

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra Pedologie a Ochrany půd



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Organické kyseliny a hliník v ovoci a ovocných šťávách

Diplomová práce

Bc. Denisa Radová

Ochrana a využívání přírodních zdrojů

Mgr. Filip Polák, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Organické kyseliny a hliník v ovoci a ovocných šťávách " 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 na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4.2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu Mgr. Filip Polák, Ph.D. za veškerou trpělivost, rady, poznatky a celkové vedení při psaní práce a při výkonu laboratorních pokusů. Dále bych chtěla poděkovat konzultantovi doc. Ing. Ondřej Drábek, Ph.D. za pomoc při laboratorní práci a za závěrečnou kontrolu práce. Děkuji samozřejmě i své rodině, partnerovi a přátelům za psychickou podporu.

Organické kyseliny a hliník v ovoci a ovocných šťávách

Abstrakt

Vzhledem k téměř každodenní konzumaci různých druhů ovoce a z nich připravovaných ovocných šťáv, bylo by dobré vědět, jaké látky se nám z těchto zdrojů dostanou do těla. Příkladem je hliník, který se může ukládat především do plic a kostí a při nesprávném fungování lidského organismu může přispívat mnohým zdravotním problémům jako je osteomalacie či poškození nervového systému. Cílem této práce je určit, zda a v jakém množství se nachází hliník v ovoci a ovocných šťávách, neboť to jsou nezbytné složky potravy každého z nás. Dalším úkolem je stanovit nízkomolekulární organické kyseliny, které se v ovoci a ovocných šťávách vyskytují a v jakém množství se jednotlivé kyseliny objevují. Pro stanovení obsahu hliníku byla použita metoda ICP-OES (optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem), která je pro prvkové analýzy hojně využívána. K měření organických kyselin se využila metoda iontové chromatografie. Zároveň jsme se pokusili ověřit chování vybraných organických kyselin v komplexu s hliníkem v prostředí žaludku, tedy při hodnotě pH rovné 1,5 oproti prostředí s hodnotou pH 3,38 (průměrná hodnota v ovocných šťávách). Z výsledků vyplynulo, že za nižších hodnot pH je hliník ve formě Al^{3+} z komplexu spíše vytěsněn a nachází se volně pohyblivý v roztoku. V podmínkách pH 3,38 se vázal více na ligand a byly zjištěny rozdíly v obsahu detekovatelného Al^{3+} mezi 50 a 70 % u kyseliny vinné a PO_4^3 . Zato kyselina šťavelová při pH žaludku vážala okolo 77 % Al^{3+} a při pH 3,38 jen necelých 10 %. Kyselina jablečná a citronová by měly být schopné dobře vázat Al^{3+} nicméně se to prokázalo jen při kyselině jablečné. Hodnoty byly porovnávány s vypočtenými teoretickými hodnotami z Visual MINTEQ 3.1, kde byly simulovány podobné podmínky. Kromě komplexů s kyselinou jablečnou a citronovou se predikce o výskytu Al^{3+} téměř nelišily. Množství hliníku vázaném v komplexu na ligand by mělo odviset od jeho druhu, množství a počtu reaktivních funkčních skupin včetně hodnoty disociační konstanty kyseliny. Větší potenciál vázat hliník by měl být v případě ligandů s nižší hodnotou pK_a . Byla zjištěna přítomnost osmi druhů organických kyselin v ovocných šťávách a šesti druhů v ovoci. Jednalo se o kyseliny chinovou, jablečnou, citronovou, fumarovou a šťavelovou. V ovoci byla navíc kyselina α -ketoglutarátová a ve šťávách kyselina vinná, pyrohroznová a mléčná. Kyselina mléčná byla zjištěna jen ve vzorku kokosové vody. Největší naměřená množství byla u kyselin jablečné a citronové, a to ve šťávách i v ovoci. Nejnižší obsahy byly zaznamenány v případě kyseliny šťavelové. Obsah hliníku ve šťávách se pohyboval od 1,93 $\mu g/100$ ml do 219 $\mu g/100$ ml a pH všech vzorků bylo kyselé.

Klíčová slova: hliník, organické kyseliny, ovoce, šťávy, komplex

Organic acids and aluminium in fruit and fruit juice

Abstract

Considering the almost daily consumption of different types of fruit and fruit juices prepared from them, it would be good to know what substances get into our body from these sources. An example is aluminium, which can be deposited mainly in the lungs and bones and, when the human body does not function properly, can contribute to many health problems such as osteomalacia or damage to the nervous system. The aim of this research was to determine whether and in what quantity aluminium is found in fruit and fruit juices, as these are necessary components of the food of each of us. Another task was to determine the low-molecular organic substances that occur in fruit and fruit juices and in what quantity the individual acids appear. The ICP-OES method (inductively coupled plasma optical emission spectrometry), which is widely used for elemental analyses, was used to determine the aluminium content. The ion chromatography method was used to measure organic acids. Also, we tried to verify the behaviour of selected organic acids in a complex with aluminium in the stomach environment, i.e., at a pH value equal to 1,5 compared to an environment with a pH value of 3.38. The results showed that at lower pH values aluminium is rather isolated from the complex and is found freely in the solution. Under conditions of pH 3.38, it bound more to the ligand and differences in detectable Al^{3+} content, were found between 50 and 70% for tartaric acid and PO_4^{3-} . On the other hand, oxalic acid bound around 77% of Al^{3+} at pH of the stomach and only less than 10 % at pH 3.38. Malic and citric acid should be able to bind Al^{3+} well, however, this was only proven with malic acid. The values were compared with the calculated theoretical values from Visual MINTEQ 3.1, where similar conditions were simulated. Except for the complexes with malic and citric acids, the predictions about occurrence of Al^{3+} hardly differed. The amount of aluminium bound in the complex to the ligand should depend on its type, amount and number of reactive functional groups, including the value of the dissociation constant of the acid. A greater potential to bind aluminium should be in the case of ligands with a lower $\text{p}K_a$ value. The presence of eight types of organic acids in fruit juices and six types in fruit was detected. These were quinic, malic, citric, fumaric and oxalic acids. In addition, there was α -ketoglutarate acid in the fruit, and tartaric, pyruvic and lactic acids in the juices. Lactic acid was detected only in the coconut water sample. The largest measured amounts were for malic and citric acids, both in juices and in fruit. The lowest contents were recorded in the case of oxalic acid. The aluminium content of the juices ranged from 1.93 $\mu\text{g}/100$ ml to 219 $\mu\text{g}/100$ ml, and the pH of all samples was acidic.

Keywords: aluminum, organic acids, fruits, juices, complex

Obsah

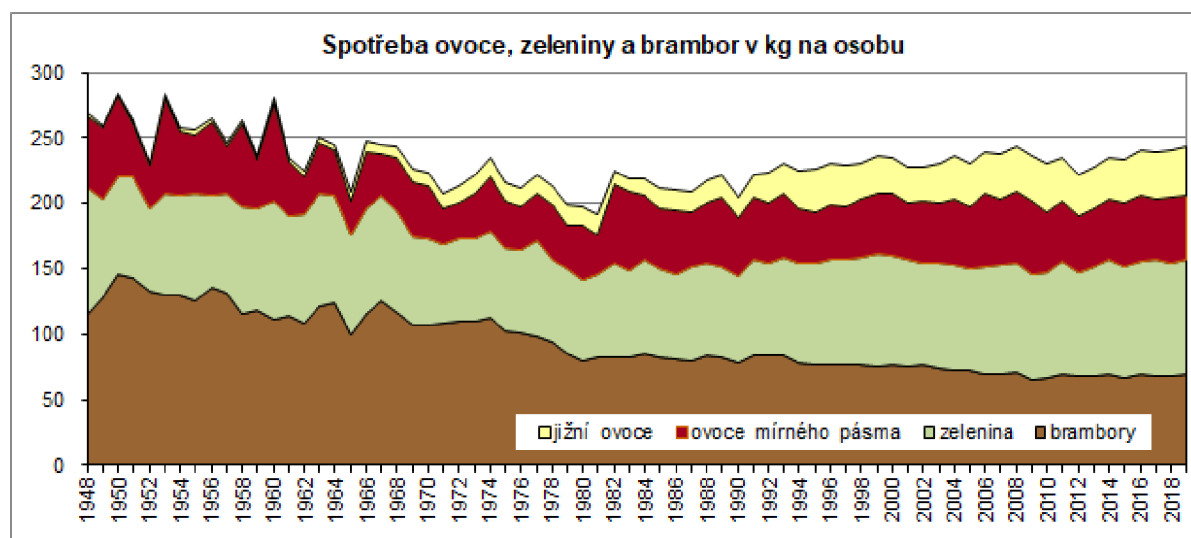
1	Úvod	8
2	Hypotézy a cíle	9
3	Hliník	10
3.1	Výskyt v přírodě	10
3.2	Hliník v životě člověka	11
3.3	Hliník a lidský organismus	12
4	Fosfor	15
5	Organické kyseliny	16
5.1	Charakteristika a výskyt	16
5.1.1	Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností	17
5.1.1.1	Výskyt a význam v přírodě	17
5.1.1.2	Funkce a význam organických kyselin v ovoci	17
5.2	Organické kyseliny a lidský organismus	21
6	Analytické metody pro praktickou část	22
6.1	Iontová chromatografie	22
6.2	ICP-OES	23
6.3	Uzavřený rozklad na mokré cestě	24
7	Praktická část	25
7.1	Měření pH	25
7.2	Úprava vzorků pro iontovou chromatografii	25
7.2.1	Zpracování vzorků ovocných šťáv	26
7.2.2	Zpracování vzorků ovoce	26
7.3	Úprava vzorků pro analýzu pomocí ICP-OES	27
7.3.1	Zpracování vzorků ovocných šťáv	27
7.3.2	Zpracování vzorků ovoce	28
7.4	Interakce vybraných aniontů s hliníkem v závislosti od pH	28
8	Výsledky	30
8.1	Hodnoty pH	30
8.2	Obsah hliníku v ovocných šťávách	30
8.3	Obsah hliníku v ovoci	32
8.4	Organické kyseliny	32
8.4.1	Organické kyseliny v ovocných šťávách	32
8.4.2	Organické kyseliny v čerstvém ovoci	34

8.4.3	Fosfor v ovocných šťávách a ovoci.....	35
8.4.4	Stabilita komplexů vybraných aniontů s hliníkem v závislosti od pH	36
9	Diskuse.....	38
9.1	Obsahu hliníku v ovocných šťávách	38
9.1.1	Vztah obsahu hliníku a vybraných faktorů v ovocných šťávách	40
9.2	Obsah organických kyselin v ovocných šťávách	43
9.3	Obsah organických kyselin v ovoci	45
9.4	Interakce organických a anorganických ligandů s hliníkem	47
10	Závěr	51
11	Literatura	53
12	Seznam použitých zkratk a symbolů	62
13	Seznam použitých obrázků.....	63
14	Seznam tabulek	63
15	Samostatné přílohy.....	I

1 Úvod

Na základě údajů Českého statistického úřadu stoupla v České republice během covidové doby spotřeba potravin včetně ovoce. V roce 2020 snědl každý Čech průměrně 87,8 kg ovoce, kdežto v roce 2019 to bylo o 1,3 kg méně. Polovina této spotřeby připadla u ovoce mírného pásma na jablka a dále měly značnou spotřebu švestky (12% podíl). Z ovoce jižního pásma tvořily třetinu spotřeby banány, pomeranče a mandarinky (website1 2022).

Zájem o ovoce mezi roky 1948 až 2019 je v následujícím grafu číslo 1. Nejvyšší spotřeba ovoce byla v roce 2009, kdy činila 90,4 kg na osobu. Díky růstu cen se předpokládá snížení konzumace ovoce. Lidé konzumují ovoce také v podobě různých nápojů, např. jako džusy, šťávy či smoothie. Nealkoholické nápoje měly pokles spotřeby naposledy v roce 2001.



Graf 1: Historický vývoj spotřeby vybraných typů plodin na osobu

převzato z: (website2 2021)

Vzhledem k tomu, že využití hliníku se za poslední roky stále zvyšuje, je jeho expozice člověku čím dál častější. Nejenže s ním přicházíme do styku ve výrobním sektoru, jsme hliníku vystavováni rovněž v potravinách, kam se může dostávat přírodní cestou nebo v důsledku lidského přičinění.

Příkladem je studie zaměřená na obsahy rizikových prvků v ovoci a zelenině, které se pěstují na Jamajce. Z výsledků vyplynulo, že největší průměrný obsah hliníku v čerstvé hmotě v mg/kg je u banánu (93,12), tuřinu (36,69) a sladké papriky (43,23). Odhadovaný denní příjem hliníku vycházel nejvyšší opět u banánu, poté u zelí a sladké papriky (Antoine et al. 2017).

2 Hypotézy a cíle

Cílem diplomové práce je prostřednictvím modelování stanovit formy hliníku a organických kyselin obsažených v různých druzích ovoce a ovocných šťáv a určit osud těchto sloučenin při pH a teplotě simulující lidský zažívací trakt. Dalším cílem je stanovit obsah hliníku v jednotlivých vzorcích za využití metody ICP-OES a jako poslední určit, jaké nízkomolekulární organické kyseliny se ve vzorcích objevují a v jakém množství.

Hypotéza: Interakce hliníku s organickou kyselinou budou podmíněny pH prostředí, počtem karboxylových skupin v molekule organické kyseliny a disociační konstantou organické kyseliny.

3 Hliník

Hliník je celkově v zemské kůře svým zastoupením z hlediska prvků na třetím místě se 7,5-8,3 % a je nejrozšířenějším kovem (Von Uexküll a Mutert 1995). Jako samostatný prvek byl hliník izolován až v roce 1825. Je stříbřitě šedý neušlechtilý kov, který má velmi dobrou elektrickou vodivost. Je lehký a kujný, ale například oproti mědi křehčí. V životním prostředí je tento prvek obsažen ve vodě, vzduchu, rostlinách a dále i v potravním řetězci (MICHNA 2005).

Velmi důležité a používané jsou slitiny hliníku. Například dural, který má větší pevnost i tvrdost. Hliník se využívá i při úpravě vody a v medicínské sféře. V medicíně jde například o anacidum na žaludeční vředy či o prostředek, který váže fosfáty při ledvinových poruchách. Hliník je běžně používán dokonce jako obalový materiál a pro skladování potravin (MICHNA 2005).

3.1 Výskyt v přírodě

V čistém stavu je hliník reaktivní, na vzduchu díky tomu tvoří vrstvu oxidu hlinitého, která brání dalším reakcím. Obecně reaguje hliník jak s kyselinami, tak se zásadami, za vzniku řady sloučenin, kde vystupuje nejčastěji v oxidačním stavu +III. Díky své reaktivitě existuje skoro výlučně v podobě sloučenin. Nejznámější sloučeninou je ruda bauxit ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), kterou tvoří minerály gibbsit ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), diaspor ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), boehmit ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) a korund (Al_2O_3) (Thrush 1968), ta současně poskytuje základní surovinu pro výrobu hliníku.

V půdě se vyskytuje přirozeně v podobě primárních a sekundárních minerálů díky čemu jeho obsah kolísá. Nejvíce se nachází v jílech, a poté v odvozených minerálech, kde se obsah hliníku pohybuje od 3 % u glaukonitu $((\text{K},\text{Na})(\text{Fe}_3,\text{Al},\text{Mg})_2(\text{Si},\text{Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2)$ až do 45 % u boehmitu (J. Hem a Wedepohl 1978). Některé zdroje udávají obsah hliníku v půdě 50-150 mg/g (Čurlík a Šefdílek 1999) a jiné až 300 mg/g (Lindsay 1979). Za běžných podmínek je hliník díky stabilitě sloučenin bezpečný, s poklesem pH dochází ale k jeho uvolňování a vzniku mobilních forem, které jsou pro organismy toxické. Jeho toxicita se začíná projevovat například v kyselých půdách s hodnotou pH pod 5 (Driscoll a Schecher 1990).

V těchto podmínkách vzniká forma hliníku v literatuře zjednodušeně označována jako Al^{3+} . Přítomnost Al^{3+} má fytotoxický dopad v první řadě na kořeny, kdy zhoršuje kořenové dýchání, narušuje buněčné dělení, ztužuje buněčné stěny, zhoršuje příjem či zpracování vody (Rout et al. 2001). Přítomnost hliníku v rostlině může ovlivňovat i další příjem a využití prvků. Například transport fosforu mezi kořeny a výhonky se snížil, jakmile vzrostl obsah Al^{3+} v kořenech (Barabasz et al. 2002). Hlavní dopad toxicity hliníku na rostlinu je patrný na kořenech, a to ve velmi krátké době od počátku jeho působení (Poschenrieder et al. 2008). Některé rostliny si vytvořily mechanismus, jak se kyselým půdám přizpůsobit. Buďto využijí proces tolerance, nebo proces rezistence (Leon V Kochian et al. 2004).

Vzhledem k tomu, že je hliník ve vodě málo rozpustným kovem a nejmenší rozpustnost má při pH 5,5-6 (Pitter 2009), ve vodním prostředí se ho proto mnoho nenachází. Větší rozpustnost ve vodě je za kyselých podmínek, např. po kyselých deštích, kam se dostává

výluhem z půd a hornin. Podmínky prostředí vody jako je pH, teplota, iontový součin vody a celková koncentrace organických látek mají vliv na formy obsaženého hliníku (Pitter 2009).

Obsah hliníku ve vzduchu odvisí od momentální lidské činnosti, přičemž průměrná hodnota koncentrace se pohybuje mezi 50 a 5000 ng/m³ (Barabasz et al. 2002).

3.2 Hliník v životě člověka

Již první civilizace se setkávaly s hliníkem v potravinách díky jílu, ze kterého si vyráběly keramické nádoby. Kvůli tomu mohl hliník přecházet z nápojů či potravin do lidského organismu. V současnosti se člověk vystavuje hliníku v mnohem větším měřítku.

I když do lidského organismu podle odhadů například z hliníkového nádobí, obalů či kosmetiky se může denně dostávat relativně malé množství, přibližně 0,1 mg/den (Matczak-Jon 1995), představují tyto zdroje jen špičku ledovce. Do těla se může hliník dostávat především přes trávicí trakt z potravy a nápojů, a to i navzdory tomu, že je v nich v těžko vstřebatelných formách (Starska 1993). V rostlinných potravinách jako je zelenina a ovoce dosahují obsahy hliníku kolem 10 mg/kg (Barabasz et al. 2002). U jednotlivých skupin potravin udává (Bratakos et al. 2012) nejvyšší hodnoty u koření (2,5-741,2 mg/kg), obilovin (1,4-42,25 mg/kg) a z čerstvého masa u hovězího (1,4 mg/kg) a kuřecího (0,4 mg/kg). Vyšší obsahy byly zjištěny také v čaji (1-6 mg/l Al při konzumaci čajových nálevů (Flaten 2002)).

Hliník se do potravin přidává i ve formě tzv. „Éček“ jako E173, což je hliník v podobě pigmentu, dále E520 jako síran hlinitý, E554-558 v podobě hlinitokřemičitanů (sodný, draselný, vápenatý, hořečnatý) a E559 pro křemičitan hlinitý (website3 2016). V potravinovém průmyslu se soli hliníku používají například pro zlepšení vzhledu mražených potravin, nebo se přidávají během procesu výroby sýrů a piva. Roli v obsahu hliníku hraje i značka produktů, protože na základě toho se liší proces jejich výroby, balení a také chemické přísady (Organization 1996; Šeruga a Laslavić 2006).

Skladováním či vařením potravin v hliníkovém nádobí či tácech a fóliích dochází také k navyšování obsahu hliníku přijímaného v jídle. Jde ovšem o hodnoty menší než 2 µg/g hliníku (Greger et al. 1985). Potenciálně se v rámci celé populace odhaduje, že člověk celkově přijímá s potravou 1,9 až 13 mg hliníku denně. Tato hodnota však podléhá regionu, stravovacím návykům a podmínkám, ve kterých například rostliny vyrostly. Důsledkem toho mohou být rozdíly poměrně velké, například v Řecku se odhaduje příjem okolo 3,7 mg Al/den a ve Spojených státech mezi 5 až 25 mg Al/den (Bratakos et al. 2012).

Denní příjem hliníku se vzhledem k těmto zdrojům prvku stanovil dle FAO/WHO na 60 mg denně u dospělého člověka, z čehož vychází hodnota 7 mg na kg tělesné hmotnosti za týden v rámci mezí tolerance (Aluminum 1997; Kowalska et al. 2020).

Člověk se vystavuje hliníku i v kosmetice, například v podobě hliníkových solí v antiperspirantech nebo se mu dostává do těla z medicínských zdrojů jako jsou antacida anebo jiné preparáty.

Přirozeně se vyskytuje v povrchové i spodní vodě. Dle WHO je maximální přípustná hodnota pro hliník v pitné vodě stanovena na 0,2 mg/l (Vyhláška č. 252/2004 Sb.). Limit není z důvodu ohrožení zdraví, spíše má dopad na chuť a vzhled pitné vody (Strunecka a Strunecky

2019). V tabulce 1 Matczak-Jon (1995) udává zdroje hliníku a jejich dávky, se kterými se člověk denně potýká.

Tabulka 1: Potenciální zdroje hliníku pro člověka

<u>Zdroje hliníku</u>	<u>Denní dávka [mg/kg]</u>
Potravinové výrobky	2-5
-Maso, masné výrobky	0,05-10,3
-Mléčné výrobky, vejce	0,07-5,9
-Obiloviny	1,4-42,25
-Ovoce	0,02-2,0
-Sýr	0,12-5,9
-Zelenina	0,07-41,1
Přísady do jídel	10-20
Hliníkové nádoby	< 0,1
Pravidelně užívaná antacida	1 000-4 000
Pufrovaný aspirin	4 000

3.3 Hliník a lidský organismus

Za běžných fyziologických podmínek se většina vstřebaného hliníku váže v krvi na albumin a transferin. Vstřebávání může být ovlivňováno v žaludku, kdy nižší pH zapříčiňuje zvyšování přestupu do krve. Vliv na zvýšené vstřebávání může mít i snížený obsah železa v těle, vyšší obsah citrátu v dietě, nebo přítomnost diabetu. Naopak efekt snižování obsahu hliníku mají fosfáty, fluoridy či pektiny (Organization 1996).

V lidském organismu se hliník shromažďuje převážně v plicích a kostech, zbytek je v měkkých tkáních, přičemž v kostech je přibližně 60 % z celkového obsahu hliníku, v plicích 25 % (Krewski et al. 2007). Absorpce hliníku je ovlivněna hodnotou pH i organickými kyselinami (Şahin et al. 1994). Odstraňovat by se měl hlavně pomocí ledvin. Jako další možné cesty vylučování literatura uvádí nehty, kůži, sperma či vlasy (Exley 2013). Pakliže k tomu nedojde, hliník má tendenci ukládat se v tkáních, díky čemuž může způsobovat neurologické obtíže (Alfrey et al. 1976).

Existují dva typy toxicity hliníku. Akutní toxicita, která je vzácná, vzniká po vystavení se vysokým koncentracím hliníku a projevuje se akutní encefalopatií (Loughran et al. 2022), zatímco chronická vzniká postupným dlouhodobým příjmem menších dávek a má neurodegenerativní následky (Kramer a Heath 2014). Problematiku akutní toxicity ukázaly výsledky studií (Alfrey et al. 1976; Reusche et al. 2001), kde udávají příčinu encefalopatie u pacientů s uremií léčených dialýzou do souvislosti s hliníkem, kdy pozorovali velké obsahy hliníku ve svalech, mozku a kostech. Pacienti s dialyzační demencí, jak se onemocnění přezdívalo, vykazovali 4-násobně zvýšený obsah hliníku v mozkové tkáni v porovnání s jinými dialyzovanými pacienty ($6,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a až 12-násobně vyšší v porovnání s kontrolou ($2,18 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Pozdější studie na populaci předčasně narozených kojenců (Bishop et al. 1997) ukázala účinky hliníku obsaženého ve standardní intravenózní stravě. Kdy kojenci, kterým byla podávána speciální o hliník ochuzená forma intravenózní stravy, dosahovali prokazatelně lepší

neurologický vývoj a vyšší index duševního rozvoje. Zhoršení bylo statisticky patrné jen u jedinců, kteří dostávali intravenózní stravu po delší dobu a netrpěli neuromotorickými poruchami.

Neurotoxická hliníku byla zkoumána například na potkanech, u kterých nejvíce ovlivňoval hipokampus, tedy místo pro učení a paměť, zatímco akumulace závisela od způsobu podání. Orálně podaný hliník byl méně toxický než ten při intraperitoneálním podání (Walker et al. 1994; Yokel 2000).

Tragickým příkladem chronických následků se stal případ, kdy v Ontariu mezi roky 1944 a 1979 zkoušeli léčit u horníků silikózu plic za pomoci jemně mletého hliníku a oxidu hlinitého. Horníci, kteří byli vystaveni hliníku v podobě tzv. „McIntyre Powder“, vykazovali při kognitivních vyšetřeních horší výsledky než pracovníci, kteří s ním do kontaktu nepřišli (Rifat et al. 1990).

Obecně může hliník v mozku podněcovat vznik reaktivních forem kyslíku (dále ROS) a aktivovat gliové buňky, přičemž dochází k nastartování zánětlivých reakcí a dále k neurodegeneraci (J. M. Müller et al. 1997). Expozice hliníku má také účinek na množství dopaminu v těle a může způsobit nárůst oxidačního stresu a neurodegeneraci, kvůli čemuž může být rizikovým faktorem pro Parkinsonovu chorobu (Sanchez-Iglesias et al., 2009).

Navzdory tomu, že bylo provedeno několik studií zkoumajících spojitost hliníku v mozkové tkáni s rozvojem Alzheimerovy choroby, žádná nedošla k jasnému závěru. Existuje však řada určitých spojitostí s projevy dialyzační demence (Alfrey et al. 1976), osteomalácií (Bushinsky et al. 1995) či s anémií (Kaiser a Schwartz 1985).

Dalším potenciálně rizikovým zdrojem hliníku pro člověka se ukázal hliník v kosmetice v podobě hliníkových solí. Významným příkladem jsou antiperspiranty aplikující se do podpaží, kdy může docházet k lokální intoxikaci kůže. Hliníkové soli setrvávají na pokožce i po osprchování, kvůli čemuž se pravděpodobnost negativního a nepřetržitého působení zvyšuje (Salem et al. 2018). Zejména proto, že v zevním horním kvadrantu prsu (oblast nejbližší podpaží) se často objevují různé tumory (Ellsworth et al. 2004) spojuje vliv této kosmetiky na výskyt rakoviny prsu několik klinických studií. Studie žen trpících rakovinou prsu pozorovaly určitou spojitost mezi používáním antiperspirantů s obsahem hliníkových solí, kdy ženy, které požívaly častěji antiperspiranty s hliníkovými solemi, měly diagnostikovanou rakovinu prsu již v dřívějším věku (Darbre 2005; McGrath 2003). Pozdější studie, i když potvrdily vliv hliníku na změny dělení buněk prsní tkáně, nepotvrdily jednoznačné spojení s rakovinou (Sappino et al. 2012). Ze studií v rámci oboru epidemiologie vyplývá, že u 90 % karcinomů prsu se bere jako původce životní prostředí (Lipworth 1995).

Problémy spojené s hliníkem mohou působit ve světle zmiňovaných informací o to kontroverzněji, když uvážíme, že sloučeniny hliníku se používají již od roku 1926 jako adjuvans ve vakcínách (S. L. Hem a HogenEsch 2007).

Pro zlepšení stavů při akutní i chronické intoxikaci organismu hliníkem se osvědčila chelatační léčba, kdy dochází k vyloučení z těla potom, co chelatační činidlo vytvoří komplex s kovem (Andersen 1999). Konkrétním příkladem chelatačního činidla pro snížení toxicity hliníku je deferoxamin (Day a Ackrill 1993). Ke zlepšení stavu při neurotoxické hliníkem slouží také antioxidanty, jako například vitaminy E a C. Vitamin E ovlivňuje buněčné odpovědi na oxidační stres, zatímco vitamin C pohlcuje ROS (Halliwell a Gutteridge 2015). Stěžejním

zdrojem antioxidantů je tedy strava. Při neurodegeneraci a karcinogenezi se osvědčil melatonin a flavonoidy (Kumar a Gill 2014; Tripathi et al. 2011).

4 Fosfor

Pro dostatečnou produkci potravin včetně ovoce je nutné do půd aplikovat hnojiva, která obsahují fosfor, ale také dusík či draslík (Cordell et al. 2009). Nejčastěji se k ochraně rostlin před škůdci používají organo-fosforové pesticidy, např. dichlorvos, diazinon (Fenik et al. 2011). Nicméně musí být kontrolováno, jaké látky a v jakém množství v rostlinách a plodech po užití pesticidů zůstávají, aby nebyly pro člověka nebezpečné. Může docházet k jejich hromadění (Fenik et al. 2011). Pakliže by se tato hnojiva nepoužívala, tak by se sice nemuselo ovoce tolik kontrolovat na vhodnou kvalitu pro lidskou stravu, ale na druhou stranu by se nedostatek minerálních látek projevil na metabolismus, růstu a vývoji ovocných stromů (Bai et al. 2021). Kvůli tomu by byly nižší výnosy a celkově horší kvalita ovoce. Neblahé účinky na růst rostlin může mít také významnější salinita půdy, přičemž nastává snižování koncentrací fosforu v půdě (Bai et al. 2021). Téměř veškerý přijatý fosfor spolu s potravou se sice vyloučí močí (Jönsson et al. 2004), ale přesto jde o potřebnou minerální látku, která u lidí zlepšuje stav kostí a funkci mnohých buněčných procesů (Wickham 2014).

5 Organické kyseliny

Organické kyseliny jsou nedílnou součástí živých organismů. Objevují se v Krebsově cyklu, jako prekurzor k syntéze aminokyselin, nebo při glukoneogenezi (Kvaratskhelia a Kvaratskhelia 2009). Hojně se využívají i v řadě odvětvích, jako je lékařský, farmaceutický či právě pro nás důležitý potravinářský průmysl. V potravinářství fungují i jako aditiva, která se přidávají při výrobě, zpracování, skladování či balení, aby zajistila dostatečnou kvalitu produktu (Velíšek 1999). Upravují vzhled, vůni, chuť, fyzikální vlastnosti či prodlužují možnost skladování (Davídek 1983). Důležité je jejich použití jako konzervantu, kdy chrání před negativními účinky mikroorganismů a prodlužují tak dobu udržení potravin. Mikroorganismy buď usmrtí, nebo pozastaví jejich mechanismus růstu. Používají se kyselina mravenčí, propionová, sorbová a benzoová. Nejvíce se pro tyto účely aplikují přirozeně se vyskytující kyseliny, a to kyselina octová, poté kyselina mléčná, citronová, jablečná a vinná (Kyzlink 1988).

Ovoce je tvořeno množstvím organických látek jako sacharidy, dusičnany, vitamíny a v neposlední řadě již zmíněné organické kyseliny. Pro tuto práci jsou zásadní právě organické kyseliny, které se vyskytují ve značném množství v dužině, kde sehrávají řadu metabolických procesů. Jejich obsah je závislý na pěstitelských postupech, zralosti plodu i na druhu ovoce. Nejčastěji jsou k nalezení kyseliny jablečná, vinná, jantarová, citronová, mléčná, šťavelová, chinová a benzoová (Famiani et al. 2015).

5.1 Charakteristika a výskyt

Organické neboli karboxylové kyseliny jsou charakteristické -COOH funkční skupinou. Karboxylová skupina má kyselý charakter, protože snadno odštěpuje atom vodíku a dokáže tvořit karboxylátový anion. Tyto kyseliny lze dělit do různých skupin podle počtu karboxylových skupin na mono-, di-, tri- až poly-karboxylové. Podle typu uhlíkatého řetězce na aromatické a alifatické, nebo dále na nasycené a nenasycené podle hybridního stavu atomů uhlíku (Pacák 1989).

Výskyt organických kyselin je značně rozmanitý. U rostlin je například nalezneme volně v listech, semenech či v kořenech nebo ve formě solí, ve formě esterů v tucích, voscích nebo olejích. Objevují se v listové zelenině, ovoci, bobulích, v kořenových plodinách (Famiani et al. 2015). Zástupcem je například kyselina mravenčí vyskytující se v kopřivách a jako jed u mravenců, včel a vos či kyselina octová a mléčná, která vzniká při průběhu kvašení nebo hnití (website4).

Do skupiny organických kyselin spadají i třísloviny, aromatické látky, popeloviny a pektinové látky. Kyseliny s aromatickou strukturou se podílejí na vůni a chuti ovoce a jsou velice intenzivní. Hlavními složkami těchto látek jsou aldehydy, ketony, glykoly a vyšší alkoholy. Třísloviny mají navázanou kyselinu gallovou, přičemž jejím základem je tanin. Tanin je směsí glykosidů, které mají různé obsahy kyseliny gallové. Jsou přítomny například v hruškách a planých jablkách. Pektinové látky se objevují ve všech druzích ovoce a jejich účinkem je rosolovatění produktů. Zmýdlením esterových vazeb pektinu a odštěpením methanolu lze získat pektinové kyseliny. Obsah pektinových látek závisí na zralosti i druhu ovoce. Tuky jsou estery glycerolu a vyšších mastných kyselin a nejsou obsaženy zrovna

ve velkém množství. Soustřeďují se do jader a mají zásobní funkci. Vosky, u nichž je glycerol vyměněn za vyšší primární alkohol, slouží jako ochranná vrstva v ovocných slupkách. Popeloviny, anebo nehořlavý podíl zahrnuje biogenní minerály vápníku, sodíku, draslíku, hořčíku, fosforu, železa, manganu, kobaltu, zinku, síry, mědi atd. Podíly této složky v ovocné sušině jsou stanoveny mezi 1,5 až 6 %, přičemž nejvíce je draslíku, a to okolo 50-60 % (Famiani et al. 2015).

5.1.1 Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností

5.1.1.1 Výskyt a význam v přírodě

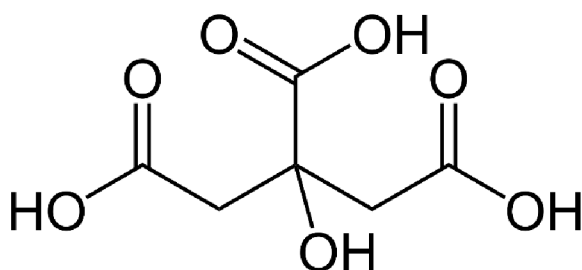
Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností, nebo Low Molecular Mass Organic Acids (LMMOA), představuje užší skupinu organických kyselin. Pro zjednodušení bude tato kategorie látek v textu označována jen jako organické kyseliny. Typicky tyto molekuly nemají víc než tři karboxylové skupiny, jsou charakteristické dobrou rozpustností ve vodě a relativně nízkou hmotností, atomová hmotnost nepřesahuje 300 Da (McFee a Kelly 1995). Jsou přirozené v rostlinách a živočiších, nebo mohou vznikat i mimo ně. Například při rozkladu rostlinných materiálů za pomoci bakterií, při fotochemických reakcích či při různých půdních pochodech (Polák et al. 2019). Objevují se jako meziproducty Krebsova cyklu a glyoxylátů, nebo při katabolismu a anabolismu aminokyselin. Na jednu stranu jsou spotřebovávány různými mikroorganismy a dále přeměňovány pro navýšení obsahu biomasy a na stranu druhou jsou jimi i vylučovány (Kleerebezem et al. 1999). Detekovány byly také v aerosolech, kyselých deštích, v mořských sedimentech i ve sladké jezerní vodě (Xiao a Wu 2014). Mohou hrát roli v procesech podzolizace, protože dokážou urychlit zvětrávání. Podílejí se na snadnější asimilaci a přenosu těžkých kovů v tkáních rostlin a mikrobu. Mohou ovlivňovat pohyb Al a Fe v půdě a tvořit s nimi poměrně pevné komplexy. Přibližně 30 % hliníku, který se nachází v organické části půdního horizontu se váže na tyto organické kyseliny (P. A. van Hees et al. 1996). Právě v této části horizontu se nachází i nejvíce těchto kyselin. Směrem do větších hloubek jejich obsahy v půdě klesaly. V nejvyšších koncentracích je obsažena kyselina citronová, nižší zastoupení pak mají kyselina šťavelová a šikimová (P. A. W. van Hees et al. 2000).

5.1.1.2 Funkce a význam organických kyselin v ovoci

V ovoci se nejhojněji objevují kyselina jablečná a citronová (Hulme 1971). Většinou obsahy kyselin rostou, dokud ovoce není zralé a poté začnou klesat. Citrát, isocitrát a malát jsou důležitými meziproducty Krebsova cyklu. Podle množství kyselin, které je uloženo ve vakuole, se dále určuje množství kyselin v ovoci pocházející z Krebsova cyklu. Kyseliny z Krebsova cyklu mohou být použity jako prekurzory pro aminokyseliny, které u ovoce fungují jako pigment. Některé mohou způsobovat nepříjemnou chuť ovoce, dokud nejsou semena zcela vyvinutá čili slouží jako ochrana. Obsahy kyselin jsou značně ovlivňovány teplotou, které je při růstu ovoce vystaveno. Například u kiwi se působením tepla obsah organických kyselin v plodu mění v závislosti od růstové fáze, díky čemu obsah kyseliny jablečné klesá ve fáze

akumulace škrobu a naopak stoupá ve fáze buňkového dělení (Richardson et al. 2004). Značný vliv mají také minerální výživa rostlin, zejména dusík a draslík a nelze opomenout ani vliv světla, přísun vody a pěstitelské postupy. Další podstatnou kyselinou je kyselina chinová, která se vyskytuje například v kiwi, hruškách či jablcích (Famiani et al. 2015).

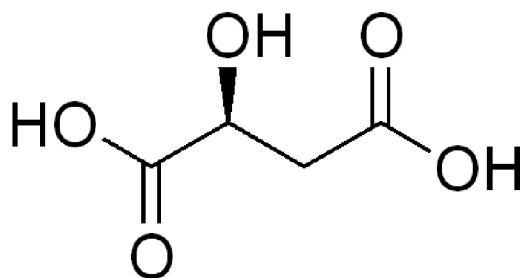
Kyselina citronová (Obrázek 2) je obsažena ve velké míře v citrusech, ale i v mnoha dalších druzích ovoce jako je například rybíz. Tato kyselina je nedílnou součástí Krebsova (citrátového) cyklu, při kterém dochází k odbourávání bílkovin, tuků a sacharidů, kdy konečnými produkty jsou voda a oxid uhličitý. Jde o proces výroby energie (L. Wang et al. 2017). Je silně hygroskopická (Balašík 2001) a dobře rozpustná v různých rozpouštědlech. Má jemně kyselou chuť. Funguje jako přírodní konzervační látka a hojně se využívá jako dochucovadlo v nealkoholických nápojích a konzervářských výrobcích. Soli této látky slouží při různých dietních omezeních jako zdroj minerálů (website5 2012).



Obrázek 2: Molekulární vzorec kyseliny citronové

převzato z: (website6 2022)

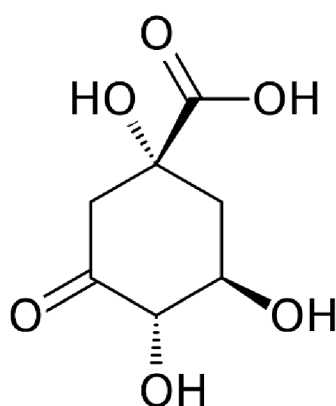
Kyselina jablečná (Obrázek 3) je velmi stabilní kyselina, která se kromě ovoce nachází také v zelenině a v některém mase či sýrech. Může hrát roli v metabolismu sacharidů a ovlivňuje kyselost, kterou zvyšuje (Gomis 2000). Sloužit může také jako konzervační látka v potravinářství. Za pokojové teploty jde o bílou krystalickou látku stejně jako v případě kyseliny citronové, šťavelové a jantarové. Existuje ve dvou opticky aktivních formách, kdy v přírodě se vyskytuje pouze v levotočivé formě, která je meziproductem citrátového cyklu. Pozitivní účinky má tato kyselina na lidský organismus, protože působí protizánětlivě a antibakteriálně. Hojně využití je v rámci kosmetického průmyslu pro hydratační a rozjasňující vlastnosti v rámci pleti (Davídek 1983; website7 2022).



Obrázek 3: Molekulární vzorec kyseliny jablečné

Převzato z: (website7 2022)

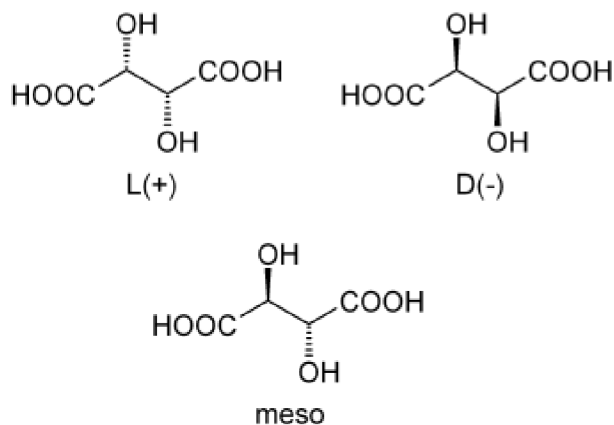
Kyselina chinová či také quinová (Obrázek 4) se v rámci rostlin akumuluje v plodech (nejvíce v dužině), listech i hlízách a její množství se liší u každého druhu ovoce. Syntéza kyseliny chinové probíhá v rámci šikimátové dráhy a k uložení dochází většinou ve vakuole, díky čemu může vystupovat i jako zásobní látka, v průběhu zrání se její obsah v ovoci ale snižuje. (Marsh et al. 2009). Šikimátová dráha je metabolická cesta, která využívá kyselinu chinovou jako prekurzor při syntéze vitamínů a aromatických aminokyselin (Leistner 1999). Patrná množství této kyseliny byla potvrzena u jablek, švestek, broskví či borůvek a jiných druhů ovoce (Hulme a Woollorton 1957). Tato kyselina dále podněcuje tvorbu tryptofanu a nikotinamidu, které slouží jako antioxidanty. V gastrointestinálním traktu se na tyto látky dokáže přetvořit a zvyšuje schopnost oprav chyb DNA či dokáže sloužit jako zdroj esenciálních látek člověka (Pero et al. 2009).



Obrázek 4: Molekulový vzorec kyseliny chinové

převzato z: (website10)

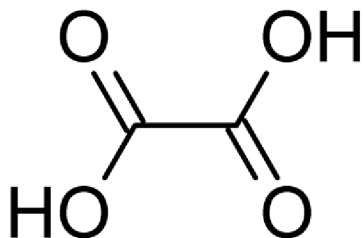
Kyselina vinná (Obrázek 5) se vyskytuje v plodech, listech či pletivech a akumuluje se jen u některého ovoce. Syntéza probíhá především z kyseliny askorbové. Funkce této kyseliny nejsou dostatečně prozkoumány, ale při vysokém obsahu by měla odrazovat od požívání býložravci nebo některými patogeny. Hojně zastoupená je v plodech hroznů. Zcela chybí například v jablcích, borůvkách či černém rybízu, přičemž ale záleží na kultivaru daného ovoce a také dle fáze vývoje a pletivech (Kliwer et al. 1967). Vliv mohou mít samozřejmě i podmínky pěstování, skladování a zpracování. Využívá se k úpravě kyselosti ovocných nápojů. Může ve vysokém množství fungovat jako svalový toxin, protože dokáže inhibovat tvorbu kyseliny jablečné. Jako sůl této kyseliny, tedy jako tartrát, má roli v omezování vytváření ledvinových kamenů (Debolt et al. 2007; Ford 2012; website12).



Obrázek 5: Molekulový vzorec kyseliny vinné

převzato z: (website12)

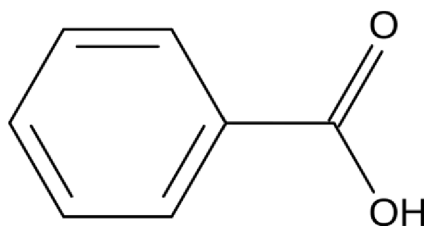
Kyselina šťavelová (Obrázek 6) plní v ovoci různorodé funkce. Může sloužit k regulaci pH v rámci asimilace dusičnanů, k ukládání vápníku či při ochraně před požíváním. Například ve slupce kiwi je o dost více krystalů kyseliny šťavelové než v dužině, což má plnit právě ochrannou funkci k odpuzení zvířat (Maysoon Rassam a Laing 2005). Syntetizovaná je v pletivech z glukózy či fruktózy, nebo i z kyseliny isocitronové. Tato kyselina se vyskytuje buď ve formě krystalů šťavelanu vápenatého nebo jako rozpustná forma a obě tyto formy najdeme ve vakuole. Ve větším množství byla kyselina nalezena v angreštu (Famiani et al. 2015). Oxalát se může v lidském organismu hromadit a mít škodlivý účinek na ledviny, kterými má být vylučován (Ermer et al. 2016).



Obrázek 6: Molekulový vzorec kyseliny šťavelové

převzato z: (website13)

Kyselina benzoová (Obrázek 7) je nejjednodušší aromatická kyselina, má pouze jednu karboxylovou skupinu. V ovoci a zelenině je jen v nízkých koncentracích. Nachází se například ve švestkách či brusinkách. Kyselina benzoová hraje svou roli také v rostlinách. Strukturálně a stavebně je podstatná například pro rostlinné hormony, kofaktory či atraktanty pro opylovače. Existují potom i přírodní produkty vyráběné z této kyseliny s vhodnými nutričními hodnotami pro člověka (Widhalm a Dudareva 2015). Díky tomu se používá jako konzervační činidlo na zastavení šíření plísní a bakterií v potravinách, čímž prodlužuje jejich trvanlivost (Kyzlink 1988; Velíšek 1999; Vrbová 2001).



Obrázek 7: Molekulový vzorec kyseliny benzoové

převzato z: (website14)

5.2 Organické kyseliny a lidský organismus

Organické kyseliny jsou látkami, které se podílejí na biochemických procesech a díky nim lidské tělo funguje lépe. Povzbuzují chuť, činnost zažívacího traktu, stimulují sekreci žaludečních šťáv, zpomalují růst hnilobných bakterií. Dokážou z těla odstraňovat toxiny a udržují acidobazickou rovnováhu organismu. Konzumace například kyseliny citronové zvyšuje pH intersticiální tekutiny u diabetu, čímž se snižuje inzulinová rezistence (Marunaka 2018). Některé z těchto kyselin (např. kyseliny jablečná a citronová) mají vliv na zvýšení absorpce železa v těle (Bortz a Kirschner 2016). Pozitivní účinky mají tyto kyseliny také na nehty, vlasy a pokožku, kterou udržují mladou a hebkou (Robles et al. 2019).

Kyselina jablečná se může vyskytovat v mnohých produktech péče o pleť pro svou funkci vyhlazování vrásek či čištění pórů. Vhodná je v kombinaci s vitamínem C pro zlepšení projevů u lidí s melasmou, která se projevuje tmavými pigmentovými skvrnami (Taylor et al. 2013). Pozitivní vliv vyplývá i ze studie (Rodgers et al. 2014), kdy kyselina jablečná údajně zvyšuje pH moči a tím se snižuje riziko vzniku ledvinových kamenů. Dále může být tato kyselina užitečná ve spojení s hořčíkem při zmírnění bolesti u fibromyalgie (Russell et al. 1995). Lidem trpícím velkými suchostmi úst může pomoci sprej s 1% kyselinou jablečnou (Gómez-Moreno et al. 2013).

Nadbytek organických kyselin může mít rovněž negativní dopad na lidský organismus. Konzumace stravy bohaté na kyselinu šťavelovou může vést k tvorbě ledvinových kamenů nebo jiným onemocněním ledvin (Ermer et al. 2016).

6 Analytické metody pro praktickou část

Pro tuto diplomovou práci byly použity metody iontové chromatografie, optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a uzavřený rozklad na mokré cestě.

6.1 Iontová chromatografie

Chromatografie zahrnuje mnoho fyzikálních metod analýzy či separace komplexních směsí. Složky směsi se rozdělují mezi dvě fáze, a to mobilní a stacionární. Látky rozpuštěné v mobilní fázi, kterou představuje kapalina nebo plyn, prochází stacionární fází, což je většinou pevná látka. Rychlost průchodu složek směsi stacionární fází je pro každou odlišná a častokrát natolik specifická, že slouží jako kvalitativní parametr umožňující identifikaci analytu (Haddad a Jackson 1990).

Iontová anebo iontově-výměnná chromatografie umožňuje separaci látek nesoucích náboj. Princip je založen na afinitě iontů k iontoměničiči, závisující na velikosti náboje a poloměru vlastního iontu. Iontoměničičem (stacionární fáze) jsou buď anexy, nebo katexy. Funkční skupiny anexů jsou zásadité, a tudíž zprostředkovávají výměnu aniontů, zatímco u katexů jsou funkční skupiny kyselé a vyměňují se kationty. Mobilní fázi bývají pufrů. Opačně nabitý protiiont vázaný iontovou vazbou na každou funkční skupinu stacionární fáze je vyměňován iontem z mobilní fáze, kde iontová síla prostředí a hodnota pH mají vliv na sílu vazby. Ionexová chromatografie se uplatňuje při separaci různých slabých kyselin a zásad, léčiv, aminokyselin, nukleových kyselin či lanthanoidů a aktinoidů (Haddad a Jackson 1990).

Pro stanovení organických kyselin byla využita iontová chromatografie Dionex ICS 1600 (Thermo scientific) v gradientu hydroxidu draselného, který sloužil jako mobilní fáze. Koncentrační rozsah 1,0-32,35 mmol/l KOH s délkou gradientu 57 minut, který následně umožnil vznik dobře definovaných zón s charakteristickým retenčním časem, specifickým pro každou organickou kyselinu.

Za účelem stanovení retenčních časů a určení koncentrace organických kyselin byly využity modelové roztoky organických kyselin se známým složením a koncentrací. Využity byly roztoky Inorganic ventures organických kyselin s počáteční koncentrací 1000 mg/l, které byly naředěny na koncentraci 0,1; 1,0; 5; 10 a 40 mg/l. Tyto koncentrace sloužily na vytvoření kalibrační křivky umožňující analytickému softwaru (Chromeleon) dopočítat reálnou koncentraci organické kyseliny v analyzovaných vzorcích.

Při kalibraci byly využity standardy celkem pro 32 analytů, 31 organických kyselin a KH_2PO_4 pro stanovení a kvantifikaci fosforečnanového aniontu. Z organických kyselin byly zvoleny kyselina chinová, glukonová, mléčná, šikimová, glykolová, octová, propionová, mravenčí, isomáselná, máselná, pyrohroznová, galakturónová, isovalerová, glukuronová, valerová, glutarová, adipová, jantarová, jablečná, vinná, malonová, maleová, alfa-ketoglutarová, šřavelová, fumarová, citronová, akonitová.

Metoda iontové chromatografie byla zvolena podle vzoru Cunha et al. (2002) nebo Scherer et al. (2012), kteří potvrdili vhodnost použití této metody pro simultánní stanovení organických kyselin v ovocných džusech díky její selektivitě, reprodukovatelnosti, citlivosti i rychlosti.

Na stanovení stability komplexů vybraných organických kyselin s hliníkem byla využita iontová chromatografie Dionex ICS 6000 DC (Thermo scientific) s derivatizací viz obrázek 8.



Obrázek 8: Systémy iontové chromatografie Dionex ICS 1600 (vpravo) a Dionex ICS 6000 DC (vlevo)

6.2 ICP-OES

Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (inductively coupled plasma optical emission spectrometry, ICP-OES) je technika vhodná, jak pro určení stopových, tak i významných koncentrací prvků v analyzovaných vzorcích, které jsou ve většině ve vodní matrici. Je to velmi spolehlivá a dostupná metoda s vysokou citlivostí, která se stala jednou z nejběžněji využívaných analytických metod.

Roztok, který má být analyzován prochází peristaltickým čerpadlem přes nebulizér až do rozprašovací komory. Vzniká tzv. aerosol, který je veden proudem argonu do plazmového hořáku. Plazma je generována chlazenou indukční cívkou, přes kterou prochází vysokofrekvenční střídavý proud. Díky tomu se indukuje magnetické pole urychlující elektrony. Srážkou argonu a elektronu dochází k ionizaci a vzniká tak stabilní plazma o teplotě 6 000 až 10 000 K. V hořáku probíhá desolvatace, atomizace a ionizace vzorku. Při vstupu zkoumaných prvků do plazmatu se vybudí emisní čáry. Pro analýzu těchto čar je nutné je převést na monochromátor a rozdělit dle vlnových délek. Značným urychlením metody je použití polychromátoru. Na konec dochází k vyhodnocení detektorem, který měří intenzitu dopadajícího záření o dané vlnové délce. Detektor je pokrytý fotocitlivou polovodičovou vrstvou převádějící světlo na slabý elektrický proud. Intenzita signálu pak odpovídá množství prvku v roztoku (Thompson 2012).

V průběhu diplomové práce byl využit přístroj iCAP 7000 (Thermo) zobrazený na obrázku číslo 9 a k vyhodnocení výsledků analytický software, který byl součástí přístroje.



Obrázek 9: ICS-OES iCAP 7000

6.3 Uzavřený rozklad na mokré cestě

Jedná se o metodu mokrého rozkladu v uzavřeném systému, jehož výhodou je zamezení kontaminace z vnějšího prostředí, ztráty těkavých látek za nižší spotřeby chemikálií, kterých složení a koncentrace je uzpůsobena rozkládané matrici. Provádí se za zvýšené teploty (Obrázek 10) a atmosférického tlaku, díky čemu je proces rychlejší a efektivnější. Průběh rozkladu je ve dvou krocích, přičemž se nejdříve kyselou hydrolyzou matrice rozloží, a poté dojde k oxidaci meziproduktů. Rychlost reakcí odvisí od teploty a užití oxidačních činidel. Použití činidel jako H_2O_2 nebo HClO_4 zejména při rozkladu organických matric může vést k explozivní reakci důsledkem silné oxidace vzorku (Kalra 1997).



Obrázek 10: Zahřívající se vzorky při uzavřeném rozkladu

7 Praktická část

Ke stanovování obsahu hliníku a organických kyseliny bylo vybráno dvacet různých druhů ovocných šťáv. Ovocná šťáva je ze 100 % ovocné složky a může do ní být přidána pouze kyselina askorbová a citronová. Výrobek z koncentrátu je ovocná složka obohacena o množství přidané vody a je nazývána džusem (Podešvová 2017; Vrbová 2001). Během diplomové práce byly použity vzorky šťáv z jablek, pomerančů, mandarinek, hrušek, ananasu, rajčat, grepu, brusinek, malin, borůvek, z černého bezu, granátového jablka, rybízu, bílých a červených hroznů nebo z rakytníku, aronie, citronů, limetek. Do práce byla zařazena také stoprocentní kokosová voda, jelikož kokos je rovněž klasifikován jako ovoce. Co se týká syrového ovoce, tak byly vybrány následující druhy: pomeranč, hruška, kiwi, jahoda, vodní meloun, banán, broskev. Do diplomové práce byly rovněž zahrnuty vzorky jablek, švestek a černého bezu rostoucích v blízkosti cest.

V průběhu práce bylo stanoveno pH pomocí pH metru, prvkové složení ovoce a šťáv po mikrovlnném rozkladu pomocí metody ICP-OES, obsah organických kyselin ve šťávách a ovoci pomocí iontové chromatografie a v poslední řadě stabilita vybraných komplexů hliníku s organickou kyselinou při vybraném pH pomocí iontové chromatografie s postkolonovou derivatizací.

7.1 Měření pH

U jednotlivých vzorků se instrumentálně měřila hodnota pH pomocí pH metru inoLab pH 7110 (WTW) a skleněné pH elektrody Sentix 41 (WTW) kalibrované pomocí standardních roztoků v rozsahu pH 4,01; 7,0 a 10,01. Mezi měřeními pH jednotlivých vzorků byla elektroda vždy oplachována destilovanou vodou ze stříčky, aby nemohlo dojít ke kontaminaci vzorků.

7.2 Úprava vzorků pro iontovou chromatografii

Následná analýza pomocí IC-6000 stanovila obsah měřitelného Al^{3+} ve vzorku. Analýza volného Al^{3+} ve směsi byla zprostředkována na chromatografické koloně Dionex CS5A (IonPacTM) za pomoci interakce s dihydroxybenzen-3,5-disulfonovou kyselinou (TIRON) v roztoku se užil roztok octanu amonného a demineralizované vody ($6 \cdot 10^{-4}$ mol/l TIRON v 1 mol/l octanu amonném) a jako mobilní fáze byla použita 0,75 mol/l HCl. Před použitím došlo k přefiltrování roztoku TIRONU pomocí podtlakové filtrace přes CRONUS FILTER NYLON s velikostí pórů 0,2 μm a následně nastalo zbavení pevných částic a nečistot. Pro účely kalibrace byl vzat standard hliníku (ROTI@STAR, CarlRoth) v matici 2 % HNO_3 s počáteční koncentrací 1000 mg/l, který by naředěn na koncentrace 1, 5, 10 a do 40 mg/l.

Měření probíhalo v UV oblasti s vlnovou délkou 310 nm, protože umožňuje detekci reakčních komplexů hliníku, které reagují za vzniku hliník-TIRON-ového komplexu se specifickým záchytem UV záření ve zmíněné oblasti. Získané chromatogramy byly následně po změření vyhodnoceny pomocí programu Chromeleon 7.2.

7.2.1 Zpracování vzorků ovocných šťáv

V tomto případě bylo nejprve do 50ml kádinek napipetováno 9,9 ml deionizované vody a následně 1,1 ml koncentrovaných vzorků šťavy. Roztoky byly promíchány za účelem homogenizace. Tímto bylo dosaženo 10násobného zředění. Pro jednotlivé vzorky byly nachystány dvě nadepsané zkumavky. Z téhož roztoku se poté pipetoval 1 ml do prázdné zkumavky a opět se přidala deionizovaná voda. Přídavkem 9 ml vody do 1 ml již 10krát zředěného roztoku bylo dosaženo 100násobného zředění vzorku. Pro účely analýzy iontovou chromatografií muselo dojít k odstranění mechanických částic, kdy byly naředěné vzorky přefiltrovány pomocí stříkačky přes stříkačkový membránový filtr s velikostí pórů 0,45 µm (nylon, VWR). Takto upravené roztoky byly následně analyzovány.

Prvotní naředění se ukázalo nedostatečné důsledkem vysoké koncentrace organických kyselin, díky čemuž nebylo možné stanovené organické kyseliny ve vzorcích kvantifikovat a vzorky musely být osobitě naředěny 200, 300, 400 a v případě limetkové či citronové šťavy až 500krát.

7.2.2 Zpracování vzorků ovoce

Byly vybrány různé druhy ovoce, které se shodovaly s ovocnými džusy. Jednalo se o jablko, hrušku, pomeranč a černý bez. Jako nové druhy byly zařazeny jahody, švestky, banán, vodní meloun, broskev a kiwi. Většina vzorků byla nakoupena v potravinách. Avšak jablko, černý bez a švestky byly natrhány jako volně rostoucí. Jablka byla od prašnější cesty u pole kousek za Prahou, švestky od nebezpečné cesty u stavby také za Prahou a černý bez byl od silnice v Praze.

Pro stanovení obsahů organických kyselin ve vybraném ovoci se nejprve navážily 2 gramy čerstvého ovoce, ke kterým bylo pipetováním přidáno 20 ml deionizované vody (Obrázek 11). Vzorky byly posléze homogenizovány do vzniku suspenze pomocí homogenizátoru Ultra-Turrax T 25 digital při 9600 otáčkách za minutu. Následně byly vzorky centrifugovány po dobu 10 minut při 4000 otáčkách za minutu. Podobně jako v případě vzorků šťáv byly i tyto vzorky filtrovány pomocí stříkačkových filtrů. Přefiltrované vzorky byly dále zředěny. Kdy bylo pipetováno 0,5 ml filtrované suspenze a přidáno do 9,5 ml deionizované vody čímž bylo dosaženo 20násobného ředění. Tímto způsobem byly zředěny všechny vzorky. Takto připravené roztoky byly následně analyzovány pomocí iontové chromatografie, stejně jako vzorky šťáv.



Obrázek 11: Vzorky ovoce v deionizované vodě

7.3 Úprava vzorků pro analýzu pomocí ICP-OES

7.3.1 Zpracování vzorků ovocných šťáv

Stanovení obsahu hliníku a jiných prvků v ovocných šťávách bylo realizováno pomocí přístroje iCAP 7000 SERIES od firmy Thermo scientific. ICP-OES probíhala dle standardního postupu za využití multiprvkového standardu obsahujícího až 23 prvků (Rondevaldova et al. 2023).

Příprava vzorků pro ICP-OES probíhala současně s přípravou vzorků pro iontovou chromatografii. Do prvotně 10krát zředěných vzorků a v deionizované vodě, které byly 11x zředěny, bylo odebráno 5ml a pomocí pipety přidáno ještě 0,5 ml koncentrované ANALPURE HNO₃ určené pro analytické účely. Vzniklé vzorky byly tedy ve výsledku zředěny 10,5x (Obrázek 12). Celý tento objem byl opět pomocí stříkačky a stříkačkových filtrů přefiltrován. Tímto postupem byly zjišťovány obsahy prvků v kapalně složce šťávy.

Rozklad na mokré cestě byl proveden podle postupu od Altundag and Tuzen (2011). Nejprve bylo v deionizované vodě několikrát opláchnuto 42 teflonových lahvíček od HNO₃ (10%), ve kterém bylo vše přes noc naloženo pro získání patřičné čistoty. Poté byly lahvičky dány na 45 minut k vysušení. Od každého vzorku džusu byl navážen 1 g ve dvou opakováních a následně pipetováním přidáno 6 ml HNO₃ (65%, ANALPURE) a 2 ml H₂O₂ (30%). Byly připraveny také slepé vzorky obsahující jen 6 ml HNO₃ a 2 ml H₂O₂. Takto připravené vzorky se nechaly po dobu čtyř hodin zahřívát na 130 °C, a poté byly ponechány přes noc při laboratorní teplotě. Všechny vzorky byly následující den ředěny deionizovanou vodou do 50ml odměrných baněk a přefiltrovány přes filtrační papír. Z filtrovaných vzorků bylo odebráno 10 ml roztoku a pomocí stříkačky protlačeno přes stříkačkový membránový filtr o velikosti póru 0,45 μm (nylon, VWR) do zkumavek a následně změřen obsah prvků v suspendovaných pevných částicích, tak v roztoku šťáv. Díky tomu byl změřen totální obsah prvků ve šťávách.



Obrázek 12: Zředěné vzorky ovocných šťáv

7.3.2 Zpracování vzorků ovoce

Pracovní postup v případě rozkladu vzorků ovoce byl obdobný jako v případě přípravy vzorků ovocných šťáv pro ICP-OES jen s výjimkou kroku, při kterém bylo čerstvé ovoce nejdříve sušeno pomocí lyofilizace.

Vybrané vzorky čerstvého ovoce byly nakrájeny a přeneseny do plastových vialek o objemu 50 ml, zavičkované a po zvážení přes noc vymrazeny při teplotě -21°C . Zmražené vzorky ovoce se umístily druhý den odvíčkované do lyofilizačních baněk, kde ve vakuu (0,086 Torr) po dobu čtyř dnů probíhal proces sušení.

Tato metoda využívá k sušení jev sublimace vodního ledu za nízkého tlaku při laboratorní teplotě, za opětovného zmrazení vodních par na vymrazovací spirále vně přístroje. Tato metoda má oproti tradičnímu sušení tu výhodu, že limituje degradaci sušeného materiálu.

Po natlakování lyofilizačních baněk byly vialky opět zavičkovány, aby nenasály vzdušnou vlhkost a zváženy za účelem stanovení změny hmotnosti pro potřeby propočtů. K sušení byl využit lyofilizátor Alpha 1-2 LD plus (Martin Christ).

Vysušené ovoce se na achátové třecí misce nadrtilo achátovým tloučkem na jemný prášek, z kterého se následně navažoval do teflonové rozkladné nádoby 1 g. Aby se vzorky vzájemně nekontaminovaly, miska i tlouček byly omyty před drcením každého nového vzorku. Z důvodu rychlého odpařování byl pro omývání zvolen ethanol.

Vzorky byly následně rozkládané za stejného postupu jako v případě ovocných šťáv.

7.4 Interakce vybraných aniontů s hliníkem v závislosti od pH

Za účelem tohoto stanovení bylo vybráno celkem pět aniontu, které byly rozděleny do 3 kategorií. Organické kyseliny, které literatura v souvislosti s ovocem zmiňuje relativně často (1): kyselina vinná, citronová a jablečná, méně zmiňovanou (2): kyselinu šťavelovou

a (3): a fosfor v podobě fosforečnanového aniontu. Pro všechny anionty byly přichystány modelové roztoky s koncentrací 50 mmol/l na přípravu kterých byly použity čisté kyseliny (kys. citronová, jablečná, šťavelová) nebo soli (Na-K-vinan · 4H₂O a KH₂PO₄). Tyto roztoky se následně obohacovaly o roztok hliníku, který se připravil z hexahydrátu chloridu hlinitého (AlCl₃ · 6H₂O) rovněž s koncentrací 50 mmol/l.

Do kádinky bylo pipetováno 5 ml roztoku aniontu a 5 ml hliníkového roztoku, který byl 10x zředěn přídatkem 40 ml deionizované vody, díky čemuž byla dosažena výsledná koncentrace 5 mmol/l pro Al³⁺ i aniont současně. Výsledný objem činil 50 ml. Tímto způsobem byly připraveny všechny směsi. Následně bylo z těchto roztoků přeneseno do prázdných kádinek 20 ml a upraveno pH. Pro každou směs byla vždy varianta A s pH 3,38 (průměrná hodnota ve šťávách) a varianta B s pH 1,5 (nejnižší pH v žaludku). Pro úpravu pH již byly využity roztoky hydroxidu sodného a kyseliny chlorovodíkové o různé molaritě. Požadované změny pH bylo docíleno přídatkem kyseliny, nebo báze řádově na úrovni nižší než 80 µl díky čemuž můžeme případné změny v koncentraci aniontů nebo hliníku zanedbat.

Jakmile se dosáhlo požadované hodnoty pH, vzorek byl přelit do zkumavky a umístěn do rotátoru (Multi Bio RS-24, BioSan), kde byl promícháván do druhého dne. Ze zkumavek se následující den napipetovalo do kádinky 0,5 ml vzorku a smíchalo se s 4,5 ml deionizované vody, čímž se dosáhlo 100násobného zředění vůči původnímu zásobnímu roztoku a koncentrace analytů činila 0,5 mmol/l. Po promísení se výsledné roztoky přelily do chromatografických vialek a pomocí iontové chromatografie ICS 6000 DC s postkolonovou derivatizací s UV detekcí byl stanoven obsah dostupného Al³⁺ v roztoku. Cílem bylo hodnocení stability komplexu hliníku s vybranými anionty v závislosti na pH, který se simuloval přechodem žaludkem.

Jako kontrola sloužil zásobní roztok hliníku, který byl 100násobně zředěn a pro účely kalibrace standard hliníku (Roti®Star, Carl Roth GmbH) s počátečním obsahem hliníku 1000 mg/l. Ten byl naředěn na požadované koncentrace 1, 5, 10 a 40 mg/l.

8 Výsledky

8.1 Hodnoty pH

Hodnoty z měření pH ovocných šťáv vyšly všechny pod hodnotu neutrality a všechny byly tedy spíše kyselého charakteru. Nejvyšší zaznamenaná hodnota byla pozorována na úrovni 5,25 u kokosové vody, kde jsme se stále pohybovali okolo relativně kyselého pH. Za nejkyselější vzorky lze prohlásit citronovou, limetkovou a brusinkovou šťávu s hodnotami pH přibližně na úrovni 2,4. Nejčastěji se pH vzorků pohybovalo okolo 3, konkrétně až u devíti vzorků. Vypočtené průměrné pH všech vzorků vyšlo rovno hodnotě 3,38. Zajímavé je, že v rámci citrusů byly hodnoty pH rozmanité a pohybovaly se relativně daleko od sebe (viz Tabulka 2). U pomerančové šťávy se blížilo spíše k pH 4, u mandarinkové šťávy hodnotě 3,5; u grepové se rovnala téměř hodnotě 3 a následně šťávy citronová a limetová měly pH mírně pod hodnotu 2,5. Výsledné hodnoty pH u hroznových šťáv bez ohledu na barvu si byly velmi blízké a lišily se jen na úrovni 0,03 jednotky. U borůvkové šťávy byla předpokládána spíše vyšší hodnota pH a ve skutečnosti dosahovala šesté nejnižší naměřené hodnoty pH.

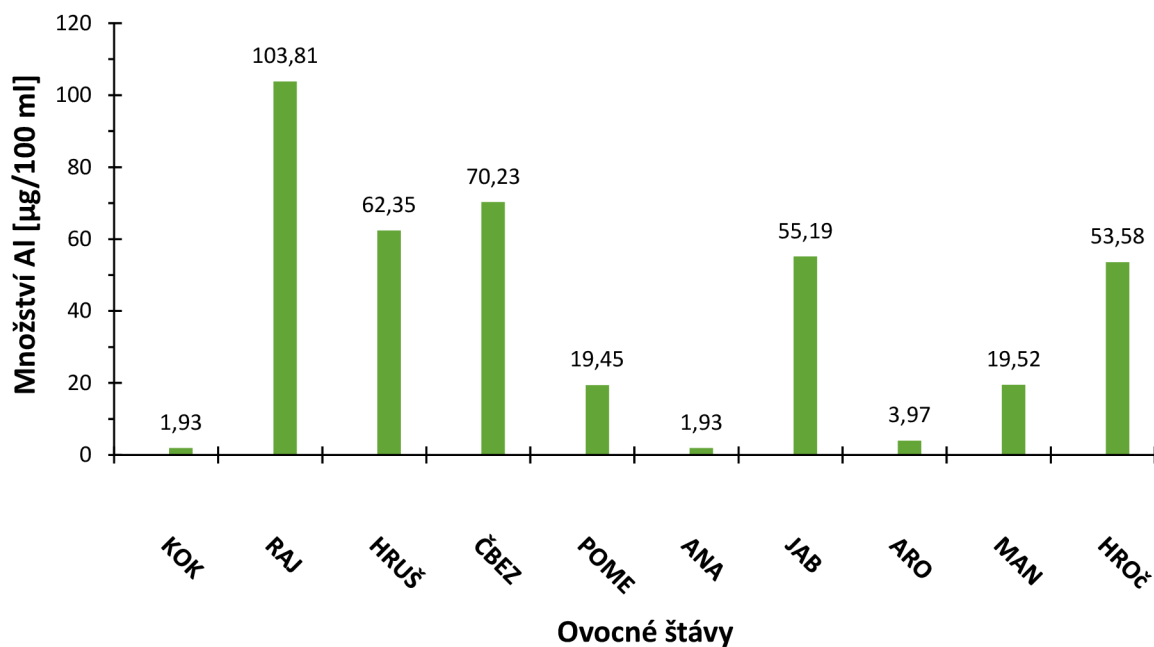
Tabulka 2: Naměřené hodnoty pH ve šťávách

Šťáva	zkratka	pH	Šťáva	zkratka	pH
Kokosová voda	KOK	5,25	Hrozen bílý	HROb	3,33
Rajče	RAJ	4,38	Granátové jablko	GRN	3,15
Hruška	HRUŠ	4,06	Grep	GRP	3,13
Černý bez	ČBEZ	4,02	Malina	MAL	2,98
Pomeranč	POME	3,81	Borůvka	BOR	2,90
Ananas	ANA	3,73	Černý rybíz	RYB	2,82
Jablko	JABL	3,59	Rakytník	RAK	2,81
Aronie	ARO	3,51	Brusinka	BRU	2,45
Mandarinka	MAN	3,51	Limetka	LIM	2,42
Hrozen červený	HROč	3,36	Citron	CITR	2,41

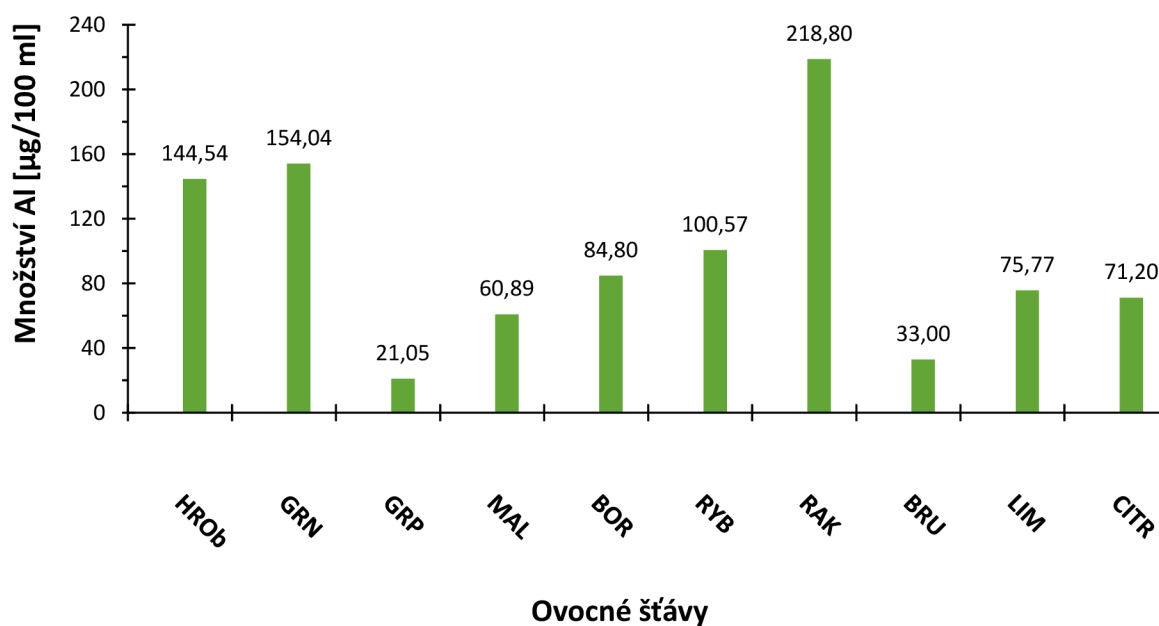
8.2 Obsah hliníku v ovocných šťávách

Pomocí ICP-OES byly stanoveny obsahy hliníku a dalších prvků ve všech dvaceti vzorcích ovocných šťáv. Měřeno bylo celkem 23 dalších prvků, kde prvkové složení jednotlivých šťáv je k nalezení v tabulce 16 v příloze. Obsahy hliníku naměřených v jednotlivých ovocných šťávách udává graf 13a a 13b. Nejvyšší naměřený obsah hliníku v kapalně složce šťáv byl pozorován u rakytníku, konkrétně 219 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Druhá v pořadí byla šťáva z granátového jablka, která měla lehce přes 150 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Naopak nejnižší obsah hliníku byl u aronie, kde bylo stanoveno jen 3,97 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Kolem 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ dosahovaly obsahy hliníku v rajčatové šťávě, šťávě z bílých hroznů a černého rybízu. Citronová a limetová šťáva měly obsah hliníku velmi podobný, a to mezi 71-76 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Přestože u šťáv z bílých a červených hroznů bylo prakticky totožné pH, obsahy hliníku se u nich značně lišily. U bílých hroznů bylo

naměřeno 145 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, kdežto u červených pouze 53,6 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Průměrný obsah hliníku ve všech vzorcích se pohyboval na úrovni 67,8 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Veškeré vzorky by se daly rozčlenit do obsahových kategorií: nejvyšší okolo 100-219 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$: kam by se řadily šťávy z rybízu, rajčat, bílých hroznů, granátových jablek a rakytníku; blízké průměru 53-84 by patřily červené hrozny, jablko, malina, hruška, černý bez, citron, limeta a borůvka a mezi vzorky s velmi nízkými obsahy 1,93-33 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ by patřily: aronie, pomeranč, mandarinka, grep a brusinka. Specifickou skupinu by tvořily vzorky kokosové vody a ananasového džusu, u kterých nebylo možné stanovit obsah hliníku ani v koncentrovanějších vzorcích - nepřesahoval limit detekce 3,86 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (odkaz na limity detekce pro stanovené prvky lze nalézt v tabulce 17 v příloze), čili zaznamenané koncentrace byly příliš nízké, aby je bylo možné stanovit bez dalších úprav vzorků. Kvůli tomu, že nebylo možné dokázat signál pro hliník, je podle běžné praxe obsah hliníku u těchto dvou vzorků udán jako polovina limitu detekce přístroje (1,93 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$).



Graf 13a: Obsah Al ve filtrovaných ovocných šťávách ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$ filtrovaného roztoku)



Graf 14b: Obsah Al ve filtrovaných ovocných šťávách (µg/100 ml filtrovaného roztoku)

8.3 Obsah hliníku v ovoci

I když vybrané vzorky lyofilizovaného ovoce (v našem případě 10 druhů) po rozkladu na mokré cestě byly připraveny ke stanovení obsahu hliníku a dalších prvků s využitím metody ICP-OES, nebylo měření vzhledem k nepředvídané mechanické závadě na přístroji možné uskutečnit.

8.4 Organické kyseliny

Pro větší přehlednost je tato podkapitola rozdělena na zjištěné organické kyseliny v ovoci, dále v ovocných šťávách. A poslední část je věnována samostatnému fosforu, který se objevoval jak v ovoci, tak v ovocných šťávách a jeho obsah byl rovněž sledován, neboť podobně jako organické kyseliny představuje významný ligand schopný vázat hliník.

8.4.1 Organické kyseliny v ovocných šťávách

V Tabulce 3 jsou vidět obsahy jednotlivých organických kyselin ve všech dvaceti druzích ovocných šťáv. Ve vzorcích bylo celkově stanoveno 8 organických kyselin v koncentračním rozsahu pohybujícím se od 1,3 do 4259 mg/100 ml. V některých případech byly kyseliny omezeny jen malý počet vzorků, např. kyselina mléčná pro kokosovou vodu anebo kyselina vinná pro vzorky šťáv z hroznu červeného a bílého nebo pomeranče. Jen kyselina jablečná a citronová byly stanoveny ve všech vzorcích.

Kyselina jablečná byla v případě rakytníkové šťávy dokonce nad možným měřitelným množstvím, přestože byl tento vzorek ředěn 400krát, proto je hodnota zvýrazněna červeně.

Pouhých pět vzorků nepřesáhlo ani 100 mg/100 ml, jednalo se o rajčatovou, grepovou, malinovou, granátovou a mandarinkovou šťávu. Jinak bylo největší množství kyseliny jablečné ve šťávě z aronie (854 mg/100 ml) a nejnižší u rajčatové šťávy (28,8 mg/100 ml). Průměrná hodnota vyšla na 337 mg/100 ml, přičemž sedm šťáv mělo hodnotu okolo 200 mg/100 ml.

Kyselina citronová, jejíž průměr ve vzorcích činil 1213 mg/100 ml, měla největší zastoupení u černého rybízu (3564 mg/100 ml), naopak nejmenší u kokosové vody (4,20 mg/100 ml). U sedmi ze zkoumaných šťáv nebyla překročena ani hodnota 50 mg/100 ml. Konkrétně to byly kokosová voda, hrušková šťáva, jablečná šťáva, šťáva z aronie, červených hroznů, bílých hroznů a rakytníku. Znovu se v tabulce objevují červeně zvýrazněná čísla, a to při limetové a citronové šťávě, které byly sice řaděny dokonce 500x, ale stejně došlo k přesazení měřitelného množství. Rozmezí u kyseliny citronové bylo 4,20 až 4259 mg/100 ml. Mimo tyto dvě organické kyseliny bylo stanoveno ještě šest dalších.

Tabulka 3: Organické kyseliny obsažené v ovocných šťávách [mg/100 ml]

	chin	jbl	cit	vin	pyr	fum	šťv	mlč
KOK		197	4,20				1,41	10,1
RAJ		28,8	213		7,98		3,58	
HRUŠ	24,2	233	17,8				20,5	
ČBEZ	255	243	1242		165	11,7	8,31	
POME	17,6	147	919	17,1				
ANA	11,8	130	481				16,1	
JABL	27,8	456	7,07		70,9			
ARO	473	854	25,3			4,28		
MAN		92,6	1143			5,67	3,67	
HROč	61,5	209	26,7	339		2,41		
HROb	62,3	433	41,8	238	25,5	1,30		
GRN		76,7	2774				5,20	
GRP		32,1	1309					
MAL		34,4	2312		61,0			
BOR	802	201	633		8,73	1,63		
RYB	16,7	204	3564		232	62,8	40,6	
RAK	1902	2005	47,5					
BRU	1186	448	1261		17,8			
LIM	20,5	501	4259					
CITR	24,8	211	3985					

chin=chinová, *jbl*=jablečná, *cit*=citronová, *vin*=vinná, *pyr*=pyrohroznová, *fum*=fumarová, *šťv*=šťavelová, *mlč*=mléčná

Kyselina chinová se vyskytovala v rozsahu od 11,8 mg/100 ml u šťávy ananasové až po 1902 mg/100 ml u rakytníkové šťávy. Druhá nejvyšší hodnota byla zjištěna u brusinkové šťávy 1186 mg/100 ml. Zatímco v sedmi vzorcích, konkrétněji ve vzorcích hruškové, pomerančové, ananasové, jablečné, rybízové, limetové a citronové šťávy, hodnoty nepřesáhly ani 30 mg/100 ml. Kyselina chinová pak nebyla zjištěna jen v šesti vzorcích, konkrétně v kokosové vodě, rajčatové šťávě, mandarinkové, granátové, grepové a malinové.

Kyselina vinná se vyskytla pouze u vzorků šťáv z bílých a červených hroznů a u šťávy z pomerančů. Kde hodnoty pro hroznové šťávy dosahovaly 339 u červené a 238 mg/100 ml u bílé. V pomerančové šťávě dosáhl obsah kyseliny vinné nejmenší koncentraci, pouhých 17,1 mg/100 ml.

Kyselina pyrohroznová byla zjištěna u osmi vzorků. Šlo o šťávu rajčatovou, bezovou, jablečnou, malinovou, borůvkovou, rybízovou, brusinkovou a o šťávu z bílých hroznů. Nejvyšší obsah byl v černém rybízu (232 mg/100 ml) a nejmenší u rajčatové šťávy (7,98 mg/100 ml). Vyčnívajícimi hodnotami byly již zmíněná nejvyšší hodnota u černého rybízu a dále s výsledkem 165 mg/100 ml černý bez. Kyselina fumarová byla až na vzorek černého rybízu (62,8 mg/100 ml) zastoupena jen ve velmi nízkých množstvích. Rozsah byl od 1,3 do 11,7 mg/100 ml. Šťavelová kyselina byla nalezena u osmi vzorků a pouze v malém zastoupení. U pěti z nich nebyl obsah kyseliny vyšší než 10 mg/100 ml. Rozptýl byl od 1,41 u kokosové vody po 40,6 mg/100 ml u šťávy z černého rybízu. Poslední naměřenou kyselinou byla kyselina mléčná, která byla potvrzena pouze v kokosové vodě a její množství dosahovalo jen 10,1 mg/100 ml.

8.4.2 Organické kyseliny v čerstvém ovoci

Jak je vidět v tabulce č. 4, nejvíce se ve všech vzorcích vyskytovaly podobně jako u ovocných šťáv kyselina jablečná a citronová. V případě ovoce bylo celkově oproti šťávám pozorovaných méně druhů organických kyselin. Včetně kyselin jablečné a citronové byly ještě pozorovány kyseliny quinová, fumarová, α -ketoglutarátová a šťavelová. Množství organických kyselin se pohybovalo v koncentračním rozsahu od 2,84 mg/100 g u šťavelové až do 970 mg/100 g u citronové.

Tabulka 4: Organické kyseliny obsažené v ovoci [mg/100 g]

	<u>chin</u>	<u>jbl</u>	<u>cit</u>	<u>fum</u>	<u>ket</u>	<u>šťv</u>
KIW	618	131,4	970			
BRO	100	231	27,5		59,4	2,84
BEZ		116	663		77,9	8,79
JAH		91,6	673	26,5	108	
POM	5,37	70,6	579			
ŠVE	410	793	7,63			5,14
JAB	64,1	296	2,92	4,60		
HRU	40,2	372	5,34			7,31
MEL		143	7,37			
BAN		319	256			

KIW=kiwi, **BRO**=broskev, **JAH**=jahoda, **ŠVE**=švestka, **MEL**=meloun vodní, **BAN**=banán
chin=chinová, *jbl*=jablečná, *cit*=citronová, *fum*=fumarová, *ket*=ketoglutarátová, *šťv*=šťavelová,

Podobně jako při ovocných šťávách, tak i v ovoci byly ve všech vzorcích stanoveny kyseliny jablečná a citronová. Některé jiné kyseliny byly stanoveny jen ve specifických druzích

ovoce. Kyselina glukonová byla například stanovena jen u černého bezu kde její obsah dosáhl 2,33 mg/100 g čerstvé váhy ovoce. U šťávy se ji stanovit nezdařilo.

Kyselina jablečná dosáhla nejvyšší hodnoty 793 mg/100 g ve švestce a 372 mg/100 g ve hrušce, zatímco nejnižší byly stanoveny v jahodě a pomeranči, kde její obsah dosáhl pouze 91,6 a 70,5 mg/100 g. Obsah ve vzorcích vodního melounu, kiwi a černého bezu měl tendenci kolísat okolo průměru 130 ± 13 mg/100 g a u vzorků broskve, jablka a banánu se spíše držel v průměru kolem 282 ± 46 mg/100 g koncentračním rozsahu mezi 100 až 300 mg/100 g.

Kyselina citronová se objevovala ve všech zkoumaných druzích ovoce a byla u ní naměřena nejvyšší hodnota v případě kiwi, konkrétně 970 mg/100 g. Značný obsah byl také v jahodě, bezu a pomeranči. Nejnižší obsah byl u jablka, kde bylo jen 2,92 mg/100 g. Nicméně nad 10 mg/100 g se nedostalo ani u hrušky, melounu a ani u švestky. Průměrné množství vyšlo u kyseliny citronové na 319 mg/100 g, což ji činí v průměru nejvíce zastoupenou kyselinou.

Kyselina chinová se vyskytovala v šesti vzorcích z deseti. Nejvíce bylo obsaženo v kiwi 618 mg/100 g a poté ve švestce 410 mg/100 g. V broskvi, jablku a hrušce byly hodnoty spíše nízké a pohybovaly se mezi 100 a 40 mg/100 g. V nepatrném množství byla stanovena v pomeranči (5,37 mg/100 g).

Kyselina fumarová byla stanovena jen v jahodě a v jablku, přičemž obě tyto hodnoty byly poměrně nízké. U jablka šlo o pouhých 4,6 mg/100 g a u jahody o 26,5. Mezi méně zastoupené se řadila také kyselina α -ketoglutarová, ta byla stanovena v broskvi, černém bezu a v jahodě, kdy v jahodě ji bylo i nejvíce 108 mg/100 g, v broskvi nejméně, jen 59,4 mg/100 g.

Kyselina šťavelová byla stanovena jen ve čtyřech vzorcích ovoce a ani u jednoho hodnota nepřesáhla 10 mg/100 g. Jednalo se o černý bez, hrušku, švestku a brokev. V černém bezu jí bylo nejvíce, koncentrace dosáhla 8,79 mg/100 g, u hrušky dosáhla 7,31 a v broskvi její obsah nepřekročil ani 3 mg/100 g.

8.4.3 Fosfor v ovocných šťávách a ovoci

Fosfor je mimo organické kyseliny významným faktorem při reakcích s hliníkem, proto se stanovoval kromě obsahu organických kyselin také obsah PO_4^{3-} aniontů. V tabulce 5 jsou obsahy fosforu v ovocných šťávách stanoveny pomocí iontové chromatografie ve filtrovaných vzorcích, kdy bezkonkurenčně nejvíce ho bylo ve vzorku šťávy z černého bezu 104 mg/100 g a nejméně zase v brusinkové šťávě 5,61 mg/100 g. Do obsahu mezi 10 až 28 mg/100 g by se vešla většina ze získaných výsledků, konkrétně dvanáct z nich. Nad tento rozsah převyšovaly kromě nejvíce zastoupeného černého bezu jen rajče, aronie, bílé hrozny a rybíz. Hodnotu 10 mg/100 g dále nepřesáhly ani šťávy z ananasu a citronu.

Tabulka 5: Obsah fosforu (PO_4^{3-}) v ovocných šťávách [mg/100 ml]

KOK	18,7	HROb	32,5
RAJ	48,3	GRN	27,5
HRUŠ	14,8	GRP	17,8
ČBEZ	104	MAL	21,1
POME	26,6	BOR	11,0
ANA	8,76	RYB	48,2
JABL	12,9	RAK	28,0
ARO	33,0	BRU	5,61
MAN	14,1	LIM	16,6
HROč	21,3	CITR	9,90

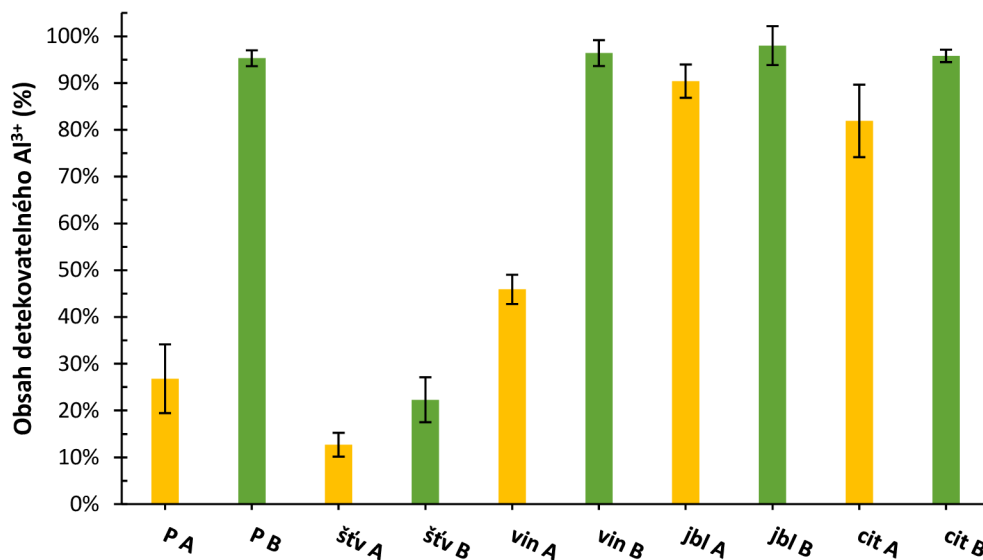
V tabulce 6 je znázorněno množství fosforu ve filtrovaných vzorcích homogenizovaného ovoce rovněž stanoveno pomocí iontové chromatografie, kdy nejvíce ho bylo stanoveno v broskvi 52,7 mg/100 g. Následně se okolo 45 mg/100 g pohybovaly vodní meloun, pomeranč, banán a kiwi. Nejmenší množství vykazovaly hruška (14,3 mg/100 g) a hned za ní jablko 13,2 mg/100 g. Ve vzorcích hruškové šťávy a hrušky vyšly prakticky totožné obsahy fosforu, stejně tak u jablečné šťávy a jablka. Nelze tomu ovšem přisuzovat příliš velkou váhu, vzhledem k rozdílným hodnotám u pomeranče a černého bezu s jejich příslušnými šťávami se jedná jen o náhodu.

Tabulka 6: Obsah fosforu (PO_4^{3-}) v ovoci [mg/100 g]

HRU	14,3	ŠVE	26,4
BEZ	31,5	KIW	45,4
POM	46,5	BRO	52,7
JAB	13,2	MEL	48,4
JAH	36,6	BAN	45,9

8.4.4 Stabilita komplexů vybraných aniontů s hliníkem v závislosti od pH

Z grafu č. 14 je čitelné, že se obsah měřitelného hliníku ve formě Al^{3+} v roztoku při různém pH lišil. Zatímco při pH 3,38 (oranžová barva), je tendence pozorovat spíše méně hliníku, v roztoku s pH 1,5 (zelená barva), je ve všech vzorcích obsah měřitelného hliníku ve formě Al^{3+} znatelně vyšší. Z toho je možné usoudit, že stabilita komplexovaných forem byla lepší v případě vyššího pH, kdežto se snížením pH roztoků na úroveň žaludku je patrné snížení schopnosti ligandu (organické kyseliny nebo PO_4^{3-}) vázat efektivně Al^{3+} kationt. To se projevuje jeho uvolněním z komplexů působením TIRONu, který je efektivním chelatačním činidlem trojmocných kationtů. Ve všech případech je vidět stejný efekt, kdy s poklesem pH signál detekovatelného Al^{3+} roste.



Směs ligandu s hliníkem při různém pH

Graf 15: Obsah detekovatelného Al^{3+} ve směsích s vybraným ligandem v důsledku změny pH
P= PO_4^{3-} , **šťv**=šťavelová, **vin**=vinná, **jbl**=jablečná, **cit**=citronová, **A**=pH 3,38; **B**=pH 1,5

Nejvyšší změna důsledkem pH byla stanovena u fosforu PO_4^{3-} , následovaný kyselinou vinnou, kdy se z komplexu působením nižšího pH uvolnilo do roztoku přibližně 70 a 50 % Al^{3+} původně vázané na ligand. U kyseliny citronové činil rozdíl po uvolnění Al^{3+} z komplexu necelých 15 %, zatímco u kyseliny šťavelové se uvolnilo kolem 10 %. Nejméně byl obsah Al^{3+} ovlivněn v případě kyseliny jablečné, kde došlo k navýšení o 7,5 %. Minimální rozdíly byly v obsahu detekovatelného Al^{3+} u kyseliny jablečné a citronové díky skutečnosti, že tyto kyseliny vykazovaly nízkou stabilitu komplexů i při pH 3,38, kdy bylo detekovatelných 82 a 90 % kationtů Al^{3+} . Zcela nejmenší zaznamenaná změna byla v případě kyseliny šťavelové. Tato kyselina byla schopná vázat hliník nejefektivněji bez ohledu na hodnotu pH, kdy při pH 3,38 bylo možno detekovat jen pouhých 12 % z celkového obsahu

9 Diskuse

9.1 Obsahu hliníku v ovocných šťávách

Z výzkumu López et al. (2002) vyvstalo, že se v pomerančové šťávě může obsah hliníku pohybovat od 6,95 do 71,4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ hliníku, což je v dobré shodě se stanovenou koncentrací přibližně 20 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. V ananasové šťávě byl dle stejných autorů pozorován obsah hliníku v rozsahu mezi 16 a 41 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, což je podstatně vyšší, protože ananasové šťávy použité během diplomové práce nebylo možné obsah hliníku stanovit. Naše výsledky u rajčatové šťávy (104 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) zapadají do rozmezí od Lopéze, které je 84-116 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. U vzorků ananasové a rajčatové šťávy bylo autory zjištěno množství hliníku jak v tetrapaku, tak také ve skle a v obou případech vyšly obsahy hliníku v obalu z tetrapaku větší (López et al. 2002).

V (Arruda et al. 1993) udali obsah hliníku v jablečné šťávě mezi hodnotami 12,3 40,6 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, což je v porovnání s naměřenou hodnotou 55,2 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ méně, rozdíl je stále relativně malý. V ananasové šťávě byl stanoven obsah hliníku v rozmezí 1,9-33,7 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ a u rajčatové šťávy 18,1-20,3 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

V článku od Kowalska et al. (2020) zjišťovali obsahy rizikových prvků v pomerančových, jablečných a rybízových šťávách. Hliník se ve všech vzorcích vyskytoval oproti jiným prvkům v největším množství. V pomerančové šťávě skladované ve skleněném obalu bylo v průměru 13,4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ hliníku a ve šťávách v tetrapaku 18,3. V jablečných šťávách ve skleněném obalu bylo stanoveno průměrné množství hliníku okolo 2,25 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ a ve šťávách v tetrapaku bylo přibližně 2,68 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Jako poslední bylo řešeno množství hliníku ve šťávách z černého rybízu, kdy ve skleněném obale byl průměrný obsah 4,26 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ a v obalu z tetrapaku 4,22 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. (Kowalska et al. 2020)

Tabulky 7a a 7b porovnávají přehledněji získaný koncentrační rozsah hliníku ve vybraných ovocných šťávách s literaturou.

Tabulka 7a: Porovnání naměřeného obsahu hliníku s literaturou [$\mu\text{g}/100\text{ ml}$]

Šťáva	Vlastní	Literatura	Zdroj
KOK	1,93*	5,91-6,05	(Peixoto et al. 2023)
ANA	1,93*	16,2-40,8	(López et al. 2002)
		3,80-44,6	(Arruda et al. 1993)
POME	19,5	25,8-30,5	(Šeruga a Laslavić 2006)
		6,95-71,4	(López et al. 2002)
MAN	19,5	10,0-20,0	(Pennington 1988)
GRP	21,1	28,6-34,0	(Šeruga a Laslavić 2006)

* polovina limitu detekce přístroje

Tabulka 7b: Porovnání naměřeného obsahu hliníku s literaturou [$\mu\text{g}/100 \text{ ml}$]

Šťáva	Vlastní	Literatura	Zdroj
BRU	33	69,6-72,1	(Šeruga a Laslavić 2006)
HROč	53,6	19,4-22,3	(Šeruga a Laslavić 2006)
JABL	55,2	12,3-40,6	(Arruda et al. 1993)
		4,93-6,74	(López et al. 2002)
HRUŠ	62,4	15,7-36,1	Sepe et al. (2001)
BOR	84,8	43,3-49,2	(Šeruga a Laslavić 2006)
RYB	101	55,6-59,5	(Šeruga a Laslavić 2006)
RAJ	104	84,9-115	(López et al. 2002)
HROb	145	61,0	(Y. Wang et al. 1991)
RAK	219	22,0-167	(Zeb 2004)

Obecně se mnoho z článků zabývalo vlivem obalu na obsah hliníku a vyplývá z nich, že typ obalu hraje svou roli, kdy hliník a olovo byly ve větším množství ve šťávách v obalu z tetrapaku (Kowalska et al. 2020; López et al. 2002). Například práce (Šeruga a Laslavić 2006) udává u všech vybraných vzorků obsahy hliníku ve šťávách skladovaných ve skle i v tetrapaku a potvrzuje, že výskyt hliníku ve šťávách skladovaných v tetrapaku je vyšší. Z jejich výsledků plyne i odlišnost množství hliníku ve šťávách dle výrobce. Jako další důvod odlišnosti v hodnotách hliníku autoři udávají, že celkový obsah zahrnuje i hliník, který se do šťáv dostal v procesu zpracování a kvůli odlišným podmínkám při pěstování. Za sekundární zdroj považují užívání pesticidů a hnojiv, nebo také mnohé stroje a nádoby (Šeruga a Laslavić 2006). Vzorky zkoumané v rámci diplomové práce byly v případě citronové a limetové šťávy v PET obalech, devět šťáv bylo uchováno ve skle a zbylých devět vzorků v tetrapaku (viz Tabulka 8) (Kowalska et al. 2020).

V případě snahy porovnat námi získané hodnoty obsahů hliníku u vzorků skladovaných v tetrapaku a ve skle, byl dle Studentova t-testu nalezen rozdíl na statisticky významné úrovni. Naše hodnoty hliníku ve šťávách skladovaných v tetrapaku a ve skle (Tabulka 8) jsou vzájemně na statisticky signifikantní úrovni odlišné.

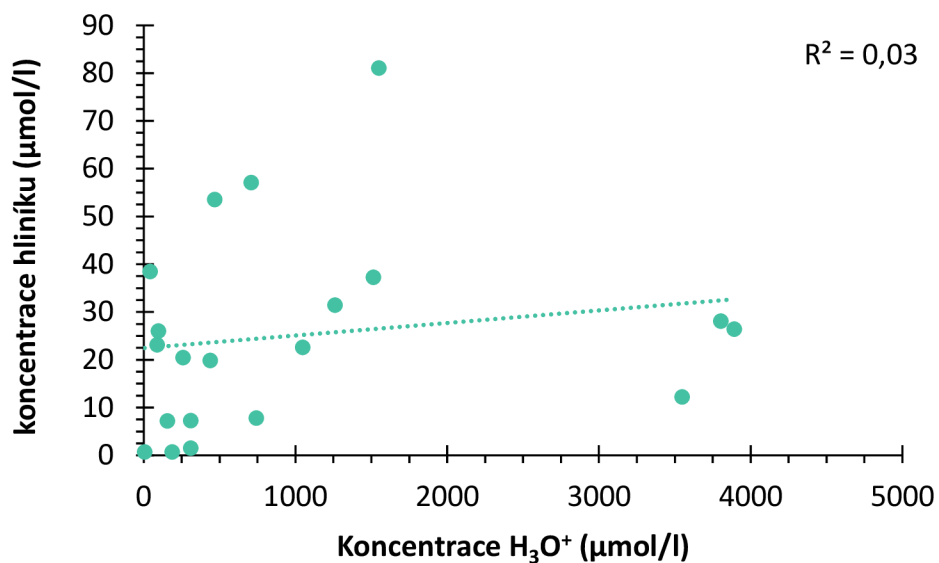
Tabulka 8: Porovnání obsahů hliníku ve šťávách dle obalu [$\mu\text{g}/100\text{ ml}$]

<u>Tetrapak</u>	<u>Al</u>	<u>Sklo</u>	<u>Al</u>
KOK	1,93	ARO	3,97
ANA	1,93	BRU	33,0
POME	19,5	MAL	60,9
MAN	19,5	ČBEZ	70,2
GRP	21,1	BOR	84,8
HROč	53,6	RYB	101
JABL	55,2	HROb	145
HRUŠ	62,4	GRN	154
RAJ	104	RAK	219

Hodnota p byla rovna 0,03 a potenciálně by se tedy nemuselo jednat o náhodnou distribuci. Hypotéza byla položena na závislosti obsahu hliníku v ovocných šťávách dle materiálu, ve kterém byly šťávy skladovány. Samozřejmě protože mezi sebou neporovnáváme obsahy hliníku jednotlivých šťáv jak v tetrapaku, tak ve skle, nelze potvrdit žádnou shodu ani s žádnými z autorů, kteří se těmito porovnáními zabírali. Navíc bylo v našem zkoumání hodnoceno jen malé množství vzorků na to, aby měl výsledek statistickou váhu a jednoznačný závěr vlivu obalu na obsah hliníku. Podařilo se jenom potvrdit statisticky významný rozdíl mezi hodnotami, nikoliv vliv obalového materiálu.

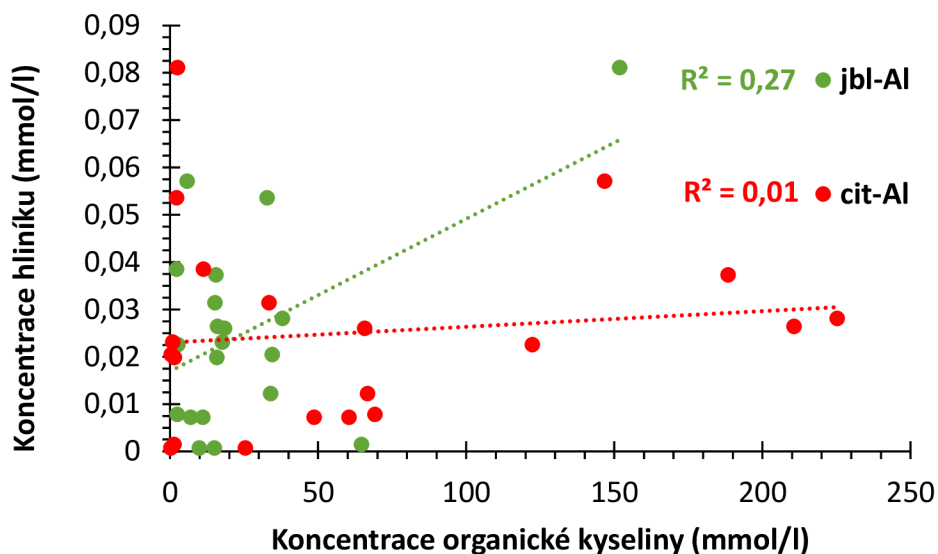
9.1.1 Vztah obsahu hliníku a vybraných faktorů v ovocných šťávách

Přestože je chování hliníku v roztocích podřízeno jeho pH (Leon V. Kochian et al. 2005), byla prozkoumána možná závislost obsahu hliníku v ovocných šťávách od pH. Byly naměřeny hodnoty z jednotlivých šťáv a převedeny do ekvivalentu koncentrace HCl na základě čeho bylo možné určit obsah H_3O^+ iontů v roztoku. Tato koncentrace pak byla porovnána pomocí Pearsonova korelačního koeficientu se stanoveným obsahem hliníku. Z výsledného korelačního vztahu bylo možné stanovit, jestli existuje spojitost mezi těmito veličinami a či je možné použít pH šťávy jako indikátor obsahu hliníku. Z promítnutí dat v grafu 15 však vyplývá, že mezi obsahem hliníku v ovocných šťávách a jejich pH neexistuje patrný přímý vztah. To indikuje velice nízký koeficient determinace (R^2), který je skoro rovný hodnotě nula a který promítá velmi malá odchylka od osy X. Tento závěr dále potvrzuje i korelační koeficient blízký nule ($r=0,16$), což znamená velmi slabou nebo žádnou korelační závislost mezi porovnávanými daty. To, že se jedná o náhodné uspořádání bez statistické významnosti dokazuje nakonec hladina významnosti s hodnotou $p \gg 0,05$. Koncentrace H_3O^+ naopak vykazuje statisticky významnou ($p \ll 0,01$) silnou pozitivní korelaci ($r=0,78$) a to také potvrzuje vysoký koeficient determinace ($R^2=0,60$) s celkovým obsahem organických kyselin ve šťávách.



Graf 16: Koncentrace hliníku a H₃O⁺

Organické kyseliny obsahují v molekule -COOH skupinu, která se zmiňuje mimo jiné v souvislosti se schopností reagovat s kationty kovů a polokovů, díky čemu například kyselina jablečná anebo citronová při kontaktu s hliníkem tvoří velmi rychle cheláty a tím mají význam při toleranci tohoto prvku, protože působí detoxikačním účinkem (Jones et al. 2001). V humánní medicíně byl tento jev dokonce využit při tzv. chelatační terapii, při které jde o snahu odstranit kovové ionty z místa s biochemickou lézí. Stabilita kovového chelátu odvisí od pH, od tendence tvořit hydroxidy či konkurence s jinými ionty (Williams a Halstead 1982). Přítomnost organických kyselin má pozitivní vliv, co se týká mobility a dostupnosti hliníku pro rostliny (Vondráčková et al. 2015) a má za následek, že přijímaný hliník, nebo jiný rizikový prvek, při vstupu do rostliny nemá negativní následek a může pak přes kořeny difundovat do nadzemních částí rostlin (M. M. Lasat 2002). Ze všech kovů přijatých kořeny rostlin je jen menší část ukládána do buněk, značná část zůstává v kořenech a buněčných stěnách odkud se již do nadzemních částí nedostanou (M. Lasat 1999). V kořenech se vyskytovaly nejvíce citráty, jablečnany a vinany, ve stoncích rostlin převažuje jablečnan a v listech převládá šťavelan nebo laktát (Vondráčková et al. 2015). Na základě tohoto byla také hodnocena korelace mezi obsahem zmiňovaných kyselin s obsahem hliníku ve šťávách. Z výsledků koeficientu determinace (graf 16) však vyplývá, že obsah hliníku může mít potenciální souvislost jen s obsahem kyseliny jablečné ($R^2=0,27$), u které byla pozorována silná pozitivní korelační závislost ($r=0,52$) s hliníkem dokázaná na statisticky významné hladině $p=0,02$.



Graf 17: Porovnání koncentrací hliníku a organických kyselin

Korelace byla hodnocena jen u těchto kyselin, přestože je s nimi v literatuře spojována dobrá chelatační schopnost (McCull a Pohlman 1986) a vyskytovaly se ve všech vzorcích šťáv.

Obsah hliníku v ovoci

I když nebylo možné z důvodu závady na přístroji stanovit přesný obsah hliníku v rozložených vzorcích ovoce. Je možné alespoň na základě údajů v literatuře teoreticky předpokládat, že v ovoci by byly v porovnání s ovocnými šťávami pozorovány nižší obsahy hliníku. Do šťáv se hliník totiž může přenášet při procesech zpracování plodů či v důsledku balení a skladování. Jednoznačné posouzení obsahu hliníku však není úplně možné kvůli různým faktorům, jako například půda a prostředí, ve kterém bylo ovoce pěstováno. Přehled literaturou uváděných obsahů hliníku pro testované ovoce sumarizuje tabulka 9.

Tabulka 9: Obsah hliníku v testovaném ovoci [$\mu\text{g/g}$]

Ovoce	Al	Zdroj	Ovoce	Al	Zdroj
HRU	1,8	(M. Müller et al. 1998)	ŠVE	1,2-11,5	(Boerngen a Shacklette 1980)
	0,5-23,1	(Boerngen a Shacklette 1980)			
BEZ	9,37	(Imenšek et al. 2021)	KIW	7,9	(M. Müller et al. 1998)
POM	2,2	(M. Müller et al. 1998)	BRO	1,1-50,5	(Boerngen a Shacklette 1980)
JAB	2,1	(M. Müller et al. 1998)	MEL	<0,05	(Zook a Lehmann 1968)
	0,4-8,3	(Boerngen a Shacklette 1980)			
JAH	0,6-2,4	(Zook a Lehmann 1968)	BAN	0,7	(M. Müller et al. 1998)

V ovoci se obecně množství hliníku podle literatury pohybuje mezi 0,02-2,0 µg/g (Bratakos et al. 2012) nebo 0,7-7,9 µg/g čerstvé váhy (M. Müller et al. 1998). Například pro vzorek banánu udává obsah hliníku okolo 0,7 µg/g čerstvé váhy, pro hrušku 1,8 µg/g, jablko 2,1 µg/g, pomeranč 2,2 µg/g a nejvyšší obsah pro kiwi 7,9 µg/g (M. Müller et al. 1998). Rozsah obsahu hliníku dle Boerngen and Shacklette (1980) udává pro jablko 0,4-8,3 µg/g, pro pomeranč 0,69-13,8 µg/g, pro broskev 1,1-50,5 µg/g, pro hrušku 0,5-23,1 µg/g a pro švestky 1,2-11,5 µg/g. Pro jahody byl stanoven obsah hliníku 0,6-2,4 µg/g (Zook a Lehmann 1968). Ve vodním melounu a banánech vyšlo dle literatury (Pennington 1988; Zook a Lehmann 1968) množství hliníku zanedbatelné, menší než 0,05 µg/g. Pro rakytník bylo autory zjištěno množství přibližně 2592 µg/g suché váhy (Zeb 2004).

9.2 Obsah organických kyselin v ovocných šťávách

V rámci chromatografických analýz ovocných šťáv bylo identifikováno 8 aniontů organických kyselin v celkovém koncentračním rozsahu od 1,30 do 4259 mg/100 g. Konkrétně se jednalo o kyseliny chinovou, jablečnou, citronovou, vinnou, pyrohroznovou, fumarovou, šťavelovou a mléčnou. Podrobnější koncentrační rozsahy pro jednotlivé kyseliny a jeho porovnání s dostupnou literaturou obsahuje tabulka 10. Pokud jde o snahu zařadit naše výsledky do rozsahů daných literaturou, tak v případě kyseliny chinové, jablečné, citronové, vinné, pyrohroznové a mléčné se hodnoty s rozsahy v literatuře shodují. V případě kyseliny fumarové a šťavelové naše hodnoty mírně ulítlý do většího zjištěného zastoupení, než je pro ně udáno v literatuře. V literatuře je dané maximum pro kyseliny fumarovou na 39,3 mg/100 ml a my jsme se dostali až na hodnotu 62,8 mg/100 ml. Podobně dopadly také hodnoty u kyseliny šťavelové, kdy maximum v literatuře bylo stanoveno na 26,8 mg/100 ml a v našem případě jsme dosáhli až výsledku 40,6.

Tabulka 10: Koncentrační rozsahy organických kyselin ve šťávách [mg/100 ml]

Kyselina	Vlastní	Literatura
chin	11,8-1902	3,0-1966
jbl	28,8-2005	18-2271
cit	4,2-4259	2,0-6544
vin	17,1-338	0,04-1047
pyr	7,98-232	30-470
fum	1,3-62,8	6,4-39,3
šťv	1,41-40,6	4,9-26,8
mlč	10,1	7,9-26,7

literární zdroje podrobněji zmiňuje tabulka 11 níže

Kyselina chinová se dle literatury může vyskytovat v hruškové, jablečné, broskvové a borůvkové či jahodové šťávě (Li et al. 2020). Ve zkoumaných vzorcích byla tato kyselina nalezena také ve šťávě bezové, pomerančové, ananasové, citronové, limetové, brusinkové,

šťávě z aronie, z hroznů, rybízu a rakytníku. Dle Li et al. (2020) bylo v jablečné šťávě naměřeno $79,2 \pm 41,2$ mg/100 ml, v hruškové $72,8 \pm 20,8$ mg/100 ml a v borůvkové $120 \pm 30,6$. Analyzované vzorky obsahovaly v jablečné šťávě 27,8 mg/100 ml kyseliny chinové a v hruškové 24,2, což vyšlo v obou vzorcích méně než v literatuře. A v borůvkové šťávě nám vyšlo 802 mg/100 ml, tedy o dost více ve srovnání s literaturou.

Kyselina jablečná byla v literatuře zjištěna ve šťávách z jahod, malin, černého a červeného rybízu (Stój a Targoňski 2006), dále také v ananasové, jablečné a pomerančové šťávě (Cunha et al. 2002). Kyselina jablečná se v největší míře objevovala dle předpokladů v jablečné šťávě (474 ± 140 mg/100 ml (Li et al. 2020)), přičemž námi stanovený obsah činil 456 mg/100 ml, tudíž byl výsledek v dobré shodě. V pomerančové šťávě se nacházelo okolo 19 až 433 mg/100 ml a naše výsledná hodnota 147 mg/100 ml kyseliny jablečné do toho spadá také. Ananasová šťáva dle literatury obsahuje mezi 29 až 350 mg/100 g (Cunha et al. 2002), což je v souladu s naší hodnotou 130 mg/100 ml. Námi stanovený obsah této kyseliny ve šťávě z černého rybízu byl 204 mg/100 ml a opět to koresponduje s hodnotami z literatury, kde se naměřilo 90-307 mg/100 ml (Saccani et al. 1995). V borůvkové šťávě nám vyšlo 201 mg/100 ml kyseliny jablečné, takže jsme hodnotu z literatury přesáhli, protože autoři zmiňují $25 \pm 4,79$ (Li et al. 2020). Stejná literatura uvedla množství také pro grepovou šťávu $189 \pm 76,2$ mg/100 ml, přičemž zkoumaný vzorek obsahoval jen 32,1 mg/100 ml.

Kyselina citronová byla naměřena v jahodové, malinové, pomerančové, jablečné, ananasové či rybízové šťávě (Cunha et al. 2002; Stój a Targoňski 2006). Co se týká vlastních vzorků šťáv, tak kyselinu citronovou obsahovaly všechny vzorky. Značné množství kyseliny citronové bylo v našem případě ve šťávách z černého rybízu, kdy literatura udává mezi 2115 až 6544 mg/100 ml, kam zapadá i náš výsledek 3564 mg/100 ml. Velké množství bylo ve šťávě z granátových jablek (2774 mg/100 ml). Vysoký obsah byl naměřen i v malinové šťávě (2312 mg/100 ml), přičemž v literatuře vyšlo mezi 746-2519 mg/100 ml (Stój a Targoňski 2006). Pro pomerančové šťávy vzniklo rozmezí obsahů této kyseliny od 164 do 2662 mg/100 ml a naše hodnota byla stanovena na 919 mg/100 ml, tyto výsledky tedy také souhlasí. Obsah kyseliny citronové v jablečné šťávě byl stanoven na průměrnou hodnotu 7,07 mg/100 ml.

Kyselina vinná byla literaturou od Violeta et al. (2010) zmíněna v pomerančové, mandarinkové, citronové, grepové a v malém množství i v limetové šťávě. Ve zkoumaných vzorcích byla pouze ve šťávách z bílých a červených hroznů a v pomerančové šťávě. Měřená pomerančová šťáva obsahovala 17,1 mg/100 ml, kdežto v literatuře bylo trochu vyšší množství ($33,6$ mg/100 ml (Violeta et al. 2010)).

Kyselina pyrohroznová byla naměřena v článku, který se zabýval jen jablečnou šťávou (Monakhova et al. 2014). Průměrná hodnota byla stanovena na 198 mg/100 ml a v analyzovaném vzorku této šťávy vyšlo 70,9 mg/100 ml, tedy o něco méně. Mimo jablečnou šťávu byla tato kyselina v analyzovaných vzorcích zjištěna ještě ve šťávě z černého bezu, rajčat, bílých hroznů, malin, borůvek, rybízu a brusinek.

Kyselina šřavelová se dle literatury může vyskytovat ve šťávě z grepu, pomerančové, mandarinkové, citronové a limetové šťávě, kdy v pomerančové šťávě bylo 10,9 mg/100 ml, v grepové 14,3 mg/100 ml, v citronové bylo 9,4 mg/100 ml a v limetové šťávě 11 mg/100 ml (Violeta et al. 2010). V analyzovaných vzorcích byla zjištěna v kokosové vodě, šťávě z černého bezu, granátových jablek, dále v rajčatové, hruškové, ananasové, mandarinkové a rybízové

šťávě. V mandarinkové šťávě bylo zmíněnou literaturou stanoveno 4,9 mg/100 ml a my jsme naměřili velmi blízkou hodnotu, a to 5,67 mg/100 ml.

Kyselina fumarová byla další měřenou kyselinou, která byla v analyzovaných vzorcích šťáv z černého bezu, aronie, mandarinek, bílých i červených hroznů, borůvek a rakytníku. Literatura zmiňuje nízký obsah v jablečné šťávě, borůvkové, grepové, jahodové či broskvové. Kdy nejnižší množství byla v jablečné šťávě (okolo 0,04 mg/100 ml) a nejvyšší ve šťávě z broskví $1,33 \pm 0,49$ mg/100 ml (Li et al. 2020). Předpokladem výskytu této kyseliny je její tvorba po tepelném zpracování a mikrobiální kontaminaci, z čehož lze usuzovat, že je indikátorem kažení ovoce (Trifiro et al. 1997).

Kyselina mléčná byla v literatuře stanovena v případě jablečné šťávy (7,9-28 mg/100 ml (Cunha et al. 2002)), mandarinkové šťávy (82,1 mg/100 ml), limetové (91,5) a v citronové dokonce v množství 155 mg/100 ml (Violeta et al. 2010)), ale v našich vzorcích byla nalezena jen v kokosové vodě (10,1 mg/100 ml).

Pro přehlednější porovnání zastoupení jednotlivých organických kyselin v našich vzorcích a v literatuře slouží tabulka číslo 11 (Cunha et al. 2002).

Tabulka 11: Přehled obsahu organických kyselin [mg/100 ml]

<u>Kyselina</u>	<u>Ovoce</u>	<u>Vlastní</u>	<u>Literatura</u>	<u>Zdroj</u>
chin	BOR	801,5	519-1136	(Romero Rodriguez et al. 1992)
	RYB	16,7	0-148	(Romero Rodriguez et al. 1992)
jbl	RYB	204	50-140	(Milivojević et al. 2009)
	RAJ	28,8	10-90	(Hernández Suárez et al. 2008)
	ANA	130	30-350	(Cunha et al. 2002)
cit	RYB	3564	340-680	(Milivojević et al. 2009)
	RAJ	213	200-850	(Hernández Suárez et al. 2008)
	ANA	482	26-990	(Cunha et al. 2002)
vin	POME	17,1	33,6	(Violeta et al. 2010)
pyr	JAB	70,9	30-470	(Monakhova et al. 2014)
fum	ARO	4,28	5,1-10,7	(King a Bolling 2020)
šťv	MAN	3,67	4,90	(Violeta et al. 2010)
mlč	MAN	-	82,1	(Violeta et al. 2010)

9.3 Obsah organických kyselin v ovoci

Kyselina chinová byla v literatuře zjištěna v jablcích, borůvkách, hruškách, kiwi, broskvích, švestkách, rybízu či jahodách. Ve zkoumaných vzorcích byla objevena v kiwi, broskvi, pomeranči, švestce, jablku a hrušce. Hodnota kyseliny chinové byla naměřena dle předpokladu v nejvyšším množství u vzorku kiwi (618 mg/100 g), což se shoduje také

s literaturou (Marsh et al. 2009), která udává mezi 400-1300 mg/100 g. Následně bylo nejvíce kyseliny chinové ve švestkách, kde vyšlo 410 mg/100 g a literatura (Robertson et al. 1992) zmiňuje rozsah od 160 do 520 mg/100 g, kam naše hodnota zapadá. V jablku bylo naměřeno 64,1 mg/100 g a v literatuře se objevuje rozmezí 17-66 mg/100 g, což odpovídá (Fuleki et al. 1994). U hrušky se naměřilo 40,2 mg/100 g kyseliny chinové a v článku (Drake a Eisele 1999) definují rozsah od 38 do 48 mg/100 g. Vešli jsme se i do rozmezí 100-200 mg/100 g této kyseliny v broskvi (Dirlewanger et al. 1999), kdy v našem vzorku bylo zjištěno 100 mg/100 g. Literatura (Albertini et al. 2006) udává, že v dužině citrusových plodů je chinové kyseliny nejvíce první pár desítek dní jejich vývoje (do 50 dnů), a poté s nárůstem velikosti plodů koncentrace s napínáním dužiny klesá.

Kyselina jablečná a citronová byly stanoveny ve všech vzorcích ovoce. Práce od (Famiani et al. 2015) se zabývá obsahy těchto dvou kyselin v mnohých druzích ovoce, protože jsou to nejhodněji zastoupené organické kyseliny a jejich množství se dle podmínek zrání až po sklizeň mění. Z článku od (Svanella et al. 1999) vyplynulo, že by při porovnávání množství zastoupené kyseliny jablečné a citronové v případě broskví mělo být více kyseliny jablečné, což se potvrdilo i v našem experimentu (rozdíl okolo 200 mg/100 g). V případě pomeranče by měla převládat (Gonzalez-Aguilar et al. 2003) a u nás také převládá kyselina citronová (rozdíl přibližně 500 mg/100 g). U švestek vychází větší zastoupené množství kyseliny jablečné oproti citronové o cca 785 mg/100 g a potvrdily to naše výsledky i výsledky od (Famiani et al. 2012). U jahod by měla v rámci porovnání těchto dvou kyselin převažovat kyselina citronová (Famiani et al. 2005), přičemž naše naměřené hodnoty vyšly o zhruba 580 mg/100 g vyšší oproti kyselině jablečné. Je patrné z (Dong et al. 2023), že na množství obsažené kyseliny citronové má vliv i délka skladování ovoce, přičemž hodnota v ovoci klesá a snižuje se tedy kyselost plodů.

Kyselina fumarová se vyskytla ve dvou analyzovaných vzorcích (jablko 4,60 mg/100 g a jahoda 26,5 mg/100 g). Byla například zkoumaná v rámci několika genotypů jablek Gala (Sturm et al. 2003), kde byla od 0,3 do 2,0 mg/kg čerstvé váhy. Je zde ovšem možnost, že v sobě jablka měla mikroorganismy kazící plody a se schopností tvořit kyselinu fumarovou, která se následně může objevovat i v jablečných šťávách (Gökmen* a Acar 2004). V jahodách nebyl obsah kyseliny fumarové v našem případě moc vysoký (26,48 mg/100 g) a literatura udává podobné hodnoty mezi 0,1 až 17,5 mg/kg (Koyuncu a Dilmaçunal 2010). Obsahy se ovšem opět mohou lišit v závislosti na kultivaru, na tkáni ovoce a na fázi vývoje (Nguyễn a Savage 2013; M Rassam et al. 2006).

Kyselina α -ketoglutarátová byla literaturou zmíněna v případě hroznů, broskví, pomerančů, citronů. Zkoumaná byla též u vzorku melounu, ale tam byly hodnoty pod možnostmi detekce (Flores et al. 2012). Ve zkoumaných vzorcích byla stanovena jen v broskvích, černému bezu a jahodách. V broskvi se naměřilo 59,4 mg/100 g a v literatuře pouhých 1,6 (Flores et al. 2012). V černém bezu vyšlo 77,9 mg/100 g a v jahodách dokonce 108 mg/100 g.

Kyselina šťavelová byla další z naměřených kyselin, která se v plodech objevuje mezi 2 a 6 mg/100 g čerstvé hmotnosti (Nguyễn a Savage 2013; Noonan a Savage 1999). Tato kyselina byla odhalena literaturou v případě borůvek, rybízu, ananasu, kiwi, švestek, malin či rajčat (Famiani et al. 2015). Námi zjištěné hodnoty této kyseliny se pohybovaly mezi 2 a necelými 9 mg/100 g. Jednalo se o vzorky broskví (2,84 mg/100 g), bezu (8,79 mg/100 g),

švestek (5,14 mg/100 g) a hrušek (7,31 mg/100 g). U švestek bylo podle Famiani et al. (2015) stanoveno oproti našemu výsledku jen 1,14 mg/100 g čerstvé váhy.

Ovlivnit to mohou také podmínky pěstování, proces zpracování a skladování ovoce (De Kreij et al. 1992). Dle výzkumu od (Wu et al. 2022) je potvrzeno, že obsah organických kyselin v ovoci (zde konkrétně v hruškách) ovšem odvisí od doby zrání plodů a od typu kultivaru (Albertini et al. 2006). V tabulce 12 byla přehledně zobrazena rozmezí výskytu jednotlivých organických kyselin v ovoci v našich vzorcích a v literatuře.

Tabulka 12: Rozsahy zastoupení organických kyselin v ovoci [mg/100 g]

	<u>Vlastní</u>	<u>Literatura</u>	<u>Zdroje</u>
chin	5,37-618	0,08-133	(Famiani et al. 2015)
jbl	70,5-793	14-2183	(Flores et al. 2012)
cit	2,92-970	61-5149	(Flores et al. 2012)
fum	4,6-26,5	5,8-13,8	(Flores et al. 2012)
ket	59,4-108	0,6-2,3	(Flores et al. 2012)
šťv	2,84-8,79	0,3-64	(Noonan a Savage 1999)

9.4 Interakce organických a anorganických ligandů s hliníkem

Za účelem porozumění interakce a stability vybraných ligandů s hliníkem v grafu 14, na kterém je patrný význam pH, byl učiněn speciální rozbor pomocí programu Visual MINTEQ 3.1. Ten prostřednictvím matematického modelování umožnil nejen porovnání mezi obsahem chromatograficky detekovatelné Al^{3+} při obou hodnotách pH, ale umožnil stanovit v jakých formách bude hliník vystupovat. Z tabulky 13 je přitom patrné, že stanovené obsahy Al^{3+} vykazují relativně dobrou shodu s hodnotami, které předpokládá modelování. Významnou odchylku představuje jen roztok s kyselinou citronovou při pH 3,38; kde navzdory modelem předpokládaných 3 % detekovatelného Al^{3+} byl experimentálně stanoven 26násobně vyšší obsah, který není možný připsat jen vlivu rozdílu mezi ideálními podmínkami matematického modelování a reálním roztokem. Nejpravděpodobnějším vysvětlením je lidský faktor.

Tabulka 13: Obsah volného Al^{3+}

	<u>Obsah volného Al^{3+} v roztoku (%)</u>		
	Experimentálně změřeno	Směrodatná odchylka	MINTEQ vypočítáno
Ligand	při pH 3,38		
P	26,8	7,35	17,2
šťv	12,7	2,56	10,1
vin	45,9	3,13	55,1
jbl	90,4	3,55	100
cit	81,9	7,75	3,11

	při pH 1,50		
P	95,3	1,70	98,3
šťv	22,3	4,81	15,7
vin	96,4	2,77	100
jbl	95,8	1,33	100
cit	98,0	4,16	96,0

U komplexů kyseliny jablečné s hliníkem byl bez ohledu na pH prokázán přibližně stejný obsah Al^{3+} (kolem 95 %), což bylo v relativně dobré shodě s modelovými 100 %. V případě kyseliny vinné bylo při pH 3,38 zaznamenáno necelých 50 % Al^{3+} , což představovalo odchylku od modelu na úrovni kolem 5 %, zatímco po snížení pH byla schopnost této kyseliny tvořit komplexy výrazně potlačena a prakticky 100 % Al^{3+} bylo pozorovaných volně v roztoku. Téměř identické hodnoty pro kyselinu šťavelovou vykazovalo MINTEQ modelování. V tomto případě se shoda s modelem takřka nelišila. Posledním pozorovaným komplexem byl komplex hliníku a fosforečnanu, kdy při hodnotě pH 3,38 bylo navázáno přibližně 73 % hliníku, kdežto při pH žaludku nebylo vázáno ani 5 % hliníku, čímž šlo opět o dobrou shodu s modelovými výsledky.

Pomocí matematických výpočtů v aplikaci Visual MINTEQ 3.1 byly získány dále teoretické hodnoty pro zastoupení hliníku v jednotlivých komplexech s vybranými anionty (viz Tabulka 14).

Tabulka 14: Speciální zastoupení ligandu s hliníkem v závislosti od hodnoty pH podle MINTEQu

Speciace roztoku	Zastoupení spécie v roztoku (%)	
	pH 3,38	pH 1,50
<u>k. fosforečná + Al^{3+}</u>		
AlHPO_4^+	67,5	5,30
$\text{Al}_2\text{PO}_4^{3+}$	19,10	0,14
H_3PO_4	1,40	77,2
<u>k. šťavelová + Al^{3+}</u>		
$\text{Al}-(\text{šťv})_2^-$	8,86	7,20
$\text{Al}-\text{šťv}^+$	80,9	80,6
<u>k. vinná + Al^{3+}</u>		
$\text{Al}-(\text{vin})_2^-$	46,6	x
$\text{H}_2\text{-vin}$	2,64	96,6
<u>k. jablečná + Al^{3+}</u>		
$\text{H}_2\text{-jbl}$	49,9	98,7
H-jbl^-	48,6	1,32
<u>k. citronová + Al^{3+}</u>		
AlH-cit^+	23,5	10,7
Al-cit^0	73,5	0,44
$\text{H}_3\text{-cit}$	1,04	93,4

x – modelování výskyt spécie nepředpokládá

U fosforečnanového aniontu bude dle modelu hliník vázán především ve formě AlHPO_4^+ 68 % a $\text{Al}_2\text{PO}_4^{3+}$ 19 %, které snížením pH uvolňují hliník následkem snížení zastoupení AlHPO_4^+ na 5 %, zatímco druhá specíe prakticky zaniká. V případě kyseliny šťavelové dochází k zanedbatelné změně působením pH, díky čemuž předpokládaný obsah nejdominantnějších specií $\text{Al}(\text{šťv})_2^-$ a Al-šťv^+ klesne jen o necelé 2 % a v obou podmínkách je touto kyselinou vázaných bezmála 90 % kationtů Al^{3+} . U kyseliny vinné modelování předpokládá jen výskyt specií $\text{Al}(\text{vin})_2^-$, která důsledkem poklesu pH zaniká a uvolňuje do roztoku přibližně 47 % původně vázaného hliníku. V případě kyseliny jablečné modelování interakci s hliníkem nepředpokládá, zatímco s kyselinou citronovou při pH 3,38 model uvádí přibližně 97 % hliníku vázaného na dominantní specií AlH-cit^+ 24 % a Al-cit^0 73 %, kdežto v případě pH 1,50 zastoupení těchto forem klesá na pouhých 11 %.

Velmi podobný vliv pH na interakci Al^{3+} s kyselinou šťavelovou, citronovou a jablečnou v různých poměrech pozorovali i (Kiplagat et al. 2015) na základě experimentů v kombinaci s matematickým modelováním v přítomnosti hliníku k aniontu kyseliny v molárním poměru přibližně 1:1. Při kyselině šťavelové a pH 1,90 autoři sledovali dominanci Al^{3+} 21,8 % a Al-šťv^+ 73,1 %, což je v dobré shodě s pozorováními, přičemž předpokládají schopnost této kyseliny vázat stabilně hliník i při pH 1,25. Jakým způsobem bude šťavelanový aniont interagovat bude primárně podmíněno jeho koncentrací, kdy může docházet k tvorbě dva- nebo tří-šťavelanových komplexů. U kyseliny jablečné při pH 2,11 by mělo docházet ke vzniku Al-jbl^+ až na úrovni 53,4 %, což už je ve značném rozporu s modelováním. Vznik této formy hliníku dokonce předpokládají ve všech systémech, které zkoumali bez ohledu na pH nebo koncentraci iontů. V případě modelového výsledku je rozpor možno vysvětlit potenciálně použitím modelu PHREEQC a stabilitních konstant, které použili během modelování i jiní autoři (Kopittke et al. 2017). Rozdíl v signálu Al^{3+} (Kiplagat et al. 2015) nepozorovali a zdůvodňují to důsledkem metody. Ta totiž není schopná rozlišit vzniklý Al-jbl^+ od volného Al^{3+} a tím pádem se neprojevuje, stejně jako v tomto případě, poklesem Al^{3+} signálu, který by indikoval změnu koncentrace. V případě kyseliny citronové v podmínkách pH 1,84 kyselina nebylo schopná vázat hliník, což opět potvrzuje i pozorování v diplomové práci. Schopnost této kyseliny vázat hliník je primárně podřízena hodnotě pH, a to může mít do jisté míry vliv potlačení, pokud obsah kyseliny převyšuje koncentraci hliníku. Pozorování autorů rovněž podporují hypotézu lidské chyby při roztoku s pH 3,38.

Způsob a rozsah interakce ligandů, jak organických kyselin, tak PO_4^{3-} , s hliníkem bude podřízen hodnotě disociační konstanty kyseliny neboli $\text{p}K_a$, která vyjadřuje schopnost molekul odevzdat H^+ do roztoku za vzniku H_3O^+ , čímž se dostává do disociovaného stavu se záporným nábojem, který ji umožní reagovat s kationty. To předurčuje potenciál větší stability komplexu s klesající hodnotou této konstanty, protože schopnost setrvat v disociovaném, reaktivním stavu stoupá (Miessler et al. 2014). Dalším významným faktorem bude dále počet funkčních skupin schopných podléhat disociaci, díky čemuž hustota záporného náboje stoupá a schopnost vázat kationt sílí.

Porovnáním hodnot $\text{p}K_a$ v tabulce 15 (Schöttelndreier et al. 2001; Vondráčková et al. 2015) pro pozorované kyseliny v ovocných šťávách se dá předpokládat na základě těchto tvrzení stabilita a vznik komplexů hliníku.

Tabulka 15: Hodnoty disociačních konstant kyseliny (pK_a) pro jednotlivé ligandy

pK_a	<u>mlč</u>	<u>pyr</u>	<u>chin</u>	<u>šťv</u>	<u>fum</u>	<u>jbl</u>	<u>vin</u>	<u>cit</u>	<u>P</u>
1	3,80	2,5	3,46	1,27	3,03	3,4	2,98	3,13	2,16
2				4,27	4,44	5,2	4,34	4,76	7,21
3								6,39	12,32

P – kyselina fosforečná H_3PO_4

Hodnota disociační konstanty v podmínkách nízkých koncentrací rovněž udává přibližnou hodnotu pH, kdy bude funkční skupina v molekule disociovaná a stále schopná interagovat. Pokles pod tuto hodnotu bude mít například u karboxylových kyselin za následek protonaci $-COO^-$ za vzniku $-COOH$, díky čemuž ztrácí tato funkční skupina svoji charakteristickou schopnost reagovat s kationty polokovů a kovů (Davídek 1983; Wuana et al. 2010). Hodnota pH rovněž ovlivní, jakým způsobem bude kationt prvku s kyselinou interagovat. (Tokalioğlu et al. 2006).

Z tabulky 15 je možno, na základě hodnoty pK_a a schopnosti disociovat, odhadnout vznik stabilních komplexů hliníku v ovocných šťávách s kyselinou šťavelovou, citronovou, vinnou, jablečnou anebo s ortofosforečnanem. Potenciál kyseliny fumarové vázat efektivně hliník je opomenut, protože s touto kyselinou není spojována dobrá chelatační schopnost (McColl a Pohlman 1986) i navzdory dvěma karboxylovým skupinám a relativně nízké hodnotě disociační konstanty.

10 Závěr

V první části práce byl vytvořen teoretický podklad pro navazující praktickou část. V další části byly popsány jednotlivé analytické metody, které byly aplikovány při praktické části práce. Mezi ně se řadila iontová chromatografie, ICP-OES a uzavřený rozklad na mokré cestě. V rámci praktické části se měřilo pH vzorků ovocných šťáv, obsah hliníku ve vzorcích a zjišťovaly se druhy přítomných organických kyselin a jejich množství v ovoci a ovocných šťávách. Jednou z hlavních kapitol bylo stanovení interakcí mezi hliníkem a určitými organickými kyselinami za dvou odlišných podmínek pH.

Výsledné pH šťáv se pohybovalo v relativně širokém rozsahu hodnot od 5,25 v případě kokosové vody po pH 2,41 u citronové šťávy.

Ve všech vzorcích ovocných šťáv s výjimkou kokosové vody a ananasové šťávy, kde nebylo možné obsah hliníku kvantifikovat vůbec, byl hliník naměřen v rozsahu 3,97–219 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ šťávy. Jednoznačně nejvyšší obsah hliníku byl stanoven v rakytníkové šťávě, u které bylo potvrzeno 219 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, hranice vyšší než 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ dosáhly vzorky šťávy z černého rybízu (101 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$), dále rajčatová šťáva (104 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$), šťáva z bílých (145 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) a z červených hroznů (154 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$), zatímco ve zbylých vzorcích měla koncentrace hliníku tendenci kolísat kolem hodnoty 53,6 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Jelikož vzorky nezohledňovaly možný vliv obalu na obsah hliníku, nebylo možné potvrdit význam obalového materiálu.

Organických kyselin bylo v případě ovocných šťáv stanoven celkem 8 druhů, konkrétně kyseliny chinová, jablečná, citronová, vinná, pyrohroznová, fumarová, šťavelová a u jednoho vzorku také kyselina mléčná. Kyselina jablečná a citronová se jako jediné vyskytovaly ve všech zkoumaných vzorcích, kde rozsah kyseliny jablečné činil od 28,8 $\text{mg}/100\text{ ml}$ u rajčatové šťávy až po 2005 $\text{mg}/100\text{ ml}$ ve šťávě z rakytníku, kdežto obsah kyseliny citronové začínal na úrovni 4,20 $\text{mg}/100\text{ ml}$ v kokosové vodě a končil na hodnotě 4259 $\text{mg}/100\text{ ml}$ ve šťávě z limetky. Kyselina chinová (11,83–1902 $\text{mg}/100\text{ ml}$) byla naměřena ve čtrnácti vzorcích z dvaceti, kyselina pyrohroznová (7,98–232 $\text{mg}/100\text{ ml}$) a šťavelová (1,41–40,6 $\text{mg}/100\text{ ml}$) v osmi, fumarová (1,30–62,8 $\text{mg}/100\text{ ml}$) v sedmi, vinná (17,1–339 $\text{mg}/100\text{ ml}$) pouze ve třech a kyselina mléčná (10,1 $\text{mg}/100\text{ ml}$) jen v kokosové vodě.

V ovoci bylo potvrzeno šest druhů organických kyselin, a to kyseliny chinová, jablečná, citronová, fumarová, α -ketoglutarátová a šťavelová. Ve všech vzorcích se opět stanovily kyselina jablečná 70,6–793 $\text{mg}/100\text{ g}$ (u pomeranče a ve švestkách) a citronová 2,92–970 $\text{mg}/100\text{ g}$ (u jablka a v kiwi). Kyselina chinová (5,37–618 $\text{mg}/100\text{ g}$) byla v šesti vzorcích z deseti zkoumaných, šťavelová (2,84–8,79 $\text{mg}/100\text{ g}$) ve čtyřech, α -ketoglutarátová (59,4–108 $\text{mg}/100\text{ g}$) ve třech a fumarová (4,6–26,5 $\text{mg}/100\text{ g}$) jen ve dvou vzorcích.

Pro značnou reaktivitu hliníku a fosforu byl ve vzorcích stanoven také obsah PO_4^{3-} . Většina ovocných šťáv obsahovala méně než 30 $\text{mg}/100\text{ ml}$ PO_4^{3-} , výrazně vyšší hodnoty byly stanoveny jen u rajčatové šťávy, černého rybízu (obě 48 $\text{mg}/100\text{ ml}$) a šťávy z černého bezu (104 $\text{mg}/100\text{ ml}$). Ve vzorcích ovoce měla koncentrace PO_4^{3-} tendenci se udržovat ve výrazně těsnějším rozsahu, kde množství kolísalo mezi hodnotami 13,2 $\text{mg}/100\text{ g}$ (jablko) a 52,7 $\text{mg}/100\text{ g}$ (broskev).

Změna chování hliníku v prostředí s podmínkami pH 3,38 (průměrná hodnota v ovocných šťávách) a za podmínek prostředí žaludku při pH 1,5 byla značně ovlivněná při nízkém pH, čím

potvrdila hypotézu diplomové práce. Při nižších hodnotách pH byl hliník ve formě Al^{3+} spíše volně pohyblivý v roztoku, kdežto při pH 3,38 měl tendenci vázat se na daný ligand a díky tomu byly pozorovány rozdíly v obsahu detekovatelného Al^{3+} na úrovni až 68,4 % anebo 50,5 % u PO_4^{3-} , anebo kyseliny vinné. Na druhé straně kyselina šťavelová vykazovala rozdíl pouhých 9,62 % a i při pH žaludku stabilně vázala v průměru 77,7 % Al^{3+} . Navzdory tomu, že kyseliny jablečná a citronová by měly vykazovat vysoký potenciál vázat Al^{3+} , experimentálně to pozorováno nebylo. V obou případech by to bylo možné potenciálně přisuzovat použité metodě, ale jen u kyseliny jablečné byl tento úkaz pozorován i v literatuře. Stanovené hodnoty byly porovnány i s teoretickými hodnotami vypočtenými pomocí Visual MINTEQ 3.1, které simulovaly obdobné podmínky. Kromě komplexu hliníku s kyselinou citronovou a jablečnou se teoretické predikce pro výskyt volného Al^{3+} lišily od praktického pokusu v průměru na úrovni 5,76 %, což je možné považovat za velmi dobrou shodu.

To, kolik hliníku bude vázáno v komplexu s ligandem bude především záviset na jeho druhu, jeho množství, počtu reaktivních funkčních skupin a na hodnotě disociační konstanty kyseliny (pK_a). Na základě tohoto pozorování bylo stanoveno, že nejlepší potenciál vázat hliník jak ve šťávách, tak v ovoci bude u ligandů s nižší hodnotou pK_a , protože jim umožňuje setrvat v disociované (reaktivní) formě i při nižších hodnotách pH, anebo s vyšším počtem reaktivních skupin (například $-\text{COO}^-$ a $-\text{O}^-$), se kterými bude hliník potenciálně reagovat. Na základě toho bude nejlepší podmínky k interakci poskytovat kyselina šťavelová, citronová, vinná, jablečná nebo PO_4^{3-} .

Vzhledem k navyšujícímu se vystavování lidí hliníku, který není zdravotně zcela nezávadný, je na místě zkoumat jeho přijímané množství a jeho chování v našem organismu. Doufám, že v tomto ohledu práce svými pozorováními přispěla k rozšíření vědomostí, pokud jde o tuto problematiku a pomůže při dalším zkoumání.

11 Literatura

- Albertini, M.-V., Carcouet, E., Pailly, O., et al. (2006). Changes in organic acids and sugars during early stages of development of acidic and acidless citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(21), 8335-8339.
- Alfrey, A. C., LeGendre, G. R., & Kaehny, W. D. (1976). The dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminum intoxication. *N Engl J Med*, 294(4), 184-188. doi: 10.1056/NEJM197601222940402
- Altundag, H., & Tuzen, M. (2011). Comparison of dry, wet and microwave digestion methods for the multi element determination in some dried fruit samples by ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology*, 49(11), 2800-2807.
- Aluminum, W. (1997). Geneva: World Health Organization. *International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 194)*.
- Andersen, O. (1999). Principles and recent developments in chelation treatment of metal intoxication. *Chemical Reviews*, 99(9), 2683-2710.
- Antoine, J. M. R., Fung, L. A. H., & Grant, C. N. (2017). Assessment of the potential health risks associated with the aluminium, arsenic, cadmium and lead content in selected fruits and vegetables grown in Jamaica. *Toxicol Rep*, 4, 181-187. doi: 10.1016/j.toxrep.2017.03.006
- Arruda, M. A., Gallego, M., & Valcarcel, M. (1993). Determination of aluminum in slurry and liquid phase of juices by flow injection analysis graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*, 65(22), 3331-3335.
- Bai, Q., Shen, Y., & Huang, Y. (2021). Advances in Mineral Nutrition Transport and Signal Transduction in Rosaceae Fruit Quality and Postharvest Storage. *Frontiers in Plant Science*, 12. doi: 10.3389/fpls.2021.620018
- Balaščík, J. (2001). Konzervování v domácnosti 1. vyd. *Uherské Hradiště: Ottobre*, 12, 229.
- Barabasz, W., Albinska, D., Jaskowska, M., et al. (2002). Ecotoxicology of aluminium. *Polish journal of environmental studies*, 11(3), 199-204.
- Bishop, N. J., Morley, R., Day, J. P., et al. (1997). Aluminum neurotoxicity in preterm infants receiving intravenous-feeding solutions. *New England Journal of Medicine*, 336(22), 1557-1562.
- Boerngen, J. G., & Shacklette, H. T. (1980). Chemical analyses of fruits, vegetables, and their associated soils from areas of commercial production in the conterminous United States: US Geological Survey.
- Bortz, J. D., & Kirschner, M. I. (2016). Methods and Compositions for Enhancing Iron Absorption: Google Patents.
- Bratakos, S. M., Lazou, A. E., Bratakos, M. S., et al. (2012). Aluminium in food and daily dietary intake estimate in Greece. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 5(1), 33-44.
- Bushinsky, D. A., Sprague, S. M., Hallegot, P., et al. (1995). Effects of aluminum on bone surface ion composition. *Journal of Bone and Mineral Research*, 10(12), 1988-1997.
- Cordell, D., Drangert, J.-O., & White, S. (2009). The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, 19(2), 292-305. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>
- Cunha, S. C., Fernandes, J. O., & Ferreira, I. M. (2002). HPLC/UV determination of organic acids in fruit juices and nectars. *European Food Research and Technology*, 214(1), 67-71. doi: 10.1007/s002170100412

- Čurlík, J., & Šefdík, P. (1999). *Geochemický atlas Slovenskej republiky: Geochemical atlas of the Slovak Republic. Pödy. Soils*: Ministry of the Environment of the Slovak Republic, Soil Science and
- Darbre, P. D. (2005). Aluminium, antiperspirants and breast cancer. *J Inorg Biochem*, 99(9), 1912-1919. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2005.06.001
- Davídek, J. (1983). *Chemie potravin* (Vyd. 1. ed.). Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury.
- Day, J. P., & Ackrill, P. (1993). The chemistry of desferrioxamine chelation for aluminum overload in renal dialysis patients. *Therapeutic drug monitoring*, 15(6), 598-601.
- De Kreij, C., Janse, J., Van Goor, B., et al. (1992). The incidence of calcium oxalate crystals in fruit walls of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affected by humidity, phosphate and calcium supply. *Journal of Horticultural Science*, 67(1), 45-50.
- de Souza, M., Barciela-Alonso, M. C., Aboal-Somoza, M., et al. (2021). Determination of the Trace Element Contents of Fruit Juice Samples by ICP OES and ICP-MS. *Braz. J. Anal. Chem*, 9, 49-61.
- Debolt, S., Melino, V., & Ford, C. M. (2007). Ascorbate as a biosynthetic precursor in plants. *Annals of Botany*, 99(1), 3-8.
- Dirlewanger, E., Moing, A., Rothan, C., et al. (1999). Mapping QTLs controlling fruit quality in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Theoretical and Applied Genetics*, 98(1), 18.
- Dong, M., Xin, R., Li, Z.-Y., et al. (2023). Simultaneously quantification of organic acids metabolites by HPLC mass spectrometry to reveal the postharvest quality change in cherry tomato. *Journal of Food Composition and Analysis*, 117, 105105. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.105105>
- Drake, S., & Eisele, T. (1999). Carbohydrate and acid contents of Gala apples and Bartlett pears from regular and controlled atmosphere storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8), 3181-3184.
- Driscoll, C. T., & Schecher, W. D. (1990). The chemistry of aluminum in the environment. *Environmental Geochemistry and Health*, 12(1), 28-49.
- Ellsworth, D. L., Ellsworth, R. E., Love, B., et al. (2004). Outer Breast Quadrants Demonstrate Increased Levels of Genomic Instability. *Annals of Surgical Oncology*, 11(9), 861-868. doi: 10.1245/ASO.2004.03.024
- Ermer, T., Eckardt, K.-U., Aronson, P. S., et al. (2016). Oxalate, inflammasome, and progression of kidney disease. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 25(4), 363.
- Exley, C. (2013). Human exposure to aluminium. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15(10), 1807-1816.
- Famiani, F., Battistelli, A., Moscatello, S., et al. (2015). *The organic acids that are accumulated in the flesh of fruits: occurrence, metabolism and factors affecting their contents – a review* *Ácidos orgánicos acumulados en la pulpa de los frutos: ocurrencia, metabolismo y factores que afectan sus contenidos- una revisión* (Vol. 21).
- Famiani, F., Casulli, V., Baldicchi, A., et al. (2012). Development and metabolism of the fruit and seed of the Japanese plum Ozark premier (Rosaceae). *Journal of Plant Physiology*, 169(6), 551-560.
- Famiani, F., Cultrera, N. G., Battistelli, A., et al. (2005). Phosphoenolpyruvate carboxykinase and its potential role in the catabolism of organic acids in the flesh of soft fruit during ripening. *Journal of Experimental Botany*, 56(421), 2959-2969.
- Fenik, J., Tankiewicz, M., & Biziuk, M. (2011). Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(6), 814-826.

- Flaten, T. P. (2002). Aluminium in tea—concentrations, speciation and bioavailability. *Coordination Chemistry Reviews*, 228(2), 385-395. doi: [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(02\)00036-X](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00036-X)
- 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(2), 1049-1054. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.064>
- Ford, C. (2012). The biochemistry of organic acids in the grape. *The Biochemistry of the grape berry*, 67-88.
- Fuleki, T., Pelayo, E., & Palabay, R. B. (1994). Sugar composition of varietal juices produced from fresh and stored apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(6), 1266-1275.
- Gökmen*, V., & Acar, J. (2004). Fumaric acid in apple juice: a potential indicator of microbial spoilage of apples used as raw material. *Food Addit Contam*, 21(7), 626-631.
- Gómez-Moreno, G., Aguilar-Salvatierra, A., Guardia, J., et al. (2013). THE EFFICACY OF A TOPICAL SIALOGOGUE SPRAY CONTAINING 1% MALIC ACID IN PATIENTS WITH ANTIDEPRESSANT-INDUCED DRY MOUTH: A DOUBLE-BLIND, RANDOMIZED CLINICAL TRIAL. *Depression and Anxiety*, 30(2), 137-142. doi: <https://doi.org/10.1002/da.22017>
- Gomis, D. B. (2000). HPLC analysis of organic acids. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 477-492.
- Gonzalez-Aguilar, G., Buta, J. G., & Wang, C. (2003). Methyl jasmonate and modified atmosphere packaging (MAP) reduce decay and maintain postharvest quality of papaya 'Sunrise'. *Postharvest Biology and Technology*, 28(3), 361-370.
- Greger, J., Goetz, W., & Sullivan, D. (1985). Aluminum levels in foods cooked and stored in aluminum pans, trays and foil. *Journal of Food Protection*, 48(9), 772-777.
- Haddad, P. R., & Jackson, P. E. (1990). *Ion chromatography*: Elsevier.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*: Oxford university press, USA.
- Hem, J., & Wedepohl, K. (1978). Abundance [of aluminum] in natural waters and in the atmosphere. *Handbook of geochemistry*, 132-133.
- Hem, S. L., & HogenEsch, H. (2007). Relationship between physical and chemical properties of aluminum-containing adjuvants and immunopotentiality. *Expert review of vaccines*, 6(5), 685-698.
- Hernández Suárez, M., Rodríguez Rodríguez, E., & Díaz Romero, C. (2008). Analysis of organic acid content in cultivars of tomato harvested in Tenerife. *European Food Research and Technology*, 226, 423-435.
- Hulme, A. (1971). The biochemistry of fruits and their products.
- Hulme, A., & Woollorton, L. (1957). The organic acid metabolism of apple fruits: changes in individual acids during growth on the tree. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 8(3), 117-122.
- Imenšek, N., Sem, V., Kolar, M., et al. (2021). The Distribution of Minerals in Crucial Plant Parts of Various Elderberry (*Sambucus* spp.) Interspecific Hybrids. *Plants*, 10(4), 653.
- Jones, D. L., Eldhuset, T., De Wit, H. A., et al. (2001). Aluminium effects on organic acid mineralization in a Norway spruce forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(9), 1259-1267.
- Jönsson, H., Stintzing, A. R., Vinnerås, B., et al. (2004). *Guidelines on the use of urine and faeces in crop production*: EcoSanRes Programme.

- Kaiser, L., & Schwartz, K. A. (1985). Aluminum-induced anemia. *American Journal of Kidney Diseases*, 6(5), 348-352.
- Kalra, Y. (1997). *Handbook of reference methods for plant analysis*: CRC press.
- King, E., & Bolling, B. (2020). Food Bioactives International Society for Nutraceuticals and Functional Foods Composition, polyphenol bioavailability, and health benefits of aronia berry: a review. *Journal of Food Bioactives*, 11, 13-30.
- Kiplagat, I., Drabek, O., I, K., et al. (2015). Study of Interactions between Relevant Organic Acids and Aluminium in Model Solutions Using HPLC and IC. *Soil and Water Research*, 10, 172-180. doi: 10.17221/256/2014-SWR
- Kleerebezem, R., Pol, L. W. H., & Lettinga, G. (1999). Anaerobic degradation of phthalate isomers by methanogenic consortia. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 1152-1160.
- Kliwer, W. M., Howarth, L., & Omori, M. (1967). Concentrations of tartaric acid and malic acids and their salts in *Vitis vinifera* grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 18(1), 42-54.
- Kochian, L. V., Hoekenga, O. A., & Pineros, M. A. (2004). How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual review of plant biology*, 55(1), 459-493.
- Kochian, L. V., Piñeros, M. A., & Hoekenga, O. A. (2005). The Physiology, Genetics and Molecular Biology of Plant Aluminum Resistance and Toxicity. *Plant and soil*, 274(1), 175-195. doi: 10.1007/s11104-004-1158-7
- Kopittke, P. M., McKenna, B. A., Karunakaran, C., et al. (2017). Aluminum Complexation with Malate within the Root Apoplast Differs between Aluminum Resistant and Sensitive Wheat Lines. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Kowalska, G., Pankiewicz, U., Kowalski, R., et al. (2020). Determination of the content of selected trace elements in Polish commercial fruit juices and health risk assessment. *Open Chemistry*, 18(1), 443-452. doi: doi:10.1515/chem-2020-0043
- Koyuncu, M. A., & Dilmaçunal, T. (2010). Determination of vitamin C and organic acid changes in strawberry by HPLC during cold storage. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(3), 95-98.
- Kramer, M. F., & Heath, M. D. (2014). Aluminium in allergen-specific subcutaneous immunotherapy--a German perspective. *Vaccine*, 32(33), 4140-4148. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.05.063
- Krewski, D., Yokel, R. A., Nieboer, E., et al. (2007). Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10(S1), 1-269.
- Kumar, V., & Gill, K. D. (2014). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in aluminium neurotoxicity and its amelioration: a review. *Neurotoxicology*, 41, 154-166. doi: 10.1016/j.neuro.2014.02.004
- Kvaratskhelia, R. K., & Kvaratskhelia, E. R. (2009). On dissociation of weak dibasic and tribasic organic acids participating in Krebs cycle. *Russian Journal of Electrochemistry*, 45(2), 221-224.
- Kyzlink, V. (1988). *Teoretické základy konzervace potravin*: Státní nakladatelství technické literatury.
- Lasat, M. (1999). Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *Journal of Hazardous Substance Research*, 2(1), 5.

- Lasat, M. M. (2002). Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of environmental quality*, 31(1), 109-120.
- Leistner, E. (1999). 1.23 - The Role of Isochorismic Acid in Bacterial and Plant Metabolism. In S. D. Barton, K. Nakanishi aO. Meth-Cohn (Eds.), *Comprehensive Natural Products Chemistry* (pp. 609-622). Oxford: Pergamon.
- Li, J., Zhang, C., Liu, H., et al. (2020). Profiles of Sugar and Organic Acid of Fruit Juices: A Comparative Study and Implication for Authentication. *Journal of Food Quality*, 2020, 7236534. doi: 10.1155/2020/7236534
- Lindsay, W. L. (1979). *Chemical equilibria in soils*: John Wiley and Sons Ltd.
- Lipworth, L. (1995). Epidemiology of breast cancer. *Eur J Cancer Prev*, 4(1), 7-30. doi: 10.1097/00008469-199502000-00002
- López, F. F., Cabrera, C., Lorenzo, M. L., et al. (2002). Aluminium content of drinking waters, fruit juices and soft drinks: contribution to dietary intake. *Science of the total environment*, 292(3), 205-213. doi: [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)01122-6](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)01122-6)
- Loughran, D., Calello, D., & Nelson, L. (2022). Treatment of acute aluminum toxicity due to alum bladder irrigation in a hemodialysis patient: a case report. *Toxicology Communications*, 6(1), 35-38. doi: 10.1080/24734306.2022.2040148
- Marsh, K. B., Boldingh, H. L., Shilton, R. S., et al. (2009). Changes in quinic acid metabolism during fruit development in three kiwifruit species. *Functional Plant Biology*, 36(5), 463-470.
- Marunaka, Y. (2018). The proposal of molecular mechanisms of weak organic acids intake-induced improvement of insulin resistance in diabetes mellitus via elevation of interstitial fluid pH. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3244.
- Matczak-Jon, E. (1995). Rola glinu w środowisku. *Wiad Chem*, 49, 483-500.
- McColl, J. G., & Pohlman, A. A. (1986). Soluble organic acids and their chelating influence on Al and other metal dissolution from forest soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, 31(3), 917-927. doi: 10.1007/BF00284237
- McFee, W. W., & Kelly, J. M. (1995). *Carbon forms and functions in forest soils*.
- McGrath, K. G. (2003). An earlier age of breast cancer diagnosis related to more frequent use of antiperspirants/deodorants and underarm shaving. *European Journal of Cancer Prevention*, 12(6), 479-485.
- Miessler, G. L., Fisher, J. P., & Tarr, D. A. (2014). *Inorganic chemistry* (A. Jaworski Ed. 5th Edition ed.): Pearson.
- MICHNA, Š. (2005). *Encyklopedie hliníku [Aluminium encyclopaedia]*.
- Milivojević, J., Maksimović, V., & Nikolić, M. (2009). Sugar and organic acids profile in the fruits of black and red currant cultivars. *Journal of Agricultural Sciences*, 54. doi: 10.2298/JAS0902105M
- Monakhova, Y. B., Schütz, B., Schäfer, H., et al. (2014). Validation studies for multicomponent quantitative NMR analysis: the example of apple fruit juice. *Accreditation and Quality Assurance*, 19(1), 17-29. doi: 10.1007/s00769-013-1026-3
- Müller, J. M., Rupec, R. A., & Baeuerle, P. A. (1997). Study of gene regulation by NF-κB and AP-1 in response to reactive oxygen intermediates. *Methods*, 11(3), 301-312.
- Müller, M., Anke, M., & Illing-Günther, H. (1998). Aluminium in foodstuffs. *Food Chemistry*, 61(4), 419-428. doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00085-X)
- Nguyễn, H. V. H., & Savage, G. (2013). Oxalate content of New Zealand grown and imported fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(2), 180-184.

- Noonan, S., & Savage, G. (1999). Oxalate content of foods and its effect on humans. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 8(1), 64-74.
- Organization, W. H. (1996). *Trace elements in human nutrition and health*: World Health Organization.
- Pacák, J. (1989). *Poznáváme organickou chemii*: Státní nakladatelství technické literatury.
- Peixoto, R. R. A., Duyck, C., Lorençatto, R., et al. (2023). Determination of essential and potentially toxic trace elements in natural and processed coconut water by microwave induced plasma optical emission spectrometry, and risk assessment. *Journal of Food Composition and Analysis*, 118, 105190. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105190>
- Pennington, J. A. (1988). Aluminium content of foods and diets. *Food Addit Contam*, 5(2), 161-232. doi: 10.1080/02652038809373696
- Pero, R. W., Lund, H., & Leanderson, T. (2009). Antioxidant metabolism induced by quinic acid. Increased urinary excretion of tryptophan and nicotinamide. *Phytother Res*, 23(3), 335-346. doi: 10.1002/ptr.2628
- Pitter, P. (2009). *Hydrochemie* (4 ed.). Praha: VŠCHT.
- Podešvová, E. (2017). Smoothie versus ovocný nápoj: Brno.
- Polák, F., Urík, M., & Matuš, P. (2019). Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností v pôdnom prostredí. *Chemické listy*, 113(5), 307-314.
- Poschenrieder, C., Gunsé, B., Corrales, I., et al. (2008). A glance into aluminum toxicity and resistance in plants. *Science of the total environment*, 400(1-3), 356-368.
- Rassam, M., Bulley, S., & Laing, W. (2006). *Oxalate and ascorbate in Actinidia fruit and leaves*. Paper presented at the VI International Symposium on Kiwifruit 753.
- Rassam, M., & Laing, W. (2005). Variation in ascorbic acid and oxalate levels in the fruit of *Actinidia chinensis* tissues and genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2322-2326.
- Reusche, E., Pilz, P., Oberascher, G., et al. (2001). Subacute fatal aluminum encephalopathy after reconstructive otoneurosurgery: A case report. *Human Pathology*, 32(10), 1136-1140. doi: <https://doi.org/10.1053/hupa.2001.28251>
- Rifat, S., Eastwood, M., McLachlan, D. C., et al. (1990). Effect of exposure of miners to aluminium powder. *The Lancet*, 336(8724), 1162-1165.
- Richardson, A., Marsh, K., Bolding, H., et al. (2004). High growing temperatures reduce fruit carbohydrate and vitamin C in kiwifruit. *Plant, Cell & Environment*, 27(4), 423-435.
- Robertson, J. A., Meredith, F. I., Senter, S. D., et al. (1992). Physical, chemical and sensory characteristics of Japanese-type plums grown in Georgia and Alabama. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60(3), 339-347.
- Robles, A., Fabjanowicz, M., Chmiel, T., et al. (2019). Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 120, 115630.
- Rodgers, A. L., Webber, D., de Charmoy, R., et al. (2014). Malic acid supplementation increases urinary citrate excretion and urinary pH: implications for the potential treatment of calcium oxalate stone disease. *Journal of Endourology*, 28(2), 229-236.
- Romero Rodriguez, M. A., Vazquez Oderiz, M. L., Lopez Hernandez, J., et al. (1992). Determination of Vitamin C and Organic Acids in Various Fruits by HPLC. *Journal of Chromatographic Science*, 30(11), 433-437. doi: 10.1093/chromsci/30.11.433

- Rondevaldova, J., Novy, P., Tauchen, J., et al. (2023). Determination of antioxidants, minerals and vitamins in Cambodian underutilized fruits and vegetables. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(1), 716-731.
- Rout, G., Samantaray, S., & Das, P. (2001). Aluminium toxicity in plants: a review. *Agronomie*, 21(1), 3-21.
- Russell, I. J., Michalek, J. E., Flechas, J. D., et al. (1995). Treatment of fibromyalgia syndrome with Super Malic: a randomized, double blind, placebo controlled, crossover pilot study. *J Rheumatol*, 22(5), 953-958.
- Saccani, G., Gherardi, S., Trifirò, A., et al. (1995). Use of ion chromatography for the measurement of organic acids in fruit juices. *Journal of Chromatography A*, 706(1-2), 395-403.
- Şahin, G., Varol, I., Temizer, A., et al. (1994). Determination of aluminum levels in the kidney, liver, and brain of mice treated with aluminum hydroxide. *Biological trace element research*, 41(1), 129-135.
- Salem, K., Kumar, M., Kloepping, K. C., et al. (2018). Determination of binding affinity of molecular imaging agents for steroid hormone receptors in breast cancer. *American journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 8(2), 119-126.
- Sappino, A. P., Buser, R., Lesne, L., et al. (2012). Aluminium chloride promotes anchorage-independent growth in human mammary epithelial cells. *Journal of Applied Toxicology*, 32(3), 233-243.
- Sepe, A., Costantini, S., Ciaralli, L., et al. (2001). Evaluation of aluminium concentrations in samples of chocolate and beverages by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Additives & Contaminants*, 18(9), 788-796.
- Scherer, R., Rybka, A. C. P., Ballus, C. A., et al. (2012). Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. *Food Chemistry*, 135(1), 150-154.
- Schöttelndreier, M., Norddahl, M. M., Ström, L., et al. (2001). Organic acid exudation by wild herbs in response to elevated Al concentrations. *Annals of Botany*, 87(6), 769-775.
- Starska, K. (1993). Aluminum in food. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 44(1), 55-63.
- Stój, A., & Targoński, Z. a. (2006). Use of content analysis of selected organic acids for the detection of berry juice adulterations. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 15(1), 41.
- Strunecka, A., & Strunecky, O. (2019). Chronic Fluoride Exposure and the Risk of Autism Spectrum Disorder. *Int J Environ Res Public Health*, 16(18). doi: 10.3390/ijerph16183431
- Sturm, K., Hudina, M., Solar, A., et al. (2003). Fruit Quality of Different Gala'Clones. *European journal of horticultural science*, 68(4), 169-175.
- Svanella, L., Gaudillère, M., Gaudillère, J., et al. (1999). Organic acid concentration is little controlled by phosphoenolpyruvate carboxylase activity in peach fruit. *Functional Plant Biology*, 26(6), 579-585.
- Šeruga, M., & Laslavić, B. (2006). Aluminium content of fruit juices and tea beverages. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau: Zeitschrift für Lebensmittelkunde und Lebensmittelrecht*, 102, 435-441.
- Taylor, M. B., Yanaki, J. S., Draper, D. O., et al. (2013). Successful short-term and long-term treatment of melasma and postinflammatory hyperpigmentation using vitamin C with a full-face iontophoresis mask and a mandelic/malic acid skin care regimen. *J Drugs Dermatol*, 12(1), 45-50.

- Thompson, M. (2012). *Handbook of inductively coupled plasma spectrometry*: Springer Science & Business Media.
- Thrush, P. W. (1968). *A dictionary of mining, mineral, and related terms*: US Bureau of Mines.
- Tokalioglu, Ş., Kartal, Ş., & Gültekin, A. (2006). Investigation of heavy-metal uptake by vegetables growing in contaminated soils using the modified BCR sequential extraction method. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, *86*(06), 417-430.
- Trifiro, A., Sacconi, G., Gherardi, S., et al. (1997). Use of ion chromatography for monitoring microbial spoilage in the fruit juice industry. *Journal of Chromatography A*, *770*(1-2), 243-252.
- Tripathi, S., Mahdi, A., Hasan, M., et al. (2011). Protective potential of Bacopa monniera (Brahmi) extract on aluminum induced cerebellar toxicity and associated neuromuscular status in aged rats. *Cellular and Molecular Biology*, *57*(1), 3-15.
- van Hees, P. A., Andersson, A.-M. T., & Lundström, U. S. (1996). Separation of organic low molecular weight aluminium complexes in soil solution by liquid chromatography. *Chemosphere*, *33*(10), 1951-1966.
- van Hees, P. A. W., Lundström, U. S., & Giesler, R. (2000). Low molecular weight organic acids and their Al-complexes in soil solution—composition, distribution and seasonal variation in three podzolized soils. *Geoderma*, *94*(2), 173-200. doi: [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(98\)00140-2](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(98)00140-2)
- Velíšek, J. (1999). *Chemie potravin*.
- Violeta, N., Trandafir, I., & Ionica, M. E. (2010). HPLC organic acid analysis in different citrus juices under reversed phase conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *38*(1), 44-48.
- Von Uexküll, H., & Mutert, E. (1995). Global extent, development and economic impact of acid soils. *Plant and soil*, *171*(1), 1-15.
- Vondráčková, S., Száková, J., Drábek, O., et al. (2015). Aluminium uptake and translocation in Al hyperaccumulator *Rumex obtusifolius* is affected by low-molecular-weight organic acids content and soil pH. *PLoS One*, *10*(4), e0123351.
- Vrbová, T. (2001). *Víme, co jíme?, aneb, Průvodce" Ěčky" v potravinách*: EcoHouse.
- Walker, V. R., Sutton, R. A., Meirav, O., et al. (1994). Tissue disposition of ²⁶aluminum in rats measured by accelerator mass spectrometry. *Clinical and investigative medicine*, *17*(5), 420.
- Wang, L., Cui, D., Zhao, X., et al. (2017). The important role of the citric acid cycle in plants. *Genomics and Applied Biology*, *8*.
- Wang, Y., Lu, C., Xiao, Z., et al. (1991). Determination of aluminum in foods by stabilized temperature platform graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *39*(4), 724-726. doi: 10.1021/jf00004a020
- website1. (2022). Retrieved February 2022, from <https://www.ceskenoviny.cz/zpravy/cesi-loni-mene-pili-zato-jedli-vice-ovoce-ci-ryze-zjistil-csu/2128659>
- website2. (2021). Spotřeba potravin 1948 až 2019 v grafech. Retrieved February, 2022, from <https://www.kurzy.cz/zpravy/578335-spotreba-potravin-1948-az-2019-v-grafech/>
- website3. (2016). Seznam éček. Retrieved November, 2022, from <https://www.ceff.info/cz/additives/>
- website4. Karboxylové kyseliny. Retrieved January, 2023, from https://www.mallic.cz/chemie/kk.pdf?fbclid=IwAR31zH92TVma7SlxMxpRRx4XjgdvKI SZC729c_cGwUL7KGEr-cO8CBVXOnI

- website5. (2012). Přidatné látky v potravinách. Retrieved January, 2023, from <https://eagri.cz/public/web/mze/potravinovy/publikace-a-dokumenty/publikace/odborne-publikace-s-potravinarskou/pridatne-latky-v-potravinach.html>
- website6. (2022, May 2022). Kyselina citronová. Retrieved November, 2022, from https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kyselina_citronov%C3%A1&oldid=21336663
- website7. (2022). Kyselina jablečná-vzorec, vlastnosti a použití. Retrieved January, 2023, from <https://www.products.pcc.eu/cs/blog/kyselina-jablecna-vzorec-vlastnosti-a-pouziti/>
- website10. Kyselina 3-dehydrochinová. Retrieved November, 2022, from https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kyselina_3-dehydrochinov%C3%A1&oldid=21807835
- website12. Kyselina vinná. Retrieved November, 2022, from https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kyselina_vinn%C3%A1&oldid=22505086
- website13. Kyselina šťavelová. Retrieved November, 2022, from https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kyselina_%C5%A1%C5%A5avelov%C3%A1&oldid=22446760
- website14. (March 2023). Kyselina benzoová. Retrieved November, 2022, from https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kyselina_benzoov%C3%A1&oldid=22565920
- Wickham, E. (2014). Phosphorus content in commonly consumed beverages. *Journal of Renal Nutrition*, 24(1), e1-e4.
- Widhalm, Joshua R., & Dudareva, N. (2015). A Familiar Ring to It: Biosynthesis of Plant Benzoic Acids. *Molecular Plant*, 8(1), 83-97. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.001>
- Williams, D. R., & Halstead, B. W. (1982). Chelating Agents in Medicine. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 19(10), 1081-1115. doi: 10.3109/15563658208992544
- Wu, J., Fan, J., Li, Q., et al. (2022). Variation of organic acids in mature fruits of 193 pear (*Pyrus* spp.) cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 109, 104483. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104483>
- Wuana, R. A., Okieimen, F. E., & Imborvungu, J. A. (2010). Removal of heavy metals from a contaminated soil using organic chelating acids. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 7(3), 485-496. doi: 10.1007/BF03326158
- Xiao, M., & Wu, F. (2014). A review of environmental characteristics and effects of low-molecular weight organic acids in the surface ecosystem. *Journal of Environmental Sciences*, 26(5), 935-954. doi: [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60570-7](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60570-7)
- Yokel, R. A. (2000). The toxicology of aluminum in the brain: a review.
- Zeb, A. (2004). Chemical and nutritional constituents of sea buckthorn juice. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(2), 99-106.
- Zook, E. G., & Lehmann, J. (1968). Mineral composition of fruits. 2. Nitrogen, calcium, magnesium, phosphorus, potassium, aluminum, boron, copper, iron, manganese, and sodium. *Journal of The American Dietetic Association*, 52, 225-231.

12 Seznam použitých zkratek a symbolů

ANA	Ananasová šťáva
ARO	Aronie šťáva
BAN	Banán
BEZ	Černý bez
BOR	Borůvková šťáva
BRO	Broskev
BRU	Brusinková šťáva
cit	Kyselina citronová
CITR	Citronová šťáva
ČBEZ	Černý bez šťáva
fum	Kyselina fumarová
glu	Kyselina glukonová
GRN	Granátové jablko šťáva
GRP	Grepová šťáva
HROb	Hrozen bílý šťáva
HROč	Hrozen červený šťáva
HRU	Hruška
HRUŠ	Hrušková šťáva
chin	Kyselina quinová (chinová)
JAB	Jablko
JABL	Jablečná šťáva
JAH	Jahoda
jbl	Kyselina jablečná
ket	Kyselina α -ketoglutarátová
KIW	Kiwi
KOK	Kokosová voda
LIM	Limetová šťáva
LMMOA	Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností
MAL	Malinová šťáva
MAN	Mandarinková šťáva
MEL	Vodní meloun
mlč	Kyselina mléčná
POM	Pomeranč
POME	Pomerančová šťáva
pyr	Kyselina pyrohroznová
RAJ	Rajčatová šťáva
RAK	Rakytníková šťáva
RYB	Černý rybíz šťáva
šťv	Kyselina šťavelová
ŠVE	Švestka
vin	Kyselina vinná

13 Seznam použitých obrázků

Graf 1: Historický vývoj spotřeby vybraných typů plodin na osobu převzato z: (website2 2021)	8
Obrázek 2: Molekulární vzorec kyseliny citronové.....	18
Obrázek 3: Molekulární vzorec kyseliny jablečné	18
Obrázek 4: Molekulový vzorec kyseliny chinové	19
Obrázek 5: Molekulový vzorec kyseliny vinné	20
Obrázek 6: Molekulový vzorec kyseliny šťavelové	20
Obrázek 7: Molekulový vzorec kyseliny benzoové.....	21
Obrázek 8: Systémy iontové chromatografie Dionec ICS 1600 (vpravo) a Dionex ICS 6000 DC (vlevo)	23
Obrázek 9: ICS-OES iCAP 7000.....	24
Obrázek 10: Zahřívající se vzorky při uzavřeném rozkladu.....	24
Obrázek 11: Vzorky ovoce v deionizované vodě	27
Obrázek 12: Zředěné vzorky ovocných šťáv	28
Graf 13a: Obsah Al ve filtrovaných ovocných šťávách ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$ filtrovaného roztoku)	31
Graf 13b: Obsah Al ve filtrovaných ovocných šťávách ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$ filtrovaného roztoku)	32
Graf 14: Obsah detekovatelného Al^{3+} ve směsích s vybraným ligandem v důsledku změny pH	37
Graf 15: Koncentrace hliníku a H_3O^+	41
Graf 16: Porovnání koncentrací hliníku a organických kyselin	42

14 Seznam tabulek

Tabulka 1: Potenciální zdroje hliníku pro člověka	12
Tabulka 2: Naměřené hodnoty pH ve šťávách	30
Tabulka 3: Organické kyseliny obsažené v ovocných šťávách [$\text{mg}/100\text{ ml}$]	33
Tabulka 4: Organické kyseliny obsažené v ovoci [$\text{mg}/100\text{ g}$].....	34
Tabulka 5: Obsah fosforu (PO_4^{3-}) v ovocných šťávách [$\text{mg}/100\text{ ml}$].....	36
Tabulka 6: Obsah fosforu (PO_4^{3-}) v ovoci [$\text{mg}/100\text{ g}$]	36
Tabulka 7a: Porovnání naměřeného obsahu hliníku s literaturou [$\mu\text{g}/100\text{ ml}$]	38
Tabulka 7b: Porovnání naměřeného obsahu hliníku s literaturou [$\mu\text{g}/100\text{ ml}$]	38
Tabulka 8: Porovnání obsahů hliníku ve šťávách dle obalu [$\mu\text{g}/100\text{ ml}$].....	40
Tabulka 9: Obsah hliníku v testovaném ovoci [$\mu\text{g}/\text{g}$].....	42
Tabulka 10: Koncentrační rozsahy organických kyselin ve šťávách [$\text{mg}/100\text{ ml}$]	43
Tabulka 11: Přehled obsahu organických kyselin [$\text{mg}/100\text{ ml}$]	45
Tabulka 12: Rozsahy zastoupení organických kyselin v ovoci [$\text{mg}/100\text{ g}$]	47
Tabulka 13: Obsah volného Al^{3+}	47
Tabulka 14: Speciační zastoupení ligandu s hliníkem v závislosti od hodnoty pH podle MINTEQu	48
Tabulka 15: Hodnoty disociačních konstant kyseliny (pK_a) pro jednotlivé ligandy	50
Tabulka 16: Výsledky ICP-OES, analýza prvků v šťávách [mg/l].....	l
Tabulka 17: Detekční limity stanovovaných prvků [mg/l].....	l

15 Samostatné přílohy

Tabulka 16: Výsledky ICP-OES, analýza prvků v štávkách [mg/ l]

	<u>Al</u>	<u>Ca</u>	<u>Cr</u>	<u>Cu</u>	<u>Fe</u>	<u>Mg</u>	<u>Na</u>	<u>Ni</u>	<u>P</u>	<u>Si</u>	<u>Zn</u>
KOK	0,019	65,83	0,000	0,127	0,101	70,09	185,0	0,370	68,71	42,03	0,344
RAJ	1,038	61,24	0,000	0,353	0,985	51,10	*	0,015	140,3	1,696	1,027
HRUŠ	0,623	29,43	0,000	0,296	0,255	33,70	8,173	0,042	64,70	0,581	0,837
ČBEZ	0,702	116,0	0,038	0,284	3,039	295,13	15,1	0,086	419,6	6,266	1,947
POME	0,194	165,6	0,000	0,408	0,470	96,51	42,77	0,018	150,2	9,070	0,646
ANA	0,019	72,21	0,011	0,439	1,075	68,28	3,151	0,030	44,57	23,32	1,378
JABL	0,552	131,2	0,000	0,185	0,633	49,84	63,36	0,019	65,72	7,180	0,232
ARO	0,040	125,2	0,008	0,462	0,550	82,73	9,205	0,096	162,9	2,808	0,936
MAN	0,195	110,2	0,009	0,647	0,486	87,33	36,91	0,011	80,85	4,551	0,779
HROč	0,536	90,42	0,016	1,253	1,088	58,85	15,54	0,019	90,20	9,786	0,531
HROb	1,445	104,8	0,001	0,364	1,777	58,46	18,67	0,014	115,5	9,073	0,994
GRN	1,540	59,04	0,011	0,492	1,849	49,66	7,969	0,128	107,0	4,253	1,327
GRP	0,210	58,44	0,000	0,212	0,153	57,65	14,08	0,027	103,5	1,717	0,361
MAL	0,609	106,0	0,008	0,147	0,646	108,9	5,57	0,385	123,8	1,988	1,896
BOR	0,848	96,30	0,000	0,333	0,443	39,84	4,707	0,062	53,57	2,485	0,992
RYB	1,006	211,8	0,008	0,385	2,939	78,01	14,39	0,127	224,0	3,417	1,585
RAK	2,188	50,41	0,026	0,581	4,527	54,52	84,43	0,183	158,7	4,662	1,021
BRU	0,330	49,59	0,004	0,158	0,943	29,51	7,95	0,050	34,37	3,769	0,655
LIM	0,758	81,80	0,017	0,505	0,553	57,55	40,36	0,026	109,0	7,706	0,733
CITR	0,712	104,4	0,000	0,570	0,633	69,2	130,6	0,025	76,25	8,291	0,975

*obsah vysoko nad rámec kvantifikovatelnosti

Tabulka 17: Detekční limity stanovovaných prvků [mg/ l]

<u>Prvek</u>	<u>Detekční limit</u>	<u>Prvek</u>	<u>Detekční limit</u>
Al	0,0386	Mg	0,0029
As	0,0067	Mn	0,0001
B	0,0067	Na	0,0258
Ba	0,0067	Ni	0,0004
Be	0,0067	P	0,0067
Ca	0,0079	Pb	0,0015
Cd	0,0002	S	0,0121
Co	0,0018	Sb	0,0082
Cr	0,0007	Si	0,0521
Cu	0,0060	V	0,0006
Fe	0,0184	Zn	0,0060
K	0,0934	-	-