

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra pedologie a ochrany půd



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Stanovení hliníku a organických kyselin s nízkou
molekulovou hmotností ve víně a vzájemný vztah těchto
složek**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Alena Janošcová

**Obor studia: Kvalita potravin a zpracování zemědělských
produktů (QUALIM)**

Vedoucí práce: Mgr. Filip Polák, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že diplomovou práci na téma "Stanovení hliníku a organických kyselin s nízkou molekulovou hmotností ve víně a vzájemný vztah těchto složek", jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury. Jako autorka diplomové práce prohlašuji, že jsem při jejím vypracování neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13.04.2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu práce Mgr. Filipu Polákovi, Ph.D. za trpělivost, věnovaný čas a vstřícnost při konzultacích. Dále bych chtěla poděkovat svým rodičům za jejich podporu při studiu a v neposlední řadě panu RSDr. Josefu Michálkovi a MUDr. Petru Lesnému, Ph.D.

Stanovení hliníku a organických kyselin s nízkou molekulovou hmotností ve víně a vzájemný vztah těchto složek

Souhrn

Hliník (Al) je prvkem, který postrádá biologickou funkci a jeho koncentrace ve víně by mohla při nadměrném užívání, potenciálně způsobit vážná onemocnění. Z tohoto důvodu se práce zaměřila na výzkum obsahu Al ve víně, s konkrétní vazností na organické kyseliny, které představují významnou, vysoce reaktivní složku vína.

Celkem bylo provedeno měření na 15 vzorcích vína, kde byla pozorována koncentrace Al v rozmezí 624–2302 $\mu\text{g/l}$. V červeném víně se obsah pohyboval v rozmezí 624–1614 $\mu\text{g/l}$ a v bílém 696–2302 $\mu\text{g/l}$. Důvodem vyššího obsahu Al v porovnání s červeným je především díky vyšší celkové kyselosti, která umožňuje přestup Al z bentonitu během výroby vína, co naznačuje i silná pozitivní korelace ($r = 0,59$).

V rámci organických kyselin bylo stanoveno 10 z 13 očekávaných kyselin, kdy nejvyšší celková koncentrace ve víně dosahovala až 3387 mg/l. V nejvyšším obsahu byly zastoupené kyselina vinná (445–2040 mg/l), mléčná (54,7–1750 mg/l) a jablečná (3,62–1820 mg/l), méně už kyselina octová (35–212 mg/l), šťavelová (11,6–67,5 mg/l) a galakturonová (6,50–24,8 mg/l), zatímco kyselina citronová (6,05–412 mg/l), mravenčí (0,24–1,70 mg/l), jantarová (17,1–406 mg/l) a fumarová (1,56–3,82 mg/l) nebyly pokaždé stanoveny.

Simulováním interakcí reálných koncentrací Al a vybraných organických kyselin pomocí programu Visual MINTEQ 3.1 se odhaduje, že Al může přednostně, tvořit komplexy zejména s kyselinou šťavelovou, citronovou a vinnou. S přihlédnutím na vysokou koncentraci a dobrou schopnost interagovat s hliníkem je v reálném víně očekáván i vznik komplexů s kyselinou jablečnou. Celkový obsah hliníku vázaného na konkrétní organické kyseliny bude však ovlivněn stabilitou komplexu, která bude záviset od hodnoty pH vína.

Z experimentálních stanovení vyplývá, že hodnoty pH budou především ovlivňovat vázání Al při nízkých hodnotách pH (3,01) zejména na kyselinu mléčnou, jantarovou a octovou, méně se vliv tohoto pH projeví u kyseliny jablečné. Zvýšením pH (3,69) se však u těchto kyselin zlepšuje schopnost stabilně Al vázat, což se projevilo dodatečným poklesem signálu měřitelných molekul. U kyseliny jablečné a mléčné přibližně o 24 %, jantarové o 43 % a octové až o 67 %. Kyseliny šťavelová, vinná a citronová nebudou změnou pH ovlivněny skoro vůbec, jejich schopnost vázat stabilně hliník se změní jen o 6 %.

Rozsah interakce Al s organickými kyselinami bude primárně určen hodnotou disociační konstanty kyseliny (pK_a), která definuje schopnost molekuly udržet negativní náboj a setrvat v disociovaném stavu v závislosti od podmínek pH, kdy nižší hodnoty pK_a budou potenciálně vázaný Al zvyšovat. Významný faktor bude rovněž počet karboxylových skupin v molekule, díky čemuž bude Al daleko silněji vázán na molekulách se dvěma nebo třemi karboxylovými skupinami. Bez ohledu na hodnotu pH vína bude Al ve značné míře však vázán na organické kyseliny.

Klíčová slova: hliník; organické kyseliny; pH; víno.

Determination of aluminum and low molecular mass organic acids in wine and the relationship of these components

Summary

Aluminium (Al) element lacking a positive biological function and its high content in wine could cause some serious diseases if consumed in excess. For this reason, the aluminium content in wine, with a specific link to organic acids, which represent an important highly reactive component of wine was investigated in this work.

In total, measurements on 15 wine samples determined the Al content in the range of 624–2302 $\mu\text{g/l}$. In red wine its concentrations ranged from 624–1614 $\mu\text{g/l}$ and in white wine they reached 696–2302 $\mu\text{g/l}$. The reason for the higher Al content in white wine compared to red wines is due to the higher total acidity, which allowed transfer of Al from bentonite during the processing and is indicated by strong positive correlation ($r = 0.63$).

Content of 10 of the 13 expected organic acids was subsequently determined, with the highest total acid concentration in the sample reaching 3387 mg/l. The most abundant were tartaric (445–2040 mg/l), lactic (54.7–1750 mg/l) and malic (3.62–1820 mg/l) acid, lower content was observed for acetic (35–212 mg/l), oxalic (11.6–67.5 mg/l) and galacturonic (6.50–24.8 mg/l) acid, while citric (6.05–412 mg/l), formic (0.24–1.70 mg/l), succinic (17.1–406 mg/l) and fumaric (1.56–3.82 mg/l) acid were determined only in some samples.

By simulating the interactions of realistic concentrations of Al with selected organic acids using Visual MINTEQ 3.1, it was shown that in selected samples, Al will form complexes predominantly with oxalic, citric and tartaric acid, but if the abundance and reactivity of malic acid is also taken into consideration, formation of complexes with malic acid will also be expected to occur in real wine. Total Al content bound to specific acids will be influenced by the complex stability, which will depend on pH level of wine.

From experimental results it is obvious, that pH value will mainly influence Al bonding at low pH (3.01) especially for lactic, succinic, and acetic acid, less so for malic acid. On the other hand, increase of pH (3.69) will lead to drastic improvement in ability to bond the aluminium, as additional decrease in measurable molecule content was observed. For malic and lactic acid by 24 %, succinic acid by 43 % and acetic acid by 67 %. Oxalic, citric and tartaric acids won't be influenced by pH significantly, as their ability to interact with Al changed only by 6 %.

Scale of Al interaction with organic acids will be given by value of acid dissociation constant (pK_a), which defines the ability of molecule to retain the negative charge and remain in dissociated (reactive) state depending on pH value. Lower the pK_a , higher potential for Al bonding. Other important factor is the number of carboxyl groups in molecules, where Al bonding will be much greater with organic acids with two or three carboxyl groups. Despite the pH value of wines, the content of organic acids bound Al will be significant.

Keywords: aluminium; organic acids; pH; wine.

Obsah

1. Úvod	9
2. Vědecká hypotéza a cíle práce	10
3. Literární rešerše.....	11
3.1 Historie a současnost vína na území České republiky	11
3.2 Chemické složení vína.....	12
3.2.1 Etanol.....	12
3.2.2 Cukry	13
3.2.3 Dusíkaté látky	13
3.2.4 Fenolové sloučeniny	13
3.2.5 Kyseliny	14
3.2.6 Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností.....	14
3.3 Hliník.....	20
3.3.1 Hliník a člověk.....	21
4. Materiál a metody	23
4.1 Vzorok vína.....	23
4.2 Měření pH.....	23
4.1 Příprava vzorků pro analýzu pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP-OES)	24
4.2 Příprava vzorků pro analýzu pomocí kombinované metody iontové chromatografie s hmotnostní spektrometrií s ionizací v elektrospreji (IC-MS) .	24
4.3 Příprava roztoků pro analýzu pomocí izotachoforézy (ITP)	24
4.4 Příprava standardů pro kalibraci.....	25
4.5 Iontová chromatografie kombinovaná s hmotnostní spektrometrií s ionizací v elektrospreji.....	25
4.6 Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou.....	26
4.6.1 Izotachoforéza.....	27
5. Výsledky.....	29
5.1 Měření pH.....	29
5.2 Celkový obsah hliníku.....	30
5.3 Celkový obsah organických kyselin ve vzorcích	31
5.4 Interakce hliníku s organickými kyselinami.....	34
6. Diskuze.....	38
6.1 Obsah hliníku ve vínech.....	38
6.1.1 Dietární příjem hliníku z vína	40
6.2 Obsah organických kyselin ve vínech.....	41
6.3 Interakce organických kyselin a hliníku	46
6.3.1 Speciační analýza v programu Visual MINTEQ 3.1.	49

6.4	Spojitost mezi barvou vína, obsahem hliníku a pH	51
7.	Závěr.....	53
8.	Literatura.....	55
9.	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	63
10.	Samostatné přílohy.....	I

1. Úvod

Víno patří z kulturního i historického hlediska mezi nejvýznamnější nápoje. Podle odhadů Mezinárodní organizace pro vinnou révu a víno (OIV) dosáhla světová spotřeba tohoto moku závratných 234 milionů hektolitřů. Z toho jen v České republice se konkrétně zkonsumovalo cca 1 %, což představuje asi 2,1 milionu hektolitřů (Karlsson & Karlsson 2021), tj. průměrně 20 litrů vína na obyvatele (Český statistický úřad 2021), bez ohledu na věk.

Jedním z důvodů, proč konzumace vína dosahuje celosvětově takového množství, je dle četných studií poznatek, že střídmá konzumace vína příznivě ovlivňuje zdraví a dlouhověkost (Doll et al. 1994; Gronbaek et al. 1995). Víno člověku poskytuje kyseliny vinnou, citronovou nebo jablečnou, považované za zdraví prospěšné, a současně lidskému organismu přispívá esenciálními prvky jako K, Ca, Mg, Cr, Co, Fe, F, I, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, Zn (Eschauer & Neeb 1988).

Na druhé straně je ve víně obsažen také hliník, který nemá biologickou funkci (Exley & Mold 2014) a v přírodě jsou známy spíše jeho negativní vlivy. V lidské medicíně je nejčastěji dáván do souvislosti se vznikem Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby. I přes tyto informace legislativa jen málokdy požaduje monitoring koncentrace tohoto potenciálně toxického prvku, a to navzdory skutečnosti, že prokazatelně ovlivňuje stabilitu vína. Koncentrace přibližně nad 3 mg/l hliníku může vést k tzv. hliníkovému zákalu (Massey & Taylor 1989).

Především však v zemích jako jsou USA, Francie a Itálie, které patří mezi nejvýznamnější konzumenty vína (30 % celosvětové spotřeby), může tato potravina představovat nepřehlédnutelný zdroj konzumovaného hliníku. Tématu obsahu hliníku ve víně by však měla být věnována větší pozornost mj. proto, že organické kyseliny, kterým je přičítán prospěšný vliv a zároveň představují neodmyslitelnou složku vína, s tímto potenciálně toxickým prvkem velice ochotně tvoří hlinité komplexy (Morrison & Rabellotti 2017).

2. Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem předkládané diplomové práce je v laboratorních podmínkách zkoumat vzájemný vztah mezi organickými kyselinami s nízkou molekulovou hmotností a hliníkem obsaženým ve víně. V průběhu práce budou ve vzorcích kvantitativně a kvalitativně stanoveny organické kyseliny pomocí kombinované metody iontové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Stanovení hliníku provedu pomocí emisní optické spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Prostřednictvím izotachoforetické analýzy blíže specifikuji interakce mezi ionty organických kyselin a hliníku.

Mou snahou bylo potvrdit sledovanou vědeckou hypotézu, že speciace hliníku v mírně kyselém prostředí bohatém na organické ligandy bude řízena dostupností těchto ligandů a stabilitou vznikajících komplexů. Onou hypotézou je míra korelace mezi tvorbou hlinitých komplexů způsobených zvýšenou koncentrací organických kyselin s přístupnými ligandy. Zjišťovala jsem celkový obsah ligandotvorného hliníku ve vzorcích, obsah jednotlivých kyselin ve vzorcích a následné korelace této hypotézy.

Zkoumaná hypotéza byla potvrzena prokázanou reaktivitou hliníku s obsaženými organickými kyselinami, kdy docházelo k jednoznačnému poklesu koncentrace organických kyselin v průběhu komplexotvorné reakce. Nejvyšší reaktivita byla prokázána v případě kyseliny citronové a kyseliny šťavelové.

3. Literární rešerše

3.1 Historie a současnost vína na území České republiky

Vinná réva je na Moravě pěstována přibližně od 3. století našeho letopočtu, kdy byly na příkaz římského císaře Marka Aurelia Proba vysazeny vinice poblíž již zaniklé vesnice Mušov pod Pálavou, odkud se pěstování révy rozšířilo po celé jižní Moravě (Pátek 2001). Je ale možné, že na naše území dováželi révu několik století před Římany již Keltové. Podle Rageot et al. (2019), pili Keltové víno na území dnešního německého regionu Baden–Württembergsko (jihozápadní Německo), již v době železné, tedy dlouho před příchodem Římanů. Hroznové víno bylo pravděpodobně dovezeno ze Středomoří, důkaz o výrobě vína však nebyl potvrzen. Zdá se pravděpodobné, že Heunebergští Keltové pili víno dovezené buď z Řecka, či pravděpodobněji z řeckých kolonií v jižní Itálii nebo Francii (Millar 2019).

Kořeny výlučně českého vinařství jsou spojeny především s šířením křesťanství. Z klášterních dokumentů se dozvídáme, že hrozny byly v 10. a 11. století pěstovány nejen na území Velké Moravy, ale také v okolí Mělníka, Lovosic, Žernoseka, Litoměřic, Žalhostic a Loun (Ševčík 1999). První domácí písemná zmínka o víně pochází ale až od Kosmase, který ve své kronice z počátku 12. století zmiňuje, jak Libuše a Přemysl pili společně víno.

Vinařství na Moravě posléze zaznamenalo od 13. století velký rozvoj díky podnikání měšťanů, s čímž je spojován začátek vzniku největších moravských vinařských center, jako jsou Židlochovice, Mikulov, Hustopeče, Strážnice a Znojmo. Zejména královská péče Karla IV. přispěla k rychlému rozvoji vinařství (Kraus 2005), kdy v roce 1358 nařídil výsadbu vinné révy na území Prahy, Karlštejna a Mělníka, a později zavedl vinařský režim, dohled nad vínem, dovozní kvóty a další předpisy (Ševčík 1999; Pátek 2001).

V období před rokem 1618 (před třicetiletou válkou) dosahuje české a moravské vinařství dalšího velkého rozmachu, kdy vinice na Moravě a v Čechách pokrývaly plochu asi 20 000 a 15 000 hektarů (Ševčík 1999). Vinice byly poté značně zdevastovány třicetiletou válkou, česko-maďarskými a napoleonskými válkami.

Ve druhé polovině 19. století je zaznamenáván v našich oblastech opětovný rozkvět a kolem roku 1886 dosahuje vrcholu. Tehdy rozloha vinic jen na Moravě zaujímala plochu 30 260 hektarů. Nedlouho poté však vinice začali decimovat roztoči a choroby, což značně snížilo výnosy a ziskovost (Pátek 2001). Na počátku 20. století moravští vinaři čelili silné konkurenci rakouských vinařů, kteří se snažili kvalitu českého vína zdiskreditovat. První světová válka (1914-1918) přerušila jakýkoli pozitivní vývoj. Situace ve vinařství se zlepšila až po roce 1918 se vznikem tehdejší Československé republiky (Kuttelvašer 2003).

K významnému rozvoji došlo na konci 20. století, kdy restituace vinic a privatizace vedly k obnově rodinných vinařství i vzniku nových firem. Velké změny přinesl vinařský zákon z roku 1995 a jeho pozdější propojení s legislativou Evropské unie po vstupu České republiky do unie v roce 2004. Současné české vinařství využívá moderní šetrné technologie a orientuje se na výrobu vín, která se řadí mezi světovou špičku, což dokazují mnohá ocenění

z nejprestižnějších světových soutěží (Národní vinařské centrum 2021). Vzestup českého vinařství potvrzuje skutečnost, že se v roce 2020 sklídilo ze 16 000 hektarů produkčních vinic 68 tisíc tun vinných hroznů, z nichž se vyrobilo 480 tisíc hektolitrů vína.

Podle statistických údajů činila spotřeba na jednoho obyvatele ČR v roce 2020 průměrně mezi 21 a 19,6 litry vína, tj. čtyřikrát více než v roce 1963 (Karlsson & Karlsson 2021). Domácí produkce vína pokryla spotřebu přibližně z jedné čtvrtiny, dovezeno bylo kolem 1,4 milionů hektolitrů vína především z Itálie, Maďarska a Španělska (Lhotská 2021).

3.2 Chemické složení vína

Víno v základní míře představuje směs vody, etanolu a jiných sloučenin. Obsah vody ve víně, který může být až 90 %, udává podmínky pro sloučeniny rozpustné, nebo mísitelné s vodou, v jejichž souladu víno získává své charakteristické atributy. Základní chuť vína však podmiňuje 20 nebo více sloučenin. Jemné rozdíly, které odlišují jednotlivá vína, však závisí na ještě větším počtu látek (Jackson 2014).

3.2.1 Etanol

Tento dvouuhlíkový alkohol pochází z metabolické aktivity kvasinek. Je jedním z hlavních produktů fermentace. Za standardních podmínek může etanol dosahovat obsahu 14 až 15 %. Postupným přidáváním cukru v průběhu fermentace lze dosáhnout i vyššího obsahu (max 17 %). Hlavní faktory, ovlivňující produkci etanolu, jsou obsah cukru, teplota kvašení a použitý kmen kvasinek.

Etanol ve víně má rozhodující vliv na stabilitu, stárnutí, senzorycké vlastnosti a vystupuje jako důležité rozpouštědlo pro extrakci nepolárních aromatických látek z hroznů. Etanol může také zvýšit intenzitu hořkosti, snížit svíravost tříslovin a ovlivnit těkavost aromatických sloučenin. Spolu s dalšími alkoholy pomalu reaguje s organickými kyselinami za vzniku esterů (Jackson 2014).

Etanol ovlivňuje přímo i aktivitu kvasinek. Je například inhibitorem růstu kvasinek v relativně nízkých koncentracích, inhibuje buněčné dělení, snižuje objem buněk a specifickou rychlost růstu nebo ovlivňuje buněčný metabolismus a makromolekulární biosyntézu. Reguluje také typy a množství aromatických sloučenin produkovaných a uvolňovaných během fermentace (Stanley et al. 2010).

3.2.2 Cukry

Množství cukru ve víně, souhrnně nazývaný „zbytkový cukr“, je podřízen počátečnímu obsahu glukózy a fruktózy v bobulích, který podmiňuje růst a metabolismus kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, nakolik tento druh má jen omezenou schopnost fermentovat jiné látky. Podle obsahu „neskvašeného“ cukru, který tvoří hlavně fruktóza, se vína dělí na:

- Suchá vína – obsah zbytkového cukru maximálně 4 g/l.
- Polosuchá vína – obsah zbytkového cukru 4 až 12 g/l.
- Polosladká vína – obsah zbytkového cukru 12 až 45 g/l.
- Sladká vína – obsah zbytkového cukru více než 45 g/l
- Ledová vína – obsah zbytkového cukru mezi 180–320 g/l

(Burešová & Pavloušek 2015).

3.2.3 Dusíkaté látky

Ve víně tyto látky tvoří hlavně amonné ionty, aminokyseliny, proteiny a polypeptidy (Burešová & Pavloušek 2015). Komplexní organické sloučeniny dusíku jako pyrimidiny, proteiny nebo nukleové kyseliny, i když nezbytné pro růst a metabolismus kvasinek, jen zřídka přímo přispívají k senzorickým vlastnostem vína. Na druhé straně estery, tvoří základ ovocných a květinových vůní, a proto mají velký význam (Burešová & Pavloušek 2015). Víno také obsahuje malé množství netěkavých biogenních aminů, jako je histamin, tyramin nebo fenylethylamin vznikajících dekarboxylací aminokyselin. Obvykle se vyskytují v množství několika mg/l. Jejich vyšší obsah je všeobecně pozorován v červeném víně, neb zde existuje větší pravděpodobnost, že budou podléhat jablečno-mléčné fermentaci. Při výrazně vyšších koncentracích mohou tyto látky u vnímavých jedinců způsobit bolesti hlavy, hypertenzi nebo alergické reakce. Biogenní aminy se však jen zřídka vyskytují v koncentracích schopných samy o sobě tyto účinky vyvolat. Přítomnost zákalu, který lze ve víně také pozorovat, pak tvoří koloidy proteinů (Jackson 2014).

3.2.4 Fenolové sloučeniny

Tyto látky hrají hlavní roli v barvě vína. Ovlivňují čirost, aroma a chuť neboli organoleptickou kvalitu vín, a zlepšují stabilitu vína. Také mají vliv na barvu, hořkost a stárnutí vína. Fenolové sloučeniny se dělí na třísloviny (taniny), flavony a flavonoly, anthokyany, fenolové kyseliny (Michlovský 2014).

Fenolové kyseliny a zejména deriváty kyseliny benzoové a skořicové jsou z hlediska chuti a aroma považovány za sloučeniny, které nepřinášejí významné změny v chuťových vlastnostech vína. Po jejich transformaci na těkavé fenoly však přinášejí vínu příjemné tóny. Specifickou skupinou derivátů fenolových kyselin jsou kumariny, které pocházejí ze sudového dřeva, nakolik se tyto sloučeniny v hroznech nevyskytují. Přítomnost kumarinů i ve velmi malé koncentraci přináší vínu hořkost (Michlovský 2014).

3.2.5 Kyseliny

Kyseliny obsažené ve víně se obvykle dělí na těkavé a vázané, a jsou ve velké míře zodpovědné za chuťový vjem kyselosti. Těkavé kyseliny neboli těkavá kyselost zahrnuje kyseliny, které lze snadno odstranit destilací párou, zatímco vázané kyseliny jsou jen málo těkavé. Všechny těkavé kyseliny mají svůj vlastní zápach, ale obvykle se vyskytují na sensoricky detekovatelných úrovních pouze u mikrobiálně zamořených vín. Kombinace obou kategorií udává celkovou kyselost vína, která může být vyjádřena v ekvivalentech kyseliny octové, případně v ekvivalentech jiné kyseliny (Robles et al. 2019).

Z kyselin organického původu představuje kyselina octová hlavní těkavou kyselinu. Ve víně se vyskytuje především jako vedlejší produkt metabolismu kvasinek (rovněž i bakterií) (Jackson 2014). Z jiných skupin kyselin organického charakteru je možné ve víně pozorovat i sulfonové kyseliny ($R-SO_2OH$).

Mimo organických molekul, tvoří ve víně podstatnou část kyselin i ty anorganické. Typicky se do vín dostávají přirozeně v důsledku alkoholové fermentace rozpouštěním plynného oxidu uhličitého (CO_2), za vzniku kyseliny uhličité (H_2CO_3) a uměle během technologického procesu síření pomocí oxidu siřičitého (SO_2), za vzniku kyseliny siřičité (H_2SO_3). Obě tyto kyseliny však nemají významný vliv na pH vína ani na jeho kyselost. Kyselost mohou způsobovat i jiné, obvykle slabší funkční skupiny jako $-OH$ nebo $-SH$ skupiny v řetězci molekul (Štefěcová & Čepička 2001).

3.2.6 Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností

Samostatnou kategorií kyselin, tvoří organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností (dále jen organické kyseliny). Tímto jsou z chemického hlediska označovány nejen organické sloučeniny řazené mezi karboxylové kyseliny ($R-COOH$), ale konkrétně molekuly, které obsahují ve svém řetězci maximálně tři karboxylové skupiny ($-COOH$) a jejich atomová hmotnost není vyšší než 300 g/mol (Fox 1995).

Obecně jsou organické kyseliny, na rozdíl od těch minerálních, slabými kyselinami, protože ve vodě disociace jejich kyselého vodíku (H^+) podléhá pH prostředí (LibreTexts Chemistry 2017). I přesto přítomnost karboxylové (a hydroxylové) skupiny, díky přítomnosti negativního náboje, propůjčuje těmto látkám značnou reaktivitu.

V přírodě jsou organické kyseliny přítomny v mnoha maticích a hrají významnou roli v řadě biologických procesů, např. meziprodukty v rámci Krebsova (citrátového) cyklu (Velíšek 1999). Je však možné pozorovat je také mimo organismy, například v půdě, kde sehrávají rovněž mnoho zásadních funkcí (Polák et al. 2019).

Svoje uplatnění si našli rovněž v potravinářské chemii, kde stále probíhají rozsáhlé výzkumy, protože tyto kyseliny ovlivňují barvu, organoleptické vlastnosti potravin a nápojů nebo jejich trvanlivost, či zdravotní účinky (Velíšek & Hajšlová 2009).

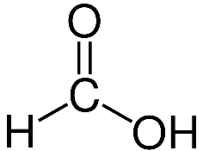
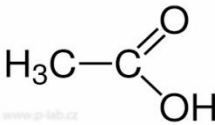
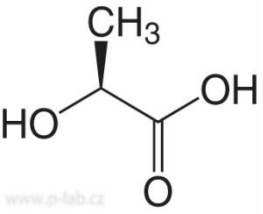
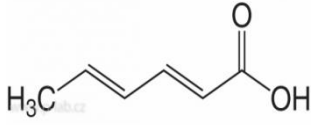
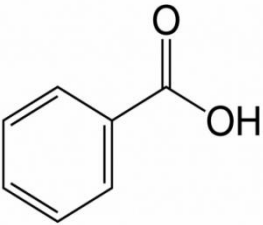
Konkrétně ve víně jsou organické kyseliny důležité pro jeho stabilitu. Jejich analýza ve vínech je nutná pro kontrolu kvality, a také sledování vývoje kyselosti během výroby (počínaje hroznovou šťávou, pokračující procesem alkoholového kvašení a stabilizací vína konče). Důležité změny ve víně lze odhadnout právě na základě změn v obsahu organických kyselin (Bauer et al. 2018).

Kyselost je jedním z nejdůležitějších parametrů v procesu výroby vína, které řídí organické kyseliny přímo z hroznů nebo organické kyseliny vznikající v procesech fermentace.

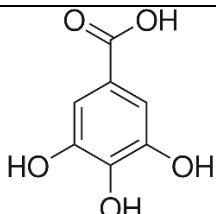
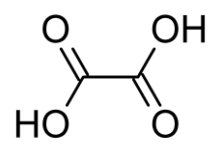
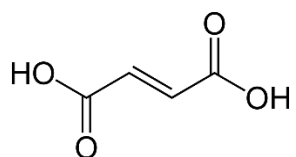
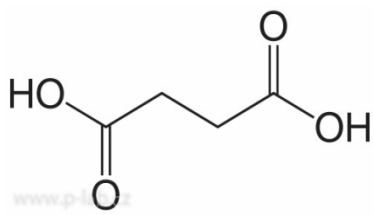
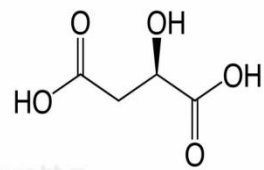
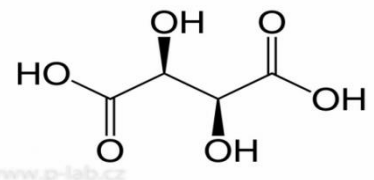
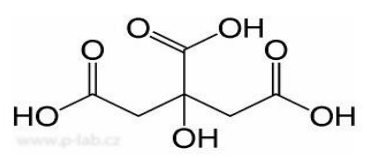
Hlavní organické kyseliny obsažené ve víně (Tabulka č. 1) jsou: kyselina šťavelová, vinná, mravenčí, jablečná, octová, citronová, fumarová, jantarová, gallová a mléčná. Nesprávnou fermentací může vznikat i kyselina máselná. Všechny tyto kyseliny pocházejí:

- přímo z hroznů (více než 90 % organických kyselin obsažených v hroznech je zastoupeno kyselinami jablečnou, vinnou a citronovou) (Yilmaz & Toledo 2004);
- vznikají v důsledku metabolismu mikroorganismů, přeměnou sacharidů v průběhu fermentace (kyselina mléčná, octová a jantarová);
- případně jsou do vína přidávány v procesu výroby (kyselina sorbová a benzoová). (Velíšek & Hajšlová 2009)

Tabulka č. 1a. Charakteristika vybraných organických kyselin, přítomných ve víně.

Organické kyseliny	Molekulová hmotnost (g/mol)	Vzorec
Kyselina mravenčí	46,02	
Kyselina octová	60,05	
Kyselina mléčná	90,08	
Kyselina sorbová	112,13	
Kyselina benzoová	122,12	

Tabulka č. 1b. Charakteristika vybraných organických kyselin, přítomných ve víně.

Organické kyseliny	Molekulová hmotnost (g/mol)	Vzorec
Kyselina gallová	170,12	
Kyselina šťavelová	90,03	
Kyselina fumarová	116,01	
Kyselina jantarová	118,09	
Kyselina jablečná	134,09	
Kyselina vinná	150,09	
Kyselina citronová	192,13	

Zdroj obrázků: www.p-lab.cz

3.2.6.1 Kyselina mravenčí

Je bezbarvá, jedovatá kapalina s vysoce korozivními vlastnostmi a pronikavým zápachem. Má konzervační účinky proti houbám a plísním. Vyskytuje se přirozeně v jablkách i v dalším ovoci, anebo v sekretu mravenců. Využívá se jako konzervant (E236).

V České republice (a celé Evropské unii) není přidávání kyseliny mravenčí do potravin povoleno. Např. v Austrálii je zakázána, ale v USA kyselina mravenčí obdržela status GRAS (generally recognized as safe - tzn. látka je považována za bezpečnou) a je povolena (Winter 2009). Ve víně může vznikat jako vedlejší produkt fermentace (Hohl & Joslyn 1941).

3.2.6.2 Kyselina octová

Kyselina octová je žíravá organická kyselina s charakteristickým ostrým zápachem a pálivou chutí (Kroschwitz et al. 1996). Zároveň je také nejběžnější karboxylovou kyselinou v potravinách. Vyskytuje se běžně v rostlinách ve formě volné kyseliny, i ve formě solí (octanů). Vzniká důsledkem mikrobiální přeměny sacharidů, anebo oxidací etanolu v kvasícím ovoci.

Kyselina octová se používá jako potravinářská přísada s číselným kódem E260. Používá se jako okyselující prostředek a pochutina, působí však také jako konzervant. Pro potravinářské účely se vyrábí stále tradičním biotechnologickým způsobem. Pro její výrobu je využívána skupina gram-negativních bakterií, které jsou schopny oxidovat etanol na kyselinu octovou. Ve víně vzniká přirozeně v průběhu fermentace a patří mezi nejtěkavější vinné kyseliny.

Průměrná koncentrace kyseliny octové ve víně je 0,5 g/l, celkově by měla zůstat pod koncentrací 1,2 g/l. Vysoký obsah kyseliny octové ve víně negativně ovlivňuje jeho vlastnosti. Dochází ke změně celkové kyselosti a rovněž ke změně sensorických vlastností vína (Vilela-Moura et al. 2010).

3.2.6.3 Kyselina mléčná

Kyselina mléčná je bezbarvá kapalina bez zápachu. Používá se jako antioxidant, konzervační látka a rovněž jako regulátor kyselosti (E270). Vzniká v potravinách fermentační přeměnou sacharidů mléčným kvašením. Ve víně vzniká jablečno-mléčným kvašením, kdy bakterie mléčného kvašení metabolizují kyselinu jablečnou na kyselinu mléčnou (Jackson 2014; Burešová & Pavloušek 2015).

Tato fermentace významně ovlivňuje kyselost, chuť a mikrobiologickou stabilitu vína. Ve víně zlepšuje chutnost snížením kyselé chuti kyseliny jablečné a zvyšuje komplexnost aroma. Hladinu kyseliny mléčné je i přesto nutno monitorovat, aby nedošlo ke znehodnocení vína. Může způsobit nadměrné okyselení s následným dopadem na mikrobiální kažení, tvorbu nežádoucích biogenních aminů, či ethyl-karbamátu (Bae et al. 2006; Gil-Sánchez et al. 2019).

3.2.6.4 Kyselina sorbová

Kyselina sorbová je bílou krystalickou sloučeninou s pronikavým zápachem. Svým složením patří do skupiny „organických kyselin s nízkou molekulovou hmotností“, avšak ve víně se přirozeně nevyskytuje a je tudíž přidávána během výrobního procesu jako konzervant (E200), zlepšující trvanlivost. Mimo vína bývá přidávána do nápojů, piva, kečupu, másla nebo majonézy (Velíšek & Hajšlová 2009).

3.2.6.1 Kyselina benzoová

Kyselina benzoová je nejjednodušší aromatickou jednosytnou karboxylovou kyselinou. Jedná se o bílou krystalickou sloučeninu. V přírodě se vyskytuje volně i ve sloučeninách, ale k průmyslovému využití se musí uměle syntetizovat. Dnes se připravuje hlavně dekarboxylací anhydridu kyseliny ftalové v přítomnosti katalyzátoru (oxid zinečnatý). Používá se v potravinářském průmyslu jako konzervační látka (E210). Tato kyselina se nejčastěji přidává do kyselých ovocných nápojů, vína, piva, tabákových výrobků, džemů, kečupů a sladkostí (bonbóny, žvýkačky, zmrzlina) (Hawley 2007).

3.2.6.2 Kyselina šťavelová

Kyselina šťavelová je nejjednodušší dikarboxylová kyselina. Je to pevná, bezbarvá, ve vodě rozpustná krystalická látka, která je jedovatá a má leptavé účinky. Je běžnou kyselinou v mnoha rostlinách, jako je špenát (356–780 mg/100 g), rebarbora (260–620 mg/100 g) a řepný kořen (97–121 mg/100 g). Šťavelan při těchto koncentracích funguje jako účinný antioxidant (Kayashima & Katayama 2002). Mezi víny je hladina šťavelanu vyšší v červeném víně než v bílém víně, její obsah je však relativně nízký (Siener et al. 2017).

3.2.6.3 Kyselina fumarová

Kyselina fumarová je organická bílá krystalická látka bez zápachu, s ovocnou chutí a je špatně rozpustná ve vodě. Není toxická, ale vysoké dávky mohou mít po dlouhodobém užívání toxický vliv na ledviny. Čistá kyselina fumarová má dráždivé účinky. Je to také velmi účinný inhibitor bakterií mléčného kvašení, který je široce používán v potravinářském průmyslu (E297). Jeho použití k inhibici jablečno-mléčné fermentace bylo nedávno povoleno Mezinárodní organizací pro révu a víno (OIV) (Fernández-Vázquez et al. 2021).

3.2.6.4 Kyselina jantarová

Kyselina jantarová je nasycená dikarboxylová kyselina. Jedná se o bílou krystalickou sloučeninu, která je snadno rozpustná ve vodě. Běžně se nachází v ovoci, řepě, přičemž ve víně vzniká jako vedlejší produkt metabolismu kvasinek během alkoholové fermentace. Kyselina jantarová má využití v potravinářství, kde se používá jako regulátor kyselosti (E363), dále ve farmaceutickém průmyslu a v zemědělství (Zeikus et al. 1999).

3.2.6.5 Kyselina jablečná

Kyselina jablečná je hořce chutnající dikarboxylová kyselina. Jedná se o bílou krystalickou látku, která je dobře rozpustná ve vodě. Nachází se v mnoha hořkých, nebo kyselých potravinách (E296). Aniont se nazývá malát a je jedním z meziproductů citrátového cyklu. Kyselina jablečná dává bobulím révy chuť ostrých, hrubých, nezralých tónů. Je přítomna v jablkách a přispívá ke kyselé chuti zelených jablek. Kyselina jablečná může také způsobit hořkou chuť vína, i když její množství v ovoci během dozrávání klesá (Balaščík 2001; Vrbová 2001).

3.2.6.6 Kyselina vinná

Nejdůležitější kyselinou ve víně je kyselina vinná, která je zodpovědná za kyselou chuť hroznů a hraje významnou roli při udržování chemické stability vína a jeho barvy. Kyselina vinná je bezbarvá krystalická látka, dobře rozpustná ve vodě, kyselé chuti. Nachází se například v ananasu, banánech a nezralých hroznech. Používá se hlavně v potravinách a vinařství (E334) (Velíšek 1999).

3.2.6.7 Kyselina citronová

Kyselina citronová je bílá krystalická látka bez zápachu. Nachází se v různých druzích ovoce, zejména citrusových plodů (citrony, pomeranče, grapefruit). Patří do skupiny přírodních konzervantů a má také antioxidační účinky. Kyselina citronová ovlivňuje pH potravin. Používá se jako potravinářská přísada kvůli své příjemné kyselé chuti a je označena číselným kódem E330. Při výrobě vína se přidává i uměle vždy po ukončení primární alkoholové fermentace kvůli tendenci kvasinek přeměňovat kyselinu citronovou na kyselinu octovou (Šilhánková 1987).

3.3 Hliník

Hliník je z hlediska periodické tabulky se svým atomovým číslem na třináctém místě. Má specifickou atomovou hmotnost 26,981 (Greenwood & Earnshaw 2012) a spolu s borem, thaliem, galiem a indiem ho řadíme mezi prvky 3A skupiny. V zemské kůře je hliník třetím nejrozšířenějším prvkem, nejzastoupenějším kovem celkově (Fleischer 1954; Yaroshevsky 2006) a skoro výlučně je zastoupen v podobě stabilního izotopu ^{27}Al . Jiný izotop hliníku je už jenom ^{26}Al , vyskytující se pouze ve stopovém množství (Audi et al. 2003).

V zemské kůře se hliník vyskytuje především ve sloučeninách, nejčastěji s křemíkem a kyslíkem. Díky tomu je součástí mnoha hornin a minerálů. S ostatními prvky se váže nejčastěji kovalentní vazbou a až na několik výjimek vystupuje v oxidačním stupni +III.

Elementární hliník je stříbrnobílý, silně elektropozitivní kov, dobře kujný a tažný s velmi dobrou tepelnou i elektrickou vodivostí. S jinými kovy tvoří slitiny a díky svým amfoterním vlastnostem reaguje s kyselinami i silnými zásadami (Greenwood & Earnshaw 2012). Příklad některých minerálů obsahuje Tabulka č. 2., celkově je známých více než 270 minerálů hliníku.

Tabulka č. 2, Významné minerály obsahující hliník:

Minerál	Chemický vzorec
korund	Al_2O_3
kryolit	Na_3AlF_6
granát	$\text{Ca}_3\text{Al}_2(\text{SiO}_4)_3$
spinel	MgAl_2O_4
beryl	$\text{Be}_3\text{Al}_2(\text{SiO}_3)_6$
andaluzit	$\text{Al}_2(\text{SiO}_4)\text{O}$
monmorillonit	$(\text{Na,Ca})_{0,33}(\text{Al,Mg})_2(\text{Si}_4\text{O}_{10})(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$
vermikulit	$(\text{Mg,Fe}^{+2},\text{Fe}^{+3})_3[(\text{Al,Si})_4\text{O}_{10}](\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
kaolinit	$\text{Al}_2(\text{Si}_2\text{O}_5)(\text{OH})_4$
sericit	$\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$
alunit	$\text{KAl}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$
nefelín	$(\text{Na,K})\text{AlSiO}_4$
leucit	$\text{K}(\text{AlSi}_2\text{O}_6)$

Zdroj: vlastní zpracování (<https://www.mindat.org/>)

Z ekonomického hlediska je nejdůležitější a prakticky jedinou surovinou pro výrobu hliníku bauxit. Je tvořen směsí minerálů diaspor [$\alpha\text{-AlO}(\text{OH})$], böhmit [$\gamma\text{-AlO}(\text{OH})$], gibbsit [$\gamma\text{-Al}(\text{OH})_3$] a bayerit [$\alpha\text{-Al}(\text{OH})_3$] (Gow & Lozej 1993). Poprvé byl objeven v roce 1821 P. Berthierem poblíž francouzského Les Baux v Provence. Kromě hlavního použití pro výrobu hliníku slouží bauxit také jako žáruvzdorný materiál a pro výrobu cementů, v menší míře se používá pro sušidla a katalyzátory v petrochemickém průmyslu (Greenwood & Earnshaw 2012). Jen za rok 2019 bylo celosvětově vytěženo více než 370 miliónů tun této rudy (U.S.Geological Survey 2020).

I když je hliník v životním prostředí přirozeně všudypřítomný, za normálních podmínek není považován za nebezpečný prvek. Změnou pH však dochází k uvolňování ze sloučenin za vzniku forem (neboli specií), u kterých byl potvrzen negativní a toxický vliv.

Toto uvolňování je často vyvoláno antropogenní činností, například jako následek působení kyselých dešťů. Ty zejména v minulosti představovaly významný problém i na území České republiky, spočívajícím v silném okyselování půd. Zvýšená rozpustnost minerálů hliníku zpřístupnila toxické formy hliníku živým organismům. Ze všech forem je za nejvíce toxickou považována monomerní forma $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, v literatuře označovaná jako Al^{3+} a polymerní komplex $[\text{Al}_{13}\text{O}_4(\text{OH})_{24}(\text{H}_2\text{O})_{12}]^{7+}$ zjednodušeně označován jako Al_{13} (Kinraide 1991; Kochian et al. 2005).

Tento polymerní komplex má negativní vliv např. na rostliny a živočichy ve vodním prostředí, kde je proces polymerace hliníku hlavním mechanismem toxicity. Probíhá ideálně při pH 5,0–6,0; což je běžná hodnota pH, které může jejich životní prostředí dosahovat. Pro ryby je nejtoxičtější počáteční fáze polymerace. Hliníkové polymery ulpívají na povrchu žáber a způsobují ucpávání interlamelárních prostor žáber a následně akutní hypoxii (Poléo 1995).

V případě rostlin se toxický vliv Al specií projevuje z hlediska jeho obsahu v půdě. Pro rostliny má nejtoxičtější vliv při hodnotě pH půdy 4,5–5,5. Obsah Al specií v půdě nepříznivě ovlivňuje růst a vývoj rostlin, což ve výsledku snižuje celkový výnos produktu. Dalším jevem je inhibice růstu jejich kořenů. Míra toxicity však záleží na konkrétním genotypu rostliny a její schopnosti se s toxickým vlivem vypořádat (Rahman & Upadhyaya 2021).

Přestože hliník může do přírodního prostředí vstupovat z antropogenních zdrojů, např. jeho průmyslovou výrobou, přírodní zdroje ty antropogenní daleko převyšují. Je to dáno zejména vysokým zastoupením hliníku v zemské kůře. Jeho koncentrace v různých environmentálních složkách jsou závislé na sloučenině a její odolnosti vůči mobilizaci, což značně zvyšuje obtížnost zobecnit odhad nepříznivého dopadu přírodních zdrojů na faunu a flóru. (Deuis et al. 1997).

3.3.1 Hliník a člověk

Hliník se stal jedním z nejpoužívanějších kovů moderní doby. Je součástí konstrukčních materiálů, předmětů každodenní potřeby apod. V minulosti byl považován dokonce za natolik bezpečný, že byl zaveden v potravinářství (například E173, E559) a jeho sloučeniny dokonce v medicíně a kosmetice. V průběhu let se však začaly objevovat důkazy indikující, že se jedná o prvek potenciálně nebezpečný pro lidský organismus. V současnosti je považován za rizikový faktor.

Hlavním zdrojem příjmu hliníku u lidí jsou potraviny, jejichž prostřednictvím vstupuje do lidského organismu. Jedná se o obiloviny, zrající sýry, bylinky, pepř, čaj atd. Živočišné potraviny obsahují obecně menší množství hliníku než rostlinné potraviny, což je dáno nízkým biologickým příjmem hliníku v potravě a omezenou možností přenosu na živočišné produkty jako vejce, mléko (Lione et al. 1984).

Na přítomnost hliníku byly zkoumány například vzorky čokolády, kakaa, čajových nálevů, nealkoholických nápojů a ovocných džusů. Průměrná koncentrace hliníku v čokoládě byla 9,2 mg/kg a jednotlivé hodnoty korelovaly s obsahem kakaa ve vzorcích. Hodnoty hliníku v čajových nálevech byly v rozsahu 0,93–3,3 mg/l, v nealkoholických nápojích byly koncentrace nižší, 9,1–179 $\mu\text{g/l}$ (Sepe et al. 2001). Rostlina čajovníku

(*Camelia sinensis*) akumuluje hliník z půdy, a i proto jsou jeho koncentrace v suchém stavu relativně vysoké, až 1,28 mg/g. V čajovém nálevu jsou menší, protože vroucí vodou se hliník vyluhuje asi z jedné třetiny (Velíšek & Hajšlová 2009). Koncentrace hliníku v nápojích z hliníkových plechovek byly 0,8 mg/l, zvyšovaly se se stoupající kyselostí nápojů. Oproti tomu tytéž nápoje ve skleněných obalech obsahovaly hliník v množství 5,4–345,3 µg/l (Duggan et al. 1992). Pivo skladované v hliníkových sudech po dobu delší než jeden rok má obsah hliníku pod 29 µg/l (Blanco et al. 2010).

Příjem v potravinách je rozdílný v závislosti na složení a původu, na obsahu přídavných látek a jeho koncentrace mohou být zvyšovány i kontaminací z hliníkových nádob (Lione et al. 1984). Odhadovaný denní příjem hliníku v potravinách se pohybuje v rozsahu 0,5–30 mg (Bratakos et al. 2012), ale potenciálně až 95 mg hliníku denně (Greger et al. 1992). Měření celkového denního příjmu hliníku je komplikované kvůli problémům s analýzou a kontaminací vzorků. Výbor FAO/WHO stanovil tolerovatelný týdenní příjem hliníku na 2 mg/kg živé hmotnosti.

I když u zdravého jedince je většina přijatého hliníku vyloučena močí, problematickou se stává až chronická expozice (Velíšek & Hajšlová 2009) právě v důsledku akumulace hliníku v tkáních. I přesto, že účinnost resorpce hliníku v organismu je velmi nízká (kolem 0,1–0,3 %), problematická je jeho akumulace v tkáních (Alfrey et al. 1976).

Strunecká & Patočka (2011) uvádí, že negativní účinky hliníku byly pozorovány u lidí se selháním ledvin. Po dializační léčbě, která trvala 3–7 let se projevila porucha řeči, demence a zmatenost. Podobné pozorování učinili však již Alfrey et al. (1976), kteří udávají jako příčinu hliník v dializačním preparátu.

U zaměstnanců v továrně na výrobu hliníku se projevilo snížení mentálních schopností a psychiatrické poruchy. Existují hypotézy o tom, že hliník je rizikový faktor při vzniku Alzheimerovy nemoci (AN). V 70. letech minulého století bylo zjištěno, že v mozku pacientů s AN přesahuje obsah hliníku horní hranici jeho obsahu u zdravých lidí (Strunecká & Patočka 2011). Další tvrzení, že hliník způsobuje změny vědomí, ztráty paměti, vnímání a orientace nebo ztráty osobnosti či intelektu při AN, nebyly zcela prokázány (Kumar & Gill 2009).

4. Materiál a metody

4.1 Vzorky vína

Pro provedení experimentální části diplomové práce bylo vybráno celkově patnáct volně dostupných nešumivých vín českého původu (CZ), jakož i vína z Maďarska (HU), Austrálie (AU), Itálie (IT) nebo Německa (DE).

Vybraná vína reprezentovala minimálně 9 odrůd hroznů (v případě odalkoholizovaných vín NEB a NEČ výrobce odrůdu neuvádí). Červená vína byla zastoupena pěti odrůdami (osm vzorků) a bílá vína čtyřmi odrůdami (sedm vzorků). Doba sklizně se zaměřovala na roky 2018, anebo 2020. Při některých vínech byly zvoleny oba ročníky, aby bylo možné zhodnotit kolísání obsahu organických kyselin, jakožto i hliníku u stejných odrůd vína. Přehledněji opisuje vybrané vzorky vína Tabulka č. 3 níže.

Tabulka č. 3, Přehled použitých vín:

Označení	Odrůda	Rok sklizně	Barva vína	Původ
MP18	Modrý portugal	2018	Červené	CZ
MP20	Modrý portugal	2020	Červené	CZ
SV18	Svatovavřínecké	2018	Červené	CZ
SV20	Svatovavřínecké	2020	Červené	CZ
MM18	Moravský muškát	2018	Bílé	HU
MM20	Moravský muškát	2020	Bílé	HU
TO18	Muškrát žlutý	2018	Bílé	CZ
TO20	Muškrát žlutý	2020	Bílé	CZ
K18	Cabernet Moravia	2018	Červené	CZ
P20	Primitivo	2020	Červené	IT
TČ18	Tramín červený	2018	Bílé	CZ
RR20	Ryzlink rýnský	2020	Bílé	CZ
S20	Shiraz	2020	Červené	AU
NEB	neuveдено	neuveдено	Bílé	DE
NEČ	neuveдено	neuveдено	Červené	DE

4.2 Měření pH

U všech vín bylo na malém množství změřeno pH. K tomu byl použit pH metr Multi 3620 IDS (WTW, Německo) s elektrodou SenTix 940 (WTW, Německo) kalibrovaný v pH rozmezí 4,01 a 7,0. Aby bylo pH ovlivněno mezi měřením jednotlivých vzorků vín co nejméně, byla elektroda vždy opláchnuta deionizovanou vodou a otřena buničínovou vatou. Vzorky po změření pH byly vylity a nebyly použity při přípravě roztoků pro analýzy.

4.1 Příprava vzorků pro analýzu pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP-OES)

Pro potřebu prvkové analýzy a stanovení obsahu hliníku metodou ICP-OES, byl vzorek vína z 10 ml stříkačky přefiltrován přes stříkačkový membránový filtr s velikostí porů 0,45 μm (nylon, WVR). Tento krok odstranil většinu pevných částic (případně piliny nebo vinný kámen), které by mohly zkreslit výsledky analýz. Do zkumavek byl pipetováním přenesen 1 ml přefiltrovaného vína, 9 ml deionizované vody. Vzorek byl nakonec okyselen 1 ml koncentrované kyseliny dusičné (ANALPURE, Analytika). Přídavek kyseliny dusičné patří mezi standardní postupy a zajišťuje stabilitu vzorku před případným vysrážením. Tímto postupem byly získány 11násobně zředěné roztoky vín.

4.2 Příprava vzorků pro analýzu pomocí kombinované metody iontové chromatografie s hmotnostní spektrometrií s ionizací v elektrospreji (IC-MS)

Pro měření totálního obsahu organických kyselin ve vzorcích vína byl použit stejný vinný filtrát jako při přípravě vzorků pro ICP-OES analýzy. V tomto případě byl však do zkumavky přenesen jen 0,1 ml filtrovaného vína a k němu následně přidáno 9,9 ml deionizované vody. Výsledným postupem byly získány roztoky vín s 100násobným ředěním. Takto vysoké ředění bylo zvoleno v důsledku citlivosti zvolené metody a skutečností, že obsah organických kyselin ve víně, podle literatury, dosahuje řádově několika gramů na litr vína.

4.3 Příprava roztoků pro analýzu pomocí izotachofórze (ITP)

Za účelem sledování interakce hliníku a organických kyselin byly připraveny umělé roztoky za použití chromatografických standardů organických kyselin (Inorganic Ventures; USA) s počáteční koncentrací 1000 mg/l a zásobní roztok hexahydrátu chloridu hlinitého (v textu dál jen AlCl_3) (Sigma Aldrich; DE), rovněž s počáteční koncentrací 1000 mg/l.

Roztok AlCl_3 byl použit koncentrován nebo byl naředěn přenesením 10 ml a 1 ml koncentrovaného roztoku do kádinky se známou hmotností, ke kterému bylo za pomoci analytických vah přidáno 90,0 g a 99,0 g deionizované vody. Vážením přídavku vody se zajistila větší přesnost než použitím volumetrických baněk. Tímto způsobem byly získány roztoky AlCl_3 s počáteční koncentrací hliníku 112; 11,2 a 1,12 mg/l. Počáteční pH roztoků AlCl_3 bylo dále upraveno pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové o analytické čistotě (Lachner; ČR) na hodnoty 3 anebo 3,69. Vybrané pH byly zvoleny záměrně, protože reprezentovaly nejnižší, jakož i nejvyšší hodnotu pH, která byla ve vzorcích vín naměřena (kapitola 5.1). Úprava pH použitím koncentrované kyseliny vyžadovala méně jak 30 μl kyseliny, z toho důvodu je možné říct, že koncentrace AlCl_3 zůstala nezměněna.

Roztoky organických kyselin a hliníku byly následně připraveny kombinací 4,5 ml AlCl_3 s různou koncentrací hliníku s 0,5 ml standardu organické kyseliny. Tímto způsobem byly získány roztoky sledovaných organických kyselin s koncentrací 100 mg/l a obsahem hliníku v koncentračním rozsahu 100, 10 nebo 1 mg/l.

4.4 Příprava standardů pro kalibraci

Při kalibraci na stanovování organických kyselin byly použity stejné standardy (Inorganic Ventures; USA), které se využily pro přípravu roztoků organické kyseliny s hliníkem. Roztoky kyselin byly připraveny naředěním chromatografických standardů o koncentraci 1000 mg/l deionizovanou vodou, čímž byly získány roztoky kyseliny mravenčí, octové, sorbové, benzoové, máselné, mléčné, šřavelové, jantarové, vinné, jablečné, fumarové a citronové. Roztok kyseliny gálové v práci použit nebyl.

Při kalibraci pro měření pomocí metody ITP byly použity standardy kyselin s koncentrací 100, 50 a 10 mg/l a při kalibraci pro kombinovanou metodu IC-MS byly zvoleny koncentrace 50, 10, 5, 1 a 0,1 mg/l.

4.5 Iontová chromatografie kombinovaná s hmotnostní spektrometrií s ionizací v elektrospreji

Iontová chromatografie s vodivostní detekcí umožňuje separaci a kvantifikaci organických kyselin, a to jak v hroznové šřávě, tak ve víně. Tato technika má své výhody, protože díky své specifitě a citlivosti při stanovení minimalizuje rušivý účinek cukrů. Tato metoda nevyžaduje předchozí ošetření vzorku extrakcí nebo tvorbou derivátů (Kupina et al. 1991). K separaci sledovaných organických kyselin byl použit iontový chromatograf IC-1600 (Dionex; USA) (Obrázek č. 1) s kolonou Dionex AS11-HC v gradientu hydroxidu draselného o rozsahu 1-36 mmol/l a délkou gradientu 12 minut. Masson (2000) ve své studii použil rovněž kolonu Dionex AS11 na stanovení organických kyselin a anorganické anionty v hroznovém moštu. Rozdíl oproti zmiňované studii je ale v tom, že v tomto případě byl iontový chromatograf využit za účelem separace organických kyselin na základě charakteristických retenčních časů a hmotnostní spektrometr s ionizací v elektrospreji 3200 Q TRAP (SCIEX; USA) (Obrázek č. 1) identifikoval organické kyseliny na základě jejich charakteristické hmoty.

Hmotnostní spektrometrie je analytická technika, která může poskytnout jak kvalitativní (struktura), tak kvantitativní (molekulární hmotnost nebo koncentrace) informace o analytu po jejich přeměně na ionty. Zkoumané látky jsou nejprve zavedeny do ionizačního zdroje hmotnostního spektrometru, kde jsou ionizovány, aby získaly kladný nebo záporný náboj. Ionty pak procházejí hmotnostním analyzátozem a dostávají se do různých částí detektoru. Po kontaktu iontů s detektorem jsou generované použitelné signály zaznamenávány počítačem, který zobrazuje signály jako hmotnostní spektrum ukazující relativní množství signálů podle jejich poměru hmotnost/náboj (m/z) (Ho et al. 2003). Na vyhodnocování hmotnostních spekter byl použit program analyst 1.5.2.

Při analýze vzorků vín byla využita metoda původně vyvinutá na Katedře pedologie a ochrany půd za účelem stanovování až třicetipěti organických kyselin v půdě.

Obrázek č. 1, Iontový chromatograf IC-1600 (na stolečku) s hmotnostní spektrometr s ionizací v elektrospreji 3200 Q TRAP (pod stolečkem)

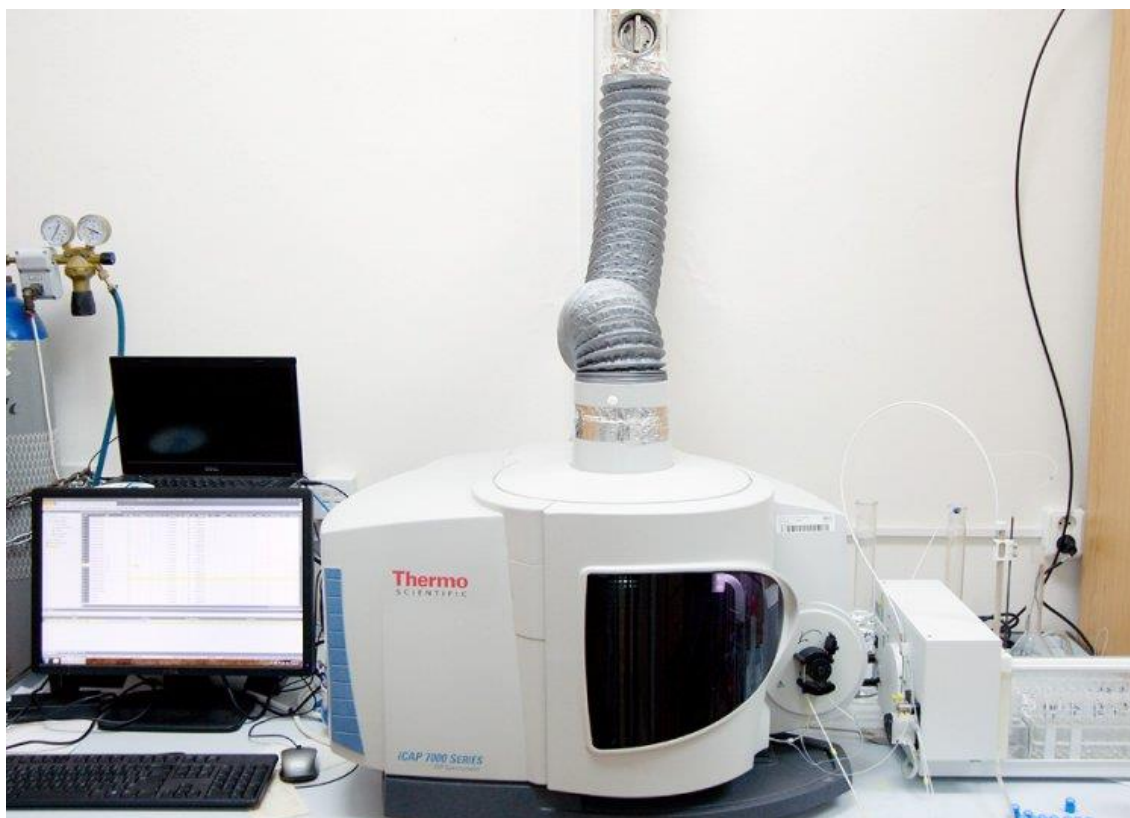


4.6 Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou

Princip spektrálních metod spočívá v interakci elektromagnetického záření s částicemi hmoty. Částice mohou toto záření absorbovat (absorpční spektrometrie) nebo emitovat (emisní spektrometrie). Atomová emisní spektrometrie (nazývaná také optická emisní spektrometrie) je založena na excitaci valenčních elektronů atomů, v tomto případě v hořáku s indukčně vázanou plazmou (ICP), a měření intenzity emitovaného záření během jejich následné deexcitace. Proudící inertní plyn unášející vzorek (v tomto případě argon) se ve vysokofrekvenčním elektromagnetickém poli ionizuje za vzniku plazmy, díky čemuž získaná plazma obsahuje elektrony, atomy, ionty a molekuly. Z tohoto důvodu se ve spektrech zaznamenávají linie atomů, iontů a molekulárních pásem, což umožňuje jednotlivé složky identifikovat (Praus & Vontorová 2015).

Analýza prvkového složení vybraných vín byla uskutečněna na přístroji iCAP 7000 (Thermo, USA) (Obrázek č. 2) a na vyhodnocování spekter byl použit program, který byl součástí softwarového balíku přístroje.

Obrázek č. 2, optický emisní spektrometr s indukčně vázanou plazmou iCAP 7000



4.6.1 Izotachoforéza

Analýzy dostupnosti aniontů organických kyselin v přítomnosti různých koncentrací hliníku byly prováděny za použití dvoukolonového izotachoretického analyzátoru EA 303A (Villa Labeco, SR) (Obrázek č. 3) v ITP-ITP detekčním módu. Metoda funguje na principu separace iontů v elektrickém poli, kdy působením elektrického proudu dochází ve vodícím roztoku k migraci iontů v charakteristických zónách, které před sebou žene terminační roztok. Identifikace jednotlivých zón je možná díky vzniku izotachoretických schodů, kdy výška schodu (relative step height) umožňuje identifikaci iontu a délka schodu zase poskytuje údaj o jeho množství (Křivánková & Boček 1997).

Při stanovení organických kyselin byla využita kombinace vodícího roztoku se složením 10 mmol/l kyseliny chlorovodíkové; 17,97 mmol/l kyseliny ϵ -aminokaprónové s 0,1% metyl hydroxyethylcelulózou s β -alanínem upraveným pH na 4,25 a terminační roztok se složením 5 mmol/l kyseliny kapronové s 5 mmol/l histidinu. Na vyhodnocování izotachofogramů byl použit software, který byl součástí analyzátoru.

Obrázek č. 3, Automatický izotachoforetický analyzátor EA 303A



5. Výsledky

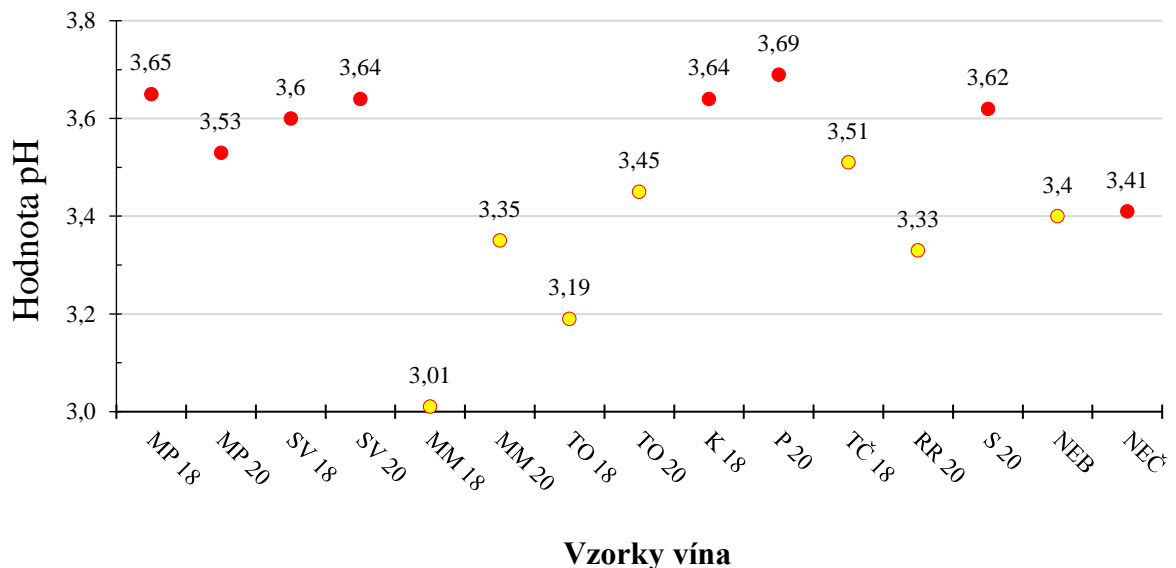
5.1 Měření pH

Z výsledků měření pH Grafu č.1 je patrné, že všechna vína se pohybovala v rozmezí 3,00–3,70. Nejvyšší hodnotu mělo víno P20 s hodnotou 3,69; zatímco nejnižší pH dosahoval MM18 s pouhými 3,01. Ve stejném grafu je rovněž vidět, že toto víno se hodnotou pH lišilo od ostatních zkoumaných vzorků nejvýrazněji. U těch se hodnoty pH pohybovaly v relativně úzkém rozpětí $\pm 0,19$ jednotky pH, kolísajícím okolo průměru všech měřených hodnot pH 3,47.

Při zaměření na bílé a červené víno je zvláště patrné, že bílá vína se pohybovala v nižších hodnotách než vína červená. Průměrná hodnota pH u bílých vín byla 3,32; zatímco u červených vín byl průměr pH 3,60. Kromě pozorovatelných rozdílů mezi jednotlivými odrůdami lze také pozorovat rozdíly mezi ročníky jednotlivých odrůd. Tyto rozdíly jsou opět nejpatrnější u bílých odrůd. U bílé odrůdy MM je patrný nejvýznamnější rozdíl, kdy hodnota pH u ročníku 2018 je 3,01; kdežto u ročníku 2020 je hodnota pH 3,35. Obdobně výrazný je rozdíl u odrůdy TO, kdy v případě ročníku 2018 je hodnota pH 3,19; zatímco u ročníku 2020 je hodnota 3,45. Oproti tomu u červených vín nejsou rozdíly mezi ročníky natolik markantní. V případě červené odrůdy MP je hodnota pH ročníku 2018 3,65; kdežto ročníku 2020 je 3,53 a v případě odrůdy SV je hodnota pH u ročníku 2018 3,6 a 2020 3,64.

Při srovnání vzorků z hlediska roku sklizně můžeme vidět, že u vín ročníku 2018 se pH pohybovalo v průměru 3,9, kdežto u ročníku 2020 v průměru 3,5. Do tohoto průměru nebyly zahrnuty vzorky NEB a NEČ, neboť nemají uveden rok sklizně.

Graf č. 1, výsledky měření pH u vzorků vín



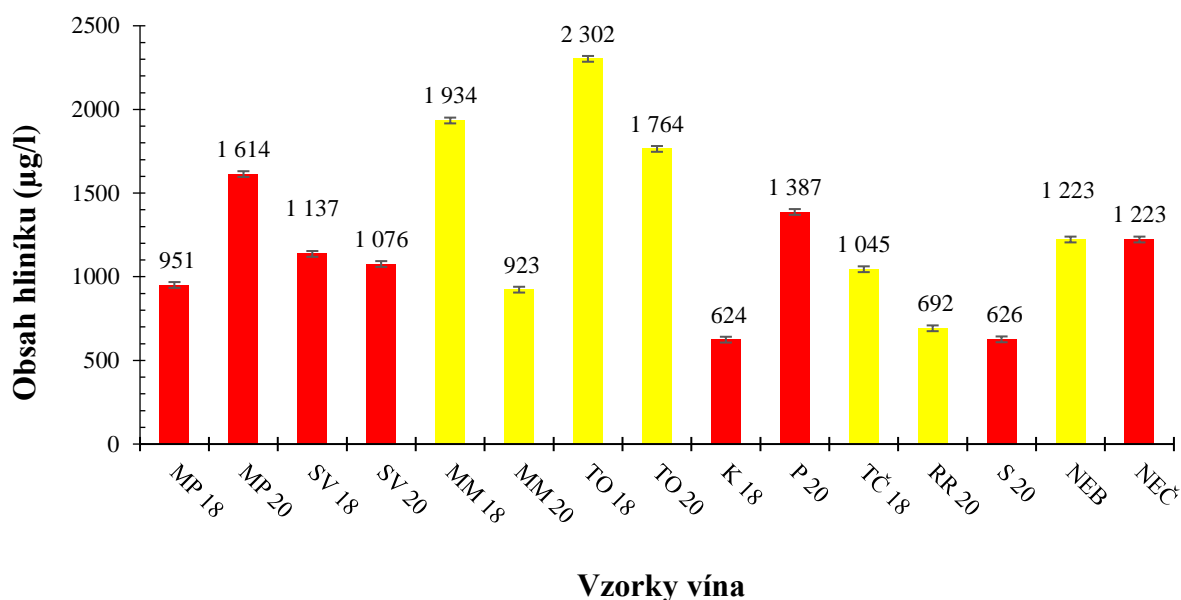
5.2 Celkový obsah hliníku

Na první pohled se může z naměřených hodnot v Grafu č.2 jevit, že obsahy hliníku jsou relativně nízké. V průměru se obsahy ve vzorcích zkoumaných vín pohybovaly na úrovni 1234 $\mu\text{g/l}$.

Maximální hodnota celkového obsahu hliníku byla zjištěna u vzorku TO18, a to 2302 $\mu\text{g/l}$. Další vysoké obsahy hliníku byly naměřeny u TO20 (1764 $\mu\text{g/l}$) a u vzorku MM18 (1934 $\mu\text{g/l}$). Všechna tato vína s nejvyšším naměřeným obsahem byla vína bílá.

Nejnižší hodnota celkového obsahu hliníku byla zjištěna u vzorku K18, a to 624 $\mu\text{g/l}$, obdobně nízká hodnota byla pozorována ještě u vzorku S20, a to 626 $\mu\text{g/l}$. V obou případech se jednalo o vína červená.

Graf č. 2, výsledky měření obsahu hliníku ve vzorcích vín



Průkaznost obsahu hliníku v souvislosti s barvou je patrná i z průměrných obsahů. V červených vínech je oproti vínům bílým jednoznačně vyšší obsah hliníku a pohybuje se v rozmezí 624–1614 $\mu\text{g/l}$, zatímco v bílých vínech se pohybuje v rozmezí koncentrací 696–2302 $\mu\text{g/l}$.

Z hlediska odrůd je jednoznačně nejvyšší obsah hliníku v odrůdách MM a TO (Muškátů).

Zvláště zajímavé jsou obsahy hliníku při vínech, kdy byla stejná odrůda (od totožného producenta) zastoupena dvěma ročníky. Zatímco v případě MM18 a MM20 anebo TO18 a TO20 (bílá vína), dochází v roce 2020 ke snížení obsahu hliníku o zhruba 1000 anebo 500 $\mu\text{g/l}$ v porovnaní s vínem z roku 2018, v případě MP18 a MP20 (červené víno) je pozorováno zvýšení o více než 600 $\mu\text{g/l}$. Obsah hliníku ve SV18 a SV20 (červené víno) se však na rozdíl od předešle zmiňovaných vín, v závislosti na ročníku, prakticky nelišil. Obsah hliníku v roce 2020 oproti roku 2018 poklesl o 60 $\mu\text{g/l}$.

Kromě hliníku byly ve vzorcích měřeny i další prvky. Žádný jiný potenciálně toxický prvek však nepřekračoval obsah hliníku, mimo toho v kontextu s tématem diplomové práce nebyly jiné prvky vzaty v potaz. Zbylé obsahy prvků zobrazuje Příloha č.1.

5.3 Celkový obsah organických kyselin ve vzorcích

Nejvyšší celkové obsahy organických kyselin (> 3000 mg/l) dosahovaly vzorky RR20 (3387 mg/l), MM18 (3364 mg/l), NEČ (3318 mg/l) a SV20 (3123 mg/l). „Nejnižší“ obsahy kyselin dosahovaly zase vzorky NEB (2366 mg/l), TO20 (2283 mg/l) a MM20 (2266 mg/l). V průměru se totální obsah organických kyselin ve víně pohyboval na úrovni 2811 mg/l.

Ve vzorcích vín bylo stanoveno celkově 10 organických kyselin v koncentračním rozsahu 0,20–2040 mg/l. Z výsledků v Tabulce č. 4 je přítom možné organické kyseliny, podle pozorovaného průměrného obsahu ve vzorcích, rozdělit mezi kyseliny obsažené ve vyšší koncentraci (nad 1000 mg/l), kam spadají kyseliny mléčná, vinná a jablečná a mezi méně zastoupené kyseliny (1000–50 mg/l), jimiž jsou kyselina octová, jantarová a citronová. Poslední kategorií jsou kyseliny s nejnižším zastoupením (pod 50 mg/l), kam patří kyselina mravenčí, galakturonová, šřavelová a fumarová.

Ve vínech chyběla nejčastěji kyselina fumarová, která byla detekována s výjimkou tří vzorků pod limitem kvantifikace ve všech případech. Kvantifikovat kyselinu fumarovou bylo možné jen v případě vzorků TO20 (3,82 mg/l), MM20 (2,77 mg/l) a RR20 (1,56 mg/l).

Další méně zastoupenou kyselinou byla kyselina mravenčí, která podobně jako v případě kyseliny fumarové nebyla detekována vůbec (vzorky MP20, SV18 a SV20) nebo byla pod limitem kvantifikace (vzorky MM20, K18, S20, NEČ) celkově v sedmi vzorcích. V průměru byl pozorován obsah jen kolem $0,76 \pm 0,48$ mg/l s maximem 1,70 mg/l (TČ18) a minimem 0,24 mg/l (MP18).

Naopak z hlediska nejvyšších obsahů, byly nejvyšší naměřené hodnoty stanoveny u kyseliny vinné. Nejvyšší koncentrace byla u vzorku MM18, a to 2040 mg/l, dále u vzorku NEČ (1390 mg/l) a u vzorku S20 (1330 mg/l), zatímco nejnižší koncentrace byla stanovena v případě vzorku K18, a to 445 mg/l. Průměrná koncentrace kyseliny vinné z hlediska barvy vína byla 1005 ± 490 mg/l v bílém víně a 890 ± 301 mg/l v červeném víně. U obou typů barvy vín se jednalo o výrazně vysoké koncentrační rozsahy obsahu kyselin mezi jednotlivými odrůdami a jejich ročníky.

Vysoké obsahy dosahovala dále kyselina mléčná, kdy její nejvyšší koncentrace 1750 mg/l byla zjištěna u vzorku SV20. Zjištěna byla také u vzorku K18 a hodnoty na úrovni 1520 mg/l a 1420 mg/l u vzorků SV18 a MP18. Nejnižší koncentrace pro kyselinu mléčnou byla stanovena u vzorku RR20, a to 99,2 mg/l. Průměrná koncentrace kyseliny mléčné z hlediska barvy vína byla $127 \pm 51,4$ mg/l v bílém víně a 1245 ± 375 mg/l v červeném víně. U obou typů barvy vín byly opět sledovány vysoké koncentrační rozsahy obsahu kyselin.

Třetí nejvyšší hodnoty byly zjištěny v případě kyseliny jablečné u vzorku RR20, kdy její nejvyšší koncentrace činila 1820 mg/l. Dále poměrně vysoké obsahy byly naměřeny u vzorků MM20, TO18 a TO20, kde její koncentrace dosahovala 1300, 1260 a 1100 mg/l. Nejnižší koncentrace kyseliny jablečné byla naměřena v případě vzorku K18 – pouze 3,62 mg/l. Průměrná koncentrace kyseliny jablečné byla 1119 ± 360 mg/l v bílém víně a

197 ± 199 mg/l v červeném víně. Ve vzorcích bílých vín byl tentokrát pozorován menší koncentrační rozptyl kyseliny mléčné, avšak v případě červených vín byla směrodatná odchylka velmi výrazná. Rozptyl byl tak doopravdy velmi značný.

Kyselina citronová byla obsažena spíše v užším koncentračním rozsahu (412–275 mg/l), kdy nejvyšší stanovené koncentrace dosahovaly ve vzorku NEČ 412 mg/l, anebo ve vzorcích TO18 a TO20, 397 a 356 mg/l. Nejnižší hodnoty koncentrace kyseliny citronové byly stanoveny ve vzorcích SV18 (6,05 mg/l) a SV20 (44,7 mg/l). Naopak ve vzorcích MP18 a K18 nebyla detekována vůbec. Průměrná koncentrace kyseliny citronové byla 320 ± 42,4 mg/l v bílém víně a 142 ± 152 mg/l v červeném víně. Ve vzorcích bílých vín byl malý koncentrační rozptyl kyseliny citronové, avšak v případě červených vín byl koncentrační rozsah velmi značný.

Kyselina jantarová byla nejvíce obsažena ve vzorku MP20 a vzorku K18 v koncentracích 406 a 402 mg/l. Dále v úzkém rozsahu 296–322 mg/l ve vzorcích SV18, P20, MP18 a SV20. Nižší koncentrace byla detekována také ve vzorcích MM18 (28,1 mg/l), TČ18 (44,1 mg/l), S20 (32,9 mg/l) a NEČ (17,1 mg/l). Ve zbývajících vzorcích (MM20, TO18, TO20, RR20 a NEB) nebyla detekována na kvantifikovatelné úrovni. Průměrná koncentrace kyseliny jantarové z hlediska barvy vína byla 10,3 ± 16,9 mg/l v bílém víně a 263 ± 143 mg/l v červeném víně. U obou typů barvy vín se jednalo o výrazně vysoké koncentrační rozsahy obsahu kyselin mezi jednotlivými odrůdami a jejich ročníky.

Tabulka č. 4, obsahy organických kyselin ve vzorcích vína

Vino	mg/l vína									
	mravenčí	octová	mléčná	galakturonová	šťavelová	fumarová	jantarová	jablečná	vinná	citronová
MP18	0,24	212	1420	20,3	24,9	x	315	58,4	674	x
MP20	*	105	1110	24,4	25,7	x	406	74,9	845	95,9
SV18	*	152	1520	13,9	22,2	x	322	107	825	6,05
SV20	*	121	1750	14,4	18,5	x	296	156	722	44,7
MM18	0,52	114	203	9,16	27,6	x	28,1	654	2040	288
MM20	x	70,9	69,9	6,5	16,3	2,77	x	1300	525	275
TO18	0,52	35	142	10,1	67,5	x	x	1260	596	397
TO20	1,03	106	54,7	8,16	14	3,82	x	1110	629	356
K18	x	173	1690	20,5	25,6	x	402	3,62	445	x
P20	0,46	80,8	905	16,5	29,6	x	314	123	892	280
TČ18	1,7	121	166	9,83	17,4	x	44,1	884	1270	283
RR20	1,26	99,9	92,7	7,83	11,6	1,56	x	1820	1010	342
S20	x	54,9	767	24,8	25,3	x	32,9	444	1330	293
NEB	0,38	57,9	163	10	60,1	x	x	814	962	299
NEČ	x	59,3	795	17,6	20,1	x	17,1	607	1390	412

* ve vzorku nedetekovatelné

x ve vzorku pod limitem kvantifikace

Kyselina octová byla nejvíce obsažena ve vzorku MP18 v koncentraci 212 mg/l. Dále ve vzorcích SV18 a SV20 v koncentracích 152 a 121 mg/l. Nejnižší koncentrace kyseliny octové byla naměřena na úrovni 35 mg/l ve vzorku TO18. Průměrně byla kyselina octová obsažena v koncentraci $104,18 \pm 46,45$ mg/l. Při dalším zhodnocení koncentračního rozsahu z hlediska barvy vína bylo zjištěno, že kyselina octová byla v bílém víně obsažena v koncentraci $86,39 \pm 29,81$ mg/l. V červeném víně byla obsažena v koncentraci $119,75 \pm 52,42$ mg/l. V obou barvách vín byl tak koncentrační rozsah víceméně srovnatelný.

Kyselina šťavelová byla nejvíce obsažena ve vzorku TO18 v koncentraci 67,5 mg/l a ve vzorku NEB v koncentraci 60,1 mg/l. Ve zbývajících vzorcích se její koncentrace pohybovala v rozmezí 29,6–11,6 mg/l, přičemž nejnižší koncentrace kyseliny šťavelové byla detekována v případě vzorku RR20 (11,6 mg/l). V průměru byla stanovená koncentrace kyseliny šťavelové $27,09 \pm 15,30$ mg/l. Z hlediska barvy vína byl průměr $30,64 \pm 21,57$ mg/l v bílém víně a $23,99 \pm 3,32$ mg/l v červeném víně. U bílého vína tak byl koncentrační rozsah kyseliny značně vysoký, kdežto u vína červeného byl koncentrační rozsah výrazně nižší.

Poslední stanovenou kyselinou byla kyselina galakturonová. Ta dosáhla své nejvyšší koncentrace 24,8 mg/l ve vzorku S20. Obdobné koncentrace 24,4 mg/l; 20,5 mg/l a 20,3 mg/l byly však zjištěny rovněž u vzorků MP20, K18 a MP18. Nejnižší koncentrace byly nopak zjištěny u vzorků RR20 (7,83 mg/l) a MM20 6,5 mg/l. Průměrně byla kyselina galakturonová obsažena v koncentraci $14,27 \pm 5,92$ mg/l. Z hlediska barvy vína byla průměrná koncentrace $8,80 \pm 1,25$ mg/l v bílém víně a $19,05 \pm 3,91$ mg/l v červeném víně. U obou barevných typů vín nebyl koncentrační rozsah obsahu kyseliny galakturonové nikterak závažný.

Přítomnost kyseliny máselné, sorbové ani benzoové nebyla potvrzena v žádném z vín. Nelze však vyloučit, že to bylo způsobeno relativně silným ředěním vzorků.

5.4 Interakce hliníku s organickými kyselinami

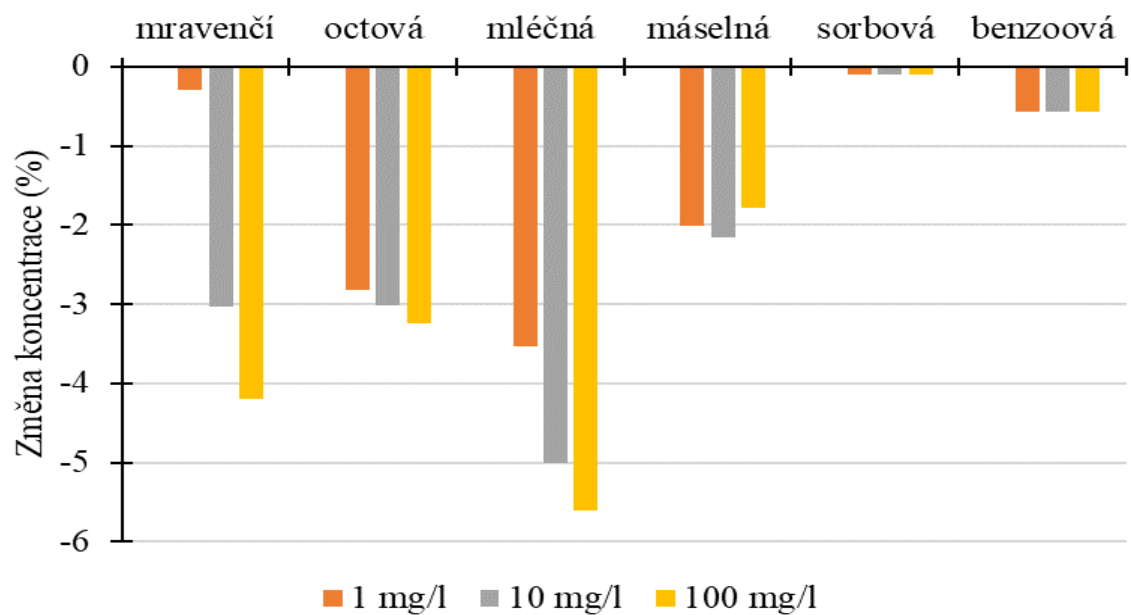
Ve smyslu tématu diplomové práce, byla interakce hliníku s organickými kyselinami namísto ve víně, testována ve dvousložkových systémech. Tento přístup byl zvolen i přesto, že v reálném víně bude rozsah této interakce ovlivňován i jinými složkami. Použitím metody ITP byla zjišťována změna koncentrace volných aniontů organických kyselin při různém obsahu hliníku ve formě Al^{3+} , nakolik tato metoda umožňuje výlučně detekci iontových forem neboli specií při pH naměřeném ve vzorcích vína.

První měření při pH 3,01; jakožto nejnižší naměřené hodnotě znázorňuje Graf č. 3. Z výsledků je jasně zřetelné, že na pomezí zvolených organických kyselin, byla největší změna koncentrace zjištěna u kyseliny citronové (Graf č. 3.b), kdy byl zaznamenán pokles měřitelných molekul až o 89 % při koncentraci 100 mg/l hliníku. Lze proto předpokládat, že potenciálně nejvíce hliníkových komplexů by mělo ve víně vznikat právě s touto kyselinou.

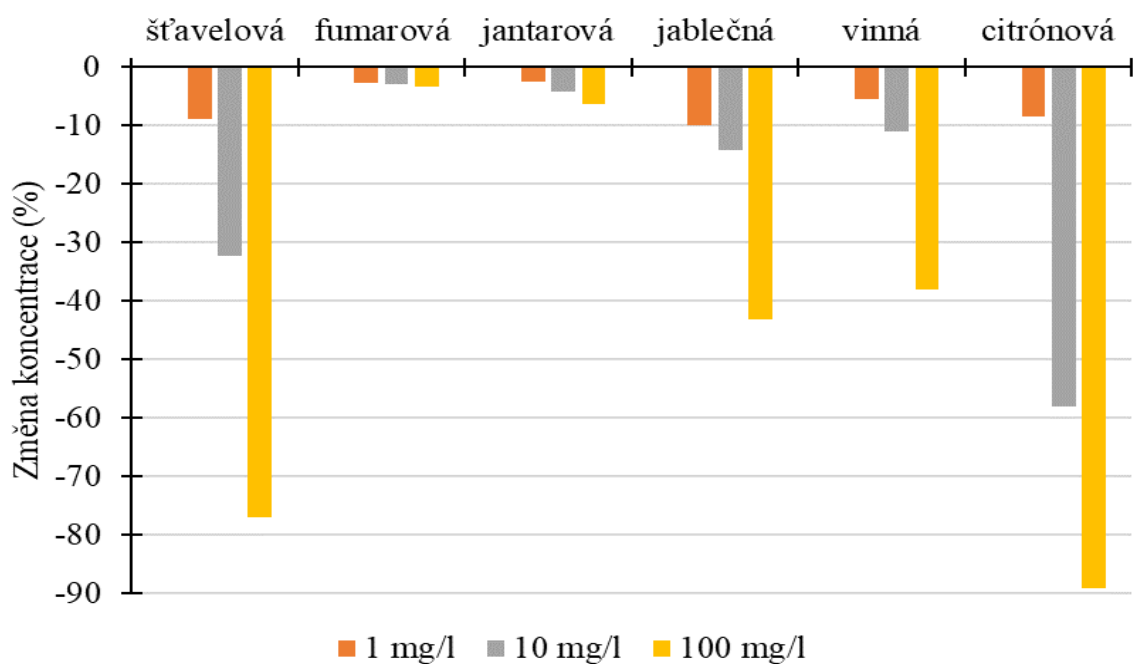
Významný pokles byl pozorován rovněž u kyseliny šťavelové, kdy nebylo možné detekovat až 77 % molekul, když koncentrace hliníku dosahovala 100 mg/l. Všeobecně lze říci, že tyto dvě kyseliny interagovaly s hliníkem, bez ohledu na jeho počáteční obsah, nejintenzivněji. Z ostatních organických kyselin byla poměrně vysoká míra interakce při pH 3,01 pozorována dále při kyselině jablečné (pokles detekce o 43 %) a vinné (pokles o 38 %) při počáteční koncentraci Al^{3+} 100 mg/l. U zbylých kyselin byl pozorován při

pH 3,01 relativně malý pokles signálu, v průměru jen o 3 %. U kyseliny sorbové, benzoové a máselné, jak je vidět v Grafu č.3.a, nedošlo prakticky k žádné změně bez ohledu na rostoucí obsah hliníku, zatímco u zbylých kyselin byla tendence vykazovat trend poklesu signálu s nárůstem obsahu hliníku.

Graf č. 3.a, změna koncentrace organických kyselin při různé koncentraci Al^{3+} , pH 3,01

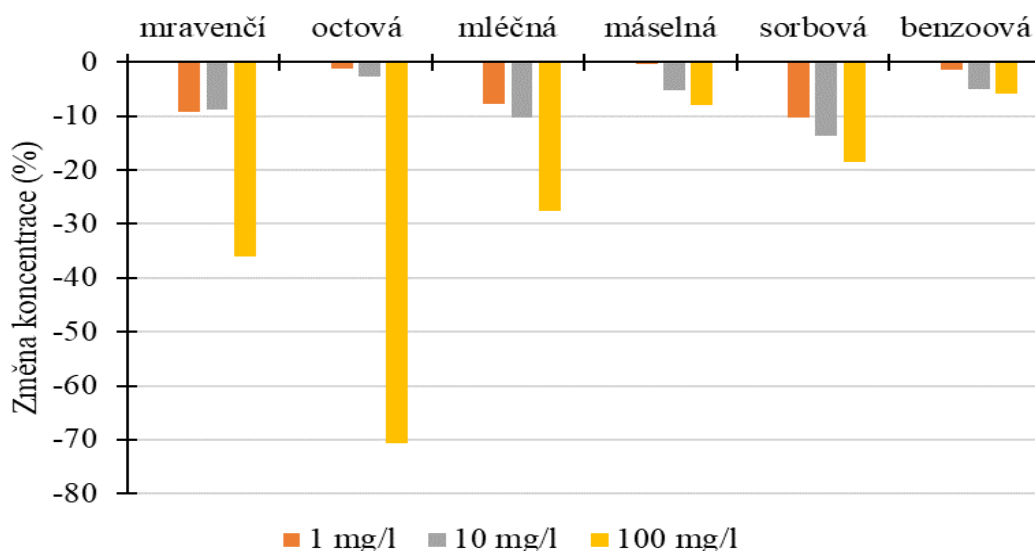


Graf č. 3.b, změna koncentrace organických kyselin při různé koncentraci Al^{3+} , při pH 3,01

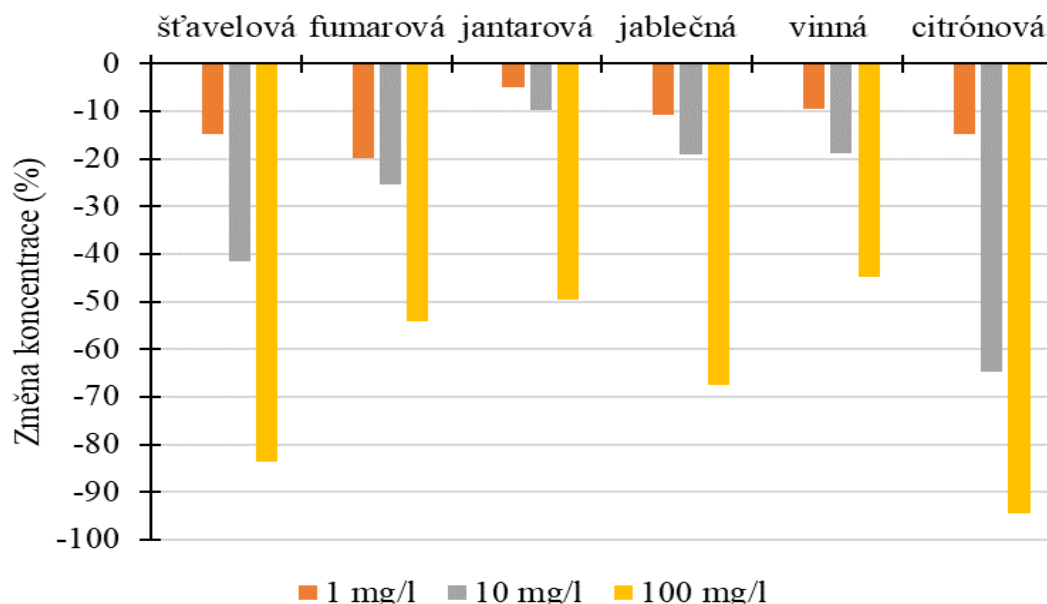


V druhém měření při pH 3,69; jakožto naopak nevyšší hodnotě pH ve vzorcích vín můžeme pozorovat výraznější projevy. Bez ohledu na počáteční obsah hliníku je možné v Grafu č. 4 jasně vidět pokles měřitelných iontů v roztoku u všech organických kyselin. V tomto případě je možné pozorovat změnu signálu i u kyseliny sorbové nebo benzoové, u kterých klesá délka signálu s nárůstem obsahu hliníku v roztoku, kdy rozdíl poklesu signálu mezi 1 a 100 mg/l hliníku činí 9,5 % u kyseliny sorbové a 4,5 % u kyseliny benzoové.

Graf č. 4.a, změna koncentrace organických kyselin při různé koncentraci Al^{3+} , při pH 3,69



Graf č. 4.b, změna koncentrace organických kyselin při různé koncentraci Al^{3+} , při pH 3,69



Vliv nárůstu pH u kyseliny citrónové (Graf č. 4.b.) v porovnání s předchozím měřením pro 100 mg/l Al^{3+} , se projevil výraznějším poklesem detekovatelných molekul. Ten dosáhl až 94 % oproti předešlému pokusu a představuje snížení o dalších 5 %.

V porovnání s předešlým pokusem po zvýšení pH o 0,68 jednotky dochází k výrazné změně koncentrace také u kyselin šťavelové (Graf č. 4.b.), octové (Graf č. 4.a.) a jablečné (Graf č. 4.b.) u nichž byl pozorován při 100 mg/l hliníku rovněž pokles o 83 %, 70 % a 67 %. Rozdíl mezi dvěma měřeními tak činí 7 % (u kyseliny šťavelové), 67 % (u kyseliny octové) a 24 % (u kyseliny jablečné).

Nejvýraznější vliv změny koncentrace zvýšením pH se projevil u kyseliny fumarové, kde rozdíl při koncentraci 100 mg/l hliníku Al^{3+} dosáhl 54 %, z původních 20 %. Podobně jako při pH 3,01 tak i u pH 3,69 byl se stoupající koncentrací Al^{3+} v roztoku pozorován klesající trend detekovatelných molekul organických kyselin. Z obou pozorování lze usoudit, že afinita hliníku ke zkoumaným organickým kyselinám ve víně bude velmi záviset na hodnotě pH. Podrobné změny detekovaného signálu v závislosti koncentrace Al^{3+} a pH sumarizují Přílohy č. 2 a 3.

6. Diskuze

6.1 Obsah hliníku ve vínech

Přítomnost hliníku je možné očekávat v každém víně už jenom proto, že je třetím nejzastoupenějším prvkem na planetě (Yaroshevsky 2006). Existují však dva hlavní zdroje, které přispívají k jeho obsahu ve víně. Prvním, přirozeným zdrojem je půda, na které se vinná réva pěstuje, kdy hliník vstupuje do bobulí přes kořeny (Watson 2003; Pohl 2007). Druhým, jsou zdroje odvozené od lidské činnosti, jako jsou pěstitelské postupy (hnojení, fyto-sanitární ošetření atd.), enologické postupy (stroje, potrubí, použití čiridel, přísad atd.), kontaminace životního prostředí (auta, továrny atd.) a podvodné praktiky (použití zakázaných chemikálií) (Watson 2003; Pohl 2007; Stafilov & Karadjova 2009). Konkrétním příkladem obohacení vína hliníkem je použití bentonitu během číření vína (Stafilov & Karadjova 2009).

Lopez et al. (1998) stanovili obsah hliníku v různých vzorcích alkoholických nápojů, přičemž ve vínech ze Španělska (ES) pozorovali hodnoty v rozsahu 189–1683 µg/l pro bílá vína, zatím co ve vínech červených byl obsah hliníku spíše nižší – dosahoval 720–1254 µg/l. Mimo vín domácích stanovili obsah hliníku také ve vínech dovážených z Francie (FR), která obsahovala 250–255 µg/l, vína z Německa (DE) 630–1120 µg/l a vína z Itálie (IT) 89–1463 µg/l hliníku. Vína z České republiky (CZ) měla hodnotu hliníku 132–1665 µg/l (Kment et al. 2005). Cabrita et al. (2018) stanovili průměrné koncentrace hliníku v portugalských (PT) bílých vínech na 447 µg/l, přičemž u červených vín byla koncentrace přibližně stejná, 421 µg/l. Porovnání získaných obsahů hliníku s literaturou sumarizuje Tabulka č. 5.

Tabulka č. 5, Porovnání pozorovaných obsahů hliníku s jinými autory

obsah hliníku ve víně µg/l			
Bílé víno	Červené víno	Země původu	Zdroj
17,2	17,5	AR	(Lara et al. 2005)
244–694	389–809	HR	(Vrček et al. 2011)
140–1488	125–988	PT	(Cabrita et al. 2018)
10–1500		HU	(Murányi & Kovacs 2000)
189–1683	72–1254	ES	(Lopez et al. 1998)
692–2302	626–1614	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
515–2438	374–908	HR	(Fiket et al. 2011)
	250–2550	FR	(Larroque et al. 1994)
89–1463 *		IT	(Minoia et al. 1994)
132–1665 *		ČR	(Kment et al. 2005)
630–1120 *		DE	(Pennington & Jones 1989)
1030 *		FR	(Day et al. 1995)
36–9500 *		GR	(Galani-Nikolakaki et al. 2002)

* zdroj barvu vína neuvádí

Při bližším ohledání Tabulky č. 5, je z výsledků získaných v průběhu laboratorního měření (Graf č.2) na první pohled patrné, že obsah hliníku má spouštitost s barvou vína. Obsah hliníku v červeném víně (průměrně 1080 $\mu\text{g/l}$) je spíše nižší vůči obsahu pozorovaném u vína bílého (průměrně 1442 $\mu\text{g/l}$). I když diplomová práce hodnotí výsledek závislosti obsahu hliníku na barvě díky velkým odchýlkám pro červená vína $\pm 344 \mu\text{g/l}$ a bílá vína $\pm 594 \mu\text{g/l}$ jako statisticky nevýznamný ($p > 0,05$), nejsou vzhledem k běžné enologické praxi tyto rozdíly náhodné. Vyšší obsah hliníku v bílých vínech vysvětluje postup výroby. Na rozdíl od vín červených se do bílých vín přidává bentonit (Larroque et al. 1994; Stafilov & Karadjova 2009), který v důsledku kyselého pH (Graf č. 2) a obsahu organických kyselin (Tabulka č. 4) obohacuje víno hliníkem.

Při porovnání naměřených obsahů hliníku v jednotlivých vzorcích byl průměrný obsah hliníku nezávisle na sobě 1235 $\mu\text{g/l}$. Při porovnání rozptylu bylo naměřeno 692–2302 $\mu\text{g/l}$ ve vzorcích bílých vín a 626–1614 $\mu\text{g/l}$ ve vzorcích červených vín. Autoři rovněž uvádějí porovnání v závislosti na barvě vín. Z porovnání stanovených hodnot (viz Tabulka 5) je patrné, že zjištěné hodnoty patřily spíše k těm nejvyšším. V rámci obsahu hliníku v červeném víně byla naměřena nejvyšší hodnota v práci Larroque et al. (1994), a to až 2550 $\mu\text{g/l}$. Jeho hodnoty však rovněž vykazovaly značný rozsah naměřených hodnot. Jsou tak v dobré shodě se zjištěnými výsledky a zároveň potvrzují vysokou odlišnost mezi jednotlivými vzorky. Z hlediska koncentrace hliníku v bílém víně nejlépe korespondovaly výsledky s prací Fiket et al. (2011). Celkově je zřejmé, že koncentrace hliníku se mezi jednotlivými vzorky značně liší a má na ni vliv více parametrů. Mohu konstatovat, že stejně jako v pracích vybraných autorů jsem i ve své diplomové práci prokázala vyšší obsah hliníku v bílém víně.

Obsah hliníku ve víně (nebo celkově v potravinách), není zákony České republiky anebo Evropské unie nijak regulován. V zemích jako Německo nebo Chorvatsko však obsah hliníku monitorován je. V případě německých vín nesmí obsah hliníku překračovat limit 8 mg/l (Aceto et al. 2002) a pro vína chorvatská zákon toleruje maximum 10 mg/l (Narodne novine 2005).

Dle této legislativy by žádné z prověřovaných vín limit nepřekračovalo.

Tyto limity jsou ale v případě vína mnohonásobně vyšší než v případě pitné vody. Například Slovenská legislativa (NV SR č. 496/2010 Z.z.) nebo stanovy WHO (WHO 1997) udávají nejvyšší přípustnou hodnotu hliníku v pitné vodě do 0,2 mg/l. To znamená, že podle této legislativy by nesplňovaly daný limit všechny zkoumené vzorky, jelikož nejmenší koncentrace byla pozorována na úrovni 0,62 mg/l (K18), což více než trojnásobně překračuje povolený limit. Je ale pochopitelné, že tuto normu není možné aplikovat na víno, jelikož množství vypitého vína a vody je pro potřebu našeho zkoumání nesrovnatelné.

S ohledem na údaje z literatury nebo získané v rámci diplomové práce, stanovení hliníku ve víně může celkově představovat problém, mj. v důsledku nízké citlivosti, selektivity analytické metody nebo možné kontaminace během analýzy. Je to způsobeno tím, že obsah hliníku může být i nižší než 20 $\mu\text{g/l}$ (Lara et al. 2005). Mnoho výzkumných prací se zaměřuje na vývoj analytických metod za využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP-MS). Mezi další široce používané techniky patří atomová absorpční spektrometrie (AAS), metoda ICP-OES, elektrochemické metody (Ražić et al. 1999; Cvetković et al. 2001) nebo rentgenová spektrometrie (Castiñeira et al. 2004). Ve vinařských

laboratořích je díky vysoké citlivosti, přesnosti a prvkové selektivitě preferována metoda elektrotermické AAS (ETAAS), (Day et al. 1995; Lopez et al. 1998).

6.1.1 Dietární příjem hliníku z vína

Podle toxikologických údajů v letech 2007 a 2012, stanovila Světová zdravotnická organizace (WHO) ve spolupráci s Organizací pro výživu a zemědělství OSN (FAO), tolerovatelný týdenní příjem hliníku na 2 mg/kg tělesné hmotnosti člověka.

Velké rozdíly v obsahu hliníku v jednotlivých kategoriích potravin, byly pozorovány mezi různými zeměmi, respektive v rámci regionů. Obsah hliníku, tak jeho příjem, bude proto ovlivňován geografickými oblastmi, stravovacími návyky a regionalitou. Průměrná dietetická expozice u dospělých se celosvětově odhaduje na 0,2–1,5 mg/kg tělesné hmotnosti/týden (EFSA 2008; FAO et al. 2011). Rozdíl bude významně patrnější porovnáme-li spotřebu např. mezi Českou republikou a Itálií. Průměrná spotřeba vína na obyvatele v ČR za rok 2020 (19,8 l) představovala méně než polovinu toho, co v průběhu téhož roku vypil obyvatel Itálie (46,6 l) (Karlsson & Karlsson 2021).

Za předpokladu, že průměrný objem sklenice vína je 200 ml, což je rovněž doporučený denní příjem, lidský organismus by na základě průměrných výsledků z Grafu č. 2 denně potenciálně přijal 0,28 mg hliníku z bílého vína a 0,21 mg hliníku z vína červeného. Na základě toho lze odhadnout, že člověk, který každý den vypije jednu sklenici, může během kalendářního roku přijmout průměrně 102 mg hliníku pitím bílého vína a 76,6 mg hliníku pitím červeného vína. Jestliže pije člověk od 18 let a dožije se 79 let (průměrná délka života v ČR), pouze pitím vína za život může teoreticky přijmout, dle těchto odhadů, až 6,2 g hliníku.

Když se do této kalkulace promítne průměrná roční spotřeba vína na obyvatele České republiky (19,8 l za rok 2020), bude se tato hodnota pohybovat na úrovni 24,3 mg za rok a 1,48 g za život (jestliže se výběr omezí na česká vína). Vezmeme-li v úvahu již zmíněnou regionalitu lze odhadovat vyšší příjem Al např. na jižní Moravě, kde je oblíba vína větší.

Dietární příjem hliníku se bude lišit i v jednotlivých státech. Průměrná spotřeba vína v Itálii nebo Francii, tj. tradičních vinařských zemích, bude v porovnání s Českou republikou mnohonásobně vyšší. Odhad dietárního příjmu hliníku spojeného s konzumací vína, odvozeného z výsledků získaných během zpracovávání diplomové práce i z jiné literatury, sumarizuje Tabulka č. 6.

Tabulka č. 6. Odhad potenciálního příjmu hliníku konzumací vína pro různé země

Země	Spotřeba na obyvatele za rok (l)	Příjem Al za rok (mg)	Příjem Al za život (g)	Zdroj
HU	21,2	17,0	0,99	(Murányi & Kovacs 2000)
DE	27,5	23,4	1,48	(Pennington & Jones 1989)
CZ	19,8	24,3	1,48	Janošcová
IT	46,0	35,7	2,30	(Minoia et al. 1994)
FR	46,9	65,7	4,22	(Larroque et al. 1994)

- odhad založen na statistických údajích průměrné délky života obyvatele dané země a spotřeby vína v dané zemi.

Pokud počítáme s průměrnou váhou osob v České republice (92,1 kg u mužů a 73,8 kg u žen), tak dle vyjádření FAO/WHO lze považovat za „bezpečný“ příjem hliníku pod 184 mg pro muže a pro ženy pod 148 mg hliníku týdně bez rizika zdravotních komplikací. Z tohoto důvodu je jednoznačně patrné, že střídým pitím vína není možné dosáhnout, natož překročit hranici rizikovosti. Vzhledem k maximálnímu obsahu 2302 µg/l hliníku (TO18) by to u mužů vyžadovalo zkonzumovat týdně přes 80 litrů vína a u žen „jen“ 64 litrů. Hliník se však do organismu dostává i z jiných zdrojů. I když vezmeme v úvahu maximální literaturou uváděný obsah hliníku ve víně 9500 µg/l (Galani-Nikolakaki et al. 2002), musela by obě pohlaví vypít týdně 15 litrů vína (ženy) nebo 20 litrů (muži).

6.2 Obsah organických kyselin ve vínech

Organické kyseliny mají ve vínech významný vliv na charakteristickou ovocnou chuť, ale zároveň hrají i hlavní roli v kritériích kvality vína, jako je jejich stabilita a barva. Vysoká kyselost tak neovlivňuje chuť pouze stolních hroznů, ale i vhodnost hroznů vinných (Soyer et al. 2003).

Ve vínech mohou pocházet přímo z hroznů nebo vznikají při fermentačním procesu. Koncentrace se liší v závislosti na odrůdě hroznů, typu půdy a průběhu fermentace při výrobě. (Tarko et al. 2014). Dokonce i v případě shodného genotypu mají hrozny sklizené z různých klimatických podmínek značně odlišné obsahy kyselin. Důvodem je nižší kyselost hroznů v případě trvale teplejšího prostředí, kdy jsou vždy sklizeny hrozny s vyšší zralostí. V tomto případě je nejvíce snížen obsah kyseliny jablečné, jejíž koncentrace je ve vyšším stádiu zralosti podstatně nižší (Soyer et al. 2003).

Přehledy obsahů organických kyselin ve vínech s experimentálními výsledky obsahuje Tabulka č.7. Dle měření z praktické části (Tabulka č. 7b) měla nejvyšší celkový obsah kyselina vinná, a to s maximální hodnotou 2040 mg/l (MM18). Jiné studie uvádí vyšší i nižší obsahy. Například Coelho et al. (2018) detekoval v červených vínech až 5000 mg/l kyseliny vinné. Její obsah ve víně je primárně odvozen od počátečního množství v hroznech.

Jako druhá nejzastoupenější kyselina byla kyselina mléčná, a to s obsahem 1750 mg/l (SV20). Ve víně je velmi důležitá pro své konzervační a antioxidační účinky, je zodpovědná

za snížení kyselosti vín a poskytuje jemnější chuť (Bae et al. 2006). Vzniká při jablečno-mléčné fermentaci, kdy hodnota nad 40 mg/l indikuje důkaz jablečno-mléčné fermentace (Bae et al. 2006; Gil-Sánchez et al. 2019). Z tabulky č. 7a je možné vidět trend, kdy bílá vína obsahují nižší koncentrace kyseliny mléčné (69,9–203 mg/l), než vína červená (767–1750 mg/l). S tímto se shodují i údaje z literatury, kde koncentrace kyseliny mléčné v bílém víně dosahovala maximálních hodnot 3933 mg/l, zatímco v červených bylo maximum 7306 mg/l. Je to způsobeno tím, že jablečno-mléčná fermentace probíhá především v červených vínech. Do bílých vín se kyselina mléčná spíše přidává pro dosažení „měkčí“ chuti (Virdis et al. 2021).

Na obsahu kyseliny mléčné bude záviset i obsah kyseliny jablečné (Tabulka č. 7b). V měřených vzorcích byl obsah ve velmi širokém rozsahu od 3,62 mg/l do 1820 mg/l, kdy nižší obsahy převažovaly v červených vínech (3,62–607 mg/l) a vyšší zase v bílých (654–1820 mg/l). S tímto trendem se shodují i ostatní studie, až na případ Regmi et al. (2012), kde se hodnoty kyseliny jablečné u červených vín vymykaly a dosahovaly 3140 mg/l. Jak již bylo řečeno, obsah kyseliny jablečné bude podřízen rozsahu jablečno-mléčné fermentace a s tím související barvou vína, nebo počátečnímu obsahu v bobulích.

Kyselina octová je vedlejším produktem primárních a sekundárních fermentačních procesů a v analyzovaných vzorcích (Tabulka č. 7a) dosahovala koncentrace 35–212 mg/l. Tyto hodnoty se oproti výsledkům z literatury (průměr kolem 400 mg/l a maximum 1675,45 mg/l), jeví spíše jako nízké. Vzhledem k tomu koncentrace pozorované v průběhu diplomové práce nevybočují. Naopak, podle Mato et al. (2005) kyselina octová v množství větším než 1 g/l je spíše na závadu, protože může negativně změnit kvalitu vína. Konkrétně může dramaticky ovlivnit pH. Dopad má také na biologickou stabilitu a díky ostré vůni a chuti octa i na sensorické vlastnosti vína. Za normální obsah se považuje 200–400 mg/l (Calwineries 2022; R-Biopharm 2022).

U kyseliny jantarové se celkové hodnoty pohybovaly spíše v nižších hladinách (Tabulka č. 7b), maximálně do 406 mg/l a celkově byla pozorována jen v 10 vzorcích. V literatuře se její obsah pohybuje do 1000 mg/l, ale může dosahovat i hodnoty 2000 mg/l. Faktory, které ovlivňují produkci této organické kyseliny, jsou změny teploty a pH ve víně (Bisson 1999). Z hlediska obsahu kyseliny jantarové je její jednoznačně nejnižší koncentrace v případě brazilských vín, kdy dochází k její nejvyšší teplotní přeměně vlivem vysokých průměrných teplot. S klesající průměrnou roční teplotou se její obsah ve vínech zvyšuje (Alves Filho et al. 2019).

Kyselina citronová je jednou z kyselin, která se vyskytuje přímo v bobulích hroznů. Její množství z celkového obsahu v hroznech je spíše nižší, kolem 5 % (Bartowsky & Henschke 2004). V analyzovaných vzorcích (Tabulka č. 7c), byl průměrný obsah kyseliny citronové 259,36 mg/l, což je v dobré shodě s výsledky jiných autorů. Dle úředního věstníku Evropské unie 2019/C 409/01, lze kyselinu citronovou do vína i dodatečně přidat za účelem navázání iontů železa, a tím zmenšit tendenci vzniku železitého zákalu. Maximální přídatek je 1000 mg/l a použitá kyselina musí být v souladu s předpisy Mezinárodního enologického kodexu. Nevýhodou této praxe je mikrobiální nestabilita této kyseliny vzhledem k tomu, že může podpořit bakteriální kolonizaci. V rámci pozorovaných hodnot ale není možné říci, zda nebo jaký podíl kyseliny citronové pocházel přirozeně z bobulí a jaký mohl být potenciálně přidán dodatečně.

Výskyt kyseliny galakturonové ve vzorcích (Tabulka č. 7a) lze vysvětlit dvěma způsoby. Zaprvé, možná kontaminace plísní *Botrytis cinerea*, která enzymaticky rozkládá slupku hroznů, přičemž vzniká kyselina galakturonová (Mihaljević Žulj et al. 2015). Nebo druhá možnost, kyselina pochází z pektinu obsaženém ve slupce a nemá souvislost s nežádoucím mikrobiálním zamořením. Pektin se totiž skládá z řetězce jednotek kyseliny galakturonové, které jsou spojeny α -1,4 glykosidickými vazbami. Toto podporuje také pozorování v literatuře, kdy se podíl pektinu vázaného na buněčnou stěnu v průběhu zrání vína snížil, a naopak se zvýšil obsah pektinu rozpustného ve vodě (Silacci & Morrison 1990; Ribéreau-Gayon et al. 2006). Měření stanovilo průměrnou hodnotu galakturonové kyseliny na 14,27 mg/l vína. Mihaljević Žulj et al. (2015) zjistili koncentraci této kyseliny u chorvatských vín na více než 7–30násobně vyšší úrovni, a to s nejvyšší hodnotou 58,4 mg/l.

Kyselina šťavelová nedosahuje ve víně příliš vysoké koncentrace. Často se objevuje spíše ve formě vysráženého šťavelanu vápenatého (The Australian Wine Research Institute 2022). Z naměřených výsledků (Tabulka č. 7b) byla nejvyšší koncentrace ve víně TO18 - 67,5 mg/l. Podle studie Siener et al. (2017), která měřila hladinu šťavelanů v alkoholických i nealkoholických nápojích, stanovili autoři obsah této kyseliny na 6,9–12,7 mg/l u červených vín a 3–3,3 mg/l u bílých vín. Tyto koncentrace odpovídají rovněž obsahu šťavelanu ve šťávách z červených hroznů (25,5–39,3 mg/l), které obsahují vyšší koncentrace než bílé hrozny (14–15 mg/l) (Siener et al. 2016). V případě sledovaných vín byla tendence, až na vzorky NEB a TO18, se s těmito závěry shodovat, neboť ostatní vzorky bílých vín obsahovaly v průměru 17,38 mg/l a vzorky červených vín 24 mg/l. Výjimku tvořily jen dva zmiňované vzorky bílého vína, kdy bylo pozorováno více než 60 mg/l šťavelanu, což byl skoro trojnásobek průměru. Komplexní údaje o obsahu šťavelanu ve vínech, mimo zmíněné studie, však chybí.

Kyselina fumarová se ve víně vyskytuje zejména v podobě přídatné látky, kterou schvaluje Codex Alimentarius a také Mezinárodní organizace pro vinnou révu a víno (OIV), jako okyselující činidlo a inhibitor jablečno-mléčného kvašení (Morata et al. 2020; Fernández-Vázquez et al. 2021). Absence kyseliny fumarové ve většině zkoumaných vzorků může být také z důvodu, že toto schválení bylo zavedeno relativně nedávno (v platnosti od roku 2021), potenciálně by bylo možné pozorovat obsah do 600 mg/l. Celkově byla tato kyselina pozorována pouze ve třech vzorcích (Tabulka č. 4) a její obsah nepřesáhl 3,82 mg/l (TO20). Byla detekována také ve hlohovém víně (Han et al. 2019) v koncentracích 2,5–3,7 mg/l. Přirozeně byl výskyt této kyseliny prokázán i v bobulích vinné révy (Flores et al. 2012; Li et al. 2020). Zmínka o jejím obsahu v tradičním víně ale v literatuře schází.

Spolu s kyselinou octovou souvisí i obsah kyseliny mravenčí. Obě kyseliny se nevyskytují v hroznech přirozeně, ale mohou vznikat během fermentace (Hohl & Joslyn 1941).

Pokud by byla koncentrace této kyseliny příliš vysoká, víno by mělo nežádoucí pachut', kterou lze jen těžko odstranit. Kyselina mravenčí se může ve vínech vyskytovat jakožto zbytek z opalování dřeva a do vína se tím pádem dostává při skladování a zrání v dřevěných sudech (Bourgeois et al. 2006). V rámci měření její hodnota byla ale nízká a nepřesáhla 2 mg/l (1,7 mg/l TR18), což lze považovat za zanedbatelný obsah.

Kyseliny máselná, sorbová a benzoová nebyly ve vzorcích vůbec detekovány. U kyseliny máselné je to pozitivní zjištění, neboť je nežádoucí a při vyšším obsahu (obvykle

už kolem 3 mg/l) senzoričky víno znehodnocuje (Wein.plus 2022). Kyseliny sorbová (E200) a benzoová (E210) jsou na druhé straně schválené přídavné látky, které jsou legislativou Evropské unie přísně regulovány. Nařízení ES č. 1234/2007 limituje obsah u nealkoholických vín na 200 mg/l jak u kyseliny sorbové, tak kyseliny benzoové, přičemž je možné je přidávat jednotlivě nebo v kombinaci.

Ve výsledku tak lze shrnout, že právě díky vysokému množství různých faktorů, které se podílejí na obsahu organických kyselin v hroznech, je možné u jednotlivých vzorků naměřit poměrně vysoký koncentrační rozptyl. Z námi naměřených výsledků je tak patrné, že se pohybujeme v rozsahu, který odpovídá měřeným hodnotám ostatních autorů. Analyzované vzorky pocházely z odlišných podnebných podmínek, z odlišných ročníků a jednalo se o vzorky různých odrůd. Celkově lze však shrnout, že ve vínech bílých je obsaženo větší množství organických kyselin, které jsou přístupné pro jejich interakci s volným hliníkem.

Tabulka č. 7a, porovnání pozorovaných obsahů organických kyselin s literaturou

Kyselina	Obsah kyseliny mg/l		Země původu	Zdroj
	Bílé víno	Červené víno		
Octová	35–121	54,9–212	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
		150–280	BR	(Coelho et al. 2018)
	210	479	ES	(Mato et al. 2007)
	367,5	417,4	DE	(Ohira et al. 2014)
		556	ES	(Castineira et al. 2002)
	224–924	118–1003	BR	(Peres et al. 2009)
	70–1540	120–610	?	(Regmi et al. 2012)
	102–1676	444–697	CZ	(Zeravik et al. 2016)
Mléčná	54,7–203	767–1750	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
	470	171	DE	(Ohira et al. 2014)
	625	837	ES	(Mato et al. 2007)
	200–1510	200–3230	?	(Regmi et al. 2012)
		2108	ES	(Castineira et al. 2002)
		1200–3400	BR	(Coelho et al. 2018)
	126–2468	2090–3810	CZ	(Zeravik et al. 2016)
61–3933	35–7306	BR	(Peres et al. 2009)	
Galakturonová	6,5–10,1	13,9–24,8	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
	110–470		HR	(Mihaljević Žulj et al. 2015)

? autor publikace zemi původu neuvádí

Tabulka č. 7b, porovnání pozorovaných obsahů organických kyselin s literaturou

Kyselina	Obsah kyseliny mg/l		Země původu	Zdroj
	Bílé víno	Červené víno		
Šťavelová	11,6–67,5	18,5–29,6	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
	3–3,3	6,9–12,7	DE	(Siener et al. 2017)
Jantarová	28,1–44,1	17,1–406	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
	409	226,5	ES	(Mato et al. 2007)
		556	ES	(Castineira et al. 2002)
	83–631	66–700	BR	(Peres et al. 2009)
	547	714	DE	(Ohira et al. 2014)
	130–898	543–791	CZ	(Zeravik et al. 2016)
	200–1270	200–2000	?	(Regmi et al. 2012)
Jablečná	654–1820	3,6–607	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
		547	ES	(Castineira et al. 2002)
		60–1560	BR	(Coelho et al. 2018)
	786	582	DE	(Ohira et al. 2014)
	1968	390	ES	(Mato et al. 2007)
	200–2280	200–3140	?	(Regmi et al. 2012)
	1117–2627	2153–2243	BR	(Peres et al. 2009)
	1663–6222	121	CZ	(Zeravik et al. 2016)
Vinná	525–2040	445–1390	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
	1048–1362	1023–2212	BR	(Peres et al. 2009)
		1483	ES	(Castineira et al. 2002)
	1064	1891	DE	(Ohira et al. 2014)
	660–2612	1531–1861	CZ	(Zeravik et al. 2016)
	3093	3159	ES	(Mato et al. 2007)
	1010–3000	940–3920	?	(Regmi et al. 2012)
		600–5600	BR	(Coelho et al. 2018)

? autor publikace zemi původu neuvádí

Tabulka č. 7c, porovnání pozorovaných obsahů organických kyselin s literaturou

Kyselina	Obsah kyseliny mg/l		Země původu	Zdroj
	Bílé víno	Červené víno		
Citronová	275–397	6,1–412	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
	153,7–557,3	268,9	CZ	(Zeravik et al. 2016)
		0,4–1,9	?	(Fung & Lau 2003)
		220–970	HR	(Mihaljević Žulj et al. 2015)
		0,4–1250	?	(Cheynier et al. 1997)
Mravenčí	0,38–1,7	0,24–0,46	CZ, HU, IT, AU, DE	Janošcová
		20–90	?	(Bourgeois et al. 2006)

? autor publikace zemi původu neuvádí

6.3 Interakce organických kyselin a hliníku

Všechny mononukleární specie hliníku mohou polymerizovat nebo tvořit komplexy s anorganickými i organickými anionty, které při tvorbě komplexu vystupují jako hlavní ligandy (Karaš et al. 2020). Komplexovat hliník jsou schopny také organické kyseliny díky schopnosti karboxylové, neboli -COOH skupiny, tvořit stabilní vazby s hliníkem (Hue et al. 1986). Jedním z přínosů vzniku těchto komplexů v přírodě je detoxikace hliníkových iontů (Venturini-Soriano & Berthon 2001; Ma & Furukawa 2003; Happel & Seubert 2008), přičemž schopnost kořenové produkce kyseliny citronové byla pozorována i u vinné révy (Cançado et al. 2009). Mezi silné, komplexotvorné organické kyseliny se řadí kyselina citronová, šťavelová a jablečná (Tipping 2005; Happel & Seubert 2008). Například kyselina citronová má tendenci tvořit komplexy s hliníkem, především v poměru 1:1 a kyselina šťavelová v poměru 1:1, 1:2 až 1:3 v závislosti na poměru kyseliny a hliníku (Nordstrom & May 1996; Shen et al. 2004). Efektivita organických kyselin vázat hliník bude proto záviset na počtu -COOH skupin v řetězci.

Sledování tvorby hlinitých komplexů s organickými kyselinami v dvojsložkových systémech při odlišných hodnotách pH 3,01 a 3,69 a obsahem Al^{3+} 100 mg/l znázorňuje Graf č.3 a 4. Při nižším pH došlo k nejvyšší změně koncentrace v případě kyseliny citronové až o 89,0 %, kyseliny šťavelové o 77 %, zatímco při kyselině vinné a jablečné byl pokles signálu nižší zhruba 40 % v obou případech. U těchto kyselin byla prokázána jejich vysoká reaktivita s Al^{3+} , zatímco u zbylých kyselin byl při tomto pH pokles zanedbatelný.

Se zvýšením pH došlo k zřetelným poklesům u všech zkoumaných organických kyselin. Podrobné rozdíly detekovaných koncentrací uvádí Tabulka č. 8, kde údaje znázorňují omezení detekce molekul organických kyselin při změně pH z 3,01 na 3,69.

Tabulka č. 8 rozdíl detekovaných molekul organických kyselin (%) mezi pH 3,01 a 3,69

Organická kyselina	Koncentrace Al ³⁺ (mg/l)			Organická kyselina	Koncentrace Al ³⁺ (mg/l)		
	1	10,0	100		1	10,0	100
Mravenčí	-5,82	-8,91	-31,9	Šťavelová	-5,95	-9,39	-6,88
Octová	x	x	-67,4	Jantarová	-2,47	-5,64	-43,2
Mléčná	-4,13	-5,25	-22,0	Fumarová	-17,2	-22,5	-50,9
Máselná	x	-2,98	-6,08	Jablečná	x	-4,99	-24,3
Sorbová	-10,2	-13,7	-18,4	Vinná	-3,97	-7,81	-6,79
Benzoová	x	-4,34	-5,34	Citronová	-6,36	-6,79	-5,39

x = rozdíl menší jak 1%

Nejmarkantnější rozdíly byly patrné u kyseliny octové, kde nárůst pH vyústil v pokles signálu o dalších 67,4 % kyseliny fumarové o 50,9 %, a kyseliny jantaro až o 43,2 % a u kyseliny mravenčí o 31,9 %. Nejméně znatelné rozdíly pak byly patrné u kyseliny benzoové, kdy bylo dosaženo rozdílu detekce pouze 5,34 %. Při kyselině citronové a šťavelové, které vykazovali nejvyšší pokles signálu při hodnotě 3,01 zvýšení pH mělo malý vliv, signál pokles o dodatečných 5,4 % a 6,7 %. Důvod změny v reaktivitě kyselin s Al³⁺ za odlišného pH ve značné míře závisí na jejich schopnosti disociovat a nést záporný náboj.

Obecně je možné sílu organických kyselin ve vodním roztoku odvodit pomocí disociační konstanty pK_a, která určuje, jak snadno molekula odevzdá proton (H⁺) a vstupuje do disociovaného (reaktivního) stavu a nese negativní náboj. Čím nižší je hodnota, tím schopnost odevzdat H⁺ do roztoku sílí. Z této hodnoty je možno rovněž určit hodnotu pH, kdy je poměr disociovaných a nedisociovaných molekul vyrovnaný (Miessler et al. 2014). Některé kyseliny mají dokonce více hodnot pK_a, protože obsahují více -COOH skupin.

Z pozorování v Tabulce č. 8 je spojitost mezi hodnotou pK_a (Tabulka č. 9) dobře viditelná. Z výsledků vyplývá, že změna koncentrace při vyšší hodnotě pH je výrazně lepší u kyseliny octové (max o 67,4 %), u kyseliny fumarové (max o 50,9 %) či u kyseliny jantaroové (max o 43,2 %), zatímco u kyseliny šťavelové, jablečné a citronové se liší jen o 6,88 %; 24,3 % nebo 5,39 %. K tomuto dochází v důsledku zlepšení reaktivity Al³⁺ s kyselinou, protože pH roztoku umožňuje disociaci vyššího počtu molekul. Hodnota pH roztoku nižší, než hodnota pK_a dané kyseliny vede k tomu, že koncentrace H₃O⁺ iontů je příliš vysoká, což molekule neumožňuje setrvat v disociovaném stavu a interagovat s atomy Al³⁺ následkem silné konkurence kationtů.

Tabulka č. 9, pK_a vybraných organických kyselin

Organická kyselina	pK_a (25 °C)			Organická kyselina	pK_a (25 °C)		
	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}		pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}
Kys. mravenčí	3,75			Kys. šťavelová	1,27	4,14	
Kys. octová	4,76			Kys. fumarová	3,03	4,44	
Kys. mléčná	3,86			Kys. jantarová	4,20	5,60	
Kys. máselná	4,82			Kys. jablečná	3,46	5,20	
Kys. sorbová	4,76			Kys. vinná	2,89	4,40	
Kys. benzoová	4,21			Kys. citronová	3,15	4,76	6,39

Z toho důvodu je největší interakce při nižším pH pozorována u těch kyselin, jejichž hodnota pK_a je nižší nebo blízká 3,01; zatímco kyseliny s vyšší hodnotou budou interagovat hůř. Zvýšení pH umožňuje disociaci více molekul a umožní tak interakci s Al^{3+} . Právě proto je zlepšení například u kyseliny octové (pK_a 4,76) kyseliny mléčné (pK_a 3,86) a mravenčí (pK_a 3,75) tak patrné s nárůstem pH. Další faktor, jenž usnadňuje interakci s hliníkem, je počet funkčních skupin, které mohou disociovat a poskytují víc vazbových míst. Kyselina fumarová vykazuje výsledky v rozporu s těmito tvrzeními, kdy nejpravděpodobnějším vysvětlením bude nízká stabilita Al-fumarátových komplexů při nízkém pH nakolik se jí nepřipisují dobré chelatační vlastnosti (McCull & Pohlman 1986).

Při porovnání s literaturou výrazně silný vliv hliníkové komplexace v případě kyseliny citronové, jablečné a šťavelové experimentálně pozorovali také Drábek et al. (2015), kdy stabilita a výskyt komplexů hliníku a organických kyselin podléhala měnícímu se pH a poměru hliníku ke kyselině. V případě kyseliny citronové byla schopnost interagovat s hliníkem významně potlačena s klesajícím pH důsledkem protonace molekuly citrátu díky čemuž autoři nepozorovali rozdíl v koncentraci měřitelného Al^{3+} pod pH 2,05 pokud obsah kyseliny nedosahoval aspoň 2,7násobek koncentrace hliníku, a umožnil vznik $AlH-(Citronan)^+$ i za pH 1,87 (82,4 %). Nadbytek kyseliny bude tedy umožňovat interakci s poklesem pH. U kyseliny šťavelové pozorovali velmi dobrou schopnost interagovat s hliníkem v rozsahu pH 2,65–1,35; teda i za podmínek kdy tato kyselina podléhá protonaci a interakce s Al^{3+} se zhoršuje. V závislosti od koncentrace kyseliny šťavelové přibližně 1:1 vedl k formování $Al-(Šťavelan)^+$ na úrovni 12 % při pH 1,35; zatímco dvojnásobek kyseliny za stejných podmínek vázal všechny Al^{3+} . Dle Lundström and Öhman (1990) tvoří kyselina šťavelová oproti kyselině citronové hliníkový komplex efektivněji, to podporují jak pK_a kyselin (Tabulka č. 9) tak pozorování Drábek et al. (2015). Během experimentu však pH roztoku nebylo dostatečně nízké, aby byl tento efekt experimentálně pozorovatelný.

U kyseliny jablečné předpokládají dobrou interakci bez ohledu na poměr kyseliny k hliníku v rozsahu pH 3,04–2,08; podobně jako v předešlých případech efektivita vázat hliník stoupá s poklesem pH, pokud je obsah kyseliny jablečné vyšší.

6.3.1 Speciační analýza v programu Visual MINTEQ 3.1.

Simulací v programu Visual MINTEQ 3.1 bylo na základě reálně naměřených hodnot pH, obsahů hliníku a organických kyselin pro jednotlivá vína odhadnuto množství vzniklých specií hliníku s organickými kyselinami. Simulace se přitom omezila na kyseliny mravenčí, octovou, mléčnou, máselnou, benzoovou, šťavelovou, jantarovou, jablečnou, vinnou a citronovou, protože kyselina sorbová, galakturónová a fumarová nejsou součástí programového balíku. Výsledek speciačního zastoupení pro 10 organických kyselin s hliníkem znázorňuje Tabulka č. 10.

Z těchto hodnot lze vyčíst, že i díky relativně nízké koncentraci (v průměru 27,1 mg/l) v porovnání s jinými organickými kyselinami bude upřednostněn vznik komplexů hliníku s kyselinou šťavelovou. Bez ohledu na barvu vína budou potenciálně šťavelany tvořit v průměru 91 % všech komplexů s nejzastoupenější formou $\text{Al}-(\text{Šťavelan})_2^-$. Tento komplex by měl speciační podíl od 53,8 % (TO20) do 72,3 % (MP20). Druhý by byl $\text{Al}-(\text{Šťavelan})_3^{-3}$ s průměrným obsahem 17,2 %, s nejvyšší hodnotou 26,9 % (P20) a nejnižší 5,76 % (MM18). Nejnižší zastoupení hliníku by bylo ve formě $\text{Al}-(\text{Šťavelan})^+$, s průměrným zastoupením kolem 7,49 %.

Komplexy hliníku s kyselinou citronovou budou zastoupeny jako Al-Citronan především v bílých vínech 8,75 % (RR20) až 16,6 % (TO20). V případě červených vín bude nejvíce zastoupen v podílu 5,06 % (NEČ) a nejnižší 0,09 % (SV18). V některých vzorcích nemusí vznikat vůbec. Komplex $\text{AlH}-(\text{Citronan})^+$ vzniká potenciálně v obou vínech, spíše však v těch bílých, kde nejvyšší hodnoty model odhaduje 4,73 % (TO20) a 3,33 % (RR20) a nejnižší 0,08 % (NEB). U červeného vína by obsah kolísal mezi 1,61 % (NEČ) a 0,02 % (SV18). Poslední komplex $\text{Al}-(\text{Citronan})_2^{-3}$ vzniká v obou typech vín, avšak jen na úrovni nižší než 0,20 %.

Vznik komplexů s vyšším počtem molekul kyseliny šťavelové $\text{Al}-(\text{Šťavelan})_3^{-3}$, $\text{Al}-(\text{Šťavelan})_2^-$ anebo citronové $\text{Al}-(\text{Citronan})_2^{-3}$ bude záviset především na poměru složek, kdy obsahu kyseliny převyšujícím obsah hliníku bude upřednostňovat vznik těchto komplexů (Drábek et al. 2015).

Dále lze očekávat rovněž vznik komplexu s kyselinou vinnou. V tomto případě dochází ke vzniku vinanů, například $\text{Al}-(\text{Vinan})_2^-$, který se podstatně více vyskytuje v bílém víně, nejvíce 10,7 % (TČ18) a 9,51 % (RR20), a daleko méně se tvoří v červených vínech maximálně 8,75 % (NEČ).

Komplexy s kyselinou mléčnou bude hliník potenciálně tvořit také. Jejich obsah však bude maximálně dosahovat do 0,26 %, a to zejména ve vínech červených, kde probíhá jablečno-mléčná fermentace.

Navzdory tomu že simulace MINTEQ nedokázala vypočítat zastoupení specií s kyselinou jablečnou, práce Drábek et al. (2015) ukazuje značný poenciál vzniku $\text{Al}-(\text{jablečnan})^+$ ve pozorovaném rozsahu pH ve víně. Simulace rovněž předpokládá, že obsah nezreagovaného hliníku ve vzorcích vína, v tabulce č. 10 jako Al^{3+} , bude v průměru jen kolem 0,05 %. Navzdory tomu, že obsah organických kyselin ve víně je značný, rozsah interakce v reálných podmínkách bude ovlivněn i jinými složkami (například PO_4^{3-} , aminokyseliny) a především kationty kovů a polokovů. Ve smyslu tématu diplomové práce však tyto složky nebyly předmětem zkoumání.

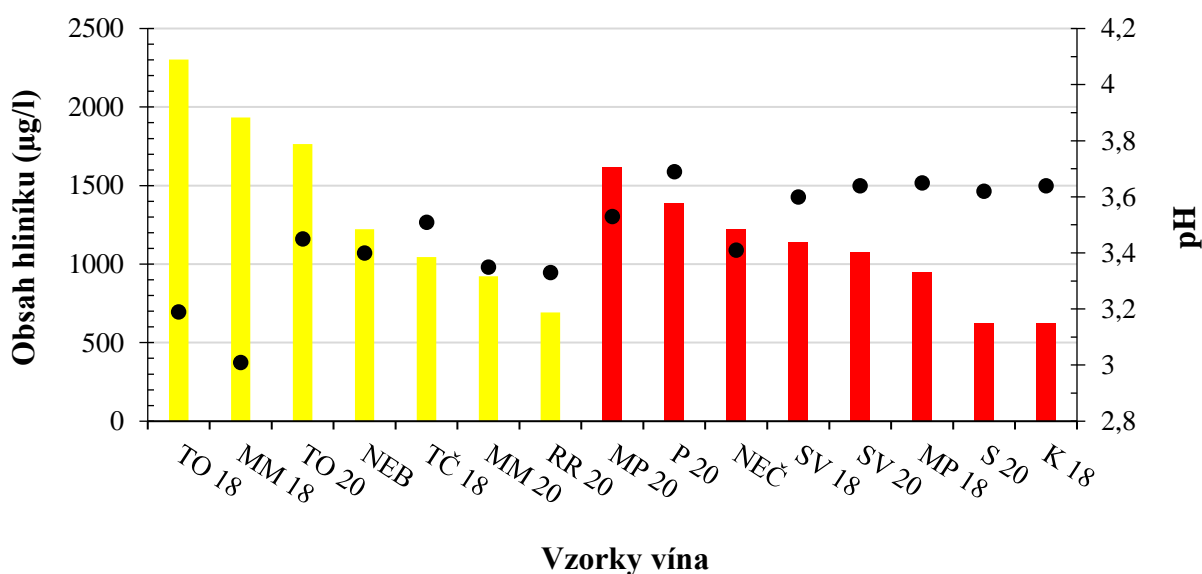
Tabulka č. 10, simulace interakce hliníku s organickými kyselinami v reálných vínech pomocí Visual MINTEQ 3.1.

Specie	Výskyt specie v %														
	MP18	MP20	SV18	SV20	MM18	MM20	TO18	TO20	K18	P20	TČ18	RR20	S20	NEB	NEČ
Al ⁺³		0,01		0,01	0,07	0,04		0,06			0,02	0,07			0,02
Al-Citronan (aq)		1,16	0,09	1,06	1,36	4,94	0,26	16,56		2,22	5,06	8,75	1,89	0,23	5,06
Al-(Citronan) ₂ ⁻³						0,02		0,16		0,06	0,06	0,05	0,04		0,05
Al H-Citronan ⁺		0,28	0,02	0,20	1,07	1,77	0,14	4,73		0,37	1,28	3,33	0,37	0,08	1,61
Al-(Vinan) ²⁻	1,57	3,20	3,54	4,43	5,99	1,82	0,08	6,86	0,50	2,20	10,64	9,51	4,08	0,27	8,75
Al H-Šťavelan ⁺²					0,01										
Al OH-(Šťavelan) ₂ ⁻²	0,11	0,09	0,10	0,11	0,02	0,05	0,04	0,05	0,11	0,11	0,07	0,05	0,10	0,05	0,06
Al OH-Šťavelan	0,12	0,14	0,15	0,19	0,11	0,18	0,04	0,24	0,10	0,10	0,16	0,19	0,09	0,03	0,14
Al-(Šťavelan) ₃ ⁻³	23,84	16,15	18,27	15,71	5,76	7,59	25,12	4,15	26,27	26,85	11,19	5,03	25,98	35,71	10,81
Al-(Šťavelan) ₂ ⁻	69,96	72,34	71,61	70,76	69,34	71,23	70,66	53,79	69,20	64,65	63,68	58,69	63,80	61,53	64,90
Al-Šťavelan ⁺	4,22	6,46	5,90	6,87	16,24	12,35	3,66	13,38	3,64	3,36	7,83	14,31	3,60	2,11	8,48
Al-(Laktát) ₂ ⁺	0,05	0,05	0,10	0,20					0,05	0,02			0,01		0,03
Al-Laktát ⁺²	0,03	0,05	0,06	0,10	0,02			0,01	0,03	0,01	0,01	0,02	0,01		0,05
AlOH-(Laktát) ₂ (aq)	0,07	0,05	0,12	0,26					0,07	0,02			0,01		
Al-(Laktát) ₃ (aq)	0,01		0,02	0,06					0,02						
Al OH-Laktát ⁺		0,01	0,02	0,03											

6.4 Spojitost mezi barvou vína, obsahem hliníku a pH

Jedním z parametrů, které mohou výrazně ovlivnit kvalitu vína, je pH. Publikované hodnoty pH pro bílá vína se pohybují v rozsahu 3,1–3,4 a pro vína červená mezi 3,3–3,6 (Kontoudakis et al. 2011; Coelho et al. 2018). Ty jsou v dobré shodě s naměřenými hodnotami (Graf č. 1), které se pohybují v rozsahu 3,19–3,61 pro bílá vína a 3,41–3,69 pro červená vína. Závislost mezi barvou vína, obsahem hliníku a pH vína hodnotí Graf č. 5.

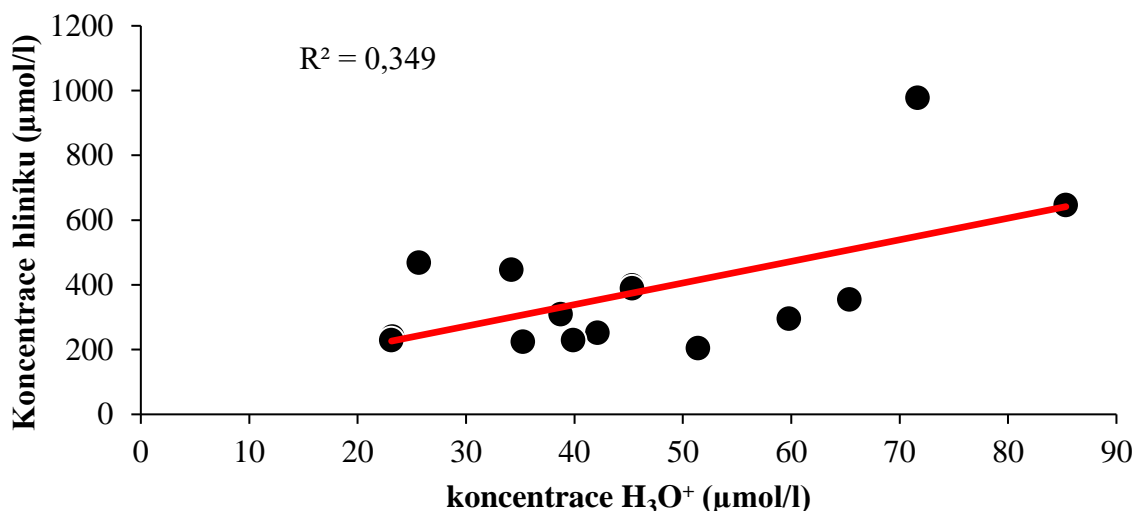
Graf č. 5, porovnání závislosti mezi barvou vína, obsahem hliníku a pH vína



Jestliže hodnotu pH vyjádříme jako ekvivalent koncentrace H_3O^+ , souvislost s obsahem hliníku se stane patrnější. Podle Pearsona (Graf č. 6), existuje středně silná pozitivní korelace mezi pH a obsahem hliníku ve vínech ($r = 0,59$) i navzdory nízkému koeficientu determinace ($R^2 = 0,35$). To lze částečně odůvodnit nízkým počtem vzorků. Význam korelace dokazuje hodnota $p < 0,05$ ($p = 0,02$), ze které vyplývá, že hypotéza závislosti pH a obsahu hliníku je statisticky významná.

Korelační vztah mezi obsahem hliníku a pH je možné pozorovat i s přihlédnutím k barvě vína. U červených vín nastává slabá pozitivní korelace ($r = 0,33$), zatímco u bílého vína středně silná pozitivní korelace ($r = 0,57$). Toto zjištění je významné, protože v červeném víně není obsah hliníku ovlivněn přidavkem bentonitu (Stafilov & Karadjova 2009), což potvrzuje existenci pozitivního korelačního vztahu mezi obsahem hliníku a hodnotou pH.

Graf č. 6, korelační vztah mezi pH a obsahem hliníku bez ohledu na barvu vína



Pro zvýšení průkaznosti korelace a potvrzení statistické významnosti by bylo nutné zvýšit počet vzorků. Literatura po této stránce poskytuje jen jediný použitelný údaj, kdy (Cabrita et al. 2018) pozoroval v bílém víně obsah Al v průměru 814 $\mu\text{g/l}$ při pH 3,64. V červeném naopak pozoroval obsah Al 599 $\mu\text{g/l}$ při hodnotě pH 3,78. Zkombinováním těchto údajů s experimentálně získanými daty stoupá jak koeficient determinace ($R^2 = 0,40$), tak celková síla korelačního vztahu podle Pearsona ($r = 0,63$) za zachování statistické významnosti $p < 0,01$ ($p = 0,0062$).

Při pohledu na barvu vína, se ale výsledky zhoršují z důvodu nepotvrzení statistické významnosti (hodnota p). U červených vín vyplývá střední pozitivní korelace ($r = 0,47$) a nízký koeficient determinace ($R^2 = 0,25$). Ovšem statistická významnost je vyšší než 0,05 ($p = 0,19$). Podobné výsledky se zobrazují i u vín bílých. Nachází se zde silná pozitivní korelace ($r = 0,63$) a střední koeficient determinace $R^2 = 0,39$. Také se nepotvrdila statistická významnost ($p = 0,09$).

Na základě těchto hodnot nelze významnost výsledků jednoznačně potvrdit. Ale s ohledem na to, jak málo se ve vědecké literatuře vyskytuje hodnota pH, pokud je měřen hliník nebo jiný kov, jsou výsledky této práce mimořádně zajímavé.

7. Závěr

V rámci práce jsem prováděla měření pH vín a postupně zjistila, že bílá vína mají výrazně nižší pH oproti vínům červeným. Většina vzorků červeného vína se pohybovala v hodnotách pH 3,53–3,69, bez výraznějšího rozdílu mezi odrůdami a ročníky. V případě bílých vín se většina vzorků pohybovala mezi hodnotami pH 3,33–3,51. Dále jsem zjistila, že vliv na hodnotu pH u jednotlivých vzorků se může lišit v závislosti od genotypu jednotlivých odrůd a rovněž jejich ročníku. V případě sladších odrůd vín v kombinaci s ročníkem se podíl obsahu kyselé složky ve víně rovněž liší. Z naměřených hodnot pH je patrné, že u ročníku 2018 je pH nižší, než u vzorků ročníků 2020.

Dále jsem stanovila celkový obsah hliníku ve vzorcích vína. Dosahoval v průměru 1235 $\mu\text{g/l}$ bez ohledu na jeho barvu, kdy nejvyšší hodnota představovala 2302 $\mu\text{g/l}$ a naopak nejnižší 624 $\mu\text{g/l}$. Nejvyšší hodnoty hliníku byly naměřeny ve vínech bílých. Z hlediska měřených ročníků bylo rovněž patrné, že u bílých vín byl jednoznačně vyšší obsah hliníku u ročníků z roku 2018. V případě červených vín byl naopak vyšší obsah hliníku u vzorků z roku 2020. Mezi jednotlivými odrůdami byl patrný vyšší obsah hliníku u odrůd TO a MM u bílého vína a u odrůdy MP u červeného vína. Při porovnání s literárními zdroji se námi analyzované zdroje koncentrací hliníku pohybovaly v podobném rozsahu. Rovněž byla potvrzena shoda výsledků, kde bílá vína měla vyšší celkový obsah hliníku oproti červeným.

Ve vzorcích bylo celkově identifikováno 10 organických kyselin. Konkrétně kyselina mravenčí, octová, mléčná, galakturonová, šťavelová, fumarová, jantarová, jablečná, vinná a citronová. Z těch byly nejvíce zastoupeny kyseliny vinná (2040 mg/l), jablečná (1820 mg/l) a mléčná (1750 mg/l), a nejméně kyselina mravenčí (1,7 mg/l), detekována na kvantifikovatelné úrovni jen v 8 vzorcích anebo fumarová (3,82 mg/l), kterou se podařilo kvantifikovat jen v případě 3 vzorků. V rámci porovnání hodnot s literaturou byla pozorována vysoká variabilita hodnot pro obsah jednotlivých kyselin. Vzhledem k dostupné literatuře však mezi hodnotami jiných autorů a námi zjištěnými hodnotami nebyly zaznamenány žádné extrémní rozdíly.

Schopnost interakce hliníku s organickými kyselinami na základě reálných koncentrací a hodnot pH byla následně simulována pomocí programu Visual MINTEQ 3.1. při které organické kyseliny představovaly jediné ligandy. Pomocí této simulace bylo zjištěno, že upřednostňován bude v tomto simulovaném systému vznik komplexů hliníku s kyselinou šťavelovou. Bez ohledu na druh vína mohou Al-šťavelany tvořit potenciálně až 91 % všech simulovaných komplexů s nejzastoupenější formou Al-(šťavelan) $_2^-$ (53,8–72,3 %). Z dalších komplexů budou na relevantné úrovni mohou potenciálně vznikat Al-citráty (0,02–15,56 %) a Al-vinany (0,08–10,64 %). Simulace nedokázala odhadnout výskyt komplexů s kyselinou jablečnou. Na základě literatury je však možné odhadovat vznik Al-(jablečnan) $^+$ na podstatně vysoké úrovni.

V průběhu práce byla prokázána souvislost mezi disociační konstantou (pK_a) jednotlivých organických kyselin a jejich schopností tvořit komplexy s hliníkem, kdy s nárůstem pH roztoku dochází rovněž k nárůstu interakce organických kyselin, díky zvýšení počtu disociovaných molekul. To je zejména očividné u organických kyselin s jedinou karboxylovou skupinou, jejichž disociační konstanta byli nejvyšší, a tedy nejhůř odštěpovali proton ze své molekul v důsledku vysoké koncentrace H_3O^+ v roztoku při

pH 3,01. Právě proto s nárůstem pH na 3,69 byl pozorován výraznější pokles signálu volných molekul pro kyseliny octovou (o 67,4 %), fumarovou (o 50,9 %) anebo jantarovou (o 43,2 %) s pK_a hodnotami 4,76; 3,03 a 4,20. Naproti tomu u kyselin šťavelové se dvěma, a citronové se třemi karboxylovými skupinami a s nejnižšími hodnotami pK_a 1,25 a 3,15 byl pokles signálu jen minimální (6,88 a 5,39 %). Při snižování pH proto lze očekávat vyšší stabilitu komplexů u organických kyselin se stoupajícím počtem karboxylových skupin a nižší hodnotou pK_a .

Také byl stanoven vztah mezi obsahem hliníku a pH, kdy pomocí statistického výpočtu dle Pearsonova korelačního koeficientu bylo možné pozorovat korelační vztah bez ohledu na barvu vína. Výsledky byly statisticky významné ($p < 0,05$) a mezi vzorky existuje středně silná pozitivní korelace ($r = 0,59$) i navzdory nízkému počtu vzorků ($R^2 = 0,35$). Pro zvýšení průkaznosti vzájemného vztahu by bylo nutné počet vzorků navýšit o dostupná data z vědeckých článků. Litaretura ovšem poskytuje pouze jeden doplňující údaj, se kterým bylo provedeno statistické hodnocení v rámci barvy vína. Zde se ukazuje, že statistická významost není potvrzena ($p > 0,05$) i při stávající střední až silné korelaci pro červená a bílá vína ($r = 0,47$ a $0,63$). Navzdory statistické neprůkaznosti, jsou tyto výsledky velmi hodnotné, neboť autoři jiných vědeckých prací se vztahem mezi obsahem Al a pH vín příliš nezabývají. Neobsahují tudíž poznatky, ze kterých by se dal vzájemný vztah statisticky vypočítat.

8. Literatura

- Aceto M, Abollino O, Bruzzoniti MC, Mentasti E, Sarzanini C, Malandrino M. 2002. Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); a review. *Food Additives & Contaminants* 19:126-133.
- Alfrey A, LeGendre G, Kaehny W. 1976. The dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminum intoxication. *N Engl J Med* 294:184-188.
- Alves Filho EG, Silva LMA, Ribeiro PR, de Brito ES, Zocolo GJ, Souza-Leão PC, Marques AT, Quintela AL, Larsen FH, Canuto KM. 2019. 1H NMR and LC-MS-based metabolomic approach for evaluation of the seasonality and viticultural practices in wines from São Francisco River Valley, a Brazilian semi-arid region. *Food chemistry* 289:558-567.
- Audi G, Bersillon O, Blachot J, Wapstra AH. 2003. The NUBASE evaluation of nuclear and decay properties. *Nuclear physics A* 729:3-128.
- The Australian Wine Research Institute. 2022. Crystalline deposits, Available from https://www.awri.com.au/industry_support/winemaking_resources/fining-stabilities/hazes_and_deposits/crystalline_deposits/ (accessed 10.4 2022).
- Bae S, Fleet GH, Heard GM. 2006. Lactic acid bacteria associated with wine grapes from several Australian vineyards. *Journal of applied microbiology* 100:712-727.
- Balašík J. 2001. Konzervování v domácnosti. *Ottobre* 12.
- Bartowsky EJ, Henschke PA. 2004. The 'buttery' attribute of wine—diacetyl—desirability, spoilage and beyond. *International journal of food microbiology* 96:235-252.
- Bauer F, Chidi B, Rossouw D. 2018. Organic Acid Metabolism and the Impact of Fermentation Practices on Wine Acidity.
- Bisson LF. 1999. Stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture* 50:107-119.
- Blanco CA, Sancho D, Caballero I. 2010. Aluminium content in beers and silicon sequestering effects. *Food Research International* 43:2432-2436.
- Bourgeois JF, McColl I, Barja F. 2006. Formic acid, acetic acid and methanol. *Arch Sci* 59:107-112.
- Bratakos SM, Lazou AE, Bratakos MS, Lazos ES. 2012. Aluminium in food and daily dietary intake estimate in Greece. *Food Additives and Contaminants: Part B* 5:33-44.
- Burešová P, Pavloušek P. 2015. *Vše, co byste měli vědet o víně... a nemáte se koho zeptat*. Praha: Grada Publishing.
- Cabrita MJ, Martins N, Barrulas P, Garcia R, Dias CB, Pérez-Álvarez EP, Freitas AMC, Garde-Cerdán T. 2018. Multi-element composition of red, white and palhete amphora wines from Alentejo by ICPMS. *Food Control* 92:80-85.
- Calwineries. 2022. Acetic Acid, Available from <https://www.calwineries.com/learn/wine-chemistry/wine-acids/acetic-acid> (accessed 10.4 2022).
- Cançado G, Ribeiro A, Piñeros M, Miyata L, Alvarenga Â, Villa F, Pasqual M, Purgatto E. 2009. Evaluation of aluminium tolerance in grapevine rootstocks. *Vitis* 48:167-173.
- Castineira A, Pena R, Herrero C, Garcia-Martin S. 2002. Analysis of organic acids in wine by capillary electrophoresis with direct UV detection. *Journal of food composition and analysis* 15:319-331.

- Castiņeira MdM, Brandt R, Jakubowski N, Andersson JT. 2004. Changes of the metal composition in German white wines through the winemaking process. A study of 63 elements by inductively coupled plasma– mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:2953-2961.
- Coelho EM, da Silva Padilha CV, Miskinis GA, de Sá AGB, Pereira GE, de Azevêdo LC, dos Santos Lima M. 2018. Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis* 66:160-167.
- Cvetković J, Stafilov T, Mihajlović D. 2001. Nickel and strontium nitrates as modifiers for the determination of selenium in wine by Zeeman electrothermal atomic absorption spectrometry. *Fresenius' journal of analytical chemistry* 370:1077-1081.
- Český statistický úřad. 2021. Pohyb obyvatelstva - rok 2020, Česká republika.
- Day M, Zhang B, Martin G. 1995. Determination of the geographical origin of wine using joint analysis of elemental and isotopic composition. II—Differentiation of the principal production zones in France for the 1990 vintage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 67:113-123.
- Deuis R, Subramanian C, Yellup J. 1997. Dry sliding wear of aluminium composites—A review. *Composites Science and Technology* 57:415-435.
- Doll R, Peto R, Hall E, Wheatley K, Gray R. 1994. Mortality in relation to consumption of alcohol: 13 years' observations on male British doctors. *Bmj* 309:911-918.
- Drábek O, Kiplagat IK, Komarek M, Tejnecký V, Borůvka L. 2015. Study of interactions between relevant organic acids and aluminium in model solutions using HPLC and IC. *Soil and Water Research* 10:172-180.
- Duggan JM, Dickeson JE, Tynan PF, Houghton A, Flynn JE. 1992. Aluminium beverage cans as a dietary source of aluminium. *Medical Journal of Australia* 156:604-605.
- EFSA. 2008. Safety of aluminium from dietary intake-Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *EFSA Journal* 6:754.
- Eschauer H, Neeb R. 1988. Micro-element analysis in wine and grapes. *Modern Methods of Plant Analysis* 6:67-91.
- Exley C, Mold MJ. 2014. The binding, transport and fate of aluminium in biological cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*.
- FAO, WHO, WHO Expert Committee on Food Additives. 2011. Evaluation of certain food additives and contaminants: seventy-fourth [74th] report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization.
- Fernández-Vázquez D, Rozès N, Canals JM, Bordons A, Reguant C, Zamora F. 2021. New enzymatic method for estimating fumaric acid in wines. *OENO One* 55:273-281.
- Fiket Ž, Mikac N, Kniewald G. 2011. Arsenic and other trace elements in wines of eastern Croatia. *Food Chemistry* 126:941-947.
- Fleischer M. 1954. The abundance and distribution of the chemical elements in the earth's crust. *Journal of Chemical Education* 31:446.
- Flores P, Hellín P, Fenoll J. 2012. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. *Food chemistry* 132:1049-1054.

- Fox T. 1995. The influence of low-molecular-weight organic acids on properties and processes in forest soils. Pages 43-62 in McFee WW, and Kelly JM, editors. Carbon forms and functions in forest soils. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin USA
- Fung YS, Lau KM. 2003. Analysis of organic acids and inorganic anions in beverage drinks by capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 24:3224-3232.
- Galani-Nikolakaki S, Kallithrakas-Kontos N, Katsanos A. 2002. Trace element analysis of Cretan wines and wine products. *Science of the total environment* 285:155-163.
- Gil-Sánchez I, Bartolomé Suáldea B, Victoria Moreno-Arribas M. 2019. Chapter 6 - Malolactic Fermentation. Pages 85-98 in Morata A, editor. *Red Wine Technology*. Academic Press.
- Gow N, Lozej G. 1993. Bauxite. *Geoscience Canada* 20:9-16.
- Greenwood NN, Earnshaw A. 2012. *Chemistry of the Elements*. Elsevier.
- Greger M, Tillberg JE, Johansson M. 1992. Aluminium effects on *Scenedesmus obtusiusculus* with different phosphorus status. II. Growth, photosynthesis and pH. *Physiologia Plantarum* 84:202-208.
- Gronbaek M, Deis A, Sorensen TI, Becker U, Schnohr P, Jensen G. 1995. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. *Bmj* 310:1165-1169.
- Han Y, Du J, Li J, Li M. 2019. Quantification of the Organic Acids in Hawthorn Wine: A Comparison of Two HPLC Methods. *Molecules (Basel, Switzerland)* 24:2150.
- Happel O, Seubert A. 2008. Separation and characterization of aluminium malate species by ion chromatography. *Analytical and bioanalytical chemistry* 392:1373-1381.
- Hawley G. 2007. Lewis RJ Sr in *Hawley's Condensed Chemical Dictionary: Humic Acids*. Wiley, Hoboken, NJ.
- Ho C, Lam C, Chan M, Cheung R, Law L, Lit L, Ng K, Suen M, Tai H. 2003. Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. *The Clinical biochemist. Reviews* 24:3-12.
- Hohl L, Joslyn M. 1941. Formic Acid Formation in Alcoholic Fermentation. *Plant Physiology*.
- Hue N, Craddock G, Adams F. 1986. Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. *Soil Science Society of America Journal* 50:28-34.
- Cheyrier V, Arellano IH, Souquet J-M, Moutounet M. 1997. Estimation of the oxidative changes in phenolic compounds of Carignane during winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture* 48:225-228.
- Jackson RS. 2014. *Wine science : principles and applications*, Available from <http://public.ebookcentral.proquest.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=1710531> (accessed 27.07 2021).
- Karaś K, Ziola-Frankowska A, Frankowski M. 2020. Chemical speciation of aluminum in wine by LC-ICP-MS. *Molecules* 25:1069.
- Karlsson B, Karlsson P. 2021. Wine Consumption In The World 2020 In Decline, A Detailed Look, USA. Available from <https://www.forbes.com/sites/karlsson/2021/12/31/wine-consumption-in-the-world-2020-in-decline-a-detailed-look/?sh=763d053f712a> (accessed 31.12 2021).

- Kayashima T, Katayama T. 2002. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1573:1-3.
- Kinraide TB. 1991. Identity of the rhizotoxic aluminium species. *Plant and Soil* 134:167-178.
- Kment P, Mihaljevič M, Ettl V, Šebek O, Strnad L, Rohlová L. 2005. Differentiation of Czech wines using multielement composition—A comparison with vineyard soil. *Food chemistry* 91:157-165.
- Kochian LV, Piñeros MA, Hoekenga OA. 2005. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity. *Plant and Soil* 274:175-195.
- Kontoudakis N, Esteruelas M, Fort F, Canals J, Zamora F. 2011. Use of unripe grapes harvested during cluster thinning as a method for reducing alcohol content and pH of wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17:230-238.
- Kraus V. 2005. Dějiny vinařství na Moravě: sborník příspěvků z konference, uspořádané ve dnech 16.-17. září 2004 ve Slavkově u Brna. Brno: Moravský zemský archiv.
- Kroschwitz JI, Howe-Grant M, Kirk RE, Othmer DF. 1996. *Encyclopedia of chemical technology*. John Wiley & Sons.
- Křivánková L, Boček P. 1997. Synergism of capillary isotachopheresis and capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography B* 689:13-34.
- Kumar V, Gill K. 2009. Aluminium neurotoxicity: neurobehavioural and oxidative aspects. *Arch Toxicol* 83:965-978.
- Kupina S, Pohl C, Gannotti J. 1991. Determination of tartaric, malic, and citric acids in grape juice and wine using gradient ion chromatography. *American journal of enology and viticulture* 42:1-5.
- Kuttelvašer Z. 2003. *Abeceda vína. Radix*.
- Lara R, Cerutti S, Salonia JA, Olsina RA, Martinez LD. 2005. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology* 43:293-297.
- Larroque M, Cabanis JC, Vian L. 1994. Determination of aluminum in wines by direct graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of AOAC International* 77:463-466.
- Lhotská D. 2021. Rozloha vinic i spotřeba vína roste, Available from <https://www.statistikaamy.cz/2021/04/29/rozloha-vinic-i-spotreba-vina-roste> (accessed 14.11 2021).
- Li J, Zhang C, Liu H, Liu J, Jiao Z. 2020. Profiles of sugar and organic acid of fruit juices: A comparative study and implication for authentication. *Journal of Food Quality* 2020:1-11.
- LibreTexts Chemistry. 2017. 3:4 Organic Acids and Bases, Available from <https://chem.libretexts.org/@go/page/91704> (accessed 15.11 2021).
- Lione A, Allen P, Crispin Smith J. 1984. Aluminium coffee percolators as a source of dietary aluminium. *Food and Chemical Toxicology* 22:265-268.
- Lopez FF, Cabrera C, Lorenzo ML, Lopez MC. 1998. Aluminium levels in wine, beer and other alcoholic beverages consumed in Spain. *Science of the total environment* 220:1-9.
- Lundström U, Öhman LO. 1990. Dissolution of feldspars in the presence of natural, organic solutes. *Journal of Soil Science* 41:359-369.

- Ma JF, Furukawa J. 2003. Recent progress in the research of external Al detoxification in higher plants: a minireview. *Journal of inorganic biochemistry* 97:46-51.
- Massey R, Taylor D 1989. *Aluminium in Food and the Environment*. Royal Society of Chemistry.
- Masson P. 2000. Influence of organic solvents in the mobile phase on the determination of carboxylic acids and inorganic anions in grape juice by ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 881:387-394.
- Mato I, Suárez-Luque S, Huidobro JF. 2005. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines. *Food Research International* 38:1175-1188.
- Mato I, Suárez-Luque S, Huidobro JF. 2007. Simple determination of main organic acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection. *Food Chemistry* 102:104-112.
- McColl J, Pohlman A. 1986. Soluble organic acids and their chelating influence on Al and other metal dissolution from forest soils. *Water, Air, and Soil Pollution* 31:917-927.
- Miessler G, Fisher J, Tarr D 2014. *Inorganic chemistry*. Pearson.
- Mihaljević Želj M, Puhelek I, Jagatić Korenika AM, Maslov Bandić L, Pavlešić T, Jeromel A. 2015. Organic acid composition in Croatian predicate wines. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 80:113-117.
- Michlovský M 2014. *Bobule*. Vinselekt Michlovský.
- Millar R. 2019. German Celts were drinking wine 2,700 years ago, The drinks business. Available from <https://www.thedrinksbusiness.com/2019/10/german-celts-were-drinking-wine-2700-years-ago/> (accessed 14.11 2021).
- Minoia C, Sabbioni E, Ronchi A, Gatti A, Pietra R, Nicolotti A, Fortaner S, Balducci C, Fonte A, Roggi C. 1994. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Community. IV. Influence of dietary factors. *Science of the total environment* 141:181-195.
- Morata A, Bañuelos MA, López C, Song C, Vejarano R, Loira I, Palomero F, Suarez Lepe JA. 2020. Use of fumaric acid to control pH and inhibit malolactic fermentation in wines. *Food Additives & Contaminants: Part A* 37:228-238.
- Morrison A, Rabellotti R. 2017. Gradual catch up and enduring leadership in the global wine industry. *Elsevier* 46:417-430.
- Murányi Z, Kovacs Z. 2000. Statistical evaluation of aroma and metal content in Tokay wines. *Microchemical Journal* 67:91-96.
- Narodne novine. 2005. Pravilnik o proizvodnji vina, Available from https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2005_01_2_17.html (accessed 10.4 2022).
- Národní vinařské centrum. 2021. Historie a současnost vinařství v ČR, Available from <https://www.vinarskecentrum.cz/o-vine/historie-a-soucasnost> (accessed 14.11 2021).
- Nordstrom D, May H. 1996. The chemistry of aluminum in surface waters. *The environmental chemistry of aluminum*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc:39-80.
- Ohira S-I, Kuhara K, Shigetomi A, Yamasaki T, Kodama Y, Dasgupta PK, Toda K. 2014. On-line electro-dialytic matrix isolation for chromatographic determination of organic acids in wine. *Journal of Chromatography A* 1372:18-24.
- Pátek J. 2001. *Zrození vína: všechno o zpracování hroznů, výrobě vína a jeho zrání*. Jota, Brno.

- Pennington J, Jones J. 1989. Aluminium in health: A critical review. New York.
- Peres R, Moraes E, Micke G, Tonin F, Tavares M, Rodriguez-Amaya D. 2009. Rapid method for the determination of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *Food Control* 20:548-552.
- Pohl P. 2007. What do metals tell us about wine? *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 26:941-949.
- Polák F, Urík M, Matúš P. 2019. Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotnosťou v pôdnom prostredí. *Chemicke Listy* 113:307-314.
- Poléo AB. 1995. Aluminium polymerization — a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish. Elsevier.
- Praus P, Vontorová J. 2015. Analytická chemie II. VŠB - Technická univerzita Ostrava, Ostrava.
- R-Biopharm. 2022. Wine analysis: How to determine acids in wine, Available from <https://food.r-biopharm.com/news/wine-analysis-how-to-determine-acids-in-wine/> (accessed 10.4 2022).
- Rageot M et al. 2019. The dynamics of Early Celtic consumption practices: A case study of the pottery from the Heuneburg. *PLOS ONE* 14:e0222991.
- Rahman R, Upadhyaya H. 2021. Aluminium Toxicity and Its Tolerance in Plant: A Review. *Journal of Plant Biology*.
- Ražić S, Todorović M, Holclajtner-Antunović I, Stoiljković M. 1999. Determination of metal traces in wine by argon stabilized dc arc. *Fresenius' journal of analytical chemistry* 365:367-370.
- Regmi U, Palma M, Barroso C. 2012. Direct determination of organic acids in wine and wine-derived products by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta* 732:137-144.
- Ribéreau-Gayon P, Dubourdieu D, Donèche B, Lonvaud A. 2006. Handbook of enology, Volume 1: The microbiology of wine and vinifications. John Wiley & Sons.
- Robles A, Fabjanowicz M, Chmiel T, Płotka-Wasyłka J. 2019. Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 120:115630.
- Sepe A, Costantini S, Ciaralli L, Ciprotti M, Giordano R. 2001. Evaluation of aluminium concentrations in samples of chocolate and beverages by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Additives & Contaminants* 18:788-796.
- Shen R, Iwashita T, Ma JF. 2004. Form of Al changes with Al concentration in leaves of buckwheat. *Journal of Experimental Botany* 55:131-136.
- Siener R, Seidler A, Voss S, Hesse A. 2016. The oxalate content of fruit and vegetable juices, nectars and drinks. *Journal of Food Composition and Analysis* 45:108-112.
- Siener R, Seidler A, Voss S, Hesse A. 2017. Oxalate content of beverages. *Journal of Food Composition and Analysis* 63:184-188.
- Silacci MW, Morrison JC. 1990. Changes in pectin content of Cabernet Sauvignon grape berries during maturation. *American Journal of Enology and Viticulture* 41:111-115.
- Soyer Y, Koca N, Karadeniz F. 2003. Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices. *Journal of food composition and analysis* 16:629-636.

- Stafilov T, Karadjova I. 2009. Atomic absorption spectrometry in wine analysis. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 28:17-31.
- Stanley D, Bandara A, Fraser S, Chambers P, Stanley GA. 2010. The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of applied microbiology* 109:13-24.
- Strunecká A, Patočka J. 2011. Doba jedová. Triton.
- Ševčík L. 1999. Bílá vína: hledání pravdy o víně. Grada.
- Šilhánková L. 1987. Mikrobiologické zkoumání potravin. VŠCHT.
- Štefecná K, Čepička J. 2001. Průběh změn hlavních organických kyselin v průběhu vinifikace. *Kvasny Prumysl* 47:246-249.
- Tarko T, Duda-Chodak A, Satora P, Sroka P, Gojniczek I. 2014. Chemical composition of cool-climate grapes and enological parameters of cool-climate wines. *Fruits* 69:75-86.
- Tipping E. 2005. Modelling Al competition for heavy metal binding by dissolved organic matter in soil and surface waters of acid and neutral pH. *Geoderma* 127:293-304.
- U.S.Geological Survey. 2020. Mineral commodity summaries 2020. Report. Survey USG, Reston, VA.
- Velíšek J. 1999. *Chemie potravin III*, 1. vyd., Tábor: OSSIS.
- Velíšek J, Hajšlová J. 2009. *Chemie potravin 2*. 3. vyd., Tábor.
- Venturini-Soriano M, Berthon G. 2001. Aluminum speciation studies in biological fluids: Part 7. A quantitative investigation of aluminum (III)–malate complex equilibria and their potential implications for aluminum metabolism and toxicity. *Journal of Inorganic Biochemistry* 85:143-154.
- Vilela-Moura A, Schuller D, Mendes-Faia A, Côrte-Real M. 2010. Effects of acetic acid, ethanol, and SO₂ on the removal of volatile acidity from acidic wines by two *Saccharomyces cerevisiae* commercial strains. *Applied microbiology and biotechnology* 87:1317-1326.
- Virdis C, Sumby K, Bartowsky E, Jiranek V. 2021. Lactic acid bacteria in wine: technological advances and evaluation of their functional role. *Frontiers in Microbiology*:3192.
- Vrbová T. 2001. Víme, co jíme?, aneb, Průvodce" Éčky" v potravinách. EcoHouse.
- Vrček IV, Bojić M, Žuntar I, Mendaš G, Medić-Šarić M. 2011. Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chemistry* 124:354-361.
- Watson RR 2003. *Reviews in Food and Nutrition Toxicity*. CRC Press.
- Wein.plus. 2022. Butyric acid, Available from <https://glossary.wein.plus/butyric-acid> (accessed 10.4 2022).
- WHO 1997. Aluminium-Environmental Health Criteria 194.
- Winter R. 2009. A consumer's dictionary of food additives: Descriptions in plain English of more than 12,000 ingredients both harmful and desirable found in foods. Crown Archetype.
- Yaroshevsky AA. 2006. Abundances of chemical elements in the Earth's crust. *Geochemistry International* 44:48-55.
- Yilmaz Y, Toledo RT. 2004. Major Flavonoids in Grape Seeds and Skins: Antioxidant Capacity of Catechin, Epicatechin, and Gallic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:255-260.

- Zeikus J, Jain M, Elankovan P. 1999. Biotechnology of succinic acid production and markets for derived industrial products. *Applied microbiology and biotechnology* 51:545-552.
- Zeravik J, Fohlerova Z, Milovanovic M, Kubesa O, Zeisbergerova M, Lacina K, Petrovic A, Glatz Z, Skladal P. 2016. Various instrumental approaches for determination of organic acids in wines. *Food chemistry* 194:432-440.
- Židek A, Vaníček M. 1998. Použití metody GDOES ke studiu povrchových vrstev pásů. *Hutnické listy* 4:25-28.

9. Seznam použitých zkratek a symbolů

- AAS – Atomová absorpční spektrometrie
- Al – hliník
- AN – Alzheimerova nemoc
- AR – Argentina
- BR – Brazílie
- CE – Kapilární elektroforéza
- CZ – Česká republika
- Da – Dalton, jednotka molekulové hmotnosti
- DE – Německo
- EFSA – European Food Safety Authority – Evropský úřad pro bezpečnost potravin
- ES – Španělsko
- ETAAS – Elektrotermická atomová absorpční spektrometrie
- FAAS – Plamenová atomová absorpční spektrometrie
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations – Organizace pro výživu a zemědělství
- FR – Francie
- GC – Plynová chromatografie
- GR – Řecko
- GRAS – Generally recognized as safe – látka je považována za bezpečnou
- HPLC – Vysoce výkonná kapalinová chromatografie
- HR – Chorvatsko
- HU – Maďarsko
- IC-MS – iontová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
- ICP-OES – optická emisní spektrometrie s indukčně vázanou plasmou
- IR – Infračervené záření
- IT – Itálie
- ITP – Izotachoforéza
- MS – Hmotnostní spektrometrie
- OIV – International Organisation of Vine and Wine – Mezinárodní organizace pro vinnou révu a víno
- PT – Portugalsko
- WHO – World Health Organization – Světová zdravotnická organizace
- USA – Spojené státy americké

10. Samostatné přílohy

Příloha č. 1, obsahy dalších prvků ve vzorcích vín

	mg/l																			
	B	Ba	Be	Ca	Co	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Na	Ni	P	Pb	S	Sb	Si	V	Zn	Al
NEČ	5,332	0,142		88,660		0,018	0,409	2,888	86,246	1,431	19,599	0,021	143,197	0,008	446,215	0,004	24,155	0,052	0,678	1,223
NEB	3,903	0,158	0,002	68,393		0,011	0,329	1,203	65,238	0,593	21,573	0,012	113,712		123,896		12,640	0,070	0,365	1,223
K18	3,451	0,098		41,423	0,035	0,011	0,070	0,548	88,993	0,777	6,722	0,034	128,149	0,026	168,627	0,035	10,465	0,004	0,621	0,624
P20	4,486	0,132		77,233		0,022	0,233	3,258	80,822	1,752	27,654	0,039	281,609	0,009	364,438	0,012	17,176	0,018	0,940	1,387
TČ18	4,486	0,132		77,233		0,022	0,233	3,258	80,822	1,752	27,654	0,039	281,609	0,009	364,438	0,012	17,176	0,018	0,940	1,045
RR20	4,993	0,075	0,003	63,284		0,004	0,464	1,088	77,946	1,212	22,022	0,044	137,529	0,013	136,408		11,027	0,115	0,391	0,692
S20	2,476	0,069	0,002	72,695		0,019	0,164	1,197	55,689	0,499	9,471	0,033	211,481	0,014	449,906		6,428	0,006	0,920	0,626
MM18	4,993	0,075	0,003	63,284		0,004	0,464	1,088	77,946	1,212	22,022	0,044	137,529	0,013	136,408		11,027	0,115	0,391	1,934
MM20	2,476	0,069	0,002	72,695		0,019	0,164	1,197	55,689	0,499	9,471	0,033	211,481	0,014	449,906		6,428	0,006	0,920	0,923
TO 18	3,561	0,170	0,001	106,637	0,012	0,011	0,231	5,020	72,144	1,545	36,920	0,057	229,671	0,022	388,173		24,446	0,052	1,286	2,302
TO 20	3,755	0,202	0,001	148,670		0,022	0,359	2,216	86,038	1,782	39,407	0,102	185,299	0,043	163,829	0,016	21,191	0,080	1,105	1,764
SV 18	4,431	0,101		62,733	0,003	0,010	0,319	3,017	85,780	1,134	14,918	0,043	128,666	0,026	187,863		12,306	0,015	0,729	1,137
SV 20	3,486	0,104	0,001	68,397	0,018	0,018	0,178	5,383	64,939	1,118	6,736	0,034	166,955	0,026	177,502	0,004	13,289	0,004	0,706	1,076
MP 18	4,035	0,315		45,559	0,017	0,031	0,200	2,378	87,706	0,832	10,354	0,040	120,765	0,020	265,376		12,471	0,103	1,318	0,951
MP 20	3,625	0,145	0,002	88,644	0,017	0,019	0,146	4,071	73,868	0,568	14,857	0,054	252,191	-0,002	389,828	0,011	9,968	0,015	1,526	1,614

Příloha č. 2, změny detekovaného signálu (v %) v závislosti na koncentraci Al^{3+} při pH 3,01

Kyselina	Koncentrace Al^{3+}		
	1 mg/l	10 mg/l	100 mg/l
Šťavelová	-8,748	-32,170	-76,860
Vinná	-5,519	-10,998	-38,103
Mravenčí	-0,290	-3,030	-4,189
Jablečná	-9,844	-14,094	-43,148
Octová	-2,827	-3,019	-3,239
Citronová	-8,459	-57,920	-89,009
Jantarová	-2,428	-4,250	-6,375
Fumarová	-2,606	-2,846	-3,262
Mléčná	-3,537	-5,008	-5,604
Sorbová	-0,091	-0,091	-0,091
Benzoová	-0,576	-0,576	-0,576
Máselná	-2,013	-2,162	-1,789

Příloha č.3, změny detekovaného signálu (v %) v závislosti na koncentraci Al^{3+} při pH 3,69

	Koncentrace Al^{3+}		
Kyselina	1 mg/l	10 mg/l	100 mg/l
Šťavelová	-14,700	-41,560	-83,735
Vinná	-9,485	-18,806	-44,890
Mravenčí	-9,202	-8,846	-36,052
Jablečná	-10,755	-19,081	-67,476
Octová	-1,153	-2,800	-70,601
Citronová	-14,817	-64,709	-94,397
Jantarová	-4,900	-9,887	-49,566
Fumarová	-19,827	-25,328	-54,141
Mléčná	-7,671	-10,254	-27,583
Sorbová	-0,263	-13,760	-18,529
Benzoová	-1,413	-4,919	-5,913
Máselná	-0,298	-5,143	-7,874

