - Organické kyseliny, Praha: SNTL, 1957.

[10] P. Burešová a P. Pavloušek, Vše, co byste měli vědět o víně, Grada Publishing a.s., 2014.

[11] P. Diviš, „Co nám mohou kovy říci o víně," Fakulta chemická, VUT v Brně, 2 Březen 2011. [Online]. Available: http://www.chempoint.cz/co-nam-mohou-kovy-rici-o-vine.

[12] „www.e-chembook.eu/cz/biochemie/enzymy," [Online]. Available: http://www.e-chembook.eu/cz/biochemie/enzymy.

[13] „WWW.mojechemie.cz," [Online]. Available: http://www.mojechemie.cz/Biochemie:Enzymy.

[14] M. Šamánek a U. Z., Když víno léčí, Praha: Galén, 2013.

[15] D. Kaniansky, Kapilárna izotachoforéza: Základné principy, Spišská Nová Ves: Ústav rádiológie a využitie jadrovej techniky, 1985.

[16] P. Klouda, Moderní analytické metody, Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko, 2016.

[17] P. Boček, Analytická kapilární izotachoforéza, Praha: Academia, 1987.

[18] K. Štulík, Analytické separační metody, Praha: Karolinum, 2004.

[19] J. Pazourek, „Moderní elektroforetické analytikcé metody," v *Přednášky pro magisterské studium*, Brno, 2003.

[20] P. Pavlouše, Encyklopedie révy vinné, Brno: Computer Press, 2007.