Těžké kovy ve víně

Bc. Jitka Maráková

Diplomová práce
2018

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Bc. Jitka Maráková**
Osobní číslo:	**T16598**
Studijní program:	**N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor:	**Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia:	**prezenční**
Téma práce:	**Těžké kovy ve víně**

Zásady pro vypracování:

Složení vín může být ovlivněno typem půdy, na které je vinná réva vysazena, ale také použitou chemickou ochranou rostlin. Cílem studenta bude stanovit obsah těžkých kovů ve vínech pomocí ICP-MS.

1. Prostudujte dostupnou literaturu a informační zdroje vztahující se k zadanému tématu.
2. Proveďte optimalizaci přípravy vzorků vín.
3. Koncentrace kovů stanovte pomocí ICP- MS.
4. Naměřená a vypočtená data zpracujte a dosažené výsledky kriticky zhodnoťte.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

Vědecké zdroje zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SciFinder Scholar, Medline aj.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Lenka Šenkárová, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **2. února 2018**

Termín odevzdání diplomové práce: **17. května 2018**

Ve Zlíně dne 2. února 2018

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan

L.S.

UNIVERZITA TOMÁŠE BATI VE ZLÍNĚ
Fakulta technologická

prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Maráková Jitka Obor: Inženýrství ochrany životního prostředí

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby [1)];
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 [2)];
- beru na vědomí, že podle § 60 [3)] odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 [3)] odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 14.5.2018 Marakova

.....

[1)] *zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:*

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

[2)] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

[3)] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá stanovením obsahu 20 kovových prvků ve 3 odrůdách vína, přičemž jedno z nich je produktem ekologického vinohradnictví, jedná se o bio víno Malverina. Obsah kovů je sledován v závislosti na použitých pesticidech. U dvou odrůd, Ryzlinku Rýnského a Rulandského bílého, je tedy znám druh a složení použitých pesticidů.

Cílem práce je posouzení vlivu užití pesticidů při pěstování révy vinné na koncentraci kovů ve víně a případné nalezení dalších možných vlivů, které mohou ovlivnit přítomnost kovů ve víně. V neposlední řadě porovnání obsahu kovů mezi jednotlivými ročníky vína.

Vzorky byly nejprve podrobeny mikrovlnnému rozkladu a následná analýza byla provedena metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Z výsledků je patrné, že žádná koncentrace stanovovaných kovů nepřekročila limit určený legislativou. Lze podotknout, že na koncentraci kovů v těchto vínech má vliv zejména geologické podloží, ale do jisté míry také použití ochranných prostředků a hnojiv.

Klíčová slova: víno, pesticidy, kovy, těžké kovy, ICP-MS, mikrovlnný rozklad

ABSTRACT

This thesis deals with the determination of the content of 20 metal elements in 3 varietes of wine. The eco wine Malverina i sone of them. Depending on used pesticide sis monitored the content of metals. In two varietes (Riesling and Pinot Blanc) its known which tipes of pesticides and their composition have been used.

Evaluate the infuence of pesticides on the concentration of metals in the wine and to find other possible influences, which can affect the presence of metals in the wine is the aim of this thesis. Last but not least, to observe the possible different metal content between different vintage.

The samples were subjected to microwave decomposition at first and subsequent analysis was performed by inductively weighted plasma mass spektrometry. The concentration of the specified metals did not exceed the legal limits according to results. The concentration of metals in these varieties of wine is mainly influenced by the geological subsoil, but also it can be influences by the use of pesticides and fertilizers, it can be stated. The concentration of specified metals over the years hase been no significant changed.

Keywords: wine, pesticides, metals, heavy metals, ICP – MS, microwave decomposition

Chtěla bych poděkovat své vedoucí diplomové práce Ing. Lence Šenkárové, Ph. D.
za odborné vedení, za pomoc a rady při zpracování této práce.

Dále bych chtěla poděkovat vinařství Rochůz za poskytnutí vzorků vín k praktické části diplomové práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD **11**

I TEORETICKÁ ČÁST **12**

1 RÉVA VINNÁ **13**

1.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ HROZNU 13

1.1.1 Cukry 14
1.1.2 Organické kyseliny 14
1.1.3 Fenolické látky 15
1.1.4 Alkoholy 17
1.1.5 Dusíkaté látky 17
1.1.6 Minerální látky 18

1.2 ŠKODLIVÍ ČINITELÉ A OCHRANA PROTI NIM 18

1.2.1 Virové choroby 18
1.2.2 Bakteriální choroby 19
1.2.3 Houbové choroby 19
1.2.4 Škůdci 21

1.3 TĚŽKÉ KOVY VE VÍNĚ 22

1.3.1 Těžké kovy v půdě 23
1.3.2 Příjem a transport rizikových prvků rostlinou 25
1.3.3 Autenticita vína 26

2 ICP-MS **28**

2.1 PRINCIP A INSTRUMENTACE 28

2.2 INTERFERENCE 30

2.2.1 Spektrální interference 30
2.2.1.1 Polyatomické nebo molekulární spektrální interference 30
2.2.1.2 Spektrální překryv související s oxidy, hydroxidy a hydridy 32
2.2.1.3 Interference dvojnásobně nabitých iontů 32
2.2.1.4 Izobarický překryv 33
2.2.2 Nespektrální interference 34

2.3 METODY ÚPRAVY VZORKŮ 34

2.4 VYUŽITÍ ICP-MS 36

2.4.1 Environmentální aplikace 36
2.4.2 Potravinářské aplikace 37
2.4.3 Studie zabývající se analýzou vín pomocí ICP – MS 38

II PRAKTICKÁ ČÁST **39**

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST **40**

3.1 POUŽITÉ MATERIÁLY A CHEMIKÁLIE 40

3.2 POUŽITÉ POMŮCKY A PŘÍSTROJE 40

3.3 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ 40

3.3.1 Složení pesticidů použitých pro ochranu rostlin 42

3.4 POUŽITÉ POSTUPY A METODY 43
3.4.1 Úprava vzorků 43
3.4.2 Příprava zásobního roztoku kovových prvků 44
3.4.3 Příprava kalibračních roztoků 44
3.4.4 Příprava ladícího roztoku 44
3.4.5 Hmotnostní spektrometr s ICP – Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS 45
4 VÝSLEDKY A DISKUZE 47
ZÁVĚR 61
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 63
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK 67
SEZNAM OBRÁZKŮ 68
SEZNAM TABULEK 69

ÚVOD

Kvalita hroznů je spjata s mnoha faktory, jako jsou stanoviště, půda, podnebí, ročník, výnos, ošetřování vinice či zralost plodů. Pochopení a úcta k přírodním zákonitostem, které ovlivňují révu vinnou ve vinicích, vede k produkci kvalitních hroznů a následně i vína.

Mineralitu a prvkové složení vína ovlivňuje zejména geologické podloží vinice. Z důvodu negativního vlivu na zdraví člověka je nutno přítomnost zejména těžkých kovů ve víně hlídat. Ta může být způsobena jak použitím pesticidů či hnojiv, tak i obecným environmentálním znečištěním v půdě, vodě či atmosféře. Další možná kontaminace těžkými kovy může nastat při nepovoleném enologickém postupu výroby vína a také při manipulaci či skladování vína.

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, do jaké míry má aplikace pesticidů vliv na přítomnost kovů ve víně. Pro analýzu byly vybrány některé kovy alkalických zemin, přechodné kovy, nepřechodné kovy a některé polokovy. Zjištění koncentrace kovů se provedlo pomocí vhodné instrumentální analýzy. V tomto případě se jako nejvhodnější jevila hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, u které je možné detekovat velmi malé, stopové koncentrace prvků, včetně jejich izotopů. Úprava vzorků před samotnou analýzou byla u této metody velmi důležitá z důvodu snížení možné interference. V této diplomové práci byla zvolena metoda mikrovlnného rozkladu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 RÉVA VINNÁ

Počátek pěstování révy vinné lze datovat zhruba před 7,5 tisíc let. Nejstarší důkazy výroby vína však pocházejí již z počátku až poloviny pátého tisíciletí př. Kr., z okolí Zagros v Iránu, konkrétně z archeologického naleziště Hajji Firuz Tepe. Důkazy z neolitické keramiky z Gruzie dále naznačují, že tehdejší výroba vína byla rozptýlena v celém regionu. **[1]**

Réva vinná je v celosvětovém měřítku ekonomicky nejvýznamnější plodinou. Největší plochu světových vinic z pohledu kontinentů zaujímá Evropa, na které se nachází zhruba 57,9 % veškerých vinic. Česká republika patří mezi tzv. „cool climate viticulture“, tedy vinohradnictví chladného podnebí. Toto podnebí se vyznačuje nižšími průměrnými teplotami ve vegetačním období a výskytem period s mrazovými teplotami. Jeho výhodou jsou zejména příznivé podmínky pro zrání hroznů, které nastávají díky střídání vyšších denních teplot s nízkými nočními. Tyto změny teplot mají pozitivní dopad na vývoj aromatických a fenolických látek. Umístění vinic v České republice lze lokalizovat do dvou základních oblastí, Čech a Moravy. V Čechách se nachází dvě podoblasti – Mělnická a Litoměřická. Na Moravě se vyskytuje většinový podíl tuzemských vinic, člení se také na více podoblastí – Znojemskou, Mikulovskou, Velkopavlovickou a Slováckou. **[2]** V roce 2016 tvořila obhospodařovaná plocha vinic v ČR téměř 17,7 tisíc ha. Nejčastěji pěstované odrůdy v ČR jsou Veltlínské zelené, Müller Thurgau, Ryzlink rýnský a Ryzlink vlašský z bílých odrůd, Svatovavřinecké, Frankovka, Zweigeltrebe a Rulandské modré z modrých odrůd. **[3]**

1.1 Chemické složení hroznu

Organické a anorganické látky v hroznech lze obecně rozdělit na primární a sekundární metabolity. Primárními metabolity jsou cukry, organické kyseliny a aminokyseliny. Mezi sekundární metabolity patří aromatické a fenolické látky.

Zralost hroznů je dána mnoha fyziologickými a biochemickými procesy, které ve vinné révě probíhají. Je proto nutné znát význam jednotlivých látek, obsažených v bobuli. S chemickým složením hroznu také souvisí kvalita vína, jelikož ta se tvoří už ve vinici. **[4]**

Po odkvětu révy vinné začíná vývoj bobule, který lze jednoduše rozdělit na 3 hlavní fáze:

Fáze č. 1 je charakteristická vytvářením bobulí a základů semen. Tato fáze je rozhodující zejména pro výnos a kvalitu hroznů, jelikož v těchto dnech dochází k intenzivnímu dělení a

zvětšování bobulí. Významnými faktory jsou tedy zejména teplota a srážky. Z chemického hlediska dominuje tvorba organických kyselin a prekurzorů fenolických a aromatických látek. Zároveň dochází k akumulaci minerálních látek, aminokyselin a některých aromatických látek, jako jsou methoxypyraziny a karotenoidy.

Ve fázi č. 2 začíná vybarvování a zaměkání bobule. V této fázi dochází k hromadění cukrů, fenolických a aromatických látek uvnitř bobule, oproti tomu se snižuje obsah organických kyselin. Jedná se o nejkratší fázi, trvá přibližně 8-15 dnů.

V konečné 3. fázi vývoje bobule nastává zrání hroznů, které je završeno sklizní. I v této fázi jsou významnými faktory klimatičtí činitelé a metabolická aktivita probíhající v bobulích. V bobuli dochází k hromadění cukru, antokyanových barviv a některých skupin aromatických, minerálních a dusíkatých látek. Množství organických kyselin a některých skupin aromatických látek (methoxypyraziny) a taninů se naopak snižuje. **[2, 4]**

1.1.1 Cukry

Mezi nejdůležitější cukry, které jsou obsaženy v bobulích, patří D-glukóza a D-fruktóza. V malé míře se zde nacházejí také rafinóza, maltóza, galaktóza, arabinóza a xylóza. Jejich obsah v hroznech však nemá prakticky význam, jelikož nejsou metabolizovány kvasinkami a neovlivňují senzorické vlastnosti vína. Cukry v révě vinné vznikají především v listech, v menším množství také v zelených bobulích. Základním předpokladem pro kvalitní cukernatost hroznů je velká a zdravá listová plocha. Ukládání cukrů v bobulích, které nastává po zaměkání bobulí, je závislé na průběhu fotosyntézy. Optimální teplota pro tvorbu cukrů je 18-20 °C, značně klesá při teplotách nižších než 12 °C. Zvyšování cukernatosti může být zapříčiněno také důsledkem odpařování vody z bobulí. **[2, 4]**

Sacharóza plní v révovém keři transportní úlohu, v bobulích enzymaticky štěpí glukózu a fruktózu. V době sklizně z pravidla poměr glukózy a fruktózy činí 1:1. Obsah cukrů významně ovlivňuje potenciální obsah alkoholu ve víně. **[5]**

1.1.2 Organické kyseliny

Kyseliny obsažené ve víně lze obecně rozdělit na celkové, titrovatelné a těkavé. Pokud hovoříme o zastoupení jednotlivých organických kyselin, jsou pro vinařskou praxi nejvyužívanější údaje o titrovatelných kyselinách. Mezi titrovatelné kyseliny řadíme ty, které jsou

stanovitelné neutralizací roztokem hydroxidu sodného o známé koncentraci. Patří mezi ně jak anorganické kyseliny, např. kyselina fosforečná, tak především hlavní organické kyseliny, a to vinná a jablečná. Titrovatelné kyseliny se v České republice vyjadřují v jednotkách $g.1^{-1}$ vinné kyseliny a optimální hodnota bývá 6,5 – 8,5 $g.1^{-1}$.

Rozdíl mezi titrovatelnými a celkovými kyselinami je ten, že obsah celkových kyselin představuje množství všech aniontů organických kyselin v moštu, včetně jejich solí a bývá asi o třetinu vyšší než obsah titrovatelných kyselin.

Mezi těkavé kyseliny se řadí kyselina octová, kyselina mravenčí, máselná a propionová. V nízkých koncentracích patří mezi důležité látky, které ovlivňují chuť a aroma vína. **[4]**

K nejvýznamnějším organickým kyselinám obsažených v bobulích révy vinné lze zařadit kyselinu vinnou a kyselinu jablečnou, které zastávají 70–90 % všech organických kyselin v bobulích.

Kyselina vinná je zodpovědná za kyselou chuť hroznu a vína. Přítomnost kyseliny jablečné v hroznech a vínu má oproti ní za následek chuť, kterou lze charakterizovat hrubými, nezralými tóny.

Obsah kyseliny jablečné se od zaměkání bobulí snižuje vlivem slunečního světla, které dopadá na hrozny a tím se zvyšuje teplota bobulí. Kyselina vinná je oproti jablečné značně stabilnější a její obsah v hroznech se mění velmi málo. Koncentrace kyseliny vinné bývá ovlivněna především při intenzivních srážkách v době zrání hroznů, kdy se obsah bobulí naředí vodou. Dalším důvodem kolísání koncentrace kyseliny vinné může být intenzivní příjem iontů draslíku kořenovým systémem, v důsledku čehož v bobulích vznikají z kyseliny vinné draselné soli. **[4, 5]**

1.1.3 Fenolické látky

Fenolické látky hrají ve složení vín podstatnou úlohu. Zodpovídají za barvu, hořký a třískovitý chuťový projev a antioxidační vlastnosti. Fenolické látky se v révě vinné nacházejí především v dužnině, v třapině, ve slupce bobulí a v semenech. Složení fenolických látek se značně liší u bílých a červených vín a také u mladších a starších ročníků. Příklad obsahu fenolických látek je uveden v tabulce níže.

Tab. 1 – Obsah jednotlivých skupin fenolických látek ve vínech **[4]**

Skupina fenolických látek	Bílá vína		Červená vína	
	Mladá	Starší	Mladá	Starší
Ne-flavonoidy				
Hydroxyskořicovékysliny	154	130	165	60
Hydroxybenzoové kyseliny	10	15	60	60
Hydrolyzovatelné taniny	0	100	0	250
Stilbeny (Resvetratrol)	0,5	0,5	7	7
Celkový obsah $mg.l^{-1}$	164,5	245,5	232	37
Flavonoidy				
Monomerní flavanoly	25	15	200	100
Proanthokyanidiny a kondenzované taniny	20	25	750	1000
Flavonoly	-	-	100	100
Anthokyany			400	9
Ostatní			50	75
Celkový obsah $mg.l^{-1}$	45	40	1500	1365
Fenoly celkově	209,5	285,5	1732	1742

K významné skupině fenolických látek se řadí antokyany. Hlavním antokyanovým barvivem v bobulích je malvidin, v menší míře dephinidin, kyanidin, petunidin a peonidin. Tyto látky se vyskytují ve formě glukosidů, ale i jako estery s kyselinou octovou, kumarovou a kávovou. Anthokyany jsou odpovědné za barevnost růžových a červených vín.

Další významnou skupinou fenolických látek jsou taniny neboli třísloviny. Mezi ně lze zařadit katechin, epikatechin, jejich dimery, trimery a další oligomery. Taniny, které přímo ovlivňují chuťové vlastnosti vína, se nacházejí v bobulích a semenech. **[4]**

Hydroxyskořicové kyseliny, tedy deriváty skořicové kyseliny, se nachází v dužnině bobulí révy vinné. Jedná se o hlavní fenolové sloučeniny v moštu a v bílém víně. Zástupci této skupiny jsou kyselina kávová, p-kumarová a kyselina nerulová. Tyto látky snadno podléhají oxidaci a jsou zodpovědné za hnědnutí bílých moštů a vín. **[5]**

1.1.4 Alkoholy

Nejvýznamnější alkohol ve víně je etanol, který lze považovat za druhou nejbohatší složku vína, hned po vodě. Stejně tak jako voda, slouží jako dobře mísitelné rozpouštědlo a také jako extrakční činidlo pro méně polární a nepolární chemické sloučeniny. Přirozeně se tvoří výhradně alkoholovou fermentací cukrů, do některých druhů vín však může být přidáván úmyslně. Množství etanolu ve víně závisí na množství zkvasitelných cukrů v moštu, druhu a kmeni použitých kvasinek, teplotě při fermentaci a obsahu živin v moštu.

Dalším alkoholem je metanol. Jeho tvorba je dána katalytickým působením enzymu methylesterasy z pektinových látek. Množství metanolu v červených vínech je asi dvojnásobné oproti vínům bílým.

Za zmínku stojí také glycerol. Tento trojsytný alkohol je zodpovědný za plnost a jemnou chuť vína. V počátečním stádiu kvašení je množství glycerolu největší, postupně jeho obsah klesá. Na konci kvašení již nedochází k jeho vzniku. **[5]**

1.1.5 Dusíkaté látky

Mezi hlavní dusíkaté látky obsažené v hroznech lze zařadit aminokyseliny, bílkoviny a sloučeniny obsahující dusík v amonné formě. Dusíkaté látky mají přímý vliv na kvalitu vína, jelikož ovlivňují činnost kvasinek a tvorbu aromatických látek ve víně. Množství dusíkatých látek v hroznech je závislé na mnoha faktorech, jako je odrůda, podnož či ročník. Dále je ovlivněno například napadením houbovými chorobami, hnojením a ošetřováním půdy ve vinici.

Velmi významný pro kvalitu hroznů je zejména asimilovaný dusík, který se skládá z volných aminokyselin a amonných iontů. Celkový obsah aminokyselin v moštu se začíná zvyšovat od zaměkání hroznů. **[2]** Nízká koncentrace asimilovaného dusíku může vést k zastavení kvašení. **[5]**

Významnou součást asimilovaného dusíku představují amonné ionty, které bývají upřednostňovány kvasinkami jako zdroj výživy. Hnojení dusíkem a přístupnost dusíku z organické hmoty v půdě, zvyšuje podíl amonných iontů v bobulích.

Další skupinou, která je důležitá zejména jako růstový faktor pro metabolismus kvasinek, jsou vitamíny. Za zmínku stojí zejména biotin, thiamin a kyselina pantotenová, které významně ovlivňují alkoholové kvašení. **[2]**

1.1.6 Minerální látky

Obsah minerálních látek v bobulích je značně závislý na typu půdy a jejím geologickém původu a na výživě révy vinné. Minerální látky jsou zodpovědné především za tvorbu chuťových vlastností a extraktu vína. Průměrný obsah všech minerálních látek v moštu se pohybuje mezi 3 až 5 $g.l^{-1}$ a ve víně od 1,5 do 4 $g.l^{-1}$.Větší podíl minerálních látek obsahuje víno červené, důvodem je vyluhování minerálních látek z pevných součástí hroznů při nakvašování rmutu. U bílých vín probíhá pouze kvašení vinného moštu. **[11]** Z kationtů stojí za zmínku především draslík, který je obsažený v bobulích. V průběhu dozrávání se jeho koncentrace zvyšuje ve vztahu k akumulaci cukrů. Draslík ovlivňuje obsah kyselin a hodnotu pH ve víně. Mezi další minerální látky obsažené ve víně patří vápník, který pozitivně ovlivňuje chuťové a aromatické vlastnosti vína. Oproti tomu hořčík ve vysokých koncentracích způsobuje nahořklou chuť. **[4]** Mezi významné zástupce aniontů lze zařadit sírany, fosforečnany, anionty chloru, kyseliny borité a křemičité. **[11]**

1.2 Škodliví činitelé a ochrana proti nim

Réva vinná je ohrožena značným množstvím chorob a škůdců a lze ji jen těžko pěstovat bez intenzivní ochrany proti škodlivým činitelům. Moderní vinohradnictví je založeno na ekologickém pěstování révy vinné, založeném na šetrném přístupu k okolnímu prostředí. To zahrnuje především minimalizaci chemického vstupu v boji proti chorobám a škůdců. **[2, 6]**

1.2.1 Virové choroby

Virové choroby u révy vinné jsou přenosné množitelským materiálem, přenáší se také roubováním. Vektory virů mohou být háďátka a hmyz. Proti virovým chorobám neexistuje přímá ochrana, důležité jsou proto preventivní opatření. Spočívají především v přípravě půdy před výsadbou, která zahrnuje kvalitní odstranění půdní únavy a všech rostlinných zbytků po staré výsadbě, minimalizaci výskytu háďátek a použití kvalitního výsadbového materiálu. Onemocnění virovými chorobami se mohou projevovat například oslabením růstu keřů, snížením rentability a životnosti výsadby. Mezi nejvýznamnější virové choroby ve vinicích patří virová svinutka révy či virová vějířovitost révy. **[2]**

1.2.2 Bakteriální choroby

Mezi bakterie, které u révy vinné vyvolávají onemocnění, se řadí druh *Rhizobium vitis*, která je zodpovědná za bakteriální nádorovitost révy. Tato nemoc je v České republice nejvýznamnější bakteriální chorobou. Původce onemocnění, *Rhizobium vitis*, je půdní mikroorganismus, který se vyskytuje pouze v půdě ve vinicích, kde přežívá na nerozložených zbytcích půdy. K infekci kořenů dochází přes poranění rostliny, v místě kterých vznikají nádory. Nádory jsou nejprve zelené a dužnaté, postupně tvrdnou a dřevnatí. Důsledkem může být snížení výnosu a kvality hroznů. Choroba je přenosná množitelským materiálem révy. Proti této chorobě neexistuje přímá chemická ochrana. Důležitá je opět prevence, která spočívá v ošetření množitelského materiálu a zajištění jeho fytosanitární kvality, dále pak minimalizace poškození keřů révy mechanizací. **[2]**

1.2.3 Houbové choroby

Mezi houbové choroby patří padlí révové, proti němuž se využívá sirných prostředků. Po napadení je rozpoznatelné kadeření mladých listů a později se vyskytuje šedý povlak, který se šíří na třapinu květenství a později na bobule. Původcem choroby je houba *Erysiphe nestor Schwein*. Podhoubí přezimuje v pupenech révy vinné, proto je třeba po výskytu tohoto škůdce další rok aplikace včasné ochrany proti němu, před kvetením révy se ošetření postřiky opakuje. **[2, 6]**

Výbornou ochranou proti plísni révové jsou prostředky, které ve svém složení obsahují měď. Plíseň se šíří výhradně v teple a vlhku a napadá všechny zelené orgány révy vinné. K šíření infekce tedy dochází zejména po dešti, z půdy postupně dochází k jejímu rozšíření po celé révě. Napadené části postupně hnědnou a odumírají. Obr. 1 vyobrazuje poškození hroznu plísní révovou. U menších vinic je možno po prvním výskytu infekce zasáhnout preventivním opatřením před květem vhodným kontaktním prostředkem. **[6]**

Obr. 1 – Plíseň révová – poškození hroznu **[15]**

Ve vinici je možné narazit také na onemocnění, jako je černá skvrnitost nebo červená spála. Černá skvrnitost způsobuje hluboké praskliny kůry, červená spála vytváří na listech červenohnědé nekrózy. Tato onemocnění nejsou příliš častá, avšak pokud se v předchozím roce ve vinici vyskytla, je třeba ochranu proti nim podchytit včas.

Před samotným vývojem bobule, tedy po odkvětu, nastává nejdůležitější ošetření proti houbovým chorobám. Květní laty se přeměňují na hrozny, pletiva vznikajících bobulí jsou jemná a fungují jako listy. Jsou tedy lehce napadnutelná plísní révovou či padlím révovým. Ošetření má dvě fáze, první postřik se aplikuje hned po odkvetení a druhý za 12 dní poté. Jako spolehlivé a účinné ochranné prostředky se uvádějí přípravky na bázi strobilurinů, které působí na nejběžněji se vyskytující choroby révy vinné.

V letním období, kdy převažuje sucho, není ochrana příliš nutná. Při déletrvajícím vlhkém období nebo po bouřkových srážkách je však vždy nutno zasáhnout. Proti plísni révové jsou osvědčené prostředky na bázi mědi. Proti padlí révovému se již nevyužívají sirné prostředky z důvodu možnosti vzniku sirovodíku ve vínech. Jako alternativa se aplikují organické fungicidy. **[6]**

1.2.4 Škůdci

Z hmyzích škůdců stojí za zmínku mšička révokaz, která byla do Evropy zavlečena z Ameriky v druhé polovině 19. století. Tento škůdce se řadí mezi nejnebezpečnější, saje na kořenech révy mízu a tím způsobuje uhnívání kořenů. Existuje také méně nebezpečná, listová forma tohoto onemocnění, která je vyobrazena na obr. 2. V minulosti se proti tomuto škůdci bojovalo štěpováním na odolné americké podnože. Tento škůdce se však vyskytuje na evropské révě vinné velmi zřídka. **[2, 6]**

Obr. 2 – Mšička révokaz – listová forma **[16]**

Běžněji vyskytující se hálčivec révový je drobný roztoč, který saje mladé lístky při rašení. Způsobuje kadeřavost révy vinné a zakrnělé listy, což je možno vidět na obr. 3. Podobně jako hálčivec, vlnovník révový také napadá listy révy a způsobuje na listech puchýřovité vzedmutí listové čepele. Ošetření před těmito roztoči se provádí každoročně těsně před rašením révy vinné pomocí postřiků sirnatými preparáty. V ekologicky ošetřovaných vinicích se využívá introdukce dravého roztoče (*Typhlodromus pyri*) do vinice, který tyto škůdce požírá. **[2, 6]**

Obr. 3 – Kadeřavost způsobena hálčivcem révovým **[17]**

Obaleč mramorovaný a obaleč jednopásí jsou motýlci, které je možno spatřit ve vinicích za soumraku. Housenky první generace vyžírají kvítky v květenství révy vinné a obalují je pavučinou. Housenky druhé generace jsou nebezpečnější, ty vyžírají bobule hroznů a následně je réva velmi lehce napadnutelná plísní šedou. Ekologické vinice jako ochranu proti těmto motýlkům využívají feromonových lapáků či feromonového mraku. Dochází tak ke zmatení samečků a nedochází tedy k oplodnění samiček. Jako další typ ochrany se používají biologické přípravky na bázi bakterie *Bacillus thuringiensis*. Spory a proteiny této bakterie fungují jako specifický požerový aparát proti housenkám motýlů. **[2, 6]**

Nelze opomenout ani další škůdce, proti kterým je nutno se bránit odlišnými způsoby. V zimním období okusují keře révy vinné například zajíci či králíci. Největší škody v době zralosti hroznů páchají špačci. **[6]**

1.3 Těžké kovy ve víně

Některé těžké kovy jsou pro lidské tělo ve velmi malých množstvích nezbytné. Na druhou stranu, jiné těžké kovy, vyskytující se ve víně ve větší míře mohou být potenciálně toxické. Obecně lze tyto kovy rozdělit do 4 tříd: kovy třídy A, které jsou životně důležité v relativně vysokých množstvích (např. železo), kovy třídy B, které nemají známou biologickou funkci, ale při nízkých koncentracích nejsou zvláště toxické (např. stroncium), kovy třídy C,

které jsou nezbytné ve velmi nízkých koncentracích (měď, molybden, nikl, mangan a zinek), ale ve vyšších koncentracích mohou být toxické. Do třídy D patří kovy, u kterých není jasná jejich biologická funkce (kadmium, rtuť, olovo). Z výše uvedených důvodů je důležité koncentrace těžkých kovů ve víně sledovat. **[14]**

Přítomnost těžkých kovů ve víně může být způsobeno mnoha faktory. Zdrojem mohou být používané pesticidy či hnojiva, dále environmentálním znečištění v půdě, vodě či atmosféře například z hornictví či spalování uhlí a ropy. **[14]** Vliv má také složení půdy, klimatické podmínky či odrůda hroznů. Další možná kontaminace těžkými kovy může nastat při nepovoleném enologickém postupu výroby vína a také při manipulaci či skladování vína. **[7, 8]** Zvýšená koncentrace elementární síry ve víně může být zapříčiněna použitím fungicidů. Hodnoty mědi a železa ve víně mohou být ovlivněny například kontaktem se zkorodovaným vinařským zařízením. Při čiření vína může mít použití bentonitu za následek vysoký obsah hliníku. V minulosti byl zjišťován zvýšený obsah olova ve vinné révě, která byla pěstována v blízkosti silnic a dálnic, nebo ve víně skladovaném v olověných nádobách. **[1]**

Aplikace pesticidů, která není vykonána správně, může vést ke kontaminaci okolních oblastí. Zároveň jsou farmáři vystavovaní expozici vdechováním a kůží. Tímto problémem se zabývala studie vědců z univerzit a laboratoří v Brazílii, kdy byla ve vzorcích krve od 54 farmářů, kteří pracovali ve vinicích s pesticidy, analyzována koncentrace těžkých kovů. Vzorky krve byly shromážděny ve třech obdobích s rozdílnými vzorci používání pesticidů a to listopad 2011, únor 2012 a srpen 2012. Byla sledována úroveň olova, arsenu, niklu, zinku, manganu a mědi. Vzorky byly analyzovány pomocí metody DRC-ICP-MS. Pro porovnání sloužilo 108 zdravých neexponovaných jedinců. Ve vzorcích krve farmářů byly zjištěny vyšší hodnoty koncentrace kovů. Jsou tedy náchylnější na expozici těžkých kovů v důsledku používání pesticidů než kontrolní jedinci. Expozice těžkých kovů korelovala pozitivně s množstvím pesticidů použitých v určitém čase roku. Při posledním odběru v létě tedy byla koncentrace těžkých kovů nižší než ve dvou předchozích odběrech. **[9]**

1.3.1 Těžké kovy v půdě

Těžké kovy se v půdě vyskytují jak přirozeně, tak vlivem antropogenního znečištění. Kontaminace půdy rizikovými prvky z antropogenní činnosti může mít za následek negativní účinky na rostliny a půdní úrodnost, které je velmi těžké eliminovat. Takové prvky mohou

v půdě přetrvávat i tisíce let. Povolené limity obsahů rizikových prvků pro půdy jsou uvedeny v našich legislativních předpisech (vyhláška č. 13/1994 Sb. a vyhláška č. 382/2001 Sb.) a definují maximálně přípustné úrovně znečištění našich půd. Půdy, které byly dlouhodobě vystaveny vysokému zatížení, často tyto limity přesahují. Takové koncentrace rizikových prvků mohou mít negativní účinky na biologické a fyzikálně-chemické procesy v půdách a mohou se dostávat do potravinového řetězce a negativně působit na zdraví člověka. **[18]**

Mezi oblasti, kde je znám zvýšený obsah rizikových prvků v půdě, se řadí například Kutná Hora. Kontaminace půdy As, Cd, Pb a Zn je zde způsobena zvětráváním rudnin či hutních strusek starých hald. Kontaminaci způsobuje také voda prosakující starými haldami se sulfidickými rudninami. **[18]**

Severní Čechy obecně patří k území, kde se vyskytuje kontaminace půd. Důvodem je vysoká koncentrace těžebního, hutního a metalurgického průmyslu. Problém spočívá hlavně ve vysoké atmosférické depozici převážně lithogenních prvků. Mezi nejvýrazněji postižené oblast se řadí lokalita v okolí Žatce, Chomutova a Sokolova, kde kontaminované půdy obsahuje zejména Cr, Cd či Pb. Mezi nejvíce poškozené oblasti ČR patří také Příbramsko, a to z důvodu atmosférické depozice rizikových prvků při těžbě a zpracování olova. **[19]** Kontaminovaná půda se také vyskytuje v místech starých ekologických škod, např. v okolí Příbramských kovohutí je půda kontaminována převážně olovem, kadmiem a arsenem. **[18]**

Příjem kovů rostlinou není lineárně závislý na jejich celkovém obsahu v půdě. Mezi hlavní chemické a mineralogické charakteristiky půdy, které ovlivňují mobilitu prvků a jejich transport, patří zejména redoxní potenciál a hodnota pH. Vliv těchto charakteristik na přístupnost prvků rostlinám je uveden v tab. 2. Mezi další charakteristiky patří taktéž kationtová výměnná kapacita, kvalita a kvantita organické hmoty, oxidů a jílových minerálu, stupeň provzdušnění půdy či mikrobiální aktivita. **[20, 21, 22, 23]** Mobilita prvků obecně klesá v pořadí Cd > Ni > Zn > Cu > Pb. **[24]**

Tab. 2 – Vliv půdních podmínek na přístupnost prvků **[20]**

Půdní podmínky	pH	Přístupnost	
		Snadná	Střední
Oxidační	< 3	Cd, Zn, Co, Cu, Ni	Mn, Hg, V
Oxidační	> 5	Cd, Zn	Mo, Se, Sr, Te, V
Oxidační (+ Fe)	> 5	-	Cd, Zn
Redukční	> 5	Se, Mo, As	Cd, Zn, Cu, Mn, Pb, Sr
Redukční (+ H_2S)	> 5	-	Mn, Sr

Při stejném celkovém obsahu většiny rizikových prvků je koncentrace jejich přístupných podílů nižší v půdním roztoku alkalických a neutrálních půd než u půd kyselých, jelikož v těchto půdách jsou tyto prvky pevněji vázány. **[18]**

Vliv redoxního potenciálu je významný především prvků, které se v půdě mohou vyskytovat ve více než jednom oxidačním stupni (Fe, Mn, As, Cu, Hg a Pb). **[18]**

1.3.2 Příjem a transport rizikových prvků rostlinou

Rostlina představuje prostředníka mezi kontaminovanou půdou a možným ohrožením zdraví člověka. Nejsnáze rostlina přijímá prvky, které nejsou příliš vázány na půdní složky, a to zejména kořenovým systémem, v menší míře například listy. Příjem prvků a jejich transformace v rostlině je ovlivněn enzymatickými procesy, koncentrací a formou výskytu, iontovou kompeticí a interakcí. Příjem prvků kořeny je možný až poté, co jsou prvky uvoněny do půdního roztoku jako volné disociované ionty nebo rozpustné anorganické a organické komplexy. **[25]** Sama rostlina nepřímo ovlivňuje možnost příjmu rizikových prvků kořeny. Rostliny do půdy uvolňují odumřelé buňky včetně lyzátů, polysacharidů či polygalakturonovou kyselinu, dále také látky s nízkou molekulovou hmotností, tedy cukry, organické kyseliny, aminokyseliny a fenolické látky. Tyto látky ovlivňují v půdě pH, aktivitu mikroorganismů a fyzikální vlastnosti a tím i rozpustnost prvků v půdě. **[26]** Příjem rizikových prvků prostřednictvím listů je možný zejména při kontaminaci rostlin imisemi, např. u olova, následně pak prvek může být transportován do dalších pletiv včetně kořene. **[20]**

Podle mnoha studií lze některé prvky obecně rozdělit na snadno akropetálně pohyblivé, mezi něž patří Zn, Cd, Mo, dále středně pohyblivé Ni, Co, Cu a k nejméně pohyblivým prvkům se řadí Cr, Pb a Hg. **[18]**

Transport prvků z kořene do dalších částí rostlin probíhá především xylémem. Ionty musí nejprve překonat bariéru zvanou endodermis, konkrétně Caspariho proužky, které se nacházejí v endodermálních buňkách. Kovové ionty mohou tedy do xylému vstoupit pouze symplasticky, přes cytoplazmatickou membránu, přičemž se spotřebovává energie. **[28]** Mobilita kovů v rostlinách je ovlivněna pH, oxidačně redukčním stavem, kompeticí iontů, hydrolýzou, chelatací, polymerací a tvorbou nerozpustných solí. **[20]** Významnou vlastností, která ovlivňuje pohyb kovových iontů xylémem, je vysoká kationtová výměnná kapacita buněčných stěn xylému. Jako příklad lze uvést ionty Ca^{2+} a Mg^{2+}, které jsou silně elektrostaticky vázány na místa výměny, a proto např. Pb^{2+}, Cu^{2+} a Cd^{2+} musí s těmito ionty, které jsou oproti nim v nadbytku, při kationové výměně soutěžit. **[18]**

1.3.3 Autenticita vína

Jak již bylo řečeno, těžké kovy se mohou dostávat do vína i přirozeně z půdy, na které vinná réva roste. Při znalosti prvkového složení půdy, které je pro danou lokalitu specifické, je možné vhodnou analýzou vína získat informace o původu vína, tzv. autenticitu a tím odhalit případné falšování původu vína. Nejlepší způsob autentizace vín je stanovení koncentrace stopových prvků, nejen těžkých kovů. Lze rozlišit jednotlivé odrůdy vín, ale také jejich geografický původ.

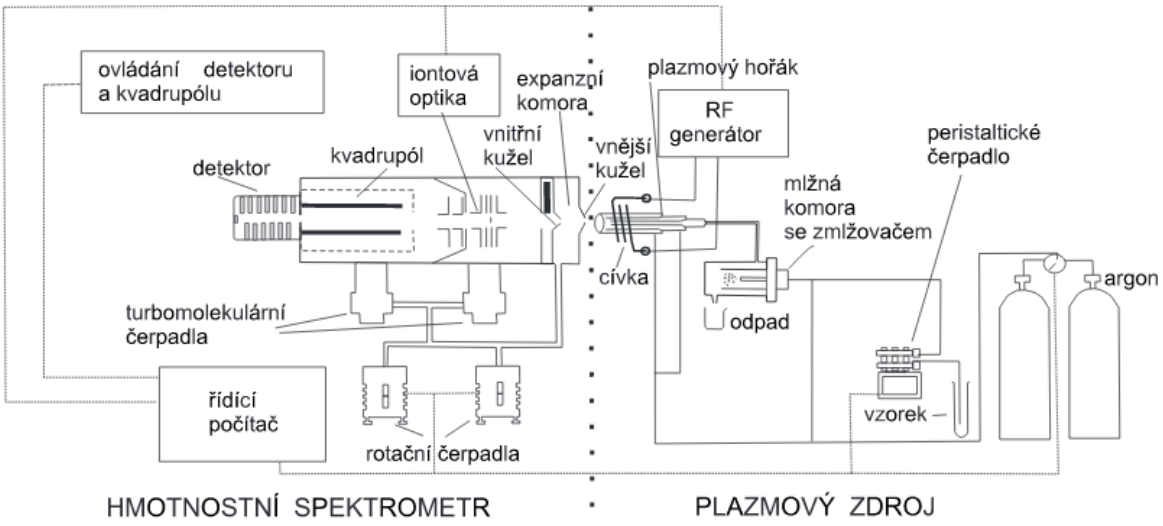
V roce 1979 byly provedeny první úspěšné pokusy, které využívaly vícečetnou analýzu ke klasifikaci vín podle jejich zeměpisného původu. V té době však byly měřeny pouze prvky, které byly ve víně bohatě zastoupeny, jako Rb, Mn, K, Li, Mg, Ca, Na, Fe a Sr. Později, s příchodem možnosti využití přístrojů s indukčně vázanou plazmou, se otevřela možnost měřit další stopové i ultra-stopové prvky.

Na obsahy prvků ve víně bylo provedeno již mnoho studií. Níže uvedené obecné příklady autentifikace vín jsou realizovány na základě mnohaletých pozorování. V potaz je však nutno brát využívání ochranných prostředků a umělých hnojiv. Vína z francouzských regionů lze rozdělit zejména stanovením Li, K, Ca, Cu a Ni. Francouzská a americká vína lze

také rozlišit z obsahu Ca a Ba a například vína z některých regionů Španělska pomocí analýzy Mn, Li, K a Fe. **[10, 13]**

2 ICP-MS

ICP-MS je víceprvková analytická metoda, která je založena na kombinaci indukčně vázané plazmy jako zdroje kladně nabitých částic a hmotnostní spektrometrie, která tyto částice detekuje. U takto zvoleného přístroje je nutno zajistit pohyb nabitých iontů z prostředí atmosférického tlaku do prostředí s vysokým vakuem. Konstrukce přístroje, který to umožňuje, je znázorněna na obr. 4. Základem je plazmový zdroj, expanzní komora, což je tzv. přechodná část a vlastní hmotnostní spektrometr. Ten je tvořen iontovou optikou, kvadrupólem a detektorem. Všechny součásti jsou zbavovány vzduchu pomocí čerpadel, aby se vznikající ionty z plazmy mohly pohybovat do analyzátoru. Důležité je také, aby částice vzduchu nerušily jednotlivá stanovení. **[29]**



Obr. 4 – Schéma hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem **[29]**

Jedná se o jednu z nejefektivnějších metod prvkové analýzy roztoků, ale využívá se i k analýze vzorků v pevném či plynném skupenství. Výhodou oproti klasickým spektrometrickým metodám (absorpční, emisní) je vysoká univerzálnost, citlivost a rychlost. S tím jsou však spojené vyšší provozní a investiční náklady. **[30]**

2.1 Princip a instrumentace

Plazmový zdroj je tvořen radiofrekvenčním generátorem a indukční cívkou, plazmovým hořákem, mlžnou komorou a zamlžovačem. Plazmový hořák tvoří tři křemenné trubice, kterými protéká různými rychlostmi argon. Podmínkou pro vznik plazmatu jsou fluktuace elektrického pole v prostředí indukční cívky. Indukční cívka ovlivňuje vlastnosti plazmatu

a jednotlivé typy spektrometrů se mohou lišit v jejím uspořádání. Plazma má obvykle teplotu 6000–10000 K a je výborným zdrojem iontů, je schopna ionizovat většinu prvků. Výkon plazmového zdroje se pohybuje kolem 1300 W.

Díky proudu argonu a zmlžovače vzniká v mlžné komoře z kapalného vzorku aerosol s maximálním podílem částic menších než 1 μm. Průchodem vzorku plazmatem je vzorek odpařen, jednotlivé molekuly jsou disociovány, atomizovány a ionizovány. Plynné vzorky mohou být vnášeny do plazmatu přímo v proudu argonu pomocí dávkovacího kohoutu. Další alternativa je absorpce plynných částic do kapaliny či pevných sorbentů. Po následné mineralizaci jsou zpracovány jako kapalné vzorky. Pevné látky jsou nejčastěji převáděny do roztoků přímo nebo po vytavení či mineralizaci. Ionizační energie (resp. ionizační potenciál) je definována jako minimální energie elektronů, potřebná pro ionizaci molekuly, případně atomu. Díky vlastnostem ICP-MS dochází přednostně k ionizaci do prvního stupně. Většina prvků má první ionizační potenciál menší než argon, a proto získá energii potřebnou k vytvoření kladně nabitých iontů.

Expanzní komora neboli interface plní spojovací funkci mezi plazmatem a spektrometrem. Tato část přístroje zajišťuje efektivní oddělení hlavního toku argonu od středního toku atomů a iontů vzorku. Na koncích komory jsou dva děliče tlaku, sampler a skimmer. Děliče jsou většinou vyrobeny z niklu nebo platiny, neboť je důležité, aby měli dobrou tepelnou vodivost a byly inertní vůči používaným rozpouštědlům. Tlakový gradient na obou stranách děliče tlaku vytváří paprsek ionizovaných částic, který vstupuje do vlastního spektrometru.

Díky pohlcovači fotonů, který je součástí iontové optiky, jsou separovány fotony a elektroneutrální částice. Iontová optika slouží k rozostření iontového svazku díky přesně tvarovanému elektrickému poli tak, aby se vyhnul pohlcovači fotonů a poté ho opět zaostřila a vhodně urychlila do kvadrupólu.

Kvadrupól je tvořen čtyřmi elektrodami kruhového průřezu, které oscilací svého elektromagnetického pole umožňují pohyb iontu k detektoru. Tím, že se mění amplituda napětí na tyčích, je umožněn pohyb iontu v závislosti na jeho náboji a hmotnosti. Ionty, které neprojdou, jsou zachyceny a vybity na tyčích, následně pak odstraněny vakuovými pumpami. Prošlé ionty dopadají na detektor a jejich signál je následně zesilován v elektronovém ná-

sobiči. Dopad každého iontu se dále mění na kaskádový tok elektronů, který je vyhodnocen jako výsledný signál a zpracován počítačem. **[29, 30]**

2.2 Interference

Interference lze definovat jako změnu signálu analytu, který je obsažen ve vzorku, zapříčiněnou rušícím prvkem. Obecně lze rozdělit interference u ICP – MS na spektrální a nespektrální. Každá z nich má potenciál být velmi problematická, ale moderní přístrojové vybavení a dobrý software v kombinaci s optimalizovanými analytickými metodologiemi dokáže minimalizovat jejich negativní dopad na stanovení stopových prvků ICP – MS. **[31, 32]**

2.2.1 Spektrální interference

2.2.1.1 Polyatomické nebo molekulární spektrální interference

Tato interference je pravděpodobně považována za nejzávažnější typ spektrální interference. Vytváří kombinací dvou nebo více atomických iontů. Tento jev je způsobenou řadou faktorů, obvykle problém souvisí s plazmou a nebulizérem, matricovou složkou v rozpouštědle či vzorku, jinými prvky ve vzorku nebo také se zachyceným kyslíkem a dusíkem z okolního vzduchu. Častým příkladem je plazma argonu, kde může být spektrální překryv způsoben argonovými ionty s jinými druhy iontů. Nejhojnější izotopem je ^{40}Ar, který přímo zasahuje do nejrozšířenějšího izotopu vápníku ^{40}Ca. Například v plazmě argonu jsou velmi časté spektrální překryvy způsobené právě kombinací argonových iontů s jinými. Kombinace argonu a kyslíku ve vodném prostředí vytváří $^{40}Ar^{16}O^{+}$ interferenci, která má významný dopad na hlavní izotop ^{56}Fe. Kromě toho argon také může vytvářet polyatomické rušení s prvky v kyselinách použitých k rozpuštění vzorku. Příkladem může být kyselina chlorovodíková, ve které se $^{40}Ar^{+}$ zkombinuje s nejobvyklejší izotopem chlóru ^{35}Cl za vzniku $^{40}Ar^{35}C1^{+}$, který zasahuje do izotopu ^{75}Ar. Další příklad nastává v matrici organického rozpouštědla, kde argon s uhlíkem vytváří $^{40}Ar^{12}C^{+}$, který zasahuje do $^{52}Cr^{+}$, nejobvyklejšího izotopu chrómu. K vytvoření tohoto typu spektrální interference nejsou v některých případech nutné ionty argonu. Dobrým příkladem je interference, která nastává u vzorku s obsahem kyseliny sírové. Dominantní izotop síry $^{32}S^{+}$se kombinuje se dvěma kyslíkovými za vytvoření molekulového iontu $^{32}S^{16}O^{16}O^{+}$, který interferuje s hlavním izo-

topem ^{64}Zn. Při analýze vzorků obsahujících vysoké koncentrace sodíku, jako je mořská voda, nelze analyzovat nejhojnější izotop ^{63}Cu, jelikož nastává rušení od molekulového iontu $^{40}Ar^{23}Na^{+}$. Existuje však mnoho dalších příkladů těchto druhů polyatomických a molekulárních interferencí. Jedny z nejčastějších jsou sepsány v tab. 3. **[31]**

Tab. 3 – Příklady polyatomických interferencí **[31]**

Izotop	Matrice/Rozpouštědlo	Interference
$^{39}K^{+}$	H_2O	$^{38}ArH^{+}$
$^{40}Ca^{+}$	H_2O	$^{40}Ar^{+}$
$^{56}Fe^{+}$	H_2O	$^{40}Ar^{16}O^{+}$
$^{80}Se^{+}$	H_2O	$^{40}Ar^{40}Ar^{+}$
$^{51}V^{+}$	HCl	$^{35}Cl^{16}O^{+}$
$^{75}As^{+}$	HCl	$^{40}Ar^{35}Cl^{+}$
$^{28}Si^{+}$	HNO_3	$^{14}N^{14}N^{+}$
$^{44}Ca^{+}$	HNO_3	$^{14}N^{14}N^{16}O^{+}$
$^{55}Mn^{+}$	HNO_3	$^{40}Ar^{15}N^{+}$
$^{48}Ti^{+}$	H_2SO_4	$^{32}S^{16}O^{+}$
$^{52}Cr^{+}$	H_2SO_4	$^{34}S^{16}O^{+}$
$^{64}Zn^{+}$	$H2SO_4$	$^{32}S^{16}O^{16}O^{+}$
$^{63}Cu^{+}$	$H3PO_4$	$^{31}P^{16}O^{16}O^{+}$
$^{24}Mg^{+}$	Organická matrice	$^{12}C^{12}C^{+}$
$^{52}Cr^{+}$	Organická matrice	$^{40}Ar12C^{+}$
$^{65}Cu^{+}$	Horniny	$^{48}Ca^{16}OH^{+}$
$^{64}Zn^{+}$	Horniny	$^{48}Ca^{16}O^{+}$
$^{63}Cu^{+}$	Mořská voda	$^{40}Ar^{23}Na^{+}$

2.2.1.2 Spektrální překryv související s oxidy, hydroxidy a hydridy

Jiný typ spektrální interference je produkován prvky ve vzorku v kombinaci s H^+, $^{16}O^+$ nebo $^{16}OH^+$ (z vody nebo ze vzduchu), za vzniku molekulových iontů hydridů (+ H^+), oxidů (+ $^{16}O^+$) a hydroxidů (+ $^{16}OH^+$). Tyto interference jsou obvykle vytvářeny v chladnějších zónách plazmatu, bezprostředně před oblastí interface. Jedná se o závažnější typ interference, zejména pokud jsou ve vzorku přítomny prvky vzácných zemin. Je to z důvodu toho, že tyto prvky snadno tvoří zejména oxidy, které způsobují překryv jiných prvků ve stejné skupině. Pokud jsou tyto oxidové ionty vytvářeny převážně od unášeného vzduchu kolem plazmatu, může být tento problém částečně vyřešen buď použitím podlouhlé vnější trubice k hořáku, nebo pomocí kovového stínění mezi plazmou a RF generátorem. Tuto tvorbu iontů lze také zamezit pomocí desolvatace aerosolu, snížením průtoku či přidáním dusíku do plazmatu. **[31]**

2.2.1.3 Interference dvojnásobně nabitých iontů

Interference sdružené se spektrálními překryvy na bázi oxidů nazýváme interference dvojnásobně nabitých iontů. Vytváří se při nich iont s dvojitým nábojem a výsledkem je izotopový pík, avšak s poloviční hmotností. Stejně jako tvorba oxidů úroveň dvojnásobně nabitých druhů souvisí s ionizačními podmínkami v plazmě a obvykle ji lze minimalizovat pečlivou optimalizací průtoku plynu zmlžovačem či výkonu RF generátoru. Tab. 4 ukazuje vybrané skupiny prvků, které snadno tvoří oxidy/hydroxidy/hydridy a dvojnásobně nabité ionty spolu s analyty, které jsou jimi ovlivněny. **[31]**

Tab. 4 – Příklady prvků, které se snadno tvoří oxidy, hydroxidy, hydridy a dvojnásobně nabité ionty v plazmě společně s analyty ovlivněnými rušením **[31]**

oxidy/hydroxid /hydridy a dvojnásobně nabité ionty	analyt ovlivněn rušením
$^{40}Ca^{16}O^{+}$	$^{56}Fe^{+}$
$^{48}Ti^{16}O^{+}$	$^{64}Zn^{+}$
$^{98}Mo^{16}O^{+}$	$^{114}Cd^{+}$
$^{138}Ba^{16}O^{+}$	$^{154}Sm^{+}$, $^{154}Gd^{+}$
$^{139}La^{16}O^{+}$	$^{155}Gd^{+}$
$^{140}Ce^{16}O^{+}$	$^{156}Gd^{+}$, $^{156}Dy^{+}$
$^{40}Ca^{16}OH^{+}$	$^{57}Fe^{+}$
$^{31}P^{18}O^{16}OH^{+}$	$^{66}Zn^{+}$
$^{79}BrH^{+}$	$^{80}Se^{+}$
$^{31}P^{16}O_2H^{+}$	$^{64}Zn^{+}$
$^{138}Ba^{2+}$	$^{69}Ga^{+}$
$^{139}La^{2+}$	$^{69}Ga^{+}$
$^{140}Ce^{2+}$	$^{70}Ge^{+}$, $^{70}Zn^{+}$

2.2.1.4 Izobarický překryv

Mezi další základní typy spektrálních interferencí patří isobarický překryv, který je poměrně snadno odstranitelný pomocí matematické korekce, která se provádí tak, že se odečte alikvotní část signálu interferujícího iontu od signálu analytu. **[30]** Produkuje se převážně různými izotopy jiných prvků ve vytváření vzorku spektrální interference se stejnou hmotností jako analyt. Například vanad má dva izotopy ^{50}V a ^{51}V. V přítomnosti chloridové matrice je však jediný prakticky využitelný izotop ^{50}V, kvůli velké interferenci $^{16}O^{35}Cl^{+}$ při hmotnosti 51. Bohužel, izotop ^{50}V se vyskytuje pouze z 0,25 % a shoduje se také s izotopy titanu a chrómu, které se vykytují z 5,4 % a 4,3 %. To činí velmi obtížné stanovení vanadu v přítomnosti titanu a chrómu a obecně prvků, které mají přítomné izotopy s téměř stejnou hmotností. **[31]**

2.2.2 Nespektrální interference

Jedná se o speciální typ interference, který je založen na potlačení signálu samotnou matricí. Projevuje se ovlivněním energetických poměrů, a tudíž ionizační rovnováhy v plazmatu. Nejjednodušší typ je vzhledem k překonání interference označován jako efekt přenosu vzorku. Jedná se o fyzické potlačení analytického signálu, způsobené úrovní rozpuštěných pevných látek nebo koncentrací kyseliny ve vzorku. Je známo, že signál izotopově lehkého analytu v izotopově těžší matrici je potlačen ve větší míře, než jak by tomu bylo naopak u těžšího analytu v izotopově lehké matrici.

V případě organických matric je interference obvykle způsobena změnami rychlosti čerpání rozpouštědel různé viskozity. Dále může být způsobena tím, že vzorek ovlivňuje ionizační podmínky plazmového výboje. Výsledky signálu jsou v různých množstvích potlačeny v závislosti na koncentraci matricových složek. Ionizační podmínky v plazmě jsou tak nestálé, že vyšší koncentrace kyseliny mají za následek silné potlačení analytického signálu. **[31]**

Klasickým způsobem kompenzace této interference je použití interní standardizace. S touto metodou korekce je malá skupina prvků (obvykle na úrovni ppb) vnesena do vzorků, kalibračních standardů a slepého vzorku, pro kontrolu a opravu změn odezvy prvků způsobené matricí. K výběru interních standardů se obvykle používají kritéria:

- Nejsou přítomny ve vzorku.
- Matrice vzorku nebo analytických elementů s nimi spektrálně neinterferují.
- Nejedná se o prvky, které mohou kontaminovat životní prostředí.
- Obvykle jsou seskupeny s analytickými prvky podobného rozsahu hmotnosti.
- Měli by mít podobný ionizační potenciál, a tedy se chovají v plazmě podobně.

Příkladem takových inertních standardů může být ^{9}Be, ^{45}Sc, ^{59}Co, ^{74}Ge ^{89}Y, ^{103}Rh, ^{115}In, ^{169}Tm, ^{175}Lu, ^{187}Re a ^{232}Th. **[31]**

2.3 Metody úpravy vzorků

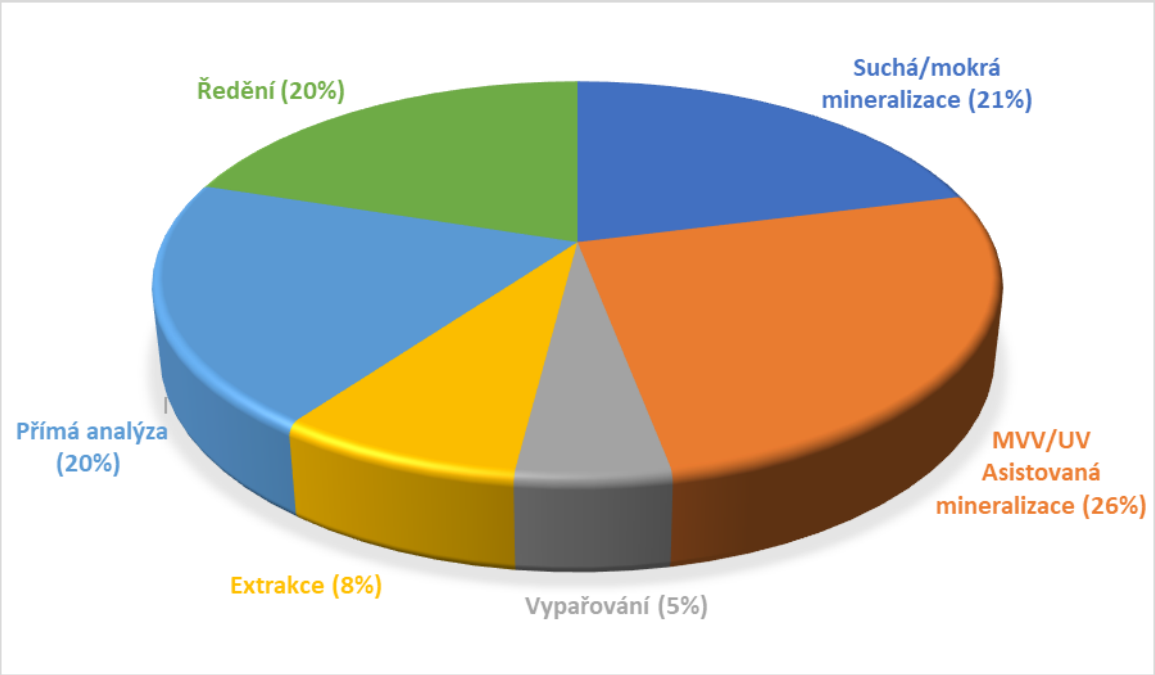
Z důvodu snížení matrix efektu a tím i možných interferencí je nutno před analýzou ICP MS vzorky vína upravit. Matrice zahrnuje všechny přítomné složky ve vzorku, kromě stanovovaného analytu. Typ matrice má tedy vliv na zvolení vhodné instrumentální metody a také vliv na získané výsledky, které mohou být ovlivněny právě ostatními složkami vzorku, vyjma měřené složky. **[27]** Jako nejvýhodnější úprava vzorků se jeví ředění vzorku kyselinou du-

sičnou. Ta zajišťuje stabilitu analyzovaného roztoku. Příslušný ředící faktor závisí na analytické metodě stejně jako na složení vína a koncentraci analytu. Použití faktoru s vysokým ředěním snižuje míru matrix efektu. Faktor s vysokým ředěním by však mohl brzdit stanovení stopových prvků. Proto je vhodné například u metody AAS ředění 1:1 či 1:5, vysoké detekční schopnosti ICP-MS však umožňují ředění 1:10. **[33, 35]**

Jako stejně výhodná úprava se jeví mineralizace jak konvenční, tak mikrovlnná či ultrafialová asistovaná mineralizace. U mineralizace je důležité brát v potaz chemikálie, které jsou ke vzorku přidávány, např. kyselina sírová, peroxid vodíku, kyselina chloristá, kyselina dusičná či oxid vanadičný). Nevýhodou této úpravy je velká spotřeba činidel a s tím spojená možná kontaminace z důvodu nedostatečné čistoty činidel. Velmi výhodný, oproti konvenční mineralizaci, je mikrovlnný rozklad. Při této metodě úpravy je vzorek vystaven tlaku, teplotě a mikrovlnnému ozařování. Výhodou je malá časová náročnost a malý počet činidel, konkrétně pouze kyselina dusičná a peroxid vodíku. **[36, 37]**

Alternativní přístupy, jako je odpařování či extrakce jsou taktéž známé, jsou však méně uváděny v publikacích. Existuje také značný počet článku o přímé analýze vína, kde je interference ovlivněna výběrem vhodné kalibrační techniky či konfigurací přístroje. **[35]**

Nejčastější metody úpravy vzorků používané k zmírnění interferencí v různých technikách spektrometrie jsou shrnuty v koláčovém grafu na obr. 5.



Obr. 5 – Metody předběžné úpravy vzorků používané k zmírnění interferencí v různých technikách spektrometrie. **[35]**

2.4 Využití ICP-MS

Metoda ICP-MS je využitelná v nejrůznějších aplikačních oblastech jako je životní prostředí, biomedicína, geochemie, potravinářství či jaderné aplikace. Díky velmi rozsáhlého využití se za posledních 20 let výrazně klesly náklady na komerční instrumentaci.

2.4.1 Environmentální aplikace

Aplikace v životním prostředí a ekologii představují největší segment trhu pro ICP – MS. Nejběžnější typy vzorků, které jsou analyzovány pro stanovení stopových prvků, zahrnují vody pitné, podzemní, odpadní, říční či mořské, pevný odpad, půdy, kaly, sedimenty a částice vzduchu. Velký nárůst environmentálních aplikací, zejména v Severní Americe, vychází z legislativy řízené Agenturou ochrany životního prostředí USA (EPA). Pro analýzu znečištění vzduchu je využíváno monitorování pomocí systému filtrace vzduchu. Tato technologie se skládá z malých čerpadel, kde je vzduch nasáván přes speciální filtr přesně stanovenou dobu. Filtrační papír se poté vyjme z filtru a rozpustí ve zředěné kyselině. Následně je prováděna analýza vzorku vhodnou technikou. Jelikož se ICP – MS osvědčilo jako užitečný nástroj pro analýzu stopových koncentrací kovů, jedná se o velmi užitečnou

metodu pro analýzu vzduchových částic a pomáhá následně určit zdroje průmyslového znečištění.

Zajímavostí je, že téměř všechny environmentální laboratoře používají základní ICP – MS přístrojové vybavení s kvadrupólovým analyzátorem. Neznamená to, že jiné typy analyzátorů hmotnosti nejsou vhodné, ale při požadavcích na detekční limity, požadavků průchodnosti vzorku, úrovně dovedností operátorů a finančních úvah, kvadrupól se jeví jako logická volba. V poslední době se také velmi osvědčil prodej systémů na klíč, které obsahují všechny aspekty metodiky EPA.

Metoda ICP – MS je využitelná také v jaderném průmyslu. Důraz je kladen na bezpečnou likvidaci jaderného odpadu a zároveň sledování jeho dopadu na životní prostředí. Velmi důležitá je také kontrola starých budov souvisejících s jadernou energetikou či výrobou nukleárních zbraní. Tyto typy sanace a monitorování životního vytvářejí velké množství vzorků. Vzorky zahrnují analýzu a detekci ultrastopových hladin radionuklidů v komplexních matricích půdy, podzemních vod, kalů, olejů či odpadů. Úprava vzorku před analýzou je tedy velmi důležitá. S jaderným průmyslem také souvisí ochrana pracovníků před dlouhodobými účinky expozice sloučenin uranu. Je tedy nutno monitorovat kvalitu vzduchu a také samotné pracovníky. Sledování pracovníků může spočívat v odebírání vzorků krve či moči.

Z těchto důvodů je použití ICP – MS velmi vhodné, metoda je velmi rychlá a méně náročná než tradiční radiochemické metody. ICP – MS je také schopna detekovat radionuklidy ^{239}Pu a ^{240}Pu, které jsou těžko detekovatelné tradičními radiochemickými metody. **[31]**

2.4.2 Potravinářské aplikace

Některé prvky jako As, Cd, Hg a Pb jsou v potravinách považovány za toxické, zatímco jiné jako Se, Cr, Zn, Mn a Ni mají dvojí povahu, neboť v některých formách jsou nezbytné a v jiných formách se také stávají toxické. Proto je snaha vyžít metodu analýzy, která dokáže analyzovat prvky, které jsou přítomny v stopových hladinách, ale také nutriční prvky, které jsou většinou, ale nikoliv výlučně, přítomny ve vyšších úrovních. To se tradičně provádí kombinací metod FAAS, GFAAS, a ICP – OES. Nevýhodou však je v případě potřeby klasifikace více prvků časová náročnost těchto metod. Z těchto důvodů se ICP – MS ukázala jako velmi atraktivní pro analýzu potravin. Jak už bylo uvedeno v předchozích aplika-

cích, přínosem této metodiky je zejména rychlá analýza a také možnost měření všech prvků v jednom roztoku. **[31]**

2.4.3 Studie zabývající se analýzou vín pomocí ICP – MS

Studie vědců Uralské státní univerzity z Ruska byla provedena roku 2007 a zaměřila se na analýzu vybraných stopových kovů (měď, olovo a zinek), ultra-stopového kovu (kadmium) a pesticidů (metalaxyl, penconazol, procymidon a parathion). Analýza byla provedena během fermentačního procesu vinifikace, avšak za ideálních laboratorních podmínek. Byly porovnávány vzorky moštu bílého i červeného vína. Obsah kovů byl stanoven pomocí ICP – MS, analýza pesticidů extrakcí kapalina-kapalina a následně metodou GC – MS. Výsledkem byl kontinuální pokles mědi a zinku, u olova a kadmia v prvních dvou dnech koncentrace prudce klesla a následně byla stabilní. Snížení koncentrace pesticidů byla výraznější u červeného vína než bílého. Parathion klesal poměrně rychle, zatímco metalaxyl byl nejvíce perzistentní. Údaje získané v této práci ukázaly, že fermentační krok v procesu výroby vína přispívá k významnému snížení koncentrací pesticidů. Po fermentaci prochází víno několika dalšími postupy a obecně lze říci, že se koncentrace pesticidů i nadále výrazně snižuje. **[38]**

Studie zabývající se analýzou kovů ve vínech, pocházejících z České republiky, byla provedena například v rámci diplomové práce na VUT v Brně, kterou provedla Bc. Iva Hajdučková v letech 2012/2013. Ani v jednom ze 45 analyzovaných vzorků různých odrůd vín nebyla nalezena koncentrace překračující legislativní limit. Analyzovány byly prvky kadmium, zinek, nikl, olovo a chrom. **[12]**

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V praktické části diplomové práce se z důvodu požadované čistoty, která je u stopové analýzy nezbytná, pracovalo s ultračistými chemikáliemi. Veškeré laboratorní sklo bylo předem louhováno v lázni 10 % kyseliny dusičné a redestilované vody, následně vysušeno v sušárně a uchováno v PE sáčcích. Pro zabránění dalšího zkreslení výsledků byla také použita redestilovaná voda, tedy voda zbavená organického znečištění a iontů.

3.1 Použité materiály a chemikálie

Vzorky vín – Rulandské bílé, Ryzlink Rýnský, biovíno Malverina

Peroxid vodíku – obsah min. 30 %, analpure-ultra, Analytika spol. s.r.o.

Kyselina dusičná 6–69 %, analpure-ultra, Analytika spol. s.r.o.

Metranal 8 – zelená řasa, materiál pro kontrolu jakosti (QCM), Analytika spol. s.r.o.

Vodné kalibrační roztoky jednotlivých stanovovaných kovů o koncentraci 1,000 ± 0,002 $g.l^{-1}$ v matrici 2 % HNO_3: Mg, Al, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Mo, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb; Analytika spol. s.r.o.

Ladící roztok pro ICP-MS INT-MIX (Bi, In, Sc, Tb, Y v 5 % HNO_3), Analytika spol. s.r.o.

Ultračistá H_2O

3.2 Použité pomůcky a přístroje

Laboratorní sklo

Analytické váhy – KERN ABJ 220 – 4NM

Rozkladný mikrovlnný laboratorní systém MLS 1200 mega

Hmotnostní spektrometr s ICP – Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS

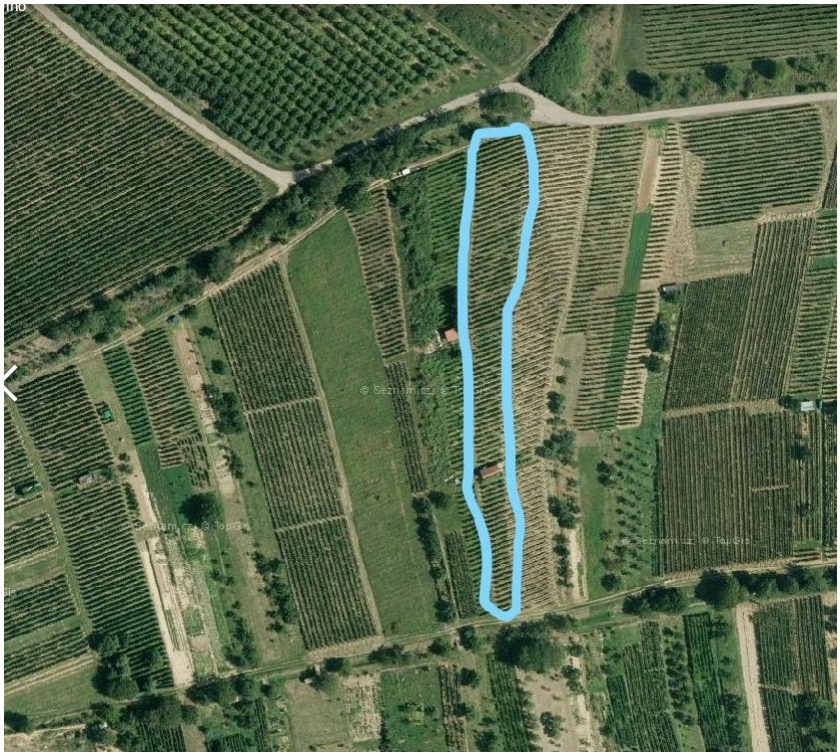
3.3 Charakteristika vzorků

Vzorky použité v této diplomové práci jsou produktem českého a moravského vinařství. Analyzovány byly dvě odrůdy, pocházející z vinařství Rochůz v Mařaticích, které jsou běžně ošetřovány pesticidními přípravky. Pro analýzu kovů byly vybrány 2 odrůdy. Rulandské Bílé, ročník 2015, 2016 a 2017, které bylo vypěstováno na viniční trati Soví hora

v obci Mařatice. Další odrůdou byl Ryzlink rýnský, ročník 2015, 2016 a 2017, který pochází z vinohradu v Polešovicích. Pohled na tyto vinice z ptačí perspektivy je vyobrazen na obr. 6 a 7.

Pro porovnání bylo dále analyzováno biovíno Malverina, ročník 2013, které je produktem ekologického zemědělství. Toto biovíno bylo vypěstováno na Moravě, konkrétně ve vinařské podoblasti Velkopavlovické.

Obr. 6 – Vinice Mařatice



Obr. 7 – Vinice Polešovice

3.3.1 Složení pesticidů použitých pro ochranu rostlin

Pesticidy, které byly použity k ochraně révy vinné ve vinici u vzorků vín Rulandské bílé a Ryzlink rýnský jsou uvedeny v tab. 5. Ve všech případech se jedná o fungicidní prostředky.

Tab. 5 – Fungicidy, použité k ochraně révy vinné u odrůd Rulandské bíle a Ryzlink rýnský

Obchodní název přípravku	**Účinná látka a její koncentrace [$g.l^{-1}$]**	**Choroba**
Antre	Probineb 700 $g.l^{-1}$ (obsahuje Zn)	Červená spála, černá skvrnitost, plíseň révová
Pegaso F	valifenalate 60 $g.l^{-1}$, folpet 480 $g.l^{-1}$	Plíseň révová
Dynali	difenolkonazol 30 $g.l^{-1}$, cyflufenamid 60 $g.l^{-1}$	Červená spála, černá hniloba, padlí révové
Cymbal	cymoxanil 450 $g.l^{-1}$	Plíseň révová
Verita	fenamidon 44,4 $g.l^{-1}$, fosetyl 667 $g.l^{-1}$ (obsahuje Al)	Plíseň révová
Ridomil Gold	mankozeb 640 $g.l^{-1}$, metalaxyl-M 40 $g.l^{-1}$	Plíseň
Sulfolac	síra 798,4 $g.kg^{-1}$	Padlí révové
Aliette bordeaux	fosetyl – Al 250 $g.l^{-1}$, oxychlorid – Cu 250 $g.l^{-1}$	Plíseň révová
Karathane	meptyldinokap 350 $g.l^{-1}$	Padlí révové
Talendo Extra	prochinazid160 $g.l^{-1}$, tetrakanazol80 $g.l^{-1}$	
Teldor	fenhexamid 600 $g.l^{-1}$	Plíseň šedá
Rombus TRIO	tebukonazol 167 $g.l^{-1}$, triadimenol 43 $g.l^{-1}$, spiroxamin 250 $g.l^{-1}$	Padlí révové

Obchodní název přípravku	Účinná látka a její koncentrace [$g.l^{-1}$]	Choroba
Kumulus	Síra 800 $g.l^{-1}$	Padlí révové
Luna experience	fluopyram 200 $g.l^{-1}$, tebuko-nazol 200 $g.l^{-1}$	padlí révové, bílá hniloba hroznů
Cassiope	Folpet 250 $g.l^{-1}$, fosetyl – Al 500 $g.l^{-1}$, iprovalikarb 40 $g.l^{-1}$	
Aquavitrin	vodní sklo draselné 280 $g.l^{-1}$	padlí révové, plíseň šedá, červená spála, bílá hniloba

3.4 Použité postupy a metody

3.4.1 Úprava vzorků

Z důvodu potlačení možných interferencí je úprava vzorků před měřením na ICP – MS nutná. Při analýzách prováděných pro účely mojí diplomové práce byla použita metoda mikrovlnného rozkladu vzorků vín, která patří mezi nejpoužívanější metody.

U každého vzorku byla mineralizace provedena vždy dvakrát. Mineralizace probíhala v šesti patronách, přičemž v patroně č. 1–4 byl 1 ml vína, v patroně č. 5 0,1 g certifikovaného materiálu pro kontrolu jakosti a v patroně č. 6 1 ml redestilované vody, která sloužila jako slepý pokus. Ke každé z těchto patron bylo dále přidáno 2,5 ml kyseliny dusičné a 0,5 ml peroxidu vodíku. Po uplynutí času mineralizace, která probíhala v laboratorním systému MLS 1200 v předem připraveném programu, byl vzniklý mineralizát kvantitativně převeden do 50 ml odměrných baněk a doplněn redestilovanou vodou po rysku.

Po každé jednotlivé mineralizaci bylo nutno nechat program mineralizace opakovat, avšak pouze se 3 ml kyseliny dusičné. Tento postup byl dodržován z důvodu čistoty jednotlivých patron a vyvarování se zanesení případné chyby do dalších mineralizátů.

3.4.2 Příprava zásobního roztoku kovových prvků

Zásobní roztok kovových prvků byl připraven do 250 ml odměrné baňky. Připravená koncentrace jednotlivých prvků v roztoku byla 10 $mg.l^{-1}$, přičemž do zásobního roztoku bylo přidáno 2 ml kyseliny dusičné pro okyselení. Přehled použitých kovových prvků je uveden v tab. 6. K přípravě zásobního roztoku byly použity standardní roztoky jednotlivých kovů o koncentraci 1,000 ± 0,002 $g.l^{-1}$ v matrici 2 % HNO_3. Tento zásobní roztok byl použit k následné přípravě kalibračních roztoků.

Tab. 6 – Přehled měřených kovových prvků

Prvek	**Měřený izotop**	**Prvek**	**Měřený izotop**
Mangan	^{55}Mn	Zinek	^{66}Zn
Hliník	^{27}Al	Arsen	^{75}As
Vápník	^{44}Ca	Selen	^{82}Se
Titan	^{48}Ti	Rubidium	^{87}Rb
Vanad	^{51}V	Molybden	^{100}Mo
Chrom	^{52}Cr	Kadmium	^{111}Cd
Hořčík	^{24}Mg	Cín	^{118}Sn
železo	^{57}Fe	Antimon	^{121}Sb
Nikl	^{60}Ni	Barium	^{137}Ba
Měď	^{63}Cu	Olovo	^{208}Pb

3.4.3 Příprava kalibračních roztoků

Postupným ředěním byly do 50 ml odměrných baněk připraveny kalibrační roztoky v koncentracích 1 $mg.l^{-1}$, 10 $\mu g.l^{-1}$ a 1 $\mu g.l^{-1}$.

3.4.4 Příprava ladícího roztoku

Pro přípravu ladícího roztoku byl použit kalibrační roztok obsahující prvky Bi, In, Sc, Tb, Y v 5 % HNO_3 o koncentraci 10 $mg.l^{-1}$. Ladící roztok byl připraven do 50 ml odměrné baňky a výsledná koncentrace činila 10 $\mu g.l^{-1}$.

3.4.5 Hmotnostní spektrometr s ICP – Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS

Pro samotnou analýzu kovů byl použit spektrometr Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS, který je vybaven patentovanou technologií QCell (Colision cell technology – CCT). Tato technologie je specifická tím, že jako kolizní plyn využívá hélium. Tento plyn indukuje reakční mechanismus rozpadu molekulárních asociátů a tak technologie QCell vyniká krátkou dobou analýzy a snížením možných interferencí. Přístroj je připojeno k počítači USB kabelem a ovládání je řízeno softwarem Qtegra.

Nejprve byla provedena optimalizace podmínek měření na ICP – MS, což bylo provedeno automaticky pomocí programu Autotune a Performance Test. Správná optimalizace umožňuje nejvyšší možnou odezvu signálu pro jednotlivé analyzované prvky, zajistí správné podmínky měření a také nejnižší možné detekce. Příslušné detekční limity přístroje jsou uvedeny v tab. 7.

Tab. 7 – Parametry Thermo Scientific iCAP Q ICP – MS

Specifikace			
	iCAP Qa	**iCAP Qc**	**iCAP Qs**
STD režim			
Citlivost [kcps.ppb^{-1}]			
^{7}Li^{b}	40	50	80
^{59}Co^{b}	60	100	200
^{115}In	150	220	400
^{238}U^{b}	200	300	500
Detekční limity [ppb]			
^{9}Be	< 0,5	< 0,5	< 0,5
^{115}In	< 0,1	< 0,1	< 0,1
^{209}Bi	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Oxidy [%]			
CeO/Ce^{b}	< 2	< 2	< 2

Dvojnabité částice [%]			
Ba^{++}/Ba^{+b}	< 3	< 3	< 3
Pozadí [cps]			
m/z 4,5[b]	< 1	< 1	< 1
Stabilita [% RSD]			
Krátkodobá [b]	< 2 (10 min)	< 2 (10 min)	< 2 (10 min)
Dlouhodobá	< 3 (2 h)	< 3 (2 h)	< 3 (2 h)
Izotopový poměr			
107Ag/109Ag	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Specifikace			
	iCAP Qa	**iCAP Qc**	**iCAP Qs**
He Cell režim			
Citlivost [kcps.ppb^{-1}]			
Co[b]		30	50
Pozadí [cps]			
m/z 4,5[b]		< 0,1	< 0,1

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Lze předpokládat, že na výsledné koncentrace jednotlivých izotopů prvků bude mít vliv zejména chemická ochrana pesticidy, přirozený obsah prvků v geologickém podloží a případná kontaminace při výrobě vína.

Výroba vína Ryzlinku rýnského a Rulandského bílého začíná sběrem bobulí jednotlivých odrůd, které se shromažďují do plastových nádob. Předpokládaná kontaminace je zde minimální. Následuje lisování a odstopkování, které se uskutečňuje pneumaticky v nerezových nádobách. Kvašení probíhá ve dvouplášťových nerezových tancích. U těchto dvou kroků by mohla nastat kontaminace některými ze stanovovaných kovů, např. chromem niklem či molybden.

V prvních třech letech si réva vinná tvoří svůj kořenový systém a kmen. Hustota kořenového systému je důležitá z pohledu sorpční plochy pro vodu a živiny. Nejvýznamnější faktory ovlivňující hustotu kořenového systému jsou dostupnost vody, hloubka půdního profilu, stupeň utužení půdy, půdní pórovitost a provzdušňování půdy. Při ideálních podmínkách u staršího věku keře se předpokládá, že počasí by významný vliv na příjem vody a živin, resp. kovů, mít nemělo. Kořeny dosahují délky přes 10 m a mohou tedy čerpat vodu a živiny z podzemní vody či skalnatého podloží.

Pěstování révy vinné v ekologickém zemědělství spočívá ve vypuštění chemického hnojení či postřiků pesticidy. Předpokladem je tedy nižší obsah jednotlivých izotopů kovů, který je závislý hlavně na přirozeném výskytu kovů v geologickém podloží.

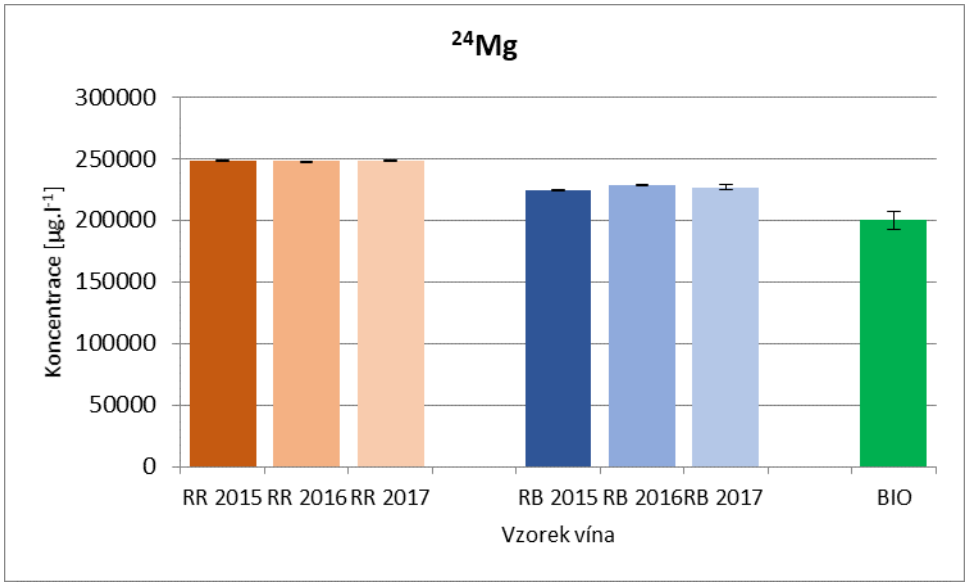
Analýza vzorků byla provedena na hmotnostním spektrometru s indukčně vázaným plazmatem. Výběr měřených izotopů provedl program spektrometru automaticky, s ohledem na největší zastoupení izotopu v prvku, zároveň však také minimální interferencí s izotopy jiných prvků, zejména argonu.

Jednotlivé vzorky vína byly proměřeny vždy osmkrát vedle sebe. Hodnoty koncentrací kovů byly zprůměrovány a následně byla vypočtena odchylka průměru. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách a grafech níže.

Tab. 8 – Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích vína

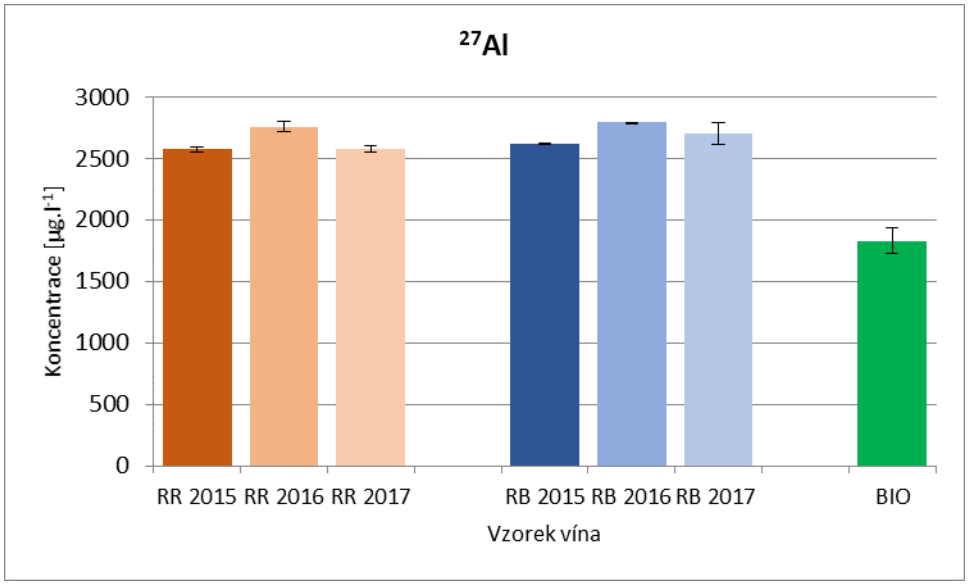
Vzorek vína	**c [µg.l^{-1}]**				
	^{24}Mg	**^{27}Al**	**^{44}Ca**	**^{48}Ti**	**^{51}V**
RR 2015	248214,40 ± 433,88	2572,38 ± 23,78	1453 ± 26	1,31 ± 0,01	12,32 ± 0,33
RR 2016	247777,50 ± 381,75	2757,75 ± 39,44	1984,25 ± 9,94	1,36 ± 0,01	12,25 ± 0,16
RR 2017	248245,40 ± 460,37	2576,429 ± 21,38776	1455,57 ± 27,51	1,31 ± 0,01	12,23 ± 0,30
RB 2015	224419,30 ± 441,75	2615,5 ± 3	1966,25 ± 29,25	1,32 ± 0,01	20,88 ± 0,26
RB 2016	228933,80 ± 28,75	2792 ± 2	2582,00 ± 8,50	1,36 ± 0,02	20,44 ± 0,19
RB 2017	226681 ± 2253	2703,75 ± 88,25	2274,13 ± 307,88	1,34 ± 0,02	20,68 ± 0,28
BIO	199965,00 ± 7431,50	1828,88 ± 104,63	1533,63 ± 11,28	1,33 ± 0,02	10,52 ± 0,24

Horčík, hliník a vápník patří k prvkům, které jsou v geologickém podloží poměrně hojně zastoupeny. Tím si lze také vysvětlit vysoké koncentrace jednotlivých izotopů ve všech vzorcích vína. Odlišná koncentrace u jednotlivých odrůd může být tedy zapříčiněna zejména rozdílným geologickým podložím.



Obr. 8 – Naměřené koncentrace izotopu hořčíku ve vzorcích vín

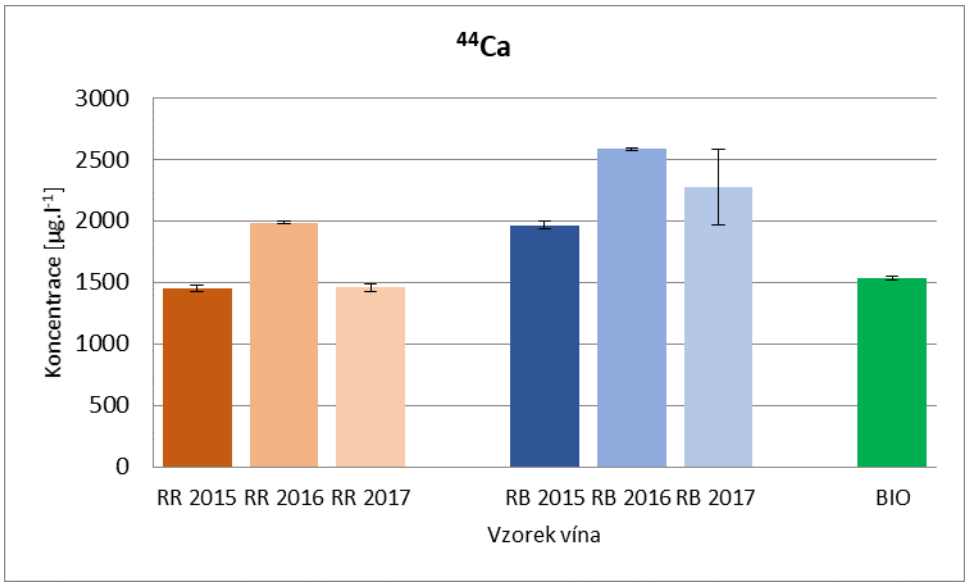
Hořčík patří do skupiny kovů alkalických zemin. V rostlinách má významnou funkci, patří mezi základní složky chlorofylu. V půdách vinic je možno se setkat s jeho nedostatkem, na druhou stranu se velmi snadno vyluhuje z půd. Průměrný obsah tohoto prvku v půdě je 0,6 %. U všech tří odrůd lze na obr. 8 pozorovat jen nepatrný rozdíl koncentrace hořčíku mezi jednotlivými ročníky. Lze konstatovat, že v průběhu dalších let se tato koncentrace nebude výrazně lišit a vliv tedy nemá například odlišné počasí mezi jednotlivými roky.



Obr. 9 – Naměřené koncentrace izotopu hliníku ve vzorcích vín

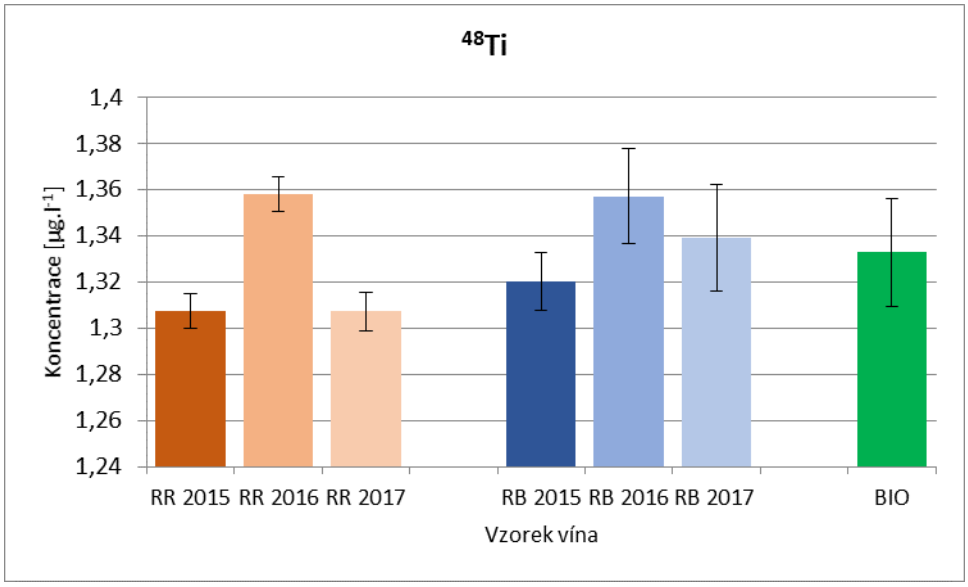
Hliník představuje v průměrném složení půd 6,7 %. U Ryzlinku rýnského a Rulandského bílého je patrný větší obsah hliníku, než je tomu u biovína Malverina. Ten může být způ-

soben chemickou ochranou révy vinné. U Ryzlinku rýnského a Rulandského bílého byly použity fungicidy, které ve svém složení obsahují právě hliník. Největší koncentrace hliníku u Ryzlinku rýnského i Rulandského bílého byla roku 2016. Podle mého názoru to může být způsobeno počasím. V období, kdy byl tento fungicid aplikován, mohlo být více srážek a příjem tohoto prvku rostlinou mohl být uskutečněn jak nadzemní částí révy vinné, tak i kořenovým systémem.



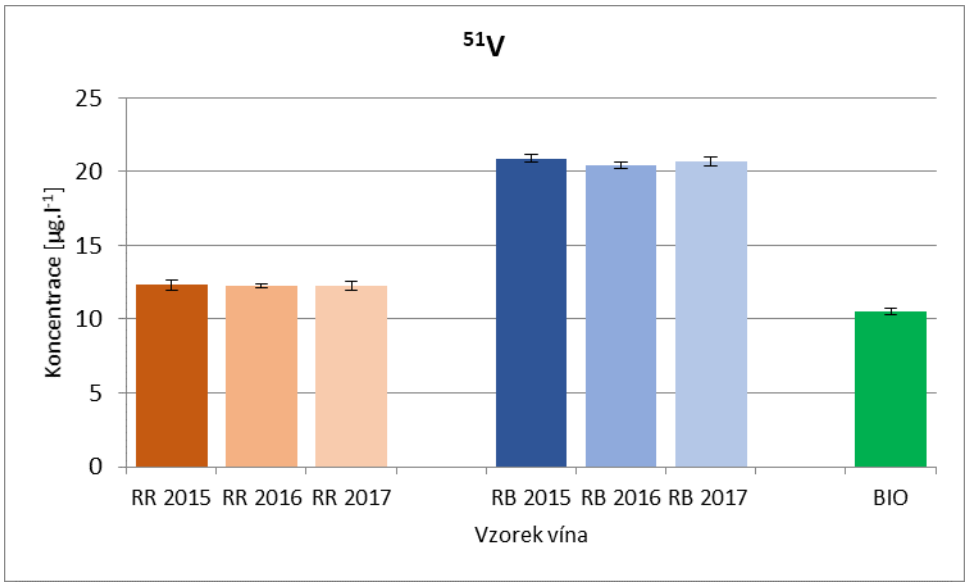
Obr. 10 – Naměřené koncentrace izotopu vápníku ve vzorcích vín

Z technologického hlediska patří vápník k nejsledovanějším kationtům ve víně a moštu. Rozdílné koncentrace vápníku u Ryzlinku rýnského a Rulandského bílého jsou podle mého názoru způsobeny odlišností těchto odrůd. Překvapivá je však zvýšená koncentrace vápníku v ročníku 2016 u obou odrůd. Obsah vápníku v těchto vínech se pohybuje zhruba od 1,5 do 2,5 $mg.l^{-1}$, tato koncentrace je velmi nízká. Podle Steidla je průměrný obsahe vápníku ve víně 10 – 200 $mg.l^{-1}$ **[39]**. Přirozeným vývinem vína se jeho množství dále snižuje. Vápník je v půdě poměrně špatně pohyblivý a není snadné jej pomocí kořenů přijímat zejména v půdách s velkým nadbytkem dusíku, draslíku nebo hořčíku. Tento fakt může být důvodem takto nízké koncentrace.



Obr. 11 – Naměřené koncentrace izotopu titanu ve vzorcích vín

Koncentrace titanu ve všech odrůdách je poměrně nízká. I zde lze pozorovat zvýšení koncentrace zejména v ročníku 2016. Nelze tedy předpokládat, zda tato koncentrace v průběhu dalších let bude růst či klesat.

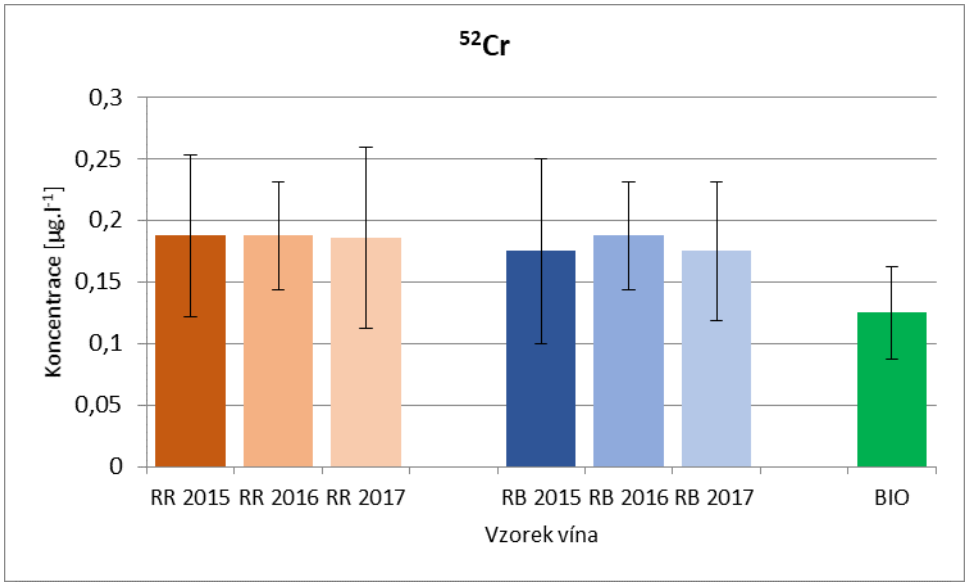


Obr. 12 – Naměřené koncentrace izotopu vanadu ve vzorcích vín

Z obrázku 12 lze jasně vidět, že koncentrace vanadu v odrůdě Ryzlinku rýnského a Rulandského bílého je u analyzovaných ročníků poměrně stálá. Překvapivý je výrazný rozdíl koncentrace vanadu u Rulandského bílého, která je pravděpodobně způsobena odlišností této odrůdy.

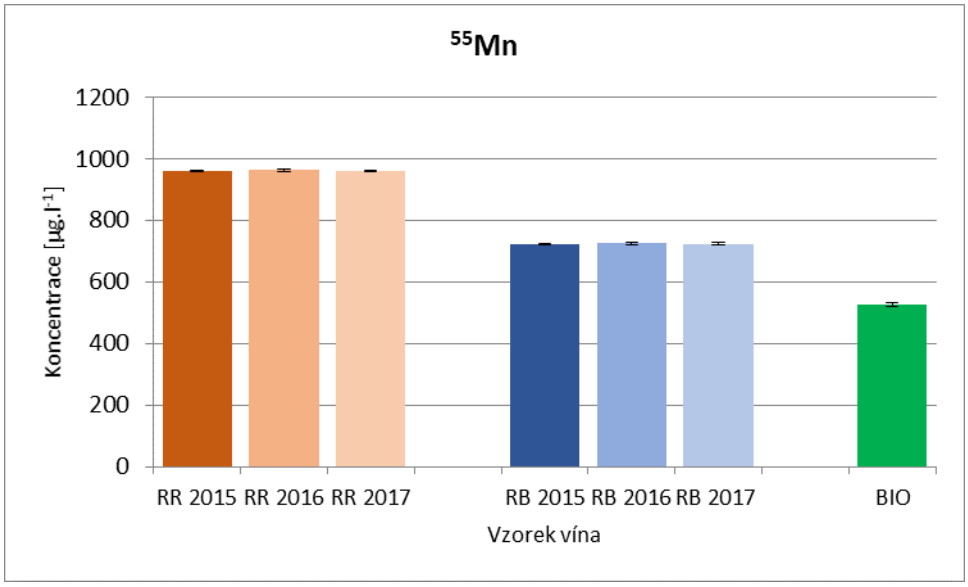
Tab. 9 – Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích vína

Vzorek vína	c [µg.l^{-1}]				
	^{52}Cr	^{55}Mn	^{57}Fe	^{60}Ni	^{63}Cu
RR 2015	0,19 ± 0,07	961,34 ± 2,15	139,55 ± 0,85	58,46 ± 0,27	0,19 ± 0,07
RR 2016	0,19 ± 0,04	963,10 ± 3,95	140,95 ± 0,53	58,74 ± 0,32	0,19 ± 0,04
RR 2017	0,19 ± 0,07	961,56 ± 2,27	139,51 ± 0,93	58,47 ± 0,30	0,19 ± 0,07
RB 2015	0,18 ± 0,08	722,50 ± 2,50	170,36 ± 1,46	75,05 ± 0,13	0,18 ± 0,08
RB 2016	0,19 ± 0,04	725 ± 4	171,38 ± 1,09	69,48 ± 0,36	0,19 ± 0,04
RB 2017	0,18 ± 0,06	723,75 ± 3,06	170,84 ± 1,30	72,25 ± 2,85	0,18 ± 0,06
BIO	0,13 ± 0,04	526,88 ± 6,88	139,21 ± 0,66	37,54 ± 0,52	0,13 ± 0,04



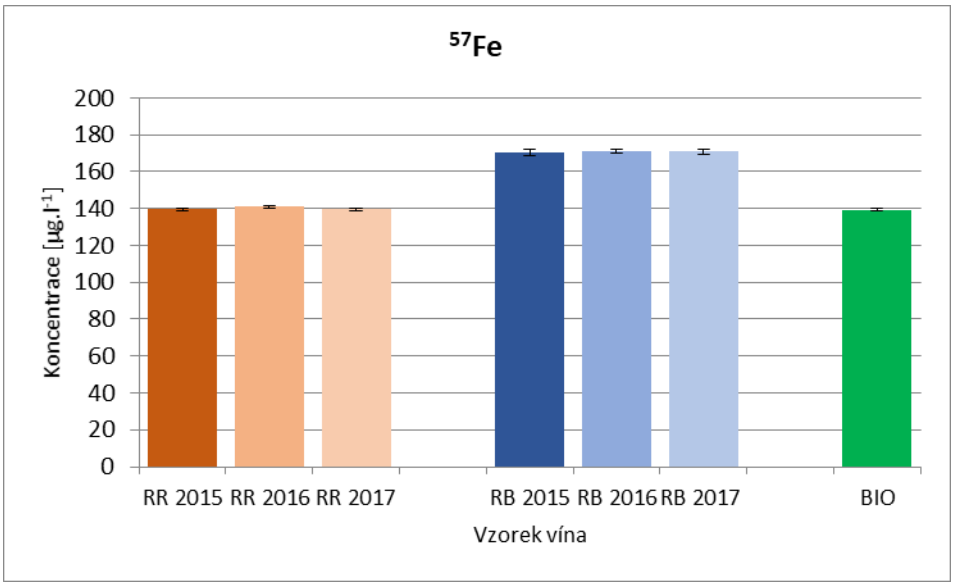
Obr. 13 – Naměřené koncentrace izotopu chromu ve vzorcích vín

Chrom může mít negativní dopad na lidské zdraví, obsah chromu ve všech odrůdách je velmi nízký. Z obrázku č. 13 je patrné, že koncentrace u jednotlivých ročníků je poměrně stabilní a dle mého názoru tato vína nijak konzumenta neohrožují.



Obr. 14 – Naměřené koncentrace izotopu manganu ve vzorcích vín

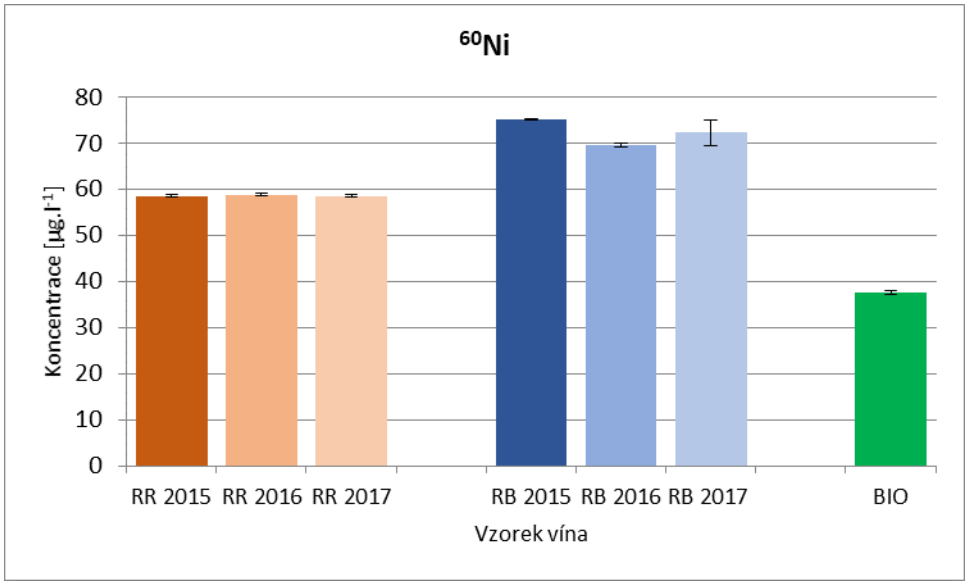
Na obrázku 14 je zobrazena koncentrace manganu v analyzovaných vínech. Z obrázku lze vidět, že příjem toho prvku jednotlivými odrůdami je odlišný. Koncentrace manganu je stabilní a je tedy předpokládána i u dalších ročníků.



Obr. 15 – Naměřené koncentrace izotopu železa ve vzorcích vín

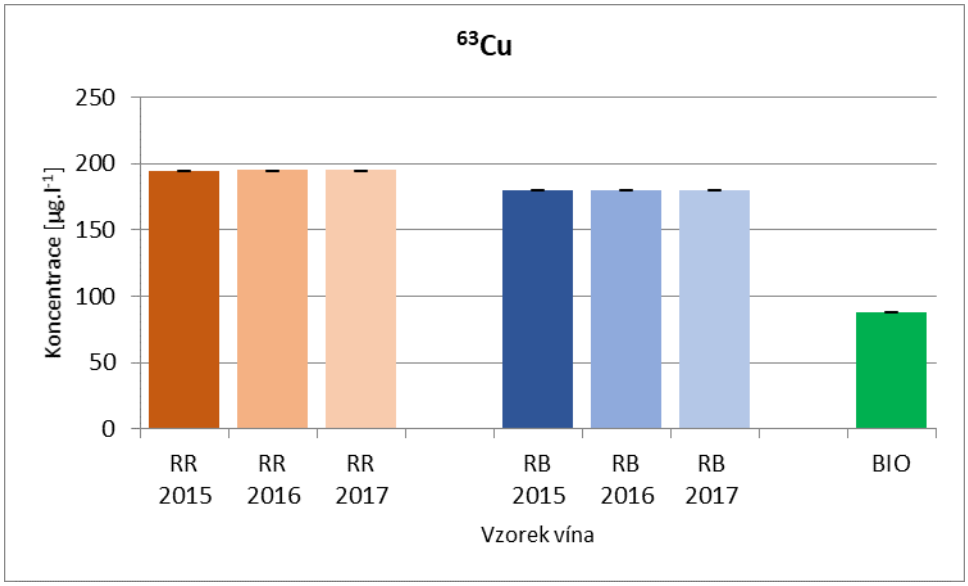
Železo patří mezi prvky, které se vždy vyskytují v určitém množství ve víně. Má tedy zejména technologický význam. Na obr. 15 lze vidět, že v letech 2015, 2016 a 2017 je koncentrace železa v těchto vínech poměrně stabilní. Železo se může do vína dostat přirozeně, a to už při pěstování révy vinné, nebo dodatečným stykem vína se železným zařízením po

dobu zpracování hroznu. Při zvýšené koncentraci železa by se ve víně mohl objevit bílý nebo černý zákal. Domnívám se, že u těchto vzorků tyto vady vína v budoucnu nehrozí.



Obr. 16 – Naměřené koncentrace izotopu niklu ve vzorcích vín

I zde, na obr. 16, lze vidět, že koncentrace niklu je u jednotlivých ročníků velmi podobná. Rozdílná koncentrace vín Ryzlinku rýnského a Rulandského bílého od biovína Malverina může být způsobena odlišným geologickým podložím a také odlišností odrůd.



Obr. 17 – Naměřené koncentrace izotopu mědi ve vzorcích vín

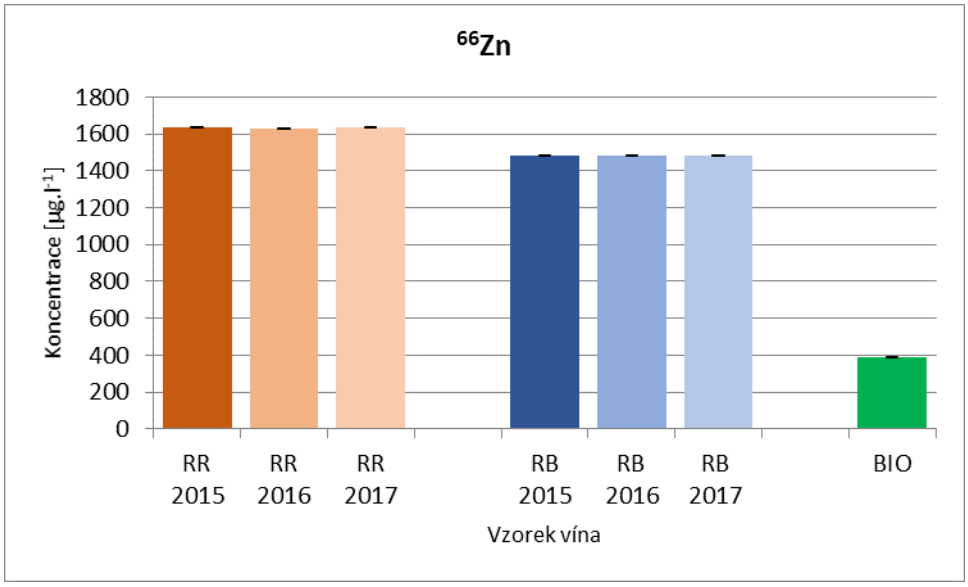
Měď, stejně jako železo, má ve víně technologický význam, nikterak zdravotní. Při zvýšené koncentraci mědi (nad 0,5 $mg.l^{-1}$) by se ve víně mohl objevit měďnatý zákal. Tato vada u analyzovaných vín nehrozí. Z důvodu vyšší koncentrace mědi ve srovnání se železem u

vín Ryzlinku rýnského a Rulandského bílého bych jako preventivní opatření zvolila při technologickém zpracování vína delší dobu či větší počet čiření. Čiření odstraňuje z vína kovové prvky, jako je železo a měď. Předpokládám však, že koncentrace se v dalších letech nebude výrazněji měnit.

Tab. 10 – Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích vína

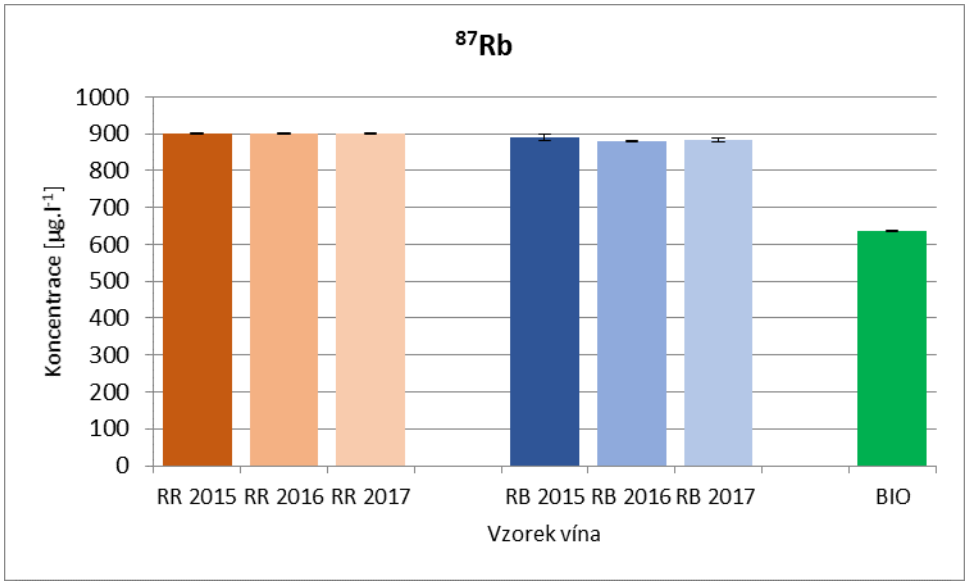
Vzorek vína	**c [µg.l^{-1}]**				
	^{66}Zn	**^{75}As**	**^{82}Se**	**^{87}Rb**	**^{100}Mo**
RR 2015	961,34 ± 2,15	< MD	< MD	139,55 ± 0,85	4,43 ± 0,05
RR 2016	963,10 ± 3,95	< MD	< MD	140,95 ± 0,53	1,44 ± 0,04
RR 2017	961,56 ± 2,27	< MD	< MD	139,51 ± 0,93	1,43 ± 0,05
RB 2015	722,50 ± 2,50	< MD	< MD	170,36 ± 1,46	1,41 ± 0,05
RB 2016	725 ± 4	< MD	< MD	171,38 ± 1,09	1,44 ± 0,04
RB 2017	723,75 ± 3,06	< MD	< MD	170,84 ± 1,30	1,43 ± 0,05
BIO	526,88 ± 6,88	< MD	< MD	139,21 ± 0,66	1,41 ± 0,05

U analyzovaných vzorků vín byl izotop arsenu a selenu pod limitem detekce přístroje.



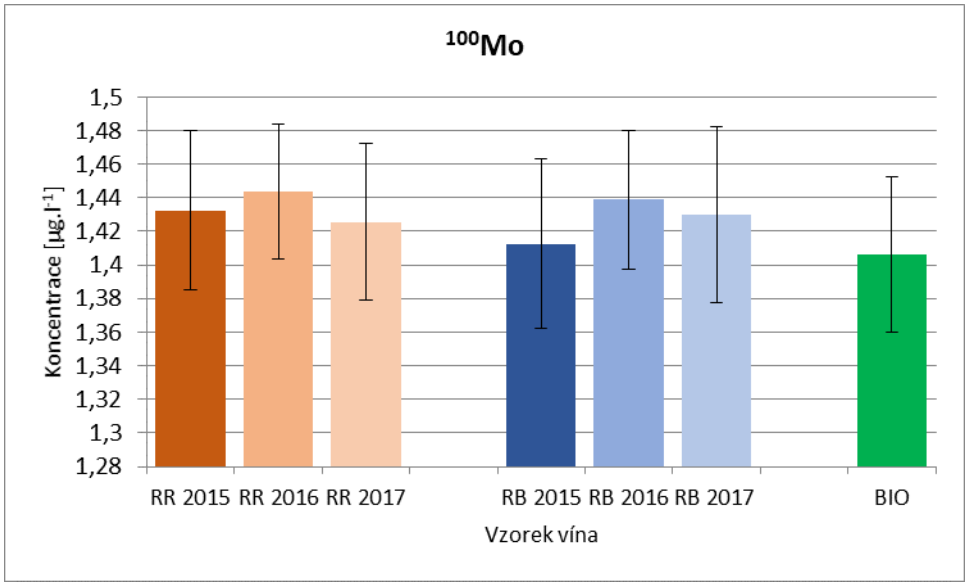
Obr. 18 – Naměřené koncentrace izotopu zinku ve vzorcích vín

Na obr. 18 je zobrazena koncentrace zinku ve vzorcích vín. Lze si všimnou velkého rozdílu koncentrací vín z vinařství Rochůz oproti biovínu Malverina. Předpokládám tedy, že zde může mít výrazný vliv použití chemického přípravku Antre, v jehož složení se zinek nachází.



Obr. 19 – Naměřené koncentrace izotopu rubidia ve vzorcích vín

Rubidium lze také zařadit mezi běžněji vyskytující se prvky v geologickém podloží. Vyšší koncentraci rubidia oproti jiným stanovovaným prvkům je dle mého názoru právě z výše uvedeného důvodu.



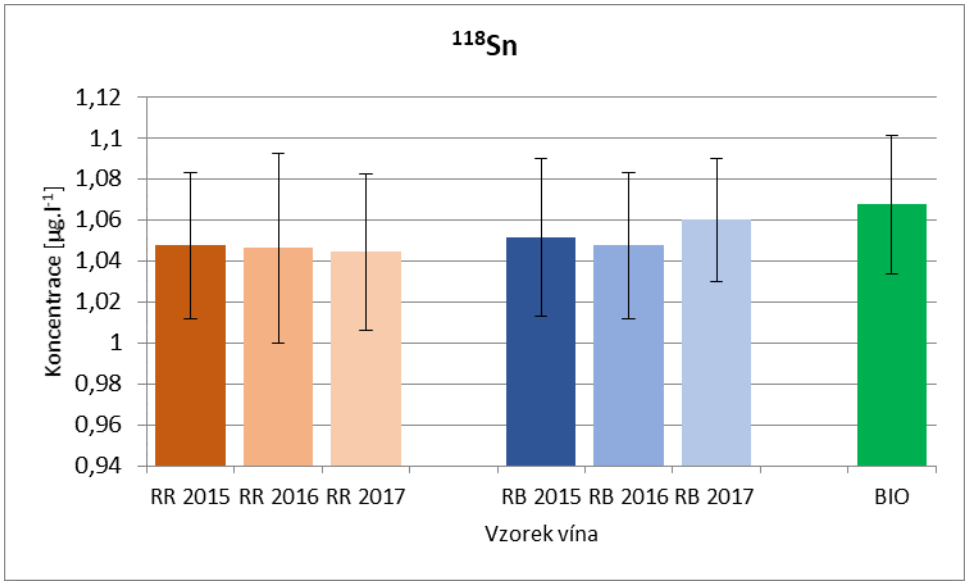
Obr. 20 – Naměřené koncentrace izotopu molybdenu ve vzorcích vín

Molybden se řadí mezi poměrně vzácné prvky vyskytující se v půdě. To je dokázáno také nízkými koncentracemi ve stanovovaných vínech. Z obr. 20 si lze všimnout mírného kolísání koncentrací mezi jednotlivými ročníky, z velikosti chybových úseček však usuzuji, že rozdílná koncentrace není způsobena vlivy, které se mohly objevit při pěstování révy vinné nebo výrobě vína, ale samotnou analýzou vína.

Tab. 11 – Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích vína

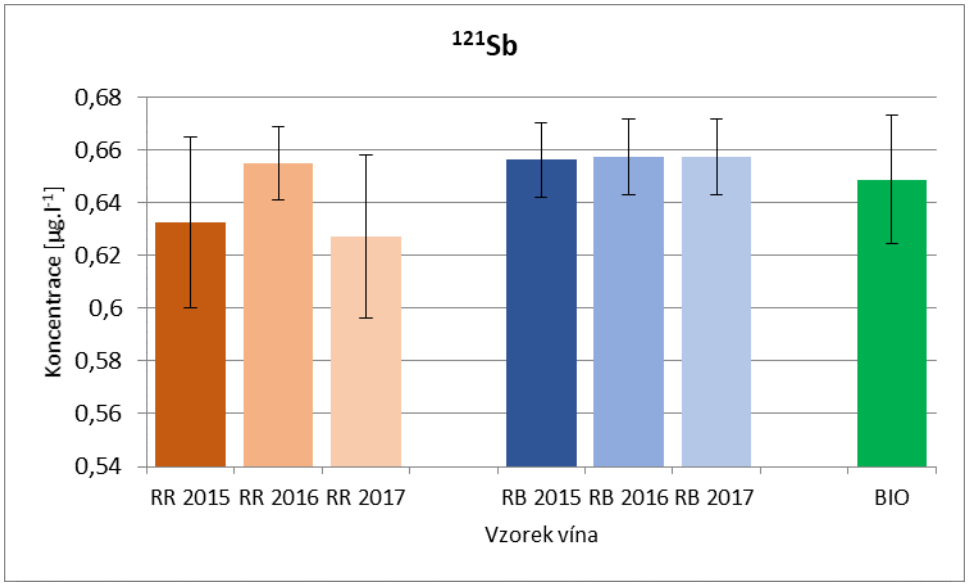
Vzorek vína	**c [µg.l^{-1}]**				
	^{111}Cd	**^{118}Sn**	**^{121}Sb**	**^{137}Ba**	**^{208}Pb**
RR 2015	< MD	1,04 ± 0,04	0,63 ± 0,03	23,60 ± 0,60	0,13 ± 0,04
RR 2016	< MD	1,05 ± 0,05	0,66 ± 0,01	23,78 ± 0,68	0,11 ± 0,02
RR 2017	< MD	10,04 ± 0,04	0,63 ± 0,03	23,51 ± 0,61	0,13 ± 0,04
RB 2015	< MD	1,05 ± 0,04	0,66 ± 0,01	25,85 ± 1,58	0,15 ± 0,05
RB 2016	< MD	10,5 ± 0,04	0,66 ± 0,01	27,35 ± 0,45	0,11 ± 0,02
RB 2017	< MD	1,06 ± 0,03	0,66 ± 0,01	27,28 ± 0,68	0,14 ± 0,05
BIO	< MD	0,07 ± 0,03	0,65 ± 0,02	21,80 ± 0,53	0,10 ± 0,00

Mezi další izotopy kovu, které nebylo možno v žádném z analyzovaných vín možno změřit, se řadí kadmium.



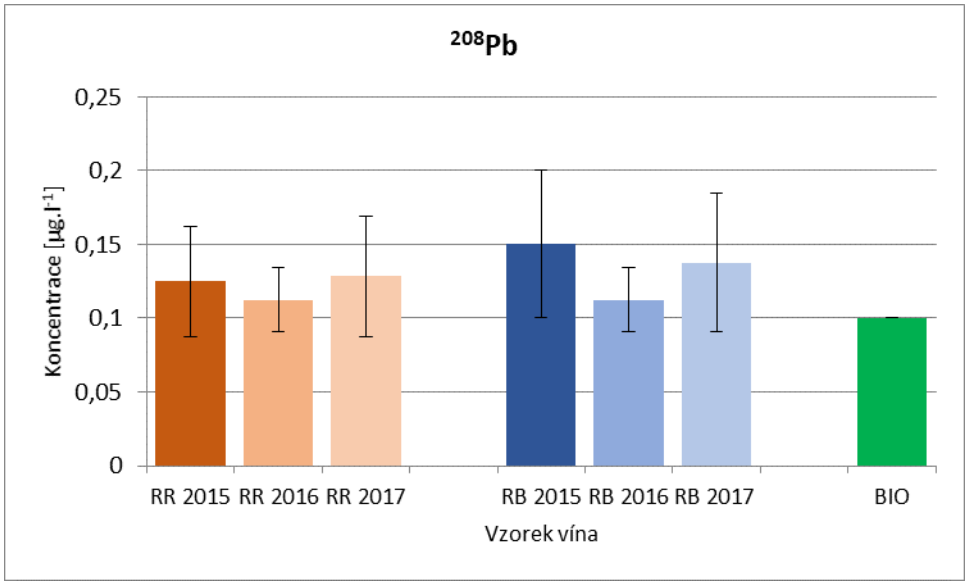
Obr. 21 – Naměřené koncentrace izotopu cínu ve vzorcích vín

Cín patří mezi kovy, které se v půdě vyskytují velmi vzácně a ve velmi malých koncentracích. Předpoklad, že koncentrace ve víně budou velmi nízké a mezi jednotlivými odrůdami nebude výrazný rozdíl je potvrzen, což lze vidět na obr. 21. Jako překvapivé se mi zdá, že v biovínu se objevují velmi podobné koncentrace jako u Ryzlinku rýnského a Rulandského bílého.



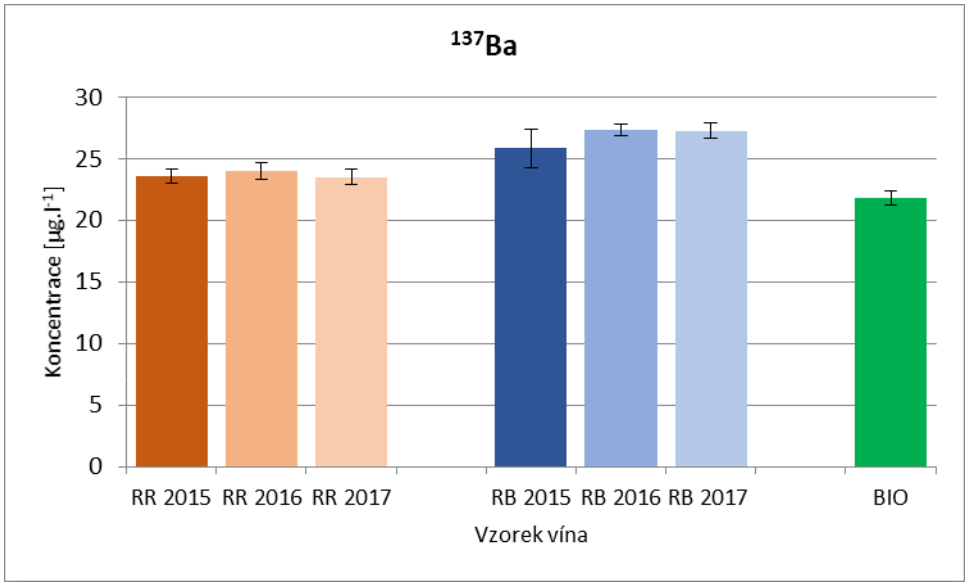
Obr. 22 – Naměřené koncentrace izotopu antimonu ve vzorcích vín

Z obr. 22 lze vidět, že je koncentrace antimonu podobná u všech tří odrůd vína. Zejména z chybových úseček u Ryzlinku rýnského je patrné, že nižší koncentrace u ročníku 2015 a 2017 mohla být zapříčiněna například znečištěním vzorku při samotné analýze a předpokládám, že koncentrace u těchto ročníků je téměř stejná jako u ročníku 2016.



Obr. 23 – Naměřené koncentrace izotopu olova ve vzorcích vín

Na obr. 23 je vyobrazena koncentrace olova ve stanovovaných vínech. Tento těžký kov je toxický a zvýšená koncentrace by mohla mít dopad na zdraví konzumenta. U žádného vína nebyl překročen limit stanoven legislativou a není se třeba obávat zdravotních rizik spojených s velmi nízkou koncentrací olova ve stanovovaných vínech.



Obr. 24 – Naměřené koncentrace izotopu barya ve vzorcích vín

Mezi jednotlivými odrůdami a ročníky analyzovaných vín není výrazný rozdíl koncentrací barya. Tento kov se běžně vyskytuje v přírodě ve velmi podobných koncentracích a nepředpokládám změnu koncentrace v dalších letech.

ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, do jaké míry má vliv použití pesticidů na koncentraci kovů ve víně. Z pohledu ochrany zdraví konzumenta je sledování koncentrace těžkých kovů, zejména kadmia, arsenu, rtuti či olova velmi důležité. Další kovy, jako je železo, měď či zinek, mají ve víně technologický význam a případné vyšší koncentrace by mohly způsobit vady vína, zejména kovové zákaly, změnu chuti a aroma. Proto doporučuji sledovat koncentraci i dalších kovů ve víně.

Pro samotnou analýzu vín byly vybrány odrůdy Ryzlink rýnský a Rulandské bílé, u kterých je znám druh a složení použitých chemických postřiků. Biovíno Malverina sloužilo pro porovnání a předpokladem bylo, že u tohoto vína budou koncentrace těžkých kovů nižší. Je totiž produktem ekologického zemědělství, což spočívá v minimalizaci hnojení a používání ochranných prostředků proti škůdcům.

V praktické části bylo nejdříve potřeba provést úpravu vzorku mikrovlnným rozkladem a následná analýza vín byla provedena na hmotnostním spektrometru s indukčně vázaným plazmatem.

Ve složení použitých pesticidů se vyskytoval hliník, zinek a měď. U všech těchto prvků bylo patrné, že užití pesticidů má vliv na zvýšenou koncentraci těchto prvků ve víně v porovnání s biovínem. V letech 2015 až 2017 nedošlo ke změně postřikového plánu, proto případné výkyvy v koncentracích kovů mohou být zapříčiněny například počasím či environmentálním znečištěním, nikoliv odlišnou aplikací pesticidů. Pozorovatelné je to zejména v roce 2016, kdy byla zvýšená koncentrace titanu a vápníku v porovnání s ročníky 2015 a 2017.

V budoucnu bych navrhovala několik dalších kroků. Ke snížení koncentrace mědi a některých dalších kovů ve víně by mohlo výrazně přispět zvýšení počtu čiření, které tyto kovy z vína odstraňuje. U koncentrací olova, titanu a vápníku nelze z grafu vyčíst, zda v bude v budoucnu koncentrace těchto prvků růst či klesat. Proto navrhuji tyto kovy i nadále sledovat.

Hořčík, hliník, vanad, chrom, mangan, nikl, železo, měď, rubidium, zinek a baryum měli v analyzovaných ročnících poměrně stabilní koncentrace. Tyto koncentrace tedy předpokládám i v dalších letech. Oproti tomu kadmium, arsen a selen nebylo možné detekovat, což hodnotím jako velmi příznivé. Tyto kovy nejsou ve vínech žádány.

Z hlediska biovína byla překvapivá zvýšená koncentrace cínu v porovnání s Ryzlinkem rýnským a Rulandským bílým. Podle mého názoru je to však dáno zejména odlišností odrůd a odlišným geologickým podložím. Z chybových úseček však lze předpokládat, že mohla být do výsledku zanesena určitá chyba a výsledek je spíše orientační.

Obecně lze shrnout, že většinový vliv na koncentraci kovů má zejména geologické podloží a vlastnosti jednotlivých odrůd, které jsou odlišné. Z dostupné literatury je známo, že výrazný vliv na koncentraci kovů ve víně má také mobilita a přístupnost prvku v půdě. Koncentrace prvků, které byly obsaženy v pesticidech, jsou vyšší než u biovína Malverina, aplikace postřiků má tedy také vliv na koncentraci kovů ve vínech. Žádná koncentrace kovů však nepřekročila limity určené legislativou, proto jsou tyto produkty pro člověka v tomto ohledu zdravotně bezpečné.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] JACKSON, Ronald S., 2008: *Wine science: principles, and applications*. Third edition. Burlington: Elsevier Academic Press. ISBN 978-0-12-373646-8. (s. 1).

[2] PAVLOUŠEK, P., 2011: *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3314-2. (s. 14-15, 64-80, 272-299).

[3] *Situační a výhledová zpráva*. *Réva vinná a víno.* 2017, Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky. ISBN 978-80-7434-407-7. [online]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/571061/SVZ_Vino_2017.pdf

[4] PAVLOUŠEK, P., 2010: *Výroba vín u malovinařů: 2., aktualizované a rozšířené vydání.* Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3487-3.

[5] FIC, V., 2015: *Víno: analýza, technologie, gastronomie*. Český Těšín: 2 THETA. ISBN 978-80-86380-77-3.

[6] KRAUS, V., FOFFOVÁ, Z. a WURM, B., 2005: *Nová encyklopedie českého a moravského vína, 1. díl*. Praha: Praga Mystica. ISBN 978-80-86767-00-0. (s. 174-175).

[7] STOZHKO, N. Yu., KOZITSINA, A.N., CHIAVARINI S., CREMISINI C., UBALDI C., 2007: *Determination of trace metals and pesticides in must during fermentation in a vinification process*. Italian Journal of Food Science n. 1, vol. 19 – 2007,

(s. 25-38).

[8] FLAMINI, R., TRALDI P., 2006: *Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part II: The consumer protection.* Mass Spectrometry Reviews, 25, WileyInterScience. (s. 741-774). [online]. Dostupné z:

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mas.20087/pdf

[9] ROCHA, G. H. O., LINI, R. S., BARBOSA, F., et al., 2015: *Exposure to heavy metals due to pesticide use by vineyardfarmers.* International Archives of Occupational and Environmental Health, 88 (7). DOI: 10.1007/s00420-014-1010-1. ISSN 0340-0131. (s. 875-880).

[10] DIVIŠ, P.: *Co nám mohou kovy říci o víně.* Chempoint, Vědci pro průmysl a praxi. [online]. Dostupné z: http://www.chempoint.cz/co-nam-mohou-kovy-rici-o-vine

[11] KRAUS, V. et al., 1999: *Réva a víno v Čechách a na Moravě. 1. vyd.* Praha: Radix. ISBN 80-86031-23-3.

[12] HAJDUČKOVÁ, I.: *Stanovení výskytu toxických prvků ve vínech,* Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Diplomová práce 2012/2013.

[13] SERAPINAS, P., VENSKUTONIS, P. R., ANINKEVIC, I. V., EZ ERINSKIS, Z. GALDIKAS, A., JUZIKIENE, V., 2008: *Step by step approach to multi-element data analysis in testing the prohnance of wine*, Food Chemistry 107. (s. 1652-1660).

[14] BLACKHURST, D., MARAIS, D., 2009: *The impact on health of heavy metals in wine.* UCT Faculty of Health Sciences. [online]. Dostupné z: http://www.wineland.co.za/the-impact-on-health-of-heavy-metals-in-wine/

[15] Agromanual.cz. Atlas: Choroby. [online]. Dostupné z:

https://www.agromanual.cz/cz/atlas/choroby/choroba/plisen-revova

[16] Agromanual.cz. Atlas: Škůdci. [online]. Dostupné z:

https://www.agromanual.cz/cz/atlas/skudci/skudce/msicka-revokaz

[17] Novinky.cz. Bydlení: Zahrada [online]. Dostupné z:

https://www.novinky.cz/bydleni/zahrada/201347-jarni-skudci-mohou-vazne-poskodit-vinnou-revu.html

[18] TLUSTOŠ, P, SZÁKOVÁ, J. et al., 2007: *Rizika kovů v půdě v agroekosystémech v ČR.* Vědecký výbor fytosanitární a životního prostředí. [online] Dostupné z: http://www.phytosanitary.org/projekty/2007/VVF_08_2007.pdf

[19] PETŘÍKOVÁ, V., USŤAK, S., ROTH, J., (1995): *Těžké kovy v půdách a zemědělských plodinách v pěti různě imisně zatížených lokalitách ČR*. Rostl. Výr., 41: (s. 17-23).

[20] KABATA-PENDIAS, A., PENDIAS, H., 2001: *Trace elements in soils and plants*. 3rd ed. BocaRaton, Fla.: CRC Press. ISBN 0849315751. (s. 432)

[21] SCHWARTZ, Ch., GÉRARD, E., PERRONNET, K., Jean Louis MOREL., 2001: *Measurement of in situ phytoextraction of zinc by spontaneous metallophytes growing on a former smelter site*. Science of The Total Environment. DOI: 10.1016/S0048-9697(01)00784-7. ISSN 00489697. (s. 215-221).

[22] PETRANGELI, P. M., MAJONE, M., ROLLE, E., 2001: *Kaolinite sorption of Cd, Ni and Cu from landfill leachates: influence of leachate composition.* Water Science. Technic., 44. (s. 343-350).

[23] MŮHLBACHOVÁ, G., TLUSTOŠ, P., 2006: *Effect of liming on the microbial biomass and its activities in soil long-term contaminated by toxic elements*. Plant Soil Environ., 52. (s. 345-352).

[24] HOMBURG V., BRŮMMER G., 1993: *Heavy metals in soils: 1. Experiments on heavy metal mobility.* Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd., 156. (s. 467-477).

[25] ADRIANO D. C., 2001: *Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals.* Second edition, Springer-Verlag, New York, 867.

[26] MARSCHNER H., RÖMHELD V., CAKMAK, I., 1996: *Root-Induced Changes in the Availability of Micronutrients in the Rhizosphere*. Journal of Plant Nutrition, vol. 10. DOI: 10.1080/01904168709363645. (s. 1175-1184).

[27] SEKK spol. s.r.o. Metrologická terminologie [online]. Dostupné z:

www.sekk.cz/terminologie/Text/Terminologie.htm

[28] MARSCHNER H., 1995: *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd ed. Accademic Press, London, 889.

[29] MIHALJEVIČ, M., STRNAD, L., ŠEBEK, O., 2004: *Využití hmotnostní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii*, Chemické listy 98, (s. 123-130).

[online] Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2151/2151

[30] OTRUBA, V. KANICKÝ, V., VACULOVIČ, T., VAŠINOVÁ GALIOVÁ, M., 2011: *6. Kurz ICP spektrometrie*. Masarykova univerzita. Spektroskopická společnost Jana Marka Marci [online] Dostupné z:
https://is.muni.cz/el/1431/podzim2011/C7080/um/SBORNIK11_KOMPLET_1.pdf

[31] THOMAS, R., 2007: *Practical guide to ICP – MS*, CRC Press, Boca Raton. ISBN: 0-8247-5319-4. [online] Dostupné z: http://algol.fis.uc.pt/jap/ICP-MS-Primer-Thomas.pdf

[32] AGILENT TECHNOLOGIES, ICP – MS, 2005 *Inductively coupled plasma mass spectrometry: A primer*, 5989–3526 EN.

[33] GRINDLAY, G., MORA, J., GRAS, L., DE LOOS-VOLLEBREGT, MT., 2011: *Atomic spektrometry methods for wine analysis: a critica levaluation and disoussion of recent applicationts*. University of Alicante, Spain.

[34] MESTEK, O., *Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem – pracovní text*, Vysoká škola chemicko – technologická v Praze, Ústav analytické chemie, Praha.

[35] GRINDLAY, G., MORA, J., 2011*: Atomic spektrometry methods for wine analysis*. Spain Univerzity of Alicane. [online] Dostupné z:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267011002753?via%3Dihub

[36] GONYALVEY, A., ARMENTA, S., PASTOR, M., 2008: *Searching the most appropriate sample pretreatment for the elemental analysis of wines by inductively coupled plasma-based techniques*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56, (s. 4943).

[37] GRINDLAY, G., MORA, J., MAESTRE, S., GRAS, L., 2008: *.Application of a microwave-based desolvation systém for multi-elemental analysis of wine by inductively coupled plasma based techniques.* Analytica Chimica Acta 629, DOI: 10.1016/j.aca.2008.09.023. ISSN 00032670. (s. 24-37). [online]. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267008016127

[38] STOZHKO, N. YU., KOZITSINA, A. N., CHIAVARINY, S. et. al. , 2007: *Determination of trace metals and pesticides in must during fermentation in a vinification process*. Italian Journal of Food Science. n. 1, vol. 19. (s. 25-38).

[39] STEIDL, R. 2002. Sklepní hospodářství, Národní salón vín. ISBN 80-903201-0-4.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

RF	Radiofrekvenční
ICP – MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
FAAS	Plamenová atomová absorpční spektrometrie
GFAAS	Atomová absorpční spektrometrie s grafitovou pecí
ICP – OES	Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
GC – MS	Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí
PE	Polyethylen
MD	Mez detekce
ppb	Parts per billion
RR 2015	Ryzlink rýnský; ročník 2015
RR 2016	Ryzlink rýnský; ročník 2016
RR 2017	Ryzlink rýnský; ročník 2017
RB 2015	Rulandské bílé; ročník 2015
RB 2016	Rulandské bílé; ročník 2016
RB 2017	Rulandské bílé; ročník 2017
BIO	Biovíno Malverina

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 – Plíseň révová – poškození hroznu **[15]** 20
Obr. 2 – Mšička révokaz – listová forma **[16]** 21
Obr. 3 – Kadeřavost způsobena hálčivcem révovým **[17]** 22
Obr. 4 – Schéma hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem **[29]** 28
Obr. 5 – Metody předběžné úpravy vzorků používané k zmírnění interferencí v různých technikách spektrometrie. **[35]** 36
Obr. 6 – Vinice Mařatice 41
Obr. 7 – Vinice Polešovice 41
Obr. 8 – Naměřené koncentrace izotopu hořčíku ve vzorcích vín 49
Obr. 9 – Naměřené koncentrace izotopu hliníku ve vzorcích vín 49
Obr. 10 – Naměřené koncentrace izotopu vápníku ve vzorcích vín 50
Obr. 11 – Naměřené koncentrace izotopu titanu ve vzorcích vín 51
Obr. 12 – Naměřené koncentrace izotopu vanadu ve vzorcích vín 51
Obr. 13 – Naměřené koncentrace izotopu chromu ve vzorcích vín 52
Obr. 14 – Naměřené koncentrace izotopu manganu ve vzorcích vín 53
Obr. 15 – Naměřené koncentrace izotopu železa ve vzorcích vín 53
Obr. 16 – Naměřené koncentrace izotopu niklu ve vzorcích vín 54
Obr. 17 – Naměřené koncentrace izotopu mědi ve vzorcích vín 54
Obr. 18 – Naměřené koncentrace izotopu zinku ve vzorcích vín 56
Obr. 19 – Naměřené koncentrace izotopu rubidia ve vzorcích vín 56
Obr. 20 – Naměřené koncentrace izotopu molybdenu ve vzorcích vín 57
Obr. 21 – Naměřené koncentrace izotopu cínu ve vzorcích vín 58
Obr. 22 – Naměřené koncentrace izotopu antimonu ve vzorcích vín 59
Obr. 23 – Naměřené koncentrace izotopu olova ve vzorcích vín 59
Obr. 24 – Naměřené koncentrace izotopu barya ve vzorcích vín 60

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 – Obsah jednotlivých skupin fenolických látek ve vínech **[4]** 16
Tab. 2 – Vliv půdních podmínek na přístupnost prvků **[20]** 25
Tab. 3 – Příklady polyatomických interferencí **[31]** 31
Tab. 4 – Příklady prvků, které se snadno tvoří oxidy, hydroxidy, hydridy a dvojnásobně nabité ionty v plazmě společně s analyty ovlivněnými rušením **[31]** 33
Tab. 5 – Fungicidy, použité k ochraně révy vinné u odrůd Rulandské bíle a Ryzlink rýnský 42
Tab. 6 – Přehled měřených kovových prvků 44
Tab. 7 – Parametry ThermoScientificiCAP Q ICP – MS 45
Tab. 8 – Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích vína 48
Tab. 9 – Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích vína 52
Tab. 10 – Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích vína 55
Tab. 11 – Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích vína 57