

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,
Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů

Stanovení obsahu rtuti v materiálech z jednotlivých fází výroby vína, geochemie rtuti na vinici

Determination of mercury content in materials in various stages of wine production, geochemistry of mercury in the vineyard

Diplomová práce

Bc. Jana Buchtová



Praha 2011

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně pod vedením svého školitele Prof. RNDr. Martina Mihaljeviče, CSc. a externího školitele Mgr. Jana Rohovce, Ph.D.

Veškeré použité prameny jsou citovány v textu a uvedeny v seznamu použité literatury.

V Praze 20.4. 2011

Jana Buchtová

Poděkování

Můj největší dík patří Mgr. Janu Rohovcovi, PhD., bez jehož cenných rad, nápadů a velké trpělivosti by tato práce snad ani nebyla.

Prof. RNDr. Martinu Mihaljevičovi, CSc. děkuji, že mě vůbec přitáhnul k tomuto oboru a že mi přidělil tuto práci.

Paní vinařce Kateřině Kafkové a panu vinaři Zdeňku Vybíralovi děkuji za ochotu spolupracovat na diplomové práci, za jejich pomoc a rady. Panu Míru Sábovi za poskytnutí seznamu velkého množství kontaktů na vinaře, bez kterého bych tápala.

Ráda bych poděkovala paní Lence Jílkové a Ing. Věře Vonáskové za pomoc, rady a pohodu.

Prof. RNDr. Josefu Komárkovi, DrSc. chci poděkovat za názory k stanovení rtuti v této práci. RNDr. Tomáši Navrátilovi, PhD. za rady a pomoc, kdykoli jsme potřebovala.

Děkuji svým rodičům ,kteří mě podporovali a pomáhali, i když jim samým nebylo nejlépe. Pavlu Hronovi, kterými mi pomáhal s krásnými obrázky, za podporu a pochopení mých špatných nálad v době psaní. Terce Novákové za velkou pomoc a fandění. Jí a mým dalším kamarádkám děkuji, že mi drželi palce.

Abstrakt

Práce je zaměřena na mobilitu rtuti ve vinici a na sledování obsahu rtuti v materiálech z jednotlivých fází výroby vína. Analyzovány byly vzorky půdy, biomasy, réví (jednoleté dřevo), listů, neporušených bobulí hroznů, hroznů vylisovaných, kaly moštu a vína a čtyři vzorky z výroby bílého vína. Vzorky pocházejí z oblastí Malých Žernosek a Rudoltic nad Bílinou, popř. kapalně vzorky z Chrámců u Mostu, v severních Čechách. Cílem bylo stanovit a vyhodnotit změny obsahů rtuti v prostředí vinice a v průběhu výroby vína. S tím souviselo najít vhodnou analytickou metodu pro stanovení rtuti ve víně a jeho fázích. Pro stanovení rtuti v pevných vzorcích byl využit jednoúčelový analyzátor AMA 254, pracující na principu sledování absorpce UV záření studenými parami rtuti. Kapalně vzorky byly nejprve připravovány na analýzu pomocí přístroje PSA Millenium Systém, pracujícímu na principu fluorescence studených par rtuti. Tento analytický přístup však nebyl použitelný. Proto byla rtuť z kapalných vzorků nejprve zachycena na pozlacený amalgamátor, a následně stanoven obsah rtuti analyzátozem AMA 254. Výsledky obsahů rtuti u půdy a biomasy prokázaly přednostní zachycení rtuti na organickou hmotu. Rostlina révy vinné potvrdila zachycení rtuti především na listech a slupkách bobulí. Obsah rtuti na celých bobulích z Rudoltic u Mostu byl 0,0022 mg/kg sušiny, obsah rtuti ve vylisovaných bobulích 0,0068 mg/kg sušiny. Vzorky z výroby vín obsahovaly nejméně rtuti po vylisování a vyčištění moštu. Hotové víno obsahovalo méně rtuti než víno surové, ale více než mošty. Nefiltrovaný mošt z Chrámců u Mostu obsahoval 0,05 ng Hg/100 ml, hotové víno 1,04 ng Hg/100 ml. Vzorky nefiltrovaného moštu z Malých Žernosek obsahovaly 0,42 ng Hg/100 ml, hotové víno 1,32 ng Hg/100 ml. Kaly prokazovaly značné zachycení rtuti. V Chrámcích u Mostu byl naměřen obsah rtuti v kalu moštu 2,49 mg/kg sušiny a v kalu vína 1,58 mg/kg sušiny.

Summary

This work was focused on determination of mobility of mercury and its content in materials from each part of the wine production process. The aim of this work was to establish the most suitable analytical method for determination and evaluation of changes in content of mercury during the production process.

Samples of soil, biomass, vine wood, vine leaves, berries, grapes, rough wine and cider sediment of red wine and also four liquid samples of white wine were analyzed. All the samples originated from the area of Malé Žernoseky and Rudoltice nad Bílinou, white wine samples were collected in Chrámce u Mostu in the northern part of the Czech Republic.

Analyzer AMA 254 was used for determination of mercury in solid samples and liquid samples had to be prearranged by PSA analyzer. This analytical approach was not so sufficient and mercury from liquid samples had to be captured by gold-coated amalgamator in first step and then analyzed by AMA 254.

Obtained results confirmed interception of mercury mostly in leaves and in the grapes peelings.

The grapes from Rudoltice contained 0,0022 mg/kg in dry mass and further processed wine grapes contained 0,0068 mg/kg in dry mass. The lowest content of mercury was in cider and completed wine contained less mercury then the rough wine. Unfiltrated cider from Chrámce has content of mercury 0,05 ng Hg/100 ml and completed wine contained 1,04 ng Hg/100 ml. Unfiltrated cider from Malé Žernoseky contained 0,42 ng Hg/100 ml and completed wine has content of mercury 1,04 ng Hg/100 ml. Considerable amount of mercury was also measured in cider and wine sediments. In samples of cider sediment from Chrámce was content of mercury 2,49 mg/kg in dry mass and in the wine sediment 1,58 mg/kg in dry mass was measured.

Obsah	
1. ÚVOD	1
1.1. Charakteristika rtuti, rtuť a environmentální chování	2
1.1.1. Přehled chemických a fyzikálních vlastností	2
1.1.2. Distribuce rtuti v životním prostředí	3
1.1.3. Biologické účinky rtuti a jejích sloučenin	5
1.1.4. Specie rtuti	6
1.2. Mošt a víno	8
1.2.1. Složení moštu a vína	8
1.2.2. Výroba moštu a vína	10
1.3. Analytické metody stanovení rtuti	16
1.4. Legislativa obsahů rtuti	19
2. CÍL PRÁCE	22
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	22
3.1. Lokality	22
3.1.1. Rudoltice – vinařství Chrámce u Mostu	22
3.1.2. Malé Žernoseky	23
3.2. Metodika odběru a práce se vzorky	24
3.2.1. Pevné vzorky	24
3.2.2. Kapalné vzorky	25
3.3. Analytická část	25
3.3.1. Použité přístroje	25
3.3.2. Pevné vzorky	27
3.3.3. Kapalné vzorky	27
4. VÝSLEDKY	32
4.1. Pevné vzorky	33
4.2. Kapalné vzorky	37
5. DISKUSE	40

6. ZÁVĚR	52
7. POUŽITÁ LITERATURA	53
PŘÍLOHY	

1. ÚVOD

Rtuť je přirozeně se vyskytující prvek, který je možné nalézt ve všech složkách životního prostředí. Antropogenní činnosti, jako jsou spalování uhlí či využití rtuti k výrobě některých produktů, však mají za následek zvyšování výskytu tohoto prvku (EPA 2010).

Rtuť je prvek, který člověka provází od dávné minulosti. Zmiňuje se o ní starověká literatura orientální i římská (Greenwood, Earnshaw 1993). Lidé dříve netušili, jak nebezpečná rtuť je. V medicíně byla využívána od doby již před 3000 lety. Používala se na léčbu syfilis a různých kožních onemocnění. V roce 1881 byl dokázán antiseptický účinek HgCl_2 . V období 1900 – 1920 byla využívána jako diuretikum a chemoterapikum. A i když už byly známy její toxické účinky, byla ještě dlouho využívána jako farmaceutikum (Burg, Greenwood 1991). Jako anorganické sloučeniny se nejvíce používal sublimát HgCl_2 , a to v přípravcích na impregnaci dřeva, ve fotografickém odvětví, na moření obilí nebo jako součást jedů hubící hlodavce. HgCl_2 se společně s podvojnou sloučeninou $\text{Hg}(\text{CN})_2$ používal jako antiseptický prostředek. Arylsloučeniny (organické sloučeniny) rtuti mají fungicidní, herbicidní a baktericidní účinek (IRZ 2011). Dříve se také používala tzv. rtuťová mast na desinfekci puchýřů nebo při léčbě syfilis (Wood 1867). Dnes ji lze nalézt na internetu jako prostředek proti hmyzu nebo na odstranění pigmentových skvrn.

Celosvětově známá otrava rtutí, která rozpoutala diskuse o nebezpečí rtuti, je bezesporu případ Minamata v Japonsku. V roce 1952 bylo zaznamenáno 116 případů (z toho 43 smrtelných) otravy dimethylrtutí z ryb, které byly kontaminovány kapalnými odpady obsahujícími rtuťnaté soli. Ty byly vypouštěny z místní chemické továrny (Greenwood, Earnshaw 1993). Mezi další otravy rtutí patří otravy moukou, která byla namleta z obilí, které bylo šetřeno chemickými přípravky obsahující organické sloučeniny rtuti. Tyto případy se staly v Iráku (1961), Pákistánu (1963) a Guatemale (1966). Případ z nedávné minulosti, kdy byla zaznamenána otrava rtutí, se stal na mexicko-americké hranici od září 1995 do května 1996. Kosmetický krém obsahoval jako jednu z ingrediencí kalomel (Hg_2Cl_2), který byl příčinou otravy (Arnika 2010).

Stejně jako rtuť, tak i víno patří k historii lidstva. Plané révy, rodící plodenství podobná hroznům, existovaly dokonce dříve než člověk. O tom svědčí zkamenělé pecičky, staré 60 miliónu let. Nejstarší známka vína pochází z Gruzie. Zde byly nalezeny zbytky hliněných džbánů zdobených reliéfy hroznů pocházejících z doby kolem roku 6000 př.n.l.. Důkazy, že lidé uměli vyrábět víno už v raných dobách, existují mezi Eufратem a Tigridem, na Jižním Kavkaze, na Nilu a později i v Palestině (Priewe 2003).

1.1. Charakteristika rtuti, rtuť a environmentální chování

1.1.1. Přehled chemických a fyzikálních vlastností

Rtuť je těžký, stříbrně bílý, třpytivý kov, který je za běžných podmínek kapalný. V Tab. 1. jsou uvedeny některé vlastnosti tohoto prvku.

Tab. 1. Některé vlastnosti rtuti (Greenwood, Earnshaw 1993).

Vlastnost	Hg
atomové číslo	80
počet přírodních izotopů	7
$E^\circ (M^{2+}/M)/V$	0,8545
teplota tání/ $^\circ C$	-38,9
teplota varu/ $^\circ C$	357
$\Delta H_{tav}/kJ.mol^{-1}$	2,30 ($\pm 0,02$)
$\Delta H_{vyp}/kJ.mol^{-1}$	59,1 ($\pm 0,4$)
hustota (25 $^\circ C$)/ $g.cm^{-3}$	13,534(1)

Atomové číslo tohoto prvku v periodické soustavě prvků je 80, společně s kadmíem a zinkem patří do skupiny zinku. Teplota tání je $-38,83^\circ C$ teplota varu $356,73^\circ C$, to znamená, že za běžné teploty je kapalný kov a má vysokou tenzi par nad povrchem. Standardní elektronový potenciál $E^\circ (V)$ je + 0,8, což ukazuje na ušlechtilý prvek s tendencí redukce na kov (Greenwood, Earnshaw 1993). Není příliš dobrým vodičem tepla, ale je velice dobrým elektrickým vodičem. Má sedm stabilních izotopů s následujícím procentuelním zastoupením: ^{195}Hg (0,15%), ^{198}Hg (10,1%), ^{199}Hg (17,0%), ^{200}Hg (23,3%), ^{201}Hg (13,2%), ^{202}Hg (29,6%), a ^{204}Hg (6,7%). Jeho vysoká těkavost roste se zvyšující se teplotou. Existují tři stabilní oxidační stavy rtuti: elementární rtuť(0), oxid rtuťný (I) a rtuťnatý (II). Vlastnosti a chování rtuti závisí na oxidačním stavu (Adriano 2001, IRZ 2011). Význačnou vlastností dvojmocné rtuti je tvorba početných, většinou dosti stálých komplexů. Nejčastěji tvoří komplexy s halogenidy, kyanidy a amoniakem (Simon, Doležal 1989).

Rtuť může tvořit s různými kovy amalgámy. Jsou to kapalné nebo pevné slitiny rtuti s některými kovy. Některé amalgámy jsou krystalické (např. $NaHg_2$, $NaHg$, $BaHg_{13}$, $BaHg_{12}$, Ag_3Hg_4 a Ag_2Hg_4 , Au_8Hg , Au_2Hg_3 , $AuHg_2$). Amalgámy se také využívají v organické chemii jako redukční činidla, např. amalgamy sodíku a zinku (Fara 2004). S prvky jako jsou sodík, draslík, stříbro, zlato, zinek, kadmium, cín a olovem tvoří rtuť amalgám snadno a rychle. S mědí jen v případě, je-li měď jemně rozptýlena. Mezi prvky, s kterými netvoří rtuť amalgámy vůbec patří mangan, železo, kobalt a nikl. Z chemického hlediska odpovídá povaha amalgámů zcela povaze slitin ostatních kovů. Zčásti to jsou jednoduché roztoky příslušných kovů ve rtuti. Ty mohou být podle teploty kapalné nebo tuhé. Často ale vznikají chemické sloučeniny. Rtuť tvoří

četné sloučeniny hlavně s prvky první skupiny periodické soustavy. V mnoha důležitých amalgámech se však netvoří sloučeniny, ale jen směsi, např. v amalgámech zinku a kadmia (Remy 1971).

Významnou vlastností rtuťnatých a rtuťných solí je jejich těkavost, která vzniká i za nepříliš vysokých teplot jak ukazuje Tab.2.

Tab. 2. Tenze par rtuti nad kapalinou v jednotkách Torr (Remy 1971).

0 °C	20 °C	100 °C
$2,1 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-3}$	$2,79 \cdot 10^{-1}$

Toto se týká hlavně halogenidů a nerozpustných solí, nebo také těch, které nejsou disociovány ve vodných roztocích. Pokud převedeme sloučeniny rtuti na těkavé, lze je poměrně lehce odstranit zahříváním. Kovová rtuť také snadno těká, a to již při mírném zahřátí. Tímto způsobem ji lze ze vzorku oddestilovat a odstranit nebo zachytit v podobě amalgámu se zlatem. Tímto způsobem je možné provést kvalitativní i kvantitativní analýzu (Simon, Doležal 1989).

1.1.2. Distribuce rtuti v přírodním prostředí

Rtuť vstupuje do atmosféry z přírodních a antropogenních zdrojů (Obr. 1.). Přírodní emise rtuti pochází především z emanace minerálů, vulkanické aktivity, mořského aerosolu a lesních požárů. Většina atmosférické rtuti však pravděpodobně pochází z antropogenních zdrojů (Wängberg a kol. 2007). Hlavními antropogenními zdroji rtuti jsou spalování fosilních paliv, spalování odpadů, těžba nerostných surovin obsahující rtuť, těžba zlata, výroba cementu a vápna, výroba železa a oceli a chemické výrobní procesy, např. výroba chloru, zubní amalgámy. Podíl na emisích rtuti má také přímé vypouštění výfukových plynů a odpadních vod obsahujících rtuť (Brandt a kol 2005, Pacyna a kol. 2010).

V atmosféře se rtuť nachází ve třech formách: plynné elementární rtuti (*GEM – Gas Elemental Mercury*), plynné dvojmocné sloučeniny Hg^{2+} (*RGM – Reactive Gaseous Mercury*) související s pevnými částicemi a částice rtuti (*PM – Particles of Mercury*). Tyto tři různé formy mají rozdílné chování v atmosféře a délku existence. GEM jsou stabilní v rozmezí 0,5-2 roky, a proto je schopen distribuce v celosvětovém měřítku. RGM a PM jsou distribuovány spíše v regionálním měřítku suchou nebo mokrou cestou (Wängberg a kol. 2005).

Rtuť se z atmosféry dostává na zem ve srážkách, v prachu nebo vzdušnou depozicí. Rtuť pak může být dále transportována do vodních ekosystémů – řek, jezer, ústí řek atd., kde může být mikrobiologickou činností převedena na formu methylrtuti. Tato forma rtuti se ukládá v rybách

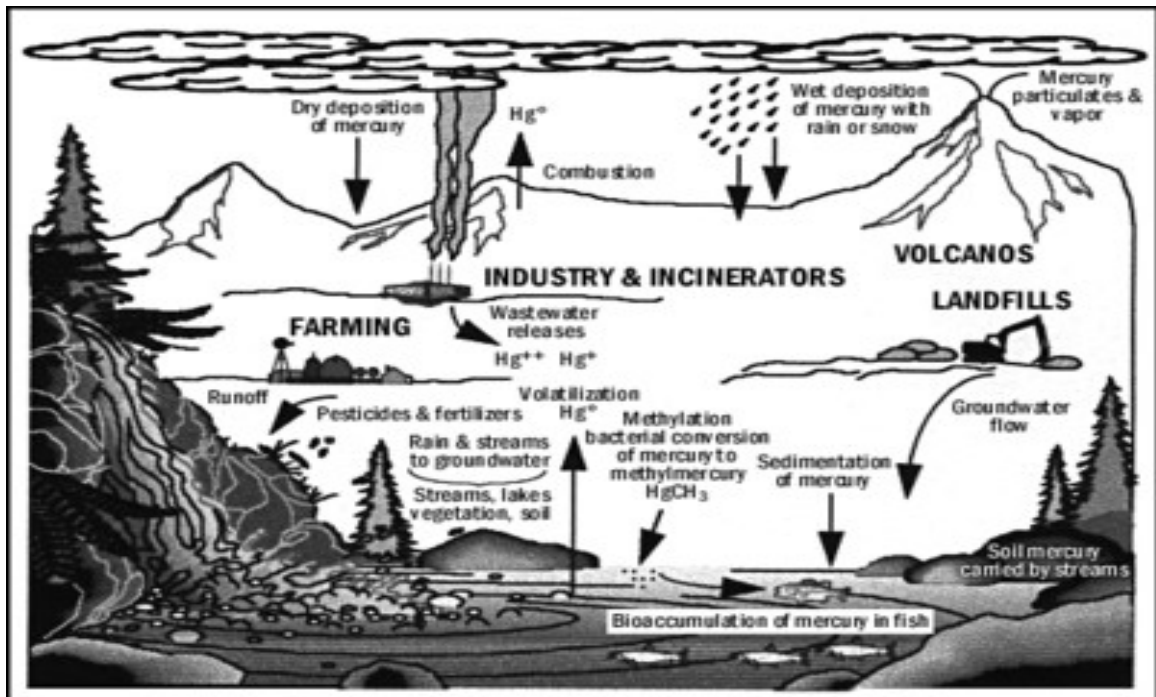
a dostává se tak do potravního řetězce živočichů (EPA 2010). Velký vliv na koncentraci rtuti ve vodním ekosystému má koncentrace rozpuštěného uhlíku (DOC) a pH. Snížení pH, tzn. zvýšení kyselosti prostředí a/nebo zvýšení DOC zvyšuje náchylnost ryb vůči rtuti. Vyšší obsah kyselin DOC tedy pravděpodobně zvyšuje mobilitu rtuti v prostředí (U.S. Geological Survey 1997).

Rtuť může být dále transportována říčními systémy, ve vodném roztoku a následně uložena v sedimentech. Uražená vzdálenost může být různá. Pokud je rtuť nesena v částicích, je vzdálenost přenosu omezená sedimentací, zejména v jezerech a nádržích, kde dochází k zvýšené sedimentaci (Environment Canada 2010). Fara (2004) uvádí ve své práci, že akumulací koeficient celkové rtuti při přechodu z vod do sedimentů je přibližně 10^4 . Dále je obsah rtuti v sedimentu závislý nejen na stupni zatížení lokality, ale i na charakteru sedimentu. Anaerobní bakterie, které se vyskytují v sedimentech mořského dna nebo dna jezer, mají schopnost methylovat anorganické sloučeniny rtuti. Rtuť se pak koncentruje v planktonu a vstupuje do potravního řetězce ryb (Greenwood, Earnshaw 1993).

Zemská kůra obsahuje v průměru 50 ppb rtuti, a to hlavně ve formě sulfidů (Adriano 2001). Burg a Greenwood (1991) uvádí pro zemskou kůru hodnoty 0,1-0,3 mg/kg. Dále pro zemské jádro množství menší než 0,04 %. Rtuť se nalézá se ve všech typech hornin. Většina vyvřelých hornin obsahuje <200 ppb rtuti, stejný obsah mívají také sedimentární horniny. Přesto sedimentární horniny více inklinují k vyššímu obsahu rtuti než horniny vyvřelé (Adriano 2001). Rtuť má své zastoupení v několika ložiskotvorných minerálech a typech rud. Jsou to ryzí rtuť (cca 100% Hg), cinabarit a metacinabarit – HgS (86,2% Hg), schwazit – Hg-tetraedrit (až 17% Hg), livingstonit – HgSb₄S₈ (22% Hg), corderoit – Hg₃S₂Cl₂ (82% Hg), kalomel – Hg₂Cl₂ (85% Hg) (Havelka 1989).

Mezi různými složkami životního prostředí působí půda jako lapač rtuti atmosférických depozic, znečištěných vod, odpadů, atd. (Terzano a kol. 2010). Hg (II) podléhá v půdě řadě chemických a biologických reakcí. Půdní podmínky (pH, teplota, obsah organické hmoty a další) jsou příznivé pro tvorbu anorganických Hg (II) sloučenin, jako HgCl₂ a anorganických Hg (II) sloučenin tvořících komplexy s organickými aniony (Schuster 1991). U půd se očekává, že budou obsahovat méně než 100 ppb rtuti (Adriano 2001). Na obsah rtuti v půdě mají vliv i neogenní procesy matečného materiálu (Chen a kol. 1991). Obecně lze říci o distribuci rtuti v půdním profilu, že pod povrchovou vrstvou je rtuť poměrně mobilní v profilu a má tendenci se hromadit především v povrchových horizontech. Tento kov se v půdě velmi rád váže na organickou hmotu nebo na jílovou složku obsaženou v půdním horizontu (Adriano 2001). Komplexy Hg (II) a methylrtuti v půdě jsou k dispozici rostlinám a tak se může rtuť dostávat do potravního řetězce. Ve skutečnosti je však obsah rtuti v rostlinách, zejména ve svrchní části, zanedbatelný (Schuster 1991, Lindqvist a kol. 1991). Mosbaek a kol. (1988) uvádí, že

atmosférický příspěvek celkového obsahu rtuti přechází z 90-95 % do listů a 30-60 % do kořenů.



Obr. 1. Cyklus rtuti (North Carolina Department of Environment and Natural Resources 2011).

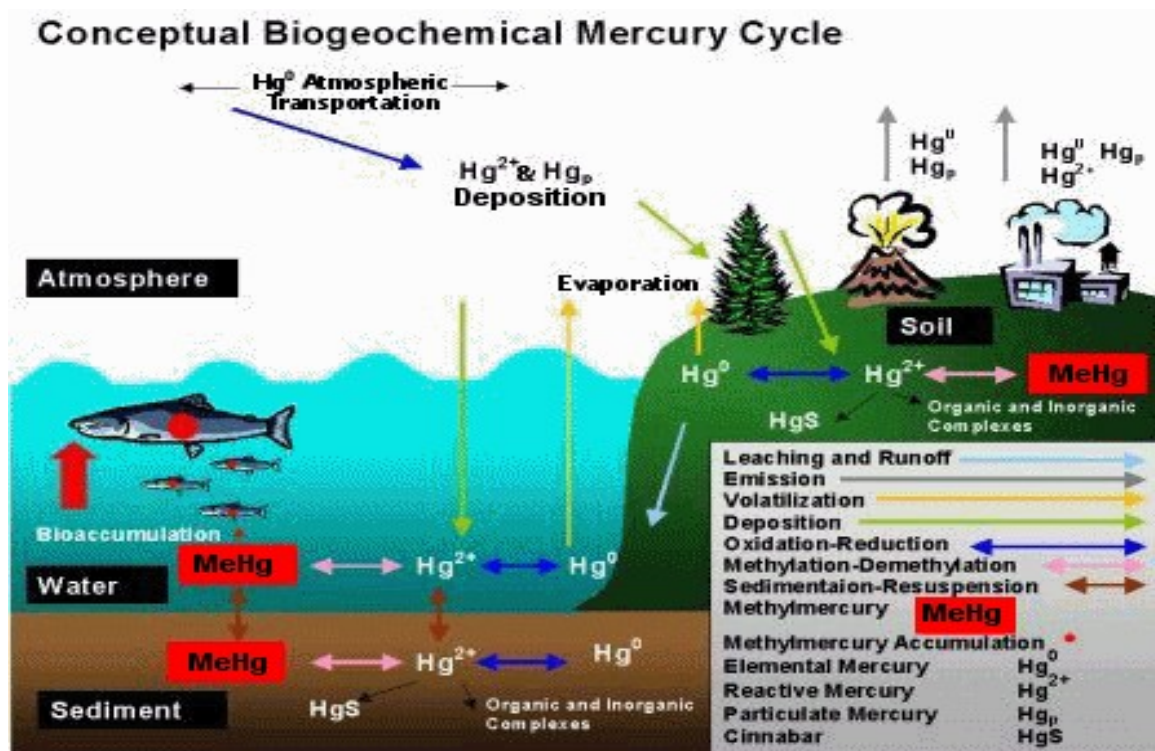
1.1.3 Biologické účinky rtuti a jejich sloučenin

Kontaminace rtutí v životním prostředí představuje vážné ohrožení pro organismy živočichů i rostlin. Má schopnost ničit či poškodit struktury bílkovin v buňkách (Arnika 2010). Toxicita je závislá na způsobu, jakým se rtuť do organismu dostává (požitím, inhalací nebo difúzí pokožkou), a na formě, ve které je organismem přijata. Rtuť je na rozdíl od jiných prvků jedovatá i v atomární podobě. Nejčastěji příčinou otravy je inhalační expozice parám rtuti. Souvisí to s vysokou tensí par rtuti nad povrchem. Je dobře vstřebatelná i kůží. Orální expozice není příliš závažná. V zažívacím traktu je rtuť jen špatně absorbovatelná. Všechny rozpustné sloučeniny rtuti jsou velmi nebezpečné. Toxické projevy sloučenin, nebo i samotné rtuti závisí na typu a formě sloučeniny a na způsobu aplikace. Sulfid rtuťnatý (rumělka) a chlorid rtuťný (kalomel) jsou poměrně málo toxické. Pokud však dochází k chronickému působení a kumulaci sulfidu v organismu, dochází časem k jeho přeměně na toxičtější sloučeniny. Nejčastěji však dochází k akutní expozici, nejznámější je otrava chloridem rtuťnatým (sublimát). Smrtelná dávka pro člověka je 0,2 až 1 gram. Lokálně soli rtuti leptají a dráždí (Tichý 2003). Nejnebezpečnější pro lidský organismus jsou organické sloučeniny rtuti, především dimethylrtuť. Velmi dobře se akumulují v organismech a následně se přenášejí potravním řetězcem. Nejvýznamnějším zdrojem jejich příjmu je tedy strava, hlavně pak ryby, mořské

plody, vnitřnosti živočichů či zemědělské plodiny z oblastí zamořených sloučeninami rtuti. Je uváděno, že smrtelná dávka dimethylrtuti je 0,1 ml (Arnika 2010).

1.1.4. Specie rtuti

Základní specie rtuti, které se nejčastěji vyskytují v přírodě a jsou běžně známé z literatury, jsou uvedeny na Obr.2.



Obr. 2. Cyklus rtuti (Environment Canada 2011).

Běžné anorganické specie rtuti jsou Hg^0 a Hg^{2+} . Ty mohou být následnými procesy methylace a demethylace přeměněny na organokovové specie $MeHg^+$ a Me_2Hg .

1) Elementární rtuť Hg^0

Jak bylo uvedeno dříve, elementární (kovová) rtuť je při pokojové teplotě kapalný prvek, s výraznou tensí par nad kapalinou. Proto se také v podobě kapaliny v přírodě vůbec nevyskytuje, prakticky výhradní formou výskytu elementární rtuti jsou rtuťové páry (elementární rtuť ve skupenství plynném) (GreenFacts 2004). Satureovaná atmosféra při 24°C obsahuje přibližně 18 mg/m³ této formy rtuti (Burg 1991).

2) Anorganické formy rtuti

Neboli také soli rtuti jsou látky, které se běžně v přírodě vyskytují (sulfid rtuťnatý HgS , oxid rtuťnatý HgO nebo chlorid rtuťnatý $HgCl_2$). Existují v iontové formě jako Hg^{2+} a Hg^+ . Tyto

formy tvoří komplexy s organickými ligandy, především s merkaptoskupinami (-SH), a také s anorganickými ligandy (1) (Greenwood, Earnshaw 1993).



Většinou se vyskytují ve formě krystalků nebo prášku kromě HgS. Ten je červený a po vystavení světlu zčerná. Některé anorganické formy rtuti tvoří páry (např. HgCl₂), ale nemají ve vzduchu tak dlouhou dobu zadržení jako elementární rtuť. Tyto formy rtuti jsou více rozpustné ve vodě a více reaktivní než elementární rtuť (GreenFacts 2004, Burg, Greenwood 1991).

3) Organické formy rtuti

Tyto formy rtuti tvoří nejrůznější chemické struktury v kovalentní vazbě s uhlíkem. Pro tyto formy rtuti jsou vymezeny skupiny: sloučeniny alkylrtuťnaté R-Hg⁺ (R=CH₃ methyl, C₂H₅ ethyl), skupina sloučenin arylrtuťnatých Ar-Hg⁺ (Ar=fenyl) a skupina alkoxyalkylových rtuťová diuretik. V přírodě se nejvíce objevuje forma CH₃Hg⁺ (kation methylrtuťnatý, označovaný často jako methylrtuť). Organické kationy rtuti RHg⁺ tvoří soli s anorganickými a organickými kyselinami, například s chloridy a octany. Ochotně reagují s biologicky důležitými ligandy, a to především se merkapto skupinou (sulfylohydroxylová skupina) (2).



Produkty reakce lehce procházejí biologickými membránami. Hlavním rozdílem mezi různými organickými kationy rtuti je stabilita vazeb mezi uhlíkem a rtutí v organismu. Z tohoto důvodu jsou RHg⁺ formy více odolné biodegradaci než arylrtuťnaté nebo alkoxyalkylové formy (Burg, Greenwood 1991).

Rtuť se snaží tvořit kovalentní vazby, a proto poskytuje mnoho sloučenin organokovového obecného typu R₂Hg a RHgX. Ty jsou stále ve vzduchu i vodním prostředí. Stabilita sloučenin rtuti je důsledkem nízké afinity rtuti ke kyslíku; nejedná se tedy o důsledek silných vazeb. Sloučeniny RHgX jsou krystalické látky, jejichž vlastnosti jsou odvozené od povahy X. Pokud je X atom nebo skupina schopná tvořit se rtutí kovalentní vazby (např. Cl, Br, I, CN, SCN, OH) vzniká kovalentní nepolární látka, která je více rozpustná v organických rozpouštědlech než ve vodě. Je-li X síranový nebo dusičnanový iont, vznikne látka solného charakteru a většinou zcela iontová.

Iontové sloučeniny dvojmocné rtuti jako jsou dusičnany, sírany a chloristany jsou ve vodném roztoku disociovány. Hydroxid rtuťnatý je velmi slabá zásada, a proto mají roztoky těchto solí sklon k hydrolyze. Aby byly stále, musí být okyseleny (Fara 2004).

1.2. Mošt a víno

Jedním z hlavních cílů předkládané práce je sledování obsahu rtuti v moštích a víně. Pro tuto práci byly využity vzorky bílých a červených vín. Červené lahvové víno společně s lahvovým vínem bílých bylo využito pouze k pokusům před hlavním měřením, jejichž cílem bylo ověřit metodiku stanovení rtuti v těchto typech materiálů, zvláště s ohledem na vliv matrice. Pro stanovení rtuti v jednotlivých fázích výroby vína byly použity vzorky bílých vín odebraných vinaři.

Samotná výroba začíná přijetím hroznů do sklepa a končí stáčením prokvašeného vína (Priewe 2003). Samozřejmě, že aby vzniklo kvalitní víno, musí začít kvalitní práce už na vinici (Global wines 2009). Podle vína a způsobu kvašení trvá proces tvorby vína od jednoho týdne do tří měsíců. Většinou to bývá 10 až 15 dnů. Zatímco lehké červené víno může být nakvašené již za čtyři dny, víno bílé může kvasit tři až pět týdnů. Ušlechtilému bílému víno to může trvat až tři měsíce. Rychlost kvašení určuje teplota v kvasírně. Čím je vyšší teplota, tím kvašení probíhá rychleji (Priewe 2003). Výroba réвовého vína je proces složitý, proto zde uvádíme pro přehled jednotlivé kroky. Na začátku musí být hrozny odzrněny, pak jsou lisovány, následuje úprava moštu před kvašením, alkoholové kvašení moštů neboli fermentace, přislazování moštu neboli chaptalizace, fáze burčáku, dokvašení a stáčení mladého vína, první stáčení vína, scelování vína, čiření, filtrace, stabilizace vína a druhé stáčení vína a zrání vína (Svět vína 2003).

1.2.1. Složení moštu a vína

Mošt a víno představují zvláště složitou matici pro analytické stanovení složek, jako například (a nejen) rtuti. Chemická povaha vína a moštu je komplikovaná vzhledem k původu materiálu i ke způsobům zpracování. Základní základních typy složek moštu a vína jsou po chemické stránce charakterizovány v této kapitole.

Mošt vzniká vylisováním bobulí z hroznů. Na celkovém objemu hroznů se bobule podílí z 95-98 %, zbytek tvoří třapina, která tvoří kostru hroznů. Většinu procent bobule tvoří voda (90%). Bobule sestává ze slupky, dužniny a semen. Slupka tvoří 6-12 % bobule, semena 2-5 %, dužnina 83-92 %. Slupka je pokryta voskovým povlakem, který zmenšuje odpařování vody a chrání bobule před působením dešťové vody, postřikových látek, hmyzu a mikroorganismů. Tvoří v průměru 8-10 % hmotnosti bobule a může být různě silná. Slupky obsahují cukry, organické kyseliny a polyfenoly mezi něž patří třísloviny, barviva a část chuťových látek. Obsahují 70-80 % vody, 1-2 % taninu, 1-1,5 % organických kyselin, 1,5-2 % minerálních látek, 1,5-2 % dusíkatých látek a 0,2-2,5 % tříslovin (Kraus a kol 2000, Priewe 2003). Dužnina je nejdůležitější částí bobule. Přibližně 8 % z celkové hmotnosti dužniny připadá na cévní svazky, zbytek na šťávu (mošt).

V dužnině jsou jednoduché zkvasitelné cukry, a to hroznový cukr a ovocný cukr. Jejich poměr 1:1 ve formě invertního cukru, jehož množství se pohybuje od 10 do 24 %. Obsah titrovatelných kyselin je od 6 do 14 g/l. Nejvíce jsou zastoupeny kyselina vinná a jablečná.

Semena obsahují 10-20 % olejů, které se skládají z glyceridů, kyseliny stearové, palmitové a linolové. Dále obsahují třísloviny a hořké látky. Obsah taninu je 7-8 % (Kraus a kol. 2000).

Hroznový mošt je roztokem látek rozmanitého chemického složení. Nevětší podíl tvoří voda, 70 – 85 %. Nejdůležitějšími složkami jsou sacharidy. Z nich kvasí pouze monosacharidy – glukóza (hroznový cukr), fruktóza (ovocný cukr). Při zrání hroznů v první fázi převažuje glukóza, na konci se množství obou cukrů vyrovnává. Část fruktózy se při přezrávání hroznů spotřebovává při dýchání. Disacharid sacharóza (řepný cukr) je složený ze směsi glukózy a fruktózy. Sacharóza se vytváří v listech a v době, kdy postupuje do plodů se hydrolýzou rozkládá na glukózu a fruktózu. Stejně se rozkládá i v moštu činností kvasinek na směs zkvasitelných cukrů. V samotném moštu se vyskytuje jen stopově. V malých množstvích může hroznový mošt obsahovat i nezkvasitelné pětiuhlíkaté monosacharidy (pentózy) a polysacharid škrob, který se tam dostává z rozdrčených třepin. Významnými složkami moštu jsou organické kyseliny. Jejich množství se během zrání snižuje až na 6-12 g/l. Nejdůležitější je kyselina vinná. Ta vypadává během kvašení a zrání vína ve formě vinného kamene (hydrogenvinan draselný). Další častou kyselinou je kyselina jablečná, kdy mošty zralých bobulí hroznů obsahují 3-4 g/l této látky. Kyselina citrónová se v moštech vyskytuje v množství 0,2-0,7 g/l. V malých množstvích obsahují mošty i kyselinu jantarovou, šťavelovou, fumarovou, glykolovou a octovou. V hroznovém moštu se nachází 240-1600 mg/l celkového dusíku K dusíkatým látkám v moštech patří aminokyseliny a peptidy, v menší míře bílkoviny, amonné soli, aminy a dusičnany (0,03-0,5 %). V průběhu kvašení se obsah dusíkatých látek snižuje, protože slouží jako výživa pro bakterie. Po kvasném procesu se obsah těchto látek opět zvyšuje. Prvky jako draslík, sodík, fosfor a jiné minerální látky zaujímají 0,3-0,6 %. Dále jsou ve vinném moštu přítomny třísloviny (0,01-0,2 %), a méně než 0,01 % zastupují vitamíny, aldehydy a vícemocné alkoholy (Malík 2003, Priewe 2003).

Víno obsahuje více než 1000 látek. Některé pocházejí přímo z hroznů (vitamíny, minerální látky). Další látky vznikají během zpracování např. ethanol nebo glycerol. Jiné látky jako např. cukr nebo vitamín C se zčásti nebo zcela odbourají. Z 80-90% se víno skládá z vody. Rozdíl se vysvětluje podle druhu vína nebo také podle obsahu taninu, organických kyselin, minerálních solí a pektinu, které dohromady tvoří bezcukerný extrakt. Druhou nejzastoupenější látkou ve víně je ethylalkohol. Jeho obsah kolísá podle toho o jaký druh vína jde (Dominé 2005). V našich vinařských oblastech je nejčastější 10,5-12 obj. %. Obsah glycerolu získaného kvašením je 4–10 g/l. Více než 12 g/l glycerolu mají jen pozdní sběry. Celkový obsah kyselin ve

víně je v průměru 5–6 g/l. Nejdůležitější jsou kyselina vinná, jablečná, mléčná. V menším množství se ve víně vyskytuje kyselina octová, jantarová, citronová, glykolová, glyoxylová. Z těkavých kyselin je nejdůležitější kyselina octová, její množství se pohybuje od 0,2 do 0,6 g/l. Hodnota pH moštů a mladých vín se pohybují mezi 3–4. V průběhu vyzrávání pH mírně stoupá. Z barviv se v hroznech bílých odrůd vyskytuje směs zelených barviv (chlorofyl) a žlutých barviv (xantofyl). Červené víno svojí barvu získává díky oeninu, který patří do skupiny antokyanů. Dále se víně vyskytují kationy K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} a Cu^{2+} a aniony SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , Cl^- , SiO_3^{2-} , CO_3^{2-} (Hájek 2006).

1.2.2. Výroba moštu a vína

Práce před lisováním

Zásadou je, že sklizené hrozny jsou ještě ten samý den zpracovány. Pokud mají být zpracovány až následující den, musí být uloženy v chladu a posypány pyrosiřičitanem draselným nebo sodným v dávce 10-15 g na 100 kg (Kraus a kol. 2000). Před lisováním hroznů je nutné provést tyto práce: odstopkování hroznů, pomletí, nakvášení hroznů a získání samotoku (Malík 2003).

Před lisováním se pro snadnější uvolňování šťávy z bobulí hrozny rozemelou. Dojde k oddělení třapiny od bobulí. Ty jsou narušeny a vzniká rmut. Při výrobě bílého vína se rmut scezuje. Při výrobě červených vín se rmut nechá nakvasit v otevřených kádích nebo nádobách šest až deset dní. Při nakvášení se ze slupek uvolňují červená barviva a třísloviny. Jinak výroba červeného vína probíhá jako u bílého. Scezenému moštu ze scezovacích nádob a vytékajícímu z koše lisů před stáčením se říká samotok. Scezený rmut je náchylný k oxidaci a neoctění, proto se musí dále rychle zpracovat. Dalším krokem před lisováním je nalezení rmutu. Není nezbytný u všech odrůd, ale v případě odrůd použitých k měření byl tento krok použit. Rmut nebo drť se nechá mírně nalezet a částečně nakvasit po dobu 12-24 hodin pro lepší uvolnění aromatických látek z moštu. Důležité je, aby drť byla hned po odzrnění zasyřena 10-15 g pyrosiřičitanu draselného na 1 hl, protože uvolněný SO_2 spolupůsobí při vyluhování aromatických látek (Kraus a kol. 2000).

Lisování hroznů

Lisování patří mezi důležité části výroby, které přímo ovlivňují výslednou kvalitu vína (Global wines 2009). Lisováním se odděluje mošt od tuhých částí rmutu. Postup lisování se opakuje obvykle třikrát. Z celkového vylisované množství moštu bývá 50% samotoku (scezeného moštu). Ten obsahuje nejvíce cukru a buketních látek. Dále je 27% moštu z prvního lisování, pocházejícího především z dužniny a slupek. Obsahuje ještě dost cukru, méně kyselin a

tříslovin. Poté následuje 10% moštu z druhého lisování. Tento mošt pochází ze slupek a stopek, proto obsahuje málo cukru, ale hodně tříslovin, dusíkatých látek a barviv. Poslední 3% moštu ze třetího lisování obsahují minimum cukru, ale mnoho tříslovin a barviv. Výlisnost se pohybuje kolem 50-70 l moštu ze 100 kg hroznů (Kraus a kol. 2000).

Úprava moštu před kvašením

Nejčastější procesy, které se používají jsou odkalování, síření a přiměřené provzdušnění. (Svět vína 2003).

Mošty se odkalují z důvodu odstranění nežádoucích látek pocházejících z ošetření hroznů pro škůdcům. Slouží také pro odstranění mechanických nečistot. Mošty prochází tímto procesem ihned po lisování nebo scezení, dokud nekvasí. Tím se vytvoří vhodné podmínky pro kvašení po aplikaci zákvasu. Za určitou dobu se kaly usadí a čistý mošt se stahuje do kvasných nádob. Nejčastěji se však odkaluje tak, že se silně zasiřené sudy naplní čerstvě vylisovaným moštem, nebo se mošt zasiří 15-20 g pyrosiřičitanu draselného na 1 hl a nechá se usazovat v chladném prostředí po dobu 12-24 hodin. Často se spojuje odkalení s ošetření bentonitem (Kraus a kol. 2000).

Fermentace nebo také kvašení. Proces, při kterém kvasinky přeměňují jednoduché cukry glukózu a fruktózu na alkohol a CO₂, který uniká do vzduchu (Global wines 2009). Kvašení hroznového moštu je složitý mikrobiologicko- biochemický proces, na kterém závisí kvalita vyráběného révového vína (Malík 2003). Pro tento proces se musí vytvořit vhodné prostředí pro kvasinky, které se do moštu dostávají při lisování z bobulí hroznů. Na kvašení má vliv dostatečné množství cukru, teplota a čistota moštu (Kraus a kol. 2000). Mikroflóru moštu tvoří kvasinky, bakterie a hyfovitě houby (Malík 2003).

Kvasinek je mnoho druhů a ne všechny jsou vhodné pro kvašení. Kvalita vína tedy závisí i na výběru správných druhů kvasinek (Priewe 2003). Do moštu se kvasinky dostávají z půdy, z hroznů a sekundárně i z prostor a zařízení lisovny a sklepa. Na počátku převládají divoké (apikulární) kvasinky, které produkují látky jako těkavé kyseliny a acetaldehyd. Zastoupení ušlechtilých vinných kvasinek rodu *Saccharomyces* je v počáteční fázi malé (Malík 2003, Priewe 2003). Avšak i vinných kvasinek je mnoho kmenů, které reagují odlišně na obsahové látky moštu a také jinak ovlivňují víno. Vinné kvasinky pocházejí buď z přírody (přirozené nebo divoké kvasinky) nebo z laboratoře (čisté kultury) (Priewe 2003).

Ve vinařství se z hyfových hub uplatňuje čeleď *Mucoraceae* z třídy *Phycomycetes*. Hyfy této houby se v moštu rozpadají na kulatá oidia, tzv. mukorové kvasinky, které jsou schopny zkvasit část cukru na glycerol, acetaldehyd a organické kyseliny (Malík 2003).

Na kvašení moštů má kladný vliv oxid siřičitý. Má širokou účinnost proti mikroorganismům, divokým kvasinkám, octovým a mléčným bakteriím. Ve vhodných dávkách příznivě působí na selekci kvasné mikroflóry (Kraus a kol. 2000).

Kvašení je děj umožněný enzymatickým systémem kvasničné buňky, během kterého vznikají hlavní a vedlejší produkty, jak je uvedeno v rovnici (3) (Malík 2003).



Mezi produkty alkoholového kvašení patří ethanol (47-48%), CO₂ (46-47%), glykol (2,5-3%), dále kyselina jantarová (0,2-0,5%), butylenglykol (0,05-0,1%), kyselina octová (0-0,25%), kyselina mléčná (0-0,2%), acetaldehyd (0-0,01%) a metanol (0,05-0,3) (Priewe 2003). Dále to mohou být látky jako glycerol, estery, aldehydy, acetoin, diacetyl, ketony aj. (Kraus a kol. 2000, Malík 2003) Další vedlejší produkty tvoří čtyři až šest

procent vína. Jen málo je jich však nežádoucích, a to například acetaldehyd, který oxiduje víno, dále vyšší alkoholy nepřijemné chuti a methanol (Priewe 2003).

Průměrná výtěžnost etanolu a CO₂ je nižší, protože 5-8 % cukru se spotřebuje na tvorbu vedlejších produktů kvašení, na růst kvasinek a část etanolu strhává unikající CO₂. Množství vzniklého alkoholu značně kolísá. Závisí na průběhu fermentace, kvasné teplotě, složení spontánní mikroflóry nebo použitého kmene kvasinek při zakvácení moštu. Maximální koncentrace alkoholu, které lze při kvašení moštu dosáhnout, je 15-16 % (Malík 2003). CO₂ uniká z kvasícího vína ve formě bublinek. Oxid uhličitý může být přítomen i ve formě kyseliny uhličitě H₂CO₃ (Priewe 2003). Koncentrace CO₂ závisí na obsahu ethanolu, teplotě moštu a vína. Při vyšší teplotě je CO₂ ve víně méně rozpustný. Zvyšováním tlaku a snižováním teploty se rozpustnost zvyšuje, hlavně u vín s vyšším obsahem alkoholu. Ethanol je dalším hlavním produktem alkoholového kvašení. Na kvasinky působí ethanol toxicky. Jeho zvyšováním dochází k potlačení rozmnožování kvasinek a také k poklesu jejich fermentační schopnosti. Část alkoholu ve víně oxiduje, část se spotřebuje během zrání vína při tvorbě sekundárního buketu (esterifikační reakce).

Vedlejší produkt alkoholového kvašení glycerol vzniká v počáteční fázi procesu. Zvýšenou tvorbu glycerolu může způsobit oxid siřičitý, zvýšená teplota nebo inhibitory kvašení. Vína České republiky nejčastěji obsahují 6-10 g/l glycerolu. Dalším vedlejším produktem je kyselina mléčná produkovaná některými kvasinkami nebo enzymatickou redukcí z kyseliny pyrohroznové.. Vína obsahují do 4 g/l kyseliny mléčné. Kyselina octová vzniká ve víně činností octových bakterií nebo během kvašení oxidací acetaldehydu. Tvorba kyseliny octové závisí na pH roztoku a fyziologickém stavu fermentujících kvasinek. Ušlechtilé kvasinky tvoří maximálně 0,6 g/l, divoké až 1,3 g/l kyseliny octové. Vyšší alkoholy vznikají během

alkoholového kvašení moštu i během zrání vín. Během kvašení vznikají z kyseliny pyrohroznové nebo dezaminací aminokyselin. Révová vína obsahují 0,15-0,60 g/l vyšších alkoholů, přičemž vína bílá jich obsahují méně než červená.

Alkoholové kvašení doprovází i fyzikální procesy. K nim patří snižování hustoty, objemové změny a vznik tepla v kvasícím moštu. Dochází ke snižování hustoty vzniklého vína, protože hustota cukru je 1,613 g/cm³ a hustota vznikajícího ethanolu je 0,7892 g/cm³. Větší objemové změny souvisí s odpařením vína. Kvašení je proces exotermický, uvolňuje se tedy při něm teplo. Nejvyšší teploty je dosaženo během bouřlivého kvašení (Malík 2003).

Alkoholové kvašení můžeme rozdělit do tří fází, a to na začátek, bouřlivé kvašení a dokvašení. Na začátku mošt provzdušňuje „aby probíhalo množení mikroorganismů (Kraus 2000, Malík 2003). To probíhá velice zvolna, proto mošt hned nekvasí. Na počátku převažují divoké kvasinky, které zpomalují činnost kulturních vinných kvasinek. Jakmile mošt obsahuje 3-5 obj. % alkoholu, dojde k potlačení divokých kvasinek a ušlechtilé vinné kvasinky se začnou rozmnožovat. Začíná tím bouřlivé kvašení, kdy stoupá teplota moštu a uvolňuje se více CO₂ (Kraus a kol. 2000). Před bouřlivým kvašením je však nutné ošetřit mošt oxidem siřičitým, aby se zabránilo účasti na kvašení většího množství organismů (Malík 2003). Při bouřlivé kvašení prokvasí podstatná část cukru. Rozkvašený mošt v době bouřlivého kvašení, kdy ještě obsahuje více cukru než alkoholu, se nazývá „burčák“. Prokvašením cukru v moštu ubývá a zvyšuje se tedy obsah alkoholu. Po skončení kvašení klesají kvasinky s nečistotami ke dnu a víno se začne čistit. Po dokvašení se musí sudy ihned dolít a uzavřít, aby nedošlo k oxidaci a hnědnutí vína (Kraus a kol. 2000). U červených vín bývá běžné po ukončení alkoholové fermentace ještě fermentace jablečno-mléčná. Kyselinu jablečnou, napadnou bakterie mléčného kvašení, které štěpí molekulu kyseliny jablečné na kyselinu mléčnou. I vína bílá samozřejmě obsahují kyselinu jablečnou. V chladných vinařských oblastech více, v teplých méně (Priewe 2003).

Přislazování moštu („chaptalizace“) je proces, kterým se zvyšuje obsah alkoholu. Kvasinky zpracovávají cukr stejně jako přirozenou glukózu a fruktózu a zpracovávají ho na alkohol (Priewe 2003). Ke zvýšení cukernatosti o 1 stupeň ČNM (jednotka pro udávání cukernatosti), musí být přidáno 1,1 kg cukru na 100 litrů moštu.

První stáčení vína probíhá po usazení zbytků kvasinek. Víno je v tuto chvíli citlivé na oxidaci. Aby se tomu zabránilo, provádí se dolévání nádob nebo se přidává oxidu siřičitý. Využívají se také inertní plyny jako dusík a oxid uhličitý. Tím se dají omezit dávky oxidu siřičitého (Svět vína 2008).

Školení vína

Tímto procesem se zvyšuje kvalita budoucího vína. Obsahuje několik kroků, a to scelování vín, síření vína, číření vína, filtrace a zrání vína (Global wines 2009).

Síření vína se provádí vždy, aby se zabránilo oxidaci a octovatění (Priewe 2003). Sířené víno váže kyslík, acetaldehyd a další látky, které způsobují hnědnutí vína. Oxid siřičitý SO_2 redukuje polyfenoly, antokyanová barviva, třísloviny a tím zvyšuje stabilitu a kvalitu vína. Působí redukčně a konzervačně. Dále má baktericidní a fungicidní účinky, usměrňuje rychlost kvašení, potlačuje výskyt nežádoucích mikroorganismů a snižuje redoxní potenciál moštů a vín (Malík 2003).

Pro země Evropské unie jsou uzákoněna maximální množství celkové síry v miligramech na litr. Suché červené víno (do 5 g cukru) může obsahovat maximálně 160 mg síry na litr, suché bílé víno (do 5 g cukru) do 210 mg/l, suché bílé víno (nad 5 g cukru) 260 mg/l, pozdní sběr do 300 mg/l, výběry do 350 mg/l a výběr z hroznů, výběr z bobulí, ledová a sladká vína do 400 mg síry na litr. Po nalahvování vína obvykle obsahují tato množství síry, která je přítomna jako volná kyselina siřičitá: bílé víno 35-40 mg síry na litr, červené víno 20-35 mg/l, ušlechtilá sladká vína obsahují nejvíce síry – 60-80 mg/l (Priewe 2003). Oxid siřičitý se ve víně nachází ve formě volné i vázané kyseliny siřičité, která závisí na koncentraci acetaldehydu. Jejich kvantitativní poměr závisí na pH a teplotě. Aby se zabránilo nadměrnému množství acetaldehydu, přidává se SO_2 během tvorby a zrání vína (Malík 2003). To znamená, že se víno síří celkem třikrát během procesu: ve stadiu moštu (resp. rmutu), po ukončení kvašení a před plněním do lahví (Priewe 2003).

Číření vína je proces, kterým se odstraňují kalící částice a nestabilní látky. Nejčastěji se jako čířící činitel používá bentonit nebo vaječný bílek (Global wines 2009). Dalšími čířícími prostředky jsou například vyzina, vyráběná z rybích měchýřů, dále želatina, agar, aktivní uhlí, kaolin, kyselina křemičitá, kasein, vinné kvasnice a křemelina (Kraus 2000). Samotné čířící prostředky jsou zdraví neškodné a chemicky neutrální látky, které mají vhodnou adsorpční vlastnost. Čím jsou částice čířidla jemnější, tím je větší jejich aktivní povrch, a tím jsou větší jejich adsorpční schopnost. Adsorpční jevy probíhají zároveň se srážením zákalotvorných látek (Malík 2003). Vytváří se koloidní shluky, které při sedání na dno nabírají další mikroorganismy včetně nečistot. Víno, které se má čířit, musí být dokvašené, nesmí se v něm odbourávat kyseliny. Vyčiřené víno je nutné včas stočit z kalů a přefiltrovat (Kraus a kol. 2000).

Vinné kaly jsou pevné usazeniny v nádobách po kvašení nebo školení vín a oddělitelné součásti po filtraci či odstředění vína (Global wines 2009). Odkalení používá pro odstranění částic, které se do moštu dostaly během předfermentačního zpracování hroznů. Na částičky kalu se

zachycují rezidua chemických přípravků. Dále se tak odstraní i nežádoucí mikroflóra a oxidační enzymy. Kaly po prvním stáčení (z moštu) tvoří 3-5 % objemu vína. Kaly obsahují 35-40 % biomasy, 20-35 % vinného kamene a zbytek jsou minerální substance. Kaly z druhého stáčení (z vína) představují 1-2 % objemu stáčeného vína, obsahují poměrně málo biomasy, ale naopak více vysráženého vinného kamene, minerálních látek a vypadaných bílkovin (Malík 2003).

Po stočení, síření a čiření vína je nutné provést i jeho stabilizaci neboli kráslení, protože i nadále ve víně probíhají fyzikálně-chemické i biologické procesy. Může dojít k tvorbě bílkovinných, kovových, krystalických a mikrobiologických zákalů. V malovýrobních podmínkách patří mezi nejčastější mikrobiologické zákaly. Způsobují je kvasinky, které fermentují zbytkový cukr ve víně (Malík 2003). Použití silnější síření je v těchto případech nedostačující a navíc by mohly škodit lidskému zdraví. Možností je sterilní filtrace a sterilní plnění do lahví, což je však náročné na vybavení (Kraus a kol. 2000). Mikrobiologické stability především v malovýrobních podmínkách se dosahuje především zabráněním aktivace kvasinek. V průmyslovém a z části i malovýrobním měřítku je možné dosáhnout inaktivace činnosti kvasinek pomocí postupů chemické nebo fyzikální stabilizace. Jako stabilizační činidla lze využít například již zmíněného oxidu siřičitého. Dále je možné použít kyselinu sorbovou a její sůl, sorban draselný. Fyzikální metody stabilizace vína jsou perspektivními metodami školení vína. Stabilizace révového vína teplem se provádí pasterizací nebo zahřátím na 45°C. Nejčastější metodou, kterou využívají malá vinařství, je neúčinnější fyzikální stabilizace – filtrace (Malík 2003).

Druhé stáčení vína se provádí 6-10 týdnů po prvním stočení. Víno mezi stočeními vyzrává, intenzivně v něm probíhají oxidačně-redukční procesy a víno se čistí. Podruhé se stáčí za nepřístupu vzduchu. Stáčení se provádí za ještě nízkých teplot, aby ještě neproběhlo druhotné kvašení zbytkového cukru vlivem aerace a zvýšením teploty. Révová vína by měla být v době druhého stáčení už prakticky vyzrálá.

Třetí stáčení probíhá v měsících srpen – září už jen v případech špičkových bílých vín a červených extrakčních vín. I toto stáčení musí probíhat za nepřístupu vzduchu (Malík 2003).

Zrání vína je jemnou oxidací vína. Využívá se hlavně při výrobě červeného vína. Je to dáno vyšším obsahem fenolů v červeném víně, které kyslík ke svému zrání potřebuje (Priewe 2003).

Lahvování vína je výsledkem sudové zralosti vína (Kraus a kol. 2000). To znamená, že ve víně, které charakterizuje sudová zralost, jsou oxidační procesy prakticky ukončené. Proces zrání však velmi pomalu pokračuje i po nalahvování (Malík 2003).

1.3. Analytické metody stanovení rtuti

Pro vyšší obsahy rtuti lze použít metody chelatometrické, gravimetrické nebo titraci (Holzbecher a kol. 1987, Zýka a kol. 1979).

Chelatometrie je zavedená metoda. Titruje se EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina), což je známá kyselina, na xylenovou oranž, ale toto stanovení není pohodlné. Probíhá stanovení ve slabě kyselém prostředí (pH 5,5) a vznikají při ní koloidní meziprodukty (Příbil 1977).

Při gravimetrii se sráží jednomocná rtuť jako chlorid rtuťný Hg_2Cl_2 , dvojmocnou jako sulfid rtuťnatý HgS . Obě sloučeniny je po vhodném vysušení vážit. Nejčastěji se rtuť vylučuje elektrolyticky jako kov. Přírůstek hmotnosti elektrody potom udává vyloučené množství rtuti (Remy 1971).

Merkurimetrie je titrační stanovení rtuti. Do kyseliny dusičné se rozpustí rtuť. Vzniká dusičnan rtuťnatý, kterým se titrují thiokyanáty (rhodanid). Tato reakce může probíhat i opačným směrem, kdy se rhodanidem stanovuje neznámé množství rtuti (Kolthoff, Sandell 1936).

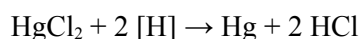
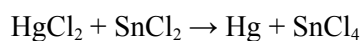
Pro studium stopových a ultrastopových obsahů rtuti však tyto metody nelze použít. Rtuť se v těchto množstvích dá stanovit spektrofotometricky ve formě chelátu s difenylthiokarbazonem, rozpouštěcí voltametrií při použití elektrody ze skelného uhlíku (mez stanovitelnosti je 10^{-2} ppb) nebo potenciometricky s iontově selektivními elektrodami (až 10^{-6} mol/l) (Holtzbecher a kol. 1987). V dnešní době se ovšem nejvíce využívají spektrometrické metody. Mezi tyto metody patří:

I. Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

Tato metoda je velmi významná pro zjišťování prvkového složení látek v roztoku. Principem metody AAS je absorpce záření rezonanční spektrální čáry volnými atomy měřeného prvku v základním energetickém stavu (Koplík 2011). Atomy látek ve vzorku se do plynné fáze dostávají procesem atomizace. Volné atomy stanovovaného prvku absorbují pouze záření takových vlnových délek, které mohou samy vyzařovat. Proto se jak v AAS využívají speciální zdroje, které vydávají záření obsahující přesně ty vlnové délky, které stanovované atomy absorbují. Ty samé vlnové délky příslušné atomy samy po excitaci emitují. Monochromátor má za úkol vybrat z absorbovaných vlnových délek tu, která je pro detekci nejvhodnější. Z principu metod vyplývá, že jako zdroje záření se musí používat speciální výbojky, kdy je zapotřebí pro každý prvek využívat výbojku právě pro něj určenou. V některých speciálních případech jsou k dispozici výbojky určené pro více prvků.

Absorpční prostředí je realizováno atomizátorem. Jedná se o zařízení, které převádí stanovené prvky v roztoku do plynného atomárního stavu (Opekar a kol. 2003). Atomizaci je možné provádět v plameni (F-AAS). Ta je určena pro stanovení vyšších koncentrací (desetiny až desítky $\mu\text{g/ml}$). Další technikou je elektrotermická AAS (ET-AAS nebo GF-AAS – graphite furnace), která se používá na stanovení stopových nebo ultrastopových koncentrací (setiny až desítky ng/ml). Zvláště u této metodiky může být správnost ovlivněna maticí vzorku. To se může projevit např. ztrátami analytu, neúplnou atomizací, nespecifickou absorpcí, atd. Poslední technika je založena na generování páry – vapour generation AAS (VG-AAS). Lze jí rozdělit na dvě metodiky a to zaprvé na hydridovou techniku AAS (HG-AAS), která se používá na stanovení stopových množství As, Se, Sb, Te, Sn a dalších. Druhou metodikou je technika studených par (CV AAS), která se využívá ke stanovení rtuti.

Metoda studených par probíhá na základě této rovnice



Pára rtuti se proudem inertního plynu odvede z reaktoru do měrné cely (válcová křemenná kyveta) a měří se vlnové délce při 253,7 nm. Mez detekce u této metody jsou desetiny ng u dávkových generátorů, desetiny ng/ml u kontinuálních systémů. Pokud se použije amalgamace může dojít k výraznému snížení meze detekce.

Mezi metody AAS, které se využívají pro stanovení obsahů rtuti patří i metody využívající termický rozklad a amalgamací. Sem patří analýza kapalných a tuhých vzorků bez předběžného rozkladu pomocí analyzátoru AMA 254 (Koplík 2011). Pro detekci se využívají hlavně fotonásobiče. Problémem při měření absorpce je, že záření ze zdroje může být při průchodu absorpčním prostředím zeslabeno absorpcí nejen volnými atomy sledovaného prvku, ale také nespecifickou absorpcí (absorpcí pozadí). Ta je způsobena rozptylem světla na nevypařených pevných částicích a molekulární absorpcí. Proto se při AAS provádí simultánní korekce pozadí (Opekar a kol. 2003).

II. Atomová emisní spektrometrie (AES)

Zabývá se zkoumáním a využitím záření vysílaného volnými excitovanými atomy, popř. ionty prvku, v plynném stavu. Metody je vhodná pro zjišťování prvkového složení pevných vzorků a vzorků v roztoku. Látka je v převedena do excitovaného atomárního stavu dodáním energie. Při přechodu zpět do energeticky nižších stavů vzorek vyzáří přebytek energie ve formě polychromatického nespojitého záření. Toto záření je dále rozkládáno monochromátorem, a tím se získá čárové spektrum. Kvalitativní analýza v klasické emisní spektrální analýze je založena

na identifikaci prvků ve vzorku podle polohy jejich čar ve spektru. Pokud je sledována směs prvků, dochází k překrývání čar stejných vlnových délek, které odpovídají různým prvkům. Z tohoto důvodu se pro přítomnost prvku ve vzorku vyžaduje identifikace jeho tří vlnových délek. Kvantitativní analýza vychází ze závislosti mezi koncentrací prvku a intenzitou jeho čáry. Analýza je prováděna jako srovnávací. Využívá se buď metody kalibrační křivky (vnějšího standardu) nebo metody standardního přídatku.

AES lze rozdělit na tři typy podle způsobu získání plazmatu (toho se dnes nejvíce využívá jako zdroje). Rozlišuje se stejnosměrně vázaná plazma (DCP – Directly Coupled Plasma), mikrovlnně indukovaná plazma (MIP-Microwave Induced Plasma) a indukčně vázaná plazma (ICP – Inductively Coupled Plasma). Poslední zmiňovaná má největší praktický význam. Na tuto metodu navazuje další využívající ICP (Koplík 2011, Opekar a kol. 2003).

III. *Indukčně vázané plazma – hmotnostní spektrometrie (ICP-MS)*

ICP je zde využit jako zdroj iontů pro hmotnostní spektrometr. Ten pak separuje a detekuje ionty podle jejich hmotnosti. Výsledkem analýzy je hmotnostní spektrum. Kvantitativní zastoupení prvku (izotopu) je dáno intenzitou příslušné čáry. Detekční limit pro řadu prvků je 10x až 1000x nižší než u optické metody AES-ICP. ICP-MS má také tu výhodu, že může zjistit izotopové zastoupení prvku v daném vzorku (Opekar a kol. 2003). Tato metoda se nepoužívá pro analýzu izotopů rtuti z důvodu závažné interference s jinými prvky.

IV. *Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)*

Princip metody AFS je podobný jako u metody AAS. Změnou je, že atomy jsou excitovány a poté se velice rychle vracejí zpět do základního energetického stavu a je změřeno emitované fluorescenční záření. To je vyhodnocováno obdobně jako emise záření v AES měření velikosti světelného toku (Opekar a kol. 2003). Hlavním rozdílem mezi AAS a AFS je, že AAS měří prvky v plameni (cca 1000 °C) a AFS využívá měření studených par (cca 100 °C). Emise záření se zde měří kolmo vůči směru dopadu primárního záření na rozdíl od AAS, kde se emise záření měří v rovině s dopadem primárního záření. AFS je vhodná pro měření ultrastopových koncentrací prvků, zatímco AAS se používá k měření stopových koncentrací. Kalibrační závislosti bývají lineární přes několik (až 5) řádů koncentrace. Metoda AFS se v praxi využívá méně než AAS, která je experimentálně méně náročná.

Tab. 3. Srovnání mezi detekce metod atomové spektrometrické analýzy pro stanovení rtuti (Opekar 2003, Altec 2002, PSAnalytical 2007).

metoda	mez detekce ng/l
CV-AAS	10 (< 10 s využitím amalgamace)
AES	$2 \cdot 10^3 - 1 \cdot 10^6$
ICP-MS	10 - 1000
AFS	0.1

Pro příklad je zde uvedeno využití zmíněných spektrometrických metod. Na principu HPLC HG-AAS byly měřeny např. vzorky mořské vody, pórové vody, nerozpuštěných látek a sedimentů v práci Le a kol (2011). Yilmaz a Sadikoglu (2011) využili metodu ICP-AES pro stanovení kadmia a olova v mořské vodě. Další zmiňovanou metodu ICP-MS v kombinaci s HPLC využili Jia a kol (2011) pro stanovení specií rtuti ve vodě. Na principu AFS pracuje analyzátor AMA 254, který byl využit například k měření rtuti ve zemědělských a přírodních materiálech (Szakova a kol. 2004). Zhang a kol. (2011) využili metodu EVCG s AFS ke stanovení rtuti ve vzorcích říční vody.

1.4. Legislativa obsahů rtuti

Česká republika jako člen Evropské unie má závazky vůči legislativě Evropského společenství. O plnění závazků musí periodicky informovat Evropskou komisi, přesněji *DG Environment (The Directorate General)*. Ministerstvo životního prostředí ČR musí tedy v určitých časových intervalech podávat zprávy o aktivitách, které snižují postupné snižování emisí rtuti a jejich sloučenin. Na úrovni OSN se problematikou zabývá *UNEP Chemicals*. Tato organizace vydala v roce 2002 studii *Global Mercury Assessment*, kde jsou podrobně analyzovány zdroje a formy znečišťování a také rizika rtuti pro lidský organismus. Tato studie vedla k vydání *Mercury Programme* ze dne 7.2.2003. Ta vedla signatáře, tedy i Českou republiku, k přehodnocení všech průmyslových a jiných aktivit, z kterých emise rtuti a její sloučeniny vznikají (UNEP 2005). V době předsednictví České republiky v EU rozhodl v Nairobi Řídící výbor UNEPu (Program OSN pro životní prostředí) a Globální fórum ministrů pro životní prostředí vznik nové světové úmluvy o omezování rtuti (MŽP 2010). Od 7. do 11. června 2010 proběhlo ve Stockholmu jednání o nové úmluvě, za účasti zástupců 142 zemí světa, 100 zástupců nevládních organizací a zhruba 20 reprezentantů průmyslu. EU již v roce 2005 schválila Strategii nakládání se rtutí s cílem chránit lidské zdraví a životní prostředí. „Program Toxické látky a odpady sdružení Arnika“ se od roku 2004 účastní mezinárodní kampaně *Zero Mercury* a jsou členy *Zero Mercury Working Group*. Od roku 2008 koordinuje pracovní skupinu INEP CEE (Mezinárodní síť pro eliminaci perzistentních organických látek pro stření a východní Evropu) pro těžké kovy (Arnika 2010).

Limity pro obsah rtuti platné v České republice

Podle Integrovaného registru znečišťování (IRZ) jsou ohlašovací prahy pro úniky rtuti do ovzduší 10 kg/rok, do vody a půdy 1 kg/rok. Prahové hodnoty pro přenosy rtuti v odpadních vodách uvádí IRZ 1 kg/rok, v odpadech 5 kg/rok (IRZ 2010).

Emisní limity podle vyhlášky č. 356/2002 Sb. uvedenými v příloze č. 1., nesmí být při hmotnostním toku látek skupiny 2.19 zahrnující rtuť, azbest, beryllium, kadmium a thallium vyšším než 1 g/h, překročena úhrnná hmotnostní koncentrace 0,3 mg/m³ těchto znečišťujících látek v odpadním plynu.

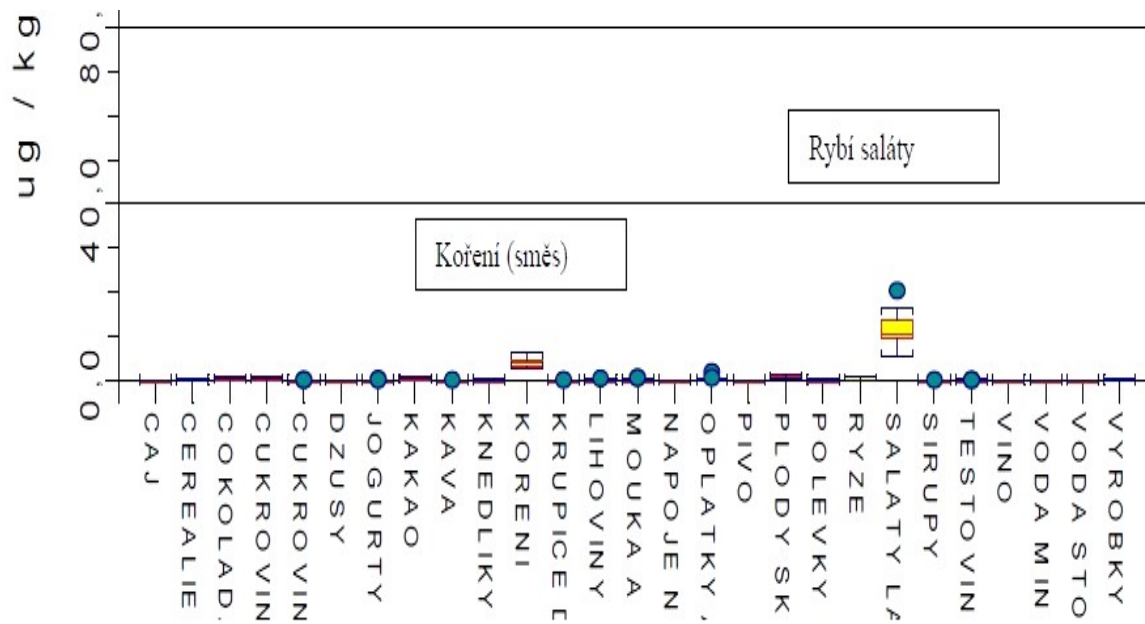
Pro spalovny odpadů jsou uvedeny specifické emisní limity. Spalovny nebezpečných odpadů mají povolen limit 0,1 mg/m³, spalovny komunálního odpadu 0,08 mg/m³ a spalování odpadů 0,05 mg/m³. Pro pracovní prostředí platí limit koncentrace rtuti 50 000 ng/m³.

Limity pro vody jsou rozděleny podle druhu vody. Podle vyhlášky č.252/2004 Sb. je nejvyšší mezní hodnota pro pitnou vodu 1 µg/l. Pro balené kojenecké a pramenité vody platí podle příl. č. 2 k vyhl. č. 275/2004 nejvyšší mezní hodnota 0,0005 mg/l rtuti. Podle příl. č. 1 k vyhl. č. 275/2004 je nejvyšší mezní hodnota balených přírodních minerálních vod 0,001 mg/l. Pro povrchové vody platí limit 0,1 µg/l rtuti podle nařízení č. 61/2003 Sb., příl. č. 3, kategorie nebezpečné a zvláště nebezpečné látky. Limity rtuti pro podzemní vodu se řídí podle Metodického pokynu MŽP ČR (Věstník 3/1996). Tyto limity jsou řazeny do kategorií A, B a C. Tyto kategorie platí i pro půdy. Kategorie A posuzuje jako znečištění příslušné složky životního prostředí vyjma oblastí s přirozeným vyšším obsahem sledovaných látek. Pro kategorii A platí limit 0,1 µg/l. Překročení kategorie B se posuzuje jako znečištění, které může mít negativní vliv na zdraví člověka a jednotlivé složky životního prostředí a které vyžadují další opatření. Pro kategorii B platí limit 2 µg/l. Překročení limitu kategorie C představuje znečištění, které může vážně ohrozit zdraví člověka a složky životního prostředí. Překročení tohoto limitu vyžaduje zároveň dekontaminaci území pro daný účel. Limit pro kategorii C je 5 µg/l.

Pro půdy platí vyhláška č.13/1994 Sb. Ta stanovuje limitní hodnoty pro rtuť stanovenou rozkladem lučavkou královskou na 0,6 mg/kg sušiny pro lehké půdy a 0,8 mg/kg pro ostatní půdy. Limity pro zeminy podle Metodického pokynu MŽP ČR (Věstník 3/1996) jsou pro kategorii A 0,4 mg/kg sušiny, pro B 2,5 mg/kg sušiny, pro C (obydlené) 10 mg/kg sušiny a pro C (průmyslové) 20 mg/kg sušiny. (Arnika 2010)

Co se týká limitů obsahu rtuti v potravinách, tak z praktických důvodů je limit stanoven pro celkovou rtuť. Ruprich a kol. (2004) uvádí ve své práci některé příklady: pro mléko, mléčné výrobky a ovoce je limit 5 µg/kg, pro zeleninu, cereálie a maso 10 µg/kg. Vysoká limitní hranice je určena rybám a mořským živočichům, a to až 200 µg/kg. Obr. 3. ukazuje obsah

celkové rtuť ve vybraných potravinách v České republice včetně vína za rok 2004. Limity pro rtuť víně v České republice stanoveny nejsou.



Obr. 3. Celková rtuť v potravinách pro ČR v letech 1999-2003 (Ruprich a kol. 2004).

2. CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo stanovit obsahy rtuti v odebraných vzorcích půd, listech, kalech, réví (jednoleté dřevo) a hroznech před sběrem a po lisování. Hlavním cílem bylo stanovit změny v obsahu rtuti během nejdůležitějších fází výroby vína. Případné změny měly být odůvodněny s odkazem na postup při výrobě vína a posouzeny s výsledky jiných autorů.

Důležitým cílem bylo i nalezení vhodné pracovní metodiky na stanovení kapalných vzorků.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Lokality



Obr. 4. Mapa lokalit, Lokalita R = Rudoltice, Lokalita MŽ = Malé Žernoseky (mapy.cz).

3.1.1. Rudoltice – vinařství Chrámce u Mostu

Mostecké vinařství obnovil majitel se spolupracovníky roku 1967. V roce 1977 se vinice rozšiřují k vrchu Špičák v Rudolticích nad Bílinou a v roce 1978 je vinná réva použita k rekultivačnímu účelu. Tak vzniká vinice Barbora na výsypce lomu Hrabák v Čepirozích u Mostu. Dnes je celková rozloha vinic 72 ha. Patří mezi největší výrobce vín z vlastních hroznů v republice (České vinařství Chrámce 2010). Vinice leží na jižním svahu vrchu Špičák v nadmořské výšce 240 až 300 m. n. m. V této oblasti jsou teploty mírné a je mírně suchá

z důvodů srážkového stínu. Její podloží tvoří vápnlitý jíl, zvětralina hornin mladšího kenozoika. Půdním typem je zde smonice na vápnlitém jílu (Tomášek 2000). Z toho vinařství pocházely vzorky z odrůdy Müller- Thurgau (syn. *Rivaner*).



Obr. 5. Lokalita Rudoltice (mapy.cz).

3.1.2. Malé Žernoseky

Rodinné vinařství Sv. Tomáše se nachází v Českém středohoří v regionu Malé Žernoseky , na svazích Dobraje a Opárenského údolí. První vinice byla vysazena v roce 1984 otcem majitele. V roce 2001 vysadil současný majitel nové vinice. Obhospodařované plochy je necelých osm hektarů Vinice jsou položeny na jihozápadním až východních svazích úpatí Českého středohoří a nachází se ve srážkovém stínu smírnými teplotami. Svahy jsou osázeny v nadmořské výšce od 150-270 m.n.m.. Půdním typem je zde nivní půda na zvětralinách hornin mladšího mezozoika (česká křídová pánev), a to především pískovce. Obhospodařované plochy je necelých osm hektarů (Vinařství sv. Tomáše 2010, Tomášek 2000). Z tohoto vinařství pocházely vzorky z odrůdy Rulandské šedé (syn. *Pinot gris*).



Obr. 6. Lokalita Malé Žernoseky (mapy.cz).

3.2. Metodika odběru a práce se vzorky

Listy, réví a bobule byly odebírány na místě do hnědých sterilních lékovek o objemu 50 ml. Kaly odebírala vinařka také do těchto lékovek. Půdní vzorky z kopané sondy byly dány do PVC pytlíku o objemu 0,5 kg. Takto uložené vzorky byly okamžitě dány do přenosného chladicího boxu, a posléze ukládány do mrazicího boxu v chladničce. Kapalné vzorky byly odebírány vinaři do hnědých sterilních lahví o objemu 500 ml a ukládány do chladničky. Během přepravy byly vzorky vždy uloženy v chladícím boxu a neopouštěly chladničku.

3.2.1. Pevné vzorky

Vzorky půd, hroznů, listů a větviček, kalů moštu a vína byly po vyjmutí z mrazicího boxu ihned přeneseny do laboratoře a umístěny do lyofilizátoru. V lyofilizátoru byly během 1-2 dnů sušeny vymrazováním.

Lyofilizace je metoda založená na odstranění vody ze vzorku na principu sublimace. Jedná se o sušení vzorku s minimálním dopadem, které by poškodilo vnitřní strukturu (wiseGeek 2010). Je to nejšetrnější metody sušení pevných látek (Pragolab 2010). Lyofilizace je poměrně časově náročná a finančně nákladnější forma sušení vzorku, proto se používá především pro vzorky citlivé na teplo a jemnou strukturu. Energie a náklady jsou 2-3x vyšší než u ostatních metod sušení. Proces vymrazování je poměrně dlouhý, asi 24 hodin. V prvé řadě je potřeba snížit teplotu vzorku k teplotě blízké bodu mrazu (wiseGeek 2010). Poté se vzorek vloží do vakuové komory nebo do nádoby spojeného s vakuovou komorou. Uvolněná vodní pára z ledu se

namrzáním zachytává na ledovém kondenzátoru (čerpadlo vodních par), který je vychlazen na velmi nízkou teplotu. Aby led začal sublimovat, musí být přivedena energie. Toho se dosahuje při sušení v zábrusových baňkách umístěných mimo vakuovou komoru vlivem vyšší okolní teploty. Pokud je vysušovaná látka zbavena veškeré volné vody, může se za vysokého vakuu oddělit i voda krystalická. Tato fáze vysušování látky se nazývá dosušování (Pragolab 2010). Takto upravený vzorek má do značné míry zachovalou strukturu a může být uchováván za standardních podmínek teploty a tlaku.

3.2.2. Zpracování kapalných vzorků

Kapalné vzorky byly odebírány postupně vinaři, kteří byli poučeni o manipulaci a uchování vzorků. Ty byly odebírány do hnědých skleněných lahví o objemu 500 ml, které byly ošetřeny ionizací. Lahve po odebrání vzorku byly pevně uzavřeny a skladovány v lednici. Převozy vzorku probíhaly v chladícím boxu, aby se výrazně neměnila jejich teplota. Vzorky nebyly ošetřeny žádným stabilizačním činidlem.

3.3. Analytická část

3.3.1. Použité přístroje

Analyzátor AMA 254 (Advanced Mercury Analyse AMA 254)

Jedná se o jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr pro stanovení rtuti. Tento přístroj je určen pro přímé stanovení obsahu rtuti v pevných a kapalných vzorcích bez nutnosti chemické předúpravy vzorku. Využívá se technika generování par kovové rtuti s následným zachycením a nabohacením na zlatém amalgamátoru. Tím se dosahuje vysoké citlivosti stanovení a nezávislosti výsledku stanovení na matici vzorku. Nosným plynem je kyslík. Mez detekce je 0,01 ng rtuti (Altec 2002).



Obr. 7. Analyzátor AMA 254, GLÚ AV ČR (foto J. Buchtová).

PS Analytical Millenium Merlin System

Přístroj je automatizovaný spektrometr založený na metodě atomové fluorescence s integrovanou generací par pro stanovení stopových a ultrastopových množství rtuti. Používá citlivý detektor, který detektuje světelné signály pomocí fotonásobiče excitované nízkotlakovou rtuťovou lampou. Je schopný pracovat jak s kontinuálním průtokem, tak s jednotlivými injekčními nástřiky vzorku. Je použitelný pro rutinní i výzkumné aplikace přizpůsobující výkon citlivosti požadavku. Limit detekce je 0,1 ppt. PS Analytical Millenium Merlin Systém je lineární do 10 ppm (LabWorld 2010). Typické aplikace zahrnují enviromentální vzorky jako jsou podzemní vody, pitnou vodu, potraviny, zeminy, kaly, biologické a průmyslové vzorky (PS Analytical 2007).



Obr. 8. PS Analytical Millenium Merlin System, GLÚ AV ČR (foto J. Buchtová).

3.3.2. Pevné vzorky

Připravené vzorky byly poté měřeny na analyzátoru AMA 254 v Laboratořích geologických ústavu PřF UK a laboratořích Geologického ústavu AV ČR. Jako standart bylo použito jablečné listí SRM NIST 1515 se vztažnou hodnotou $0,44 \pm 0,004 \mu\text{g/kg}$. Mez detekce a stanovitelnosti byla kontrolována využitím sklářského písku.

Měření pH proběhlo v laboratořích Geologického ústavu AV ČR podle metodiky uvedené v literatuře (Pansu, Gautheyrou 2006). Vzorky na stanovení pH půd byly připraveny do 50 ml PE lahviček Do nich bylo dáno 7 g dané půdy a 14 ml převařené destilované vody, vychlazené na pokojovou teplotu v proudu inertního plynu. Převařením došlo k odstranění CO_2 , který by okyseloval půdní výluh. Takto připravené vzorky byly dány na jednu hodinu na třepačku. Poté bylo pH měřeno pH metrem (Handylab) pH 12 Schott Gerte GmbH.

Celkový obsah uhlíku (TC) a celkový obsah síry (TS) byly stanoveny analyzátozem C/S ELTRA CS 530 firmy ELTRA (Germany) v Laboratořích geologických ústavů PřF UK.

3.3.3. Kapalné vzorky

Kapalné vzorky byly nejprve připravovány na měření na spektrometru PS Analytical Millenium Merlin System metodikou zpracování uvedenou v oddělení experimentální části, popsanou níže (Blok I.). Vzhledem k problémům souvisejícím s analýzou měřených vzorků, byla zvolena experimentální metoda s následnou analýzou zachycené rtuťi na amalgamátoru pomocí analyzátoru AMA 254 (Blok II.).

Blok I.

Příprava vzorků

Bylo připraveno 6 vzorků koupeneho vína po 10 ml (JB1 – JB6), do kterých bylo přidáno 0,5 – 15 ml H_2O_2 o koncentraci 33 % a 1,0 – 1,2 ml 30% HNO_3 .

Dále bylo připraveno 8 vzorků po 20 ml (JB7 – JB15), které byly okyseleny HNO_3 o koncentraci 30 % na pH 1 a zahřívány na teplotu 110 °C, aby došlo k odpaření lihu. Po zmenšení objemu vzorků na polovinu bylo k jednotlivým vzorkům přidáno 10 ml destilované vody, 3 ml H_2O_2 a 1 ml 30% HNO_3 .

Vzorky JB16 – JB20 byly také okyseleny 30% HNO_3 na pH 1. Takto upravené víno bylo zahříváno na teplotu 110°C. Po odpaření vzorků na polovinu byly vzorky odstaveny. K vzorkům JB19 – JB20 bylo přidáno 0,1 ml H_2O_2 o koncentraci 33 %.

Všechny vzorky byly přeneseny do křemenných zkumavek a vloženy do UV lampy, kde byly

zhruba 14 dní ozařovány. UV zářením byla z vína odstraněna v něm obsažená přírodní barviva. Zátky křemenných zkumavek byly ponechány volně, aby docházelo k tlakování systému vyvíjejícími se O₂ a CO₂.

Vzorky JB10 až JB12, JB18 a JB20 byly připraveny z červeného vína a vzorky JB1 až JB9, JB13 až JB17 a JB19 byly připraveny z vína bílého.

V Tab. 4. jsou uvedeny hodnoty H₂O₂ a HNO₃ (nebo H₂SO₄) a výsledky zákalu pro červené víno. V Tab. 5. pro víno bílé.

Tab. 4. Obsahy H₂O₂ a HNO₃ (*H₂SO₄) přidané do červeného vína a hodnoty zákalu.

vzorek	H₂O₂(ml)	HNO₃ (ml)	hodnocení zákalu
JB 1	10	1	x
JB 2	5	1	x
JB 3	15		x
JB 4		1	x
JB 5	5	1,1	x
JB 6	4	1,2	x
JB 7	3	1	x
JB 8	3	1	x
JB 9	3	1	x
JB 13	3	1	x
JB 14	3	1	x
JB 15	3	1	
JB 16 *		3	
JB 17		13	

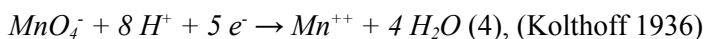
Tab. 5. Obsahy H₂O₂ a HNO₃ (*H₂SO₄) přidané do červeného vína a hodnoty zákalu.

vzorek	H₂O₂(ml)	HNO₃ (ml)	hodnocení zákalu
JB 10	3	1	x
JB 11	3	1	x
JB 12	3	1	x
JB 18		13	xxx
JB 19	0,1	13	x
JB 20	0,1	13	xxx

Manganometrie

Změny koncentrace H₂O₂ byly stanovovány manganometrií. Bylo však zjištěno, i po vystavení vzorků UV světla nebyl odbourán vŕšechn H₂O₂.

Manganometrie (4) je titrace odměrným roztokem manganistanu, založená na oxidační schopnosti činidla. V kyselém prostředí se manganistan redukuje na manganatou sůl. Tato metoda se používá mimo jiné k zjištění peroxosloučenin a alkoholů (Šelepová a kol. 1983).



Byl připraven roztok KMnO_4 - navážka 1,5860 g KMnO_4 a doplněno na 100 ml destilovanou vodou. Do kádinky byl injekční stříkačkou o objemu 1 ml odměřen 1 ml zkoumaného vzorku. K vzorku byla přidána destilovaná voda nespecifikovaného objemu. Na okyselení bylo přidáno HNO_3 , aby bylo dosaženo pH 1. Do takto připraveného roztoku byl injekční stříkačkou o objemu 5 ml postupně přidáván připravený roztok KMnO_4 . Roztok byl přidáván až do bodu ekvivalence, kdy se roztok zbarvil nevratně do růžova (Whitten a kol. 2000).

Vzorky měly být dále zpracovány spektrometrem PS Analytical Millenium Merlin System. Docházelo však k zhášení, protože zkušební vzorky i nadále obsahovaly ethanol, který způsobuje zhášení fluorescence.

Příprava kalibračních roztoků na PSA

Do sedmi odměrných baněk o objemu 100 ml a dvou 1000 ml baněk na slepý vzorek (blank) byla nalita destilovaná voda přibližně do poloviny objemu nádob. Baňky musí být používány pouze pro tyto účely a také pro odpovídající koncentraci. Injekčními stříkačkami o objemu 20 ml a 2 ml bylo přidáno do sedmi 100 ml baněk 15 ml zásobního roztoku HCl o koncentraci 33 % a 2 ml roztoku ze zásobního roztoku KBr (11,9 g/500 ml) a zásobního roztoku KBrO_3 (2,8 g/500 ml) smíchaných v poměru 1:1. Baňky byly zazátkovány a promíchány krouživým pohybem.

Do 1000 ml baněk na blank byly nadávkovány desetinásobky uvedených činidel (150 ml HCl , 20 ml roztoku KBr a KBrO_3). Tyto baňky byly doplněny na 1000 ml destilovanou vodou, uzavřeny a promíchány.

Dvě připravené 100 ml odměrné baňky byly použity na přípravu roztoků 1 ppm rtuti a 1 ppb rtuti.

Roztok o koncentraci 1 ppm rtuti je připraven tak, že je automatickou pipetou vneseno 0,1 ml zásobního roztoku 1000 ppm rtuti do odměrné baňky a doplněn po rysku destilovanou vodou.

Roztok 1 ppb rtuti byl připraven z roztoku 1 ppm rtuti. Bylo odpipetováno 0,1 ml roztoku o koncentraci 1 ppm do 100 ml odměrné baňky a doplněno po rysku destilovanou vodou. Roztok byl promíchán.

Zbývajících pět odměrných baněk o objemu 100 ml bylo použito na přípravu kalibračních roztoků o koncentraci od 5 ppt do 100 ppt. Automatickou pipetou bylo odpipetováno 0,5 ml pro přípravu roztoku 5 ppt rtuti, 1 ml pro přípravu roztoku 10 ppt rtuti, 2,5 ml pro přípravu roztoku 25 ppt rtuti, 5 ml pro přípravu roztoku 50 ppt rtuti a 10 ml pro přípravu roztoku 100 ppt rtuti. Baňky byly doplněny po rysku destilovanou vodou, zazátkovány a promíchány.

Všechny roztoky byly ponechány cca 5 minut stát. Potom bylo automatickou pipetou ke každému vzorku přidáno 0,2 ml zásobního roztoku hydroxylaminu. Do 1000 ml blanků byl přidán desetinásobek (2 ml) hydroxylaminu. Každý roztok byl promícháván až byl bezbarvý.

Zpracování vzorků na PS Analytical Millenium Merlin System

Do 100 ml baňky bylo odměřeno 15 ml zásobního roztoku HCl o koncentraci 33%, 1 ml zásobního roztoku KBr, 1 ml zásobního roztoku KBrO₃, 0,2 ml hydroxylaminu a 83 ml vzorku z UV lampy.

Do 25 ml scintilační nádoby byly odměřeny 3 ml zásobního roztoku HCl o koncentraci 33 %, 0,2 ml zásobního roztoku KBr, 0,2 ml zásobního roztoku KBrO₃, 0,04 ml hydroxylaminu a 16,6 ml vzorku z UV lampy.

Takto připravené vzorky měly být analyzovány na přístroji PS Analytical Millenium Merlin System.

Blok II.

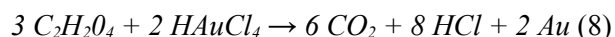
Použití zlatého amalgamátoru k zachycení rtuti s následným změřením v analyzátoru AMA 254

Příprava amalgamační vaty (pozlacení křemenné vaty).

Granálie zlata o hmotnosti 0,2 g byly rozpuštěny v roztoku lučavky královské (HCl : HNO₃ v poměru 3:1) v množství 5 ml. Kádinka obsahující granulárie v roztoku, byla zahřívána na teplotu 150°C po dobu 5 dní až do úplného rozpuštění zlata a vytvoření oranžového roztoku kyseliny tetrachlorozlatité (zvané též chlorid zlatitý) (7).



Poté byla připravena 10-20 % kyselina chlorovodíková. Ta byla přidána k rozpuštěnému zlatu až na celkový objem 25 ml. Vzniklý roztok tedy obsahoval 0,1 g zlata na 1 ml. Z roztoku zlata byly odebrány 2 ml, které se 10x naředily. Do takto naředěného roztoku byla přidána jako reduktant nasycená kyselina šťavelová (8).



Bylo vhodné, aby pozlacení neprobíhalo příliš rychle kvůli vyprašování zlata, proto byl zvolen organický resultant. K úpravě pH byl použit amoniak. V takto připravené lázni byly ponechány smotky křemenné nebo skelné vaty až do jejich pozlacení. Snopky musely být odmaštěny acetonem a manipulace s nimi probíhala pinzetou. Před pozlacením byly ponechány v sušárně do úplného odpaření acetonu. Pro urychlení reakce byla kádinka se smotky

ponechána na topné desce při zhruba 100°C. Pře použitím amalgámů bylo nutné zbavit se rtuti, kterou po pozlacení obsahovaly. Pro tento účel se amalgám několikrát nechal absolvovat měřicí cyklus na AMA 254.



Obr. 9. Smotky pozlacené křemenné vaty – amalgamátor (foto J. Buchtová).

Zachycení rtuti na pozlacené křemenné vatě a jeho následné stanovení obsahu rtuti na analyzátoru AMA 254

První část zpracování kapalných vzorků, je založena na principu analyzátoru AMA 254, tedy využití zlatého amalgamátoru na zachycení rtuti. Pro naše potřeby bylo však nutné vytvořit redukční podmínky. Analyzátor AMA 254 je založen na principu oxidačním; jako nosný plyn je zde kyslík. Byla použita trojhrdlá baňka umístěná do stojanu (10). Vzorek bylo třeba zahřívat ve vodní lázni pod bodem varu a zároveň ho i míchat. Proto byla použita plotýnka, která obě potřeby spojovala. Do baňky byla dána keramická míchačka. Baňka byla postavena do měděné nádoby s vodní lázní okolo 80 °C. Do jednoho hrdla byl přiveden nosný plyn (Ar nebo N₂) nutný k probublávání vzorku. Do dalšího otvoru byla dána skleněná trubička s pozlaceným amalgamátorem. Horní otvor byl používán pro nalití vzorku a přidání zásobního redukčního činidla SnCl₂. Jinak byl uzavřen skleněnou zátkou. Po nalití vzorku bylo okamžitě přidáno redukční činidlo, zapnuto míchání nastavené na stupeň 8 (cca 800 otáček/min⁻¹) a otevřen přívod plynu. Poté se takto připravený vzorek nechal po dobu 30 minut pracovat. Po uplynutí tohoto času se urychleně přemístil amalgamátor do své skleněné nádoby, která se uzavřela.

Do skleněné trubičky byl dán další amalgamátor. Poté byl již nasycený amalgamátor dán do analyzátoru AMA 254 a stanoven obsah rtuti.



Obr. 10. Aparatura pro zachycení rtuti na amalgamátor (foto J. Buchtová).

4. VÝSLEDKY

Vzorky pocházejí z vinic z Rudoltic nad Bílinou (Vinařství Chrámcce u Mostu) a Malých Žernosek (Vinařství sv. Tomáše). Obsahy rtuti byly stanovovány ze vzorků z prostředí vinice, kde byly odebírány vzorky půdy do hloubky 50 cm, biomasa včetně vzorků z rostliny révy vinné – listy, réví, bobule. Ze samotného procesu vína byly odebrány vzorky vymačkaných bobulí, kalů moštu a vína a kapalně vzorky jednotlivých nejdůležitějších fází výroby vína – nefiltrovaný mošt, čistý mošt, nefiltrované víno, hotové víno.

Půda v Malých Žernosekách obsahovala od 0,02-0,05 mg Hg/kg, v Rudolticích od 0,05-0,1 mg Hg/kg. Naměřené hodnoty nepřekračují povolené limity dané zákonem. Biomasa z Malých Žernosek obsahovala 0,05 mg Hg/kg, z Rudoltic 0,1 mg Hg/kg. Větvičky a listy v Malých Žernosek měly obsah rtuti 0,0045 a 0,0287 mg/kg, v Rudolticích 0,0018 a 0,0931 mg/kg. Obsah rtuti v neporušených bobulích hroznů v Malých Žernosekách byla 0,0008 mg/kg. V Rudolticích byly odebrány neporušené bobule, které měly obsah 0,0022 mg Hg/kg a také bobule vylisované s obsahem rtuti 0,0068 mg/kg. Stěžejní částí práce bylo zjištění změny obsahu rtuti v průběhu výroby vína. V případě vzorků z Malých Žernosek byly naměřeny hodnoty rtuti 0,42 ng/100 ml u nefiltrovaného moštu, 0,25 ng/ml u čistého moštu, 2,12 ng/100 ml u surového vína a 1,32 ng/100 ml u hotového vína. Vzorky zpracované v Chrámcích obsahovaly 0,05 ng Hg/100 ml v nefiltrovaném moštu, 0,63 ng Hg/100 ml v čistém moštu, 1,72 ng Hg/100 ml v surovém víně a 1,04 ng/100 ml v hotovém víně.

4.1. Pevné vzorky

Tab. 9. pH půd

Rudoltice		Žernoseky	
hloubka	pH	hloubka	pH
1 cm	7,5	1 cm	6,2
3 cm	7,8	3 cm	6,3
5 cm	8,1	5 cm	6,3
10 cm	8,2	10 cm	6,2
20 cm	8	20 cm	6,2
30 cm	8,2	30 cm	6,3
40 cm	8,2	40 cm	6,7
50 cm	8,3	50 cm	7

Tab. 10. Obsahy C a S v půdě – Rudoltice.

Rudoltice			
hloubka (cm)	C (%)	S (ppm)	m vz. (mg)
1	4,4	116,6	304,3
3	0,7	172,2	716,3
5	2,4	607,9	232,3
10	1,4	455,3	463,2
20	2	643,3	495,2
30	3	857,1	492,1
40	2,7	753,3	467,1
50	2,4	646,6	518

Tab. 11. Obsahy C a S v půdě - Malé Žernoseky.

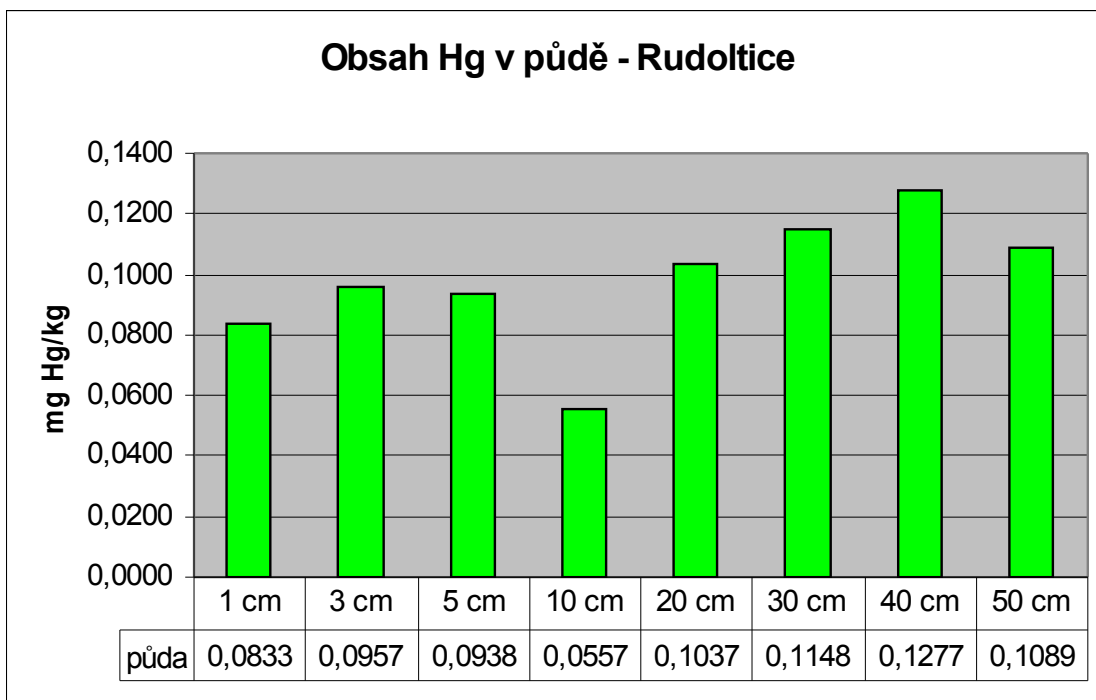
Žernoseky			
hloubka (cm)	C (%)	S (ppm)	m vz. (mg)
1	1,2	256,3	504,5
3	1,2	280,4	530,4
5	1,2	260,3	489,4
10	1,1	260,8	535,2
20	1,1	257,7	501,2
30	1	252,3	529,2
40	0,7	198	530,2
50	0,4	100,7	540,1

Tab. 12. Výsledky analýzy pevných vzorků - Rudoltice, analyzátor AMA 254.

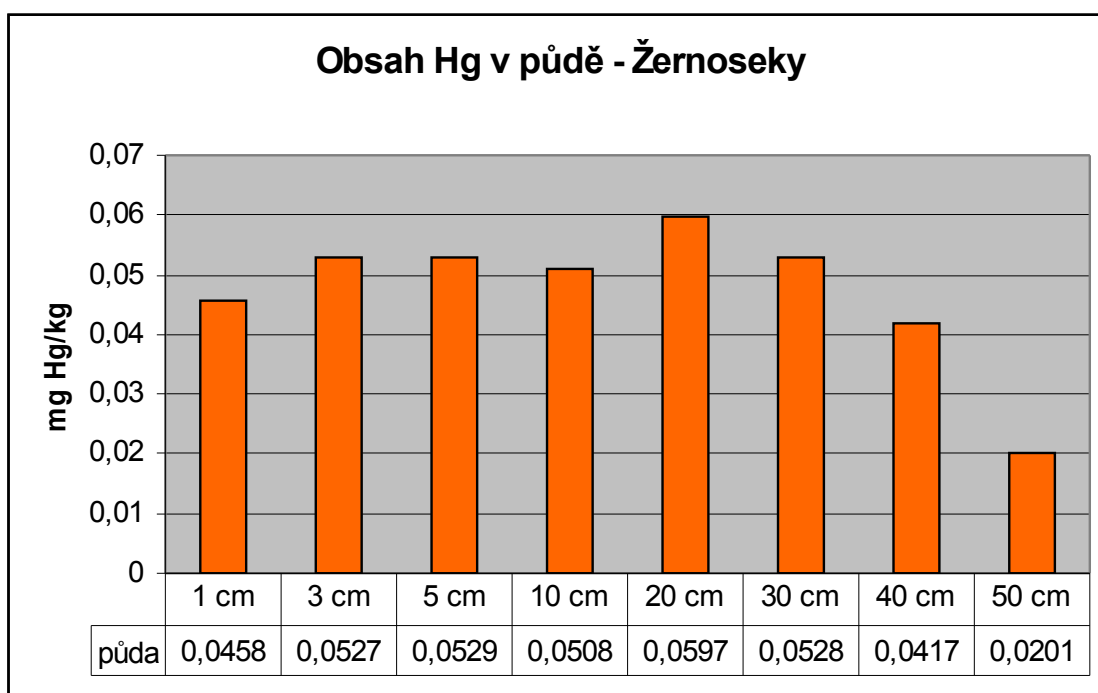
Rudoltice			
	Hg mg/kg	Sd	RSD%
půda:1 cm	0,0833	0,0032	1,6
3 cm	0,0957	0,0034	1,8
5 cm	0,0938	0,0037	2,26
10 cm	0,0557	0,002	2,58
20 cm	0,1037	0,0042	2,31
30 cm	0,1148	0,0039	1,4
40 cm	0,1277	0,005	1,6
50 cm	0,1089	0,0045	2,39
Biomasa	0,1503	0,0089	2,41
Réví	0,0018	0,0001	3,53
Listy	0,0931	0,0044	2,74
Hrozný celé	0,0022	0,0002	4,04
Hrozný lis.	0,0068	0,0002	1,86
Kal mošt	2,4867	0,1104	2,56
Kal víno	1,5841	0,0608	2,21

Tab. 13. Výsledky analýzy pevných vzorků - Malé Žernoseky, analyzátor AMA 254

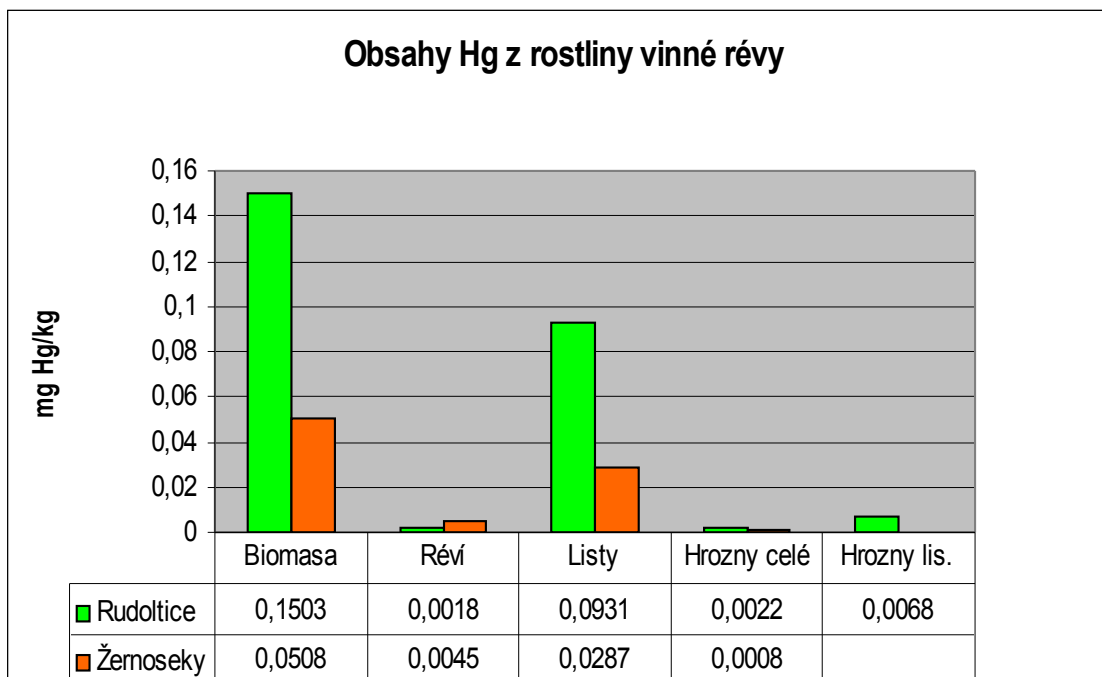
Žernoseky			
vzorky	Hg mg/kg	Sd	RSD%
půda:1 cm	0,0458	0,0008	1,09
3 cm	0,0527	0,0005	0,8
5 cm	0,0529	0,0013	1,52
10 cm	0,0508	0,0009	0,99
20 cm	0,0597	0,002	2,01
30 cm	0,0528	0,0033	3,03
40 cm	0,0417	0,0018	2,4
50 cm	0,0201	0,0008	2,49
Biomasa	0,0508	0,0012	1,18
Réví	0,0045	0,0003	2,22
Listy	0,0287	0,0016	3,48
Hrozný celé	0,0008	$1,73 \cdot 10^{-05}$	9,73



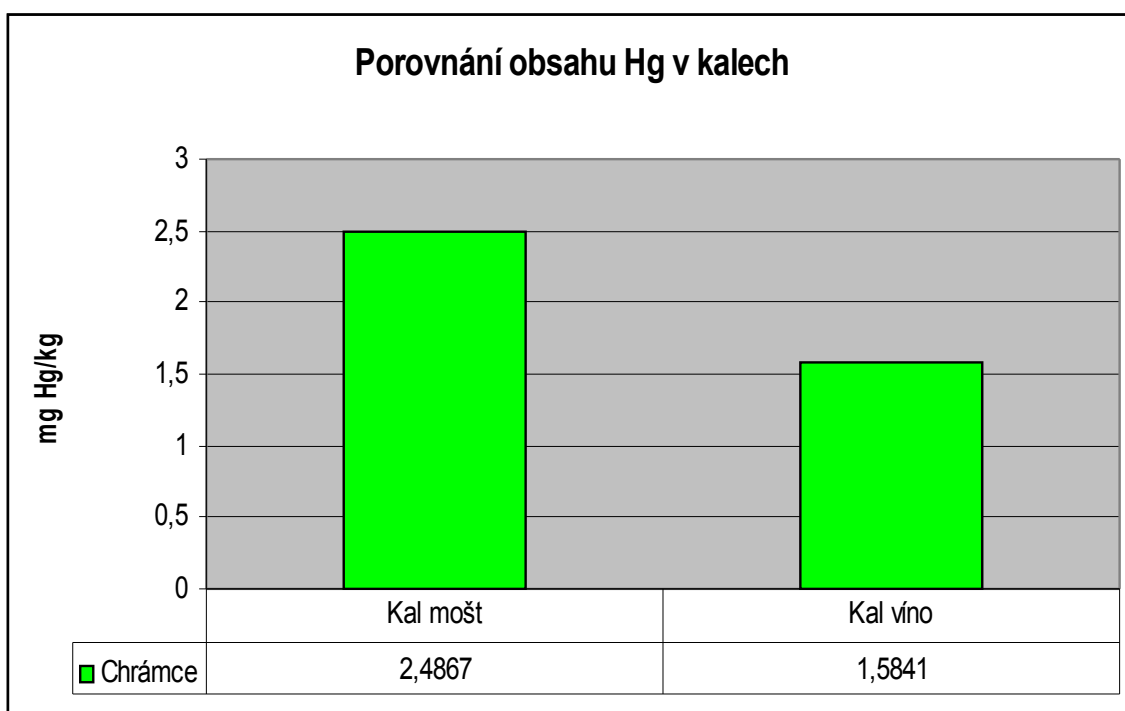
Obr. 11. Výsledky měření rtuti v půdě v různých hloubkách – Rudoltice



Obr. 12. Výsledky měření Hg v půdě v různých hloubkách - Žernoseky



Obr. 13. Výsledky měření jednotlivých částí rostliny vinné révy.



Obr. 14. Porovnání kalů moštu a vína – Chrámce.

4.2. Kapaln  vzorky

Tab. 15. V sledn  hodnoty kapalných vzorků.

Mošt (nefiltr.) Chrámce	
	ng/100 ml
1.	0,577
2.	0,408
3.	0,279
průměr	0,42
SD	0,15
RSD%	20,5

Mošt (�ist�) Chrámce	
	ng/100 ml
1.	0,673
2.	0,056
3.	0,02
průměr	0,25
SD	0,37
RSD%	84,76

*odkaz na diskusi pro RSD

Víno (sur.) Chrámce	
	ng/100 ml
1.	1,644
2.	1,876
3.	2,84
průměr	2,12
SD	0,63
RSD%	17,27

Víno (hot.) Chrámce	
	ng/100 ml
1.	1,354
2.	1,397
3.	1,205
průměr	1,32
SD	0,1
RSD%	4,41

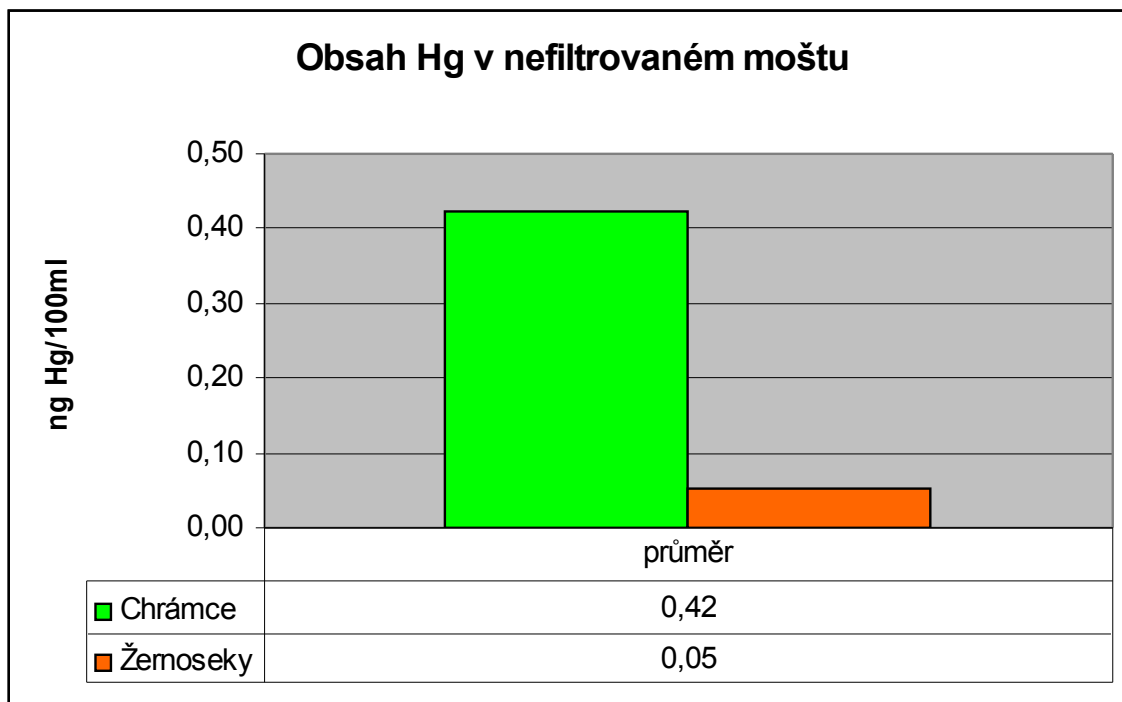
Mo�t (nefiltr.) �ernoseky	
	ng/100 ml
1.	0,083
2.	0,042
3.	0,028
pr�m�r	0,05
SD	0,03
RSD%	438,29

*odkaz na diskusi pro RSD

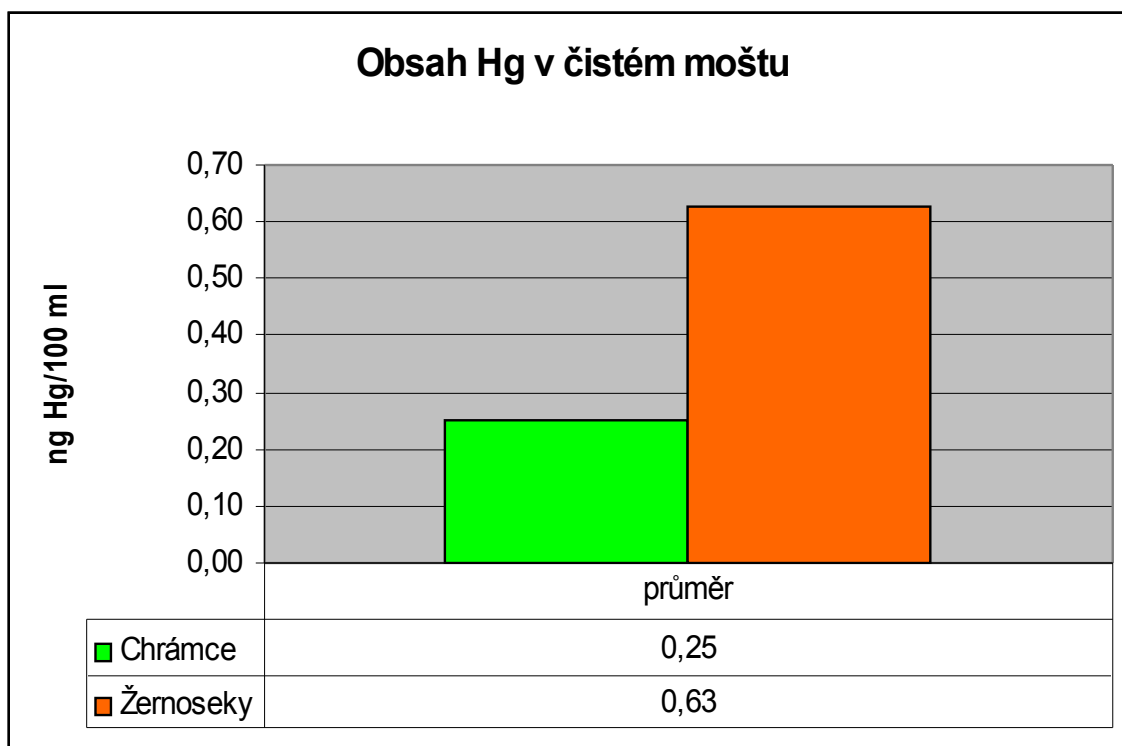
Mo�t (�ist�) �ernoseky	
	ng/100 ml
1.	0,441
2.	0,285
3.	1,155
pr�m�r	0,63
SD	0,46
RSD%	42,73

V�no (sur.) �ernoseky	
	ng/100 ml
1.	2,623
2.	1,326
3.	1,208
pr�m�r	1,72
SD	0,64
RSD%	26,36

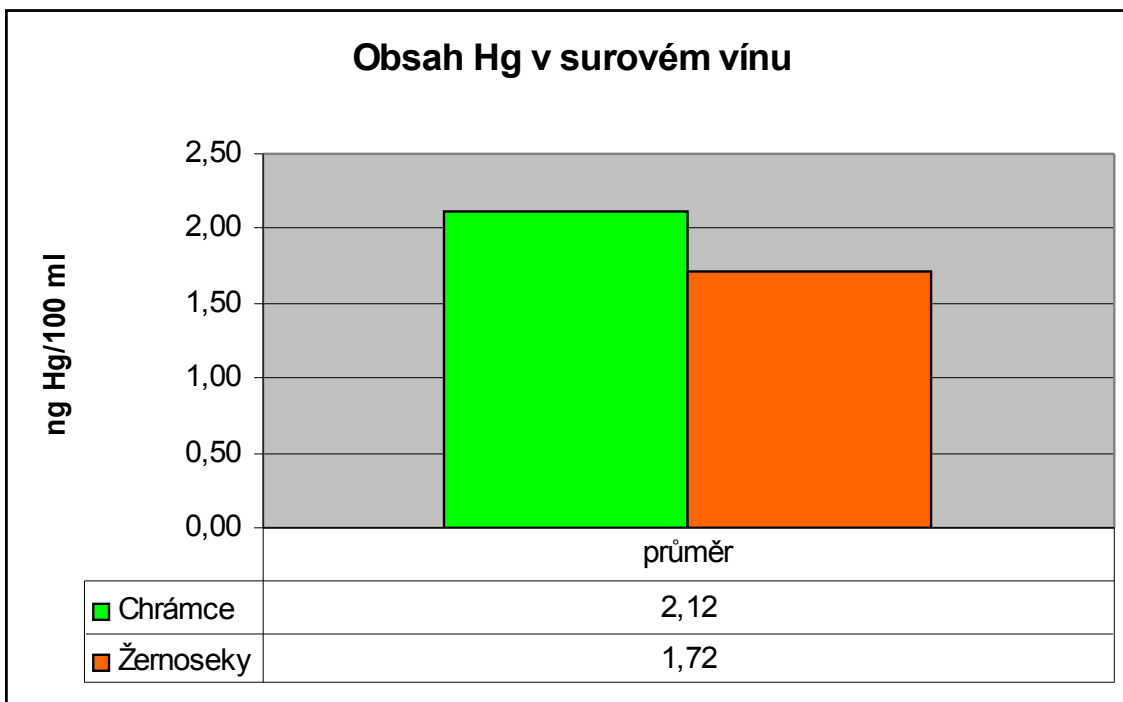
V�no (hot.) �ernoseky	
	ng/100 ml
1.	0,967
2.	0,848
3.	1,308
pr�m�r	1,04
SD	0,24
RSD%	13,23



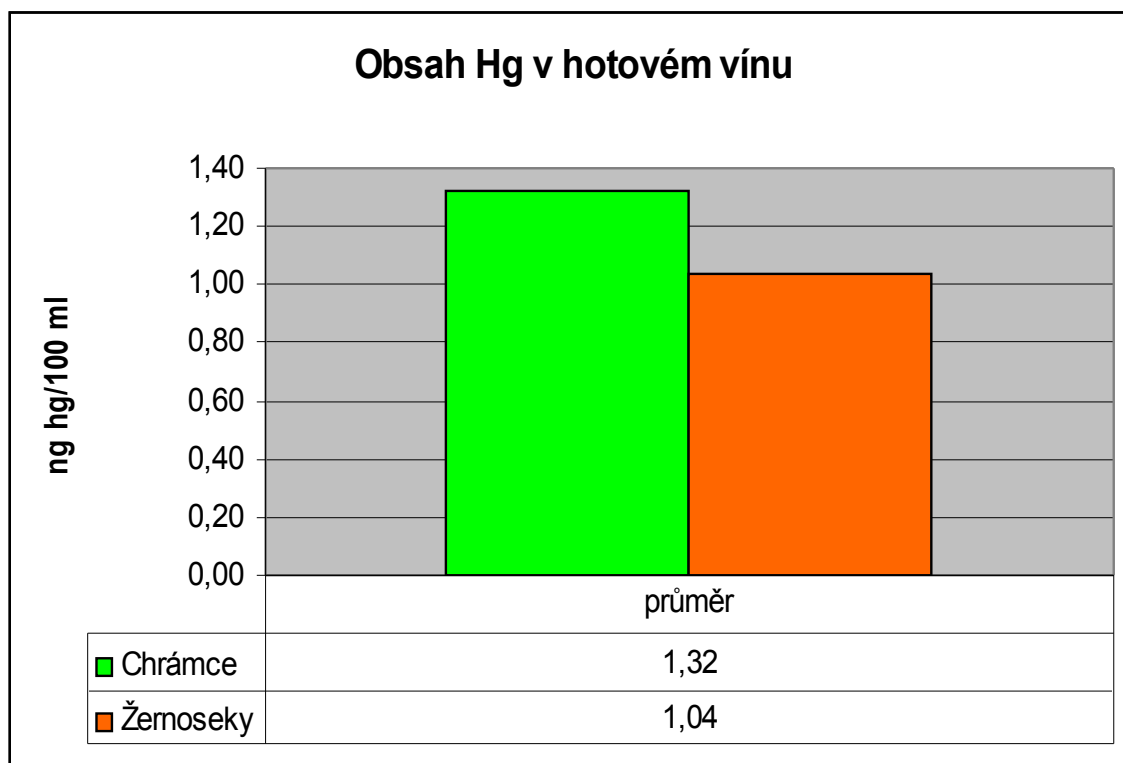
Obr. 15. Výsledky měření rtuti v nefiltrovaném moštu.



Obr. 16. Výsledky měření rtuti v čistém moštu.



Obr. 17. Výsledky měření Hg v surovém vínu



Obr. 18. Výsledky měření Hg v hotovém vínu

5. DISKUSE

Obě lokality, Rudoltice nad Bílinou a Malé Žernoseky, se nacházejí v geologické jednotce Českého masivu. Rudoltice leží na neogenních sladkovodních sedimentech, Malé Žernoseky leží v oblasti Českého středohoří na třetihorních vulkanitech. Obě vinice jsou položeny na jižních svazích v nadmořské výšce do 300 m.n.m a jsou převážně ve srážkovém stínu.

Charakteristika půd, podloží

Ve vzorcích půd z lokality Rudoltic nad Bílinou bylo naměřeno mírně zásadité pH 7,5 až 8,3 jak je uvedeno v Tab. 16. na straně 34. Zásadité pH souvisí s uložením půdního typu – smonice na vápnitém jílu, které vytváří zásadité podmínky v půdě. Smonice se České republice vyskytují pouze v severočeské hnědouhelné pánvi, kde se vytvořily na montmorillonitických jílech. Klima, kde se vyskytují je poměrně teplé, ale značně aridní. Hlavním půdotvorným pochodem zde byla humifikace s vertisol-efektem, což znamená, že půdní povrch má samomulčovací schopnost (rozpad zeminy na výrazné drobné strukturní elementy), s tvorbou mikroreliefního zvlnění a s charakteristickým výskytem skluzných ploch v půdním reliéfu (příčinou jsou objemové změny extrémně těžkých půd). Profil je tvořen hlavně humusovým horizontem někdy mocným až 80 cm, v jehož spodní části se mohou vyskytovat skluzné plochy. Tento horizont je obvykle nevápnitý. Na přechodu do matečného substrátu, kde karbonáty většinou opět chybějí, se vyskytuje nápadný karbonátový horizont jako následek bioakumulačních pochodů (Tomášek 2000). Vzorky z Malých Žernosek vykazovaly naopak půdní prostředí mírně kyselé až neutrální, kdy se pH pohybovalo v rozmezí hodnot 6,2 až 7 (Tab. 16.). Mírně kyselé prostředí souvisí s položením lokality na nivní půdě. Tento typ půdy se v České republice vyskytuje hojně, a to především v nížinách, kde vyplňují plochá dna říčních údolí, převážně větších vodních toků (zde údolí Labe). Půdotvorným substrátem jsou výhradně nivní uloženiny tzn. říční a potoční náplavy. Stratigrafie nivní půdy je jednoduchá. Pod nevýrazným humusovým horizontem leží matečný substrát, tvořený naplaveným materiálem. Zrnitostní složení silně kolísá podle rychlosti toku a na vzdálenosti od řečiště. Při bázi půdy leží obvykle šterková vrstva. Obsah humusu je nejčastěji střední, ale prohumóznění často zasahuje značně hluboko (Tomášek 2000).

U půd se potvrdil očekávaný trend obsahu rtuti v půdním profilu, postavený na korelaci mezi obsahem organické hmoty (popř. jílových částic) ve vzorku a obsahem rtuti.

Z celkového obsahu síry nelze jednoznačně určit vazbu se rtutí, protože část síry je vázána v podobě organických sloučenin (methionin, cystein a jejich deriváty), část se vyskytuje ve formě anorganické (hlavně jako sulfát). Stanovení specií síry je složitější, proto nebylo provedeno. V Rudolticích obsah rtuti nekoreluje s obsahem uhlíku v 1 a 3 cm. Mohlo dojít k nedostatečné

homogenizaci vzorků půdy nebo ke zkrácení obsahu uhlíku při jeho stanovení, které pro tyto dva vzorky probíhalo hned na počátku prací. Pro nedostatek upraveného vzorku nebylo měření opakováno.

Naměřené hodnoty obsahu rtuti v půdě nevykazují výraznější vývoj či trend v rámci daného profilu. Souvisí to s typy půd, kdy se jejich půdní profil (horizonty) s hloubkou příliš nemění. Rozdíl mezi obsahy rtuti v půdě ve zkoumaných oblastech je dán pravděpodobně přítomností vyššího průtokového koeficientu souvisejícího s větší pórovitostí půdního typu v Malých Žernosekách.

Naměřené hodnoty obsahu rtuti v půdě nepřekračují limit MŽP, kdy pro kategorii půd A (znečištění příslušné složky životního prostředí vyjma oblastí s přirozeným vyšším obsahem sledovaných látek), která je 0,4 mg/kg sušiny.

Stanovení obsahu rtuti v biomase

Biomasa je důležitá součást měření pro stanovení rtuti v oblasti vinice. Definice biomasy lze najít mnoho. Jedna z definic říká, že biomasa je veškerá organická hmota na Zemi, která se účastní koloběhu živin v biosféře. Je to souhrn látek, které tvoří těla všech organismů (živých nebo mrtvých) od největších druhů až po mikroskopické (Seaplanet 2009). Jiná definice charakterizuje biomasu jako množství rostlinné hmoty, která vyrostle na určité ploše za určitou dobu nebo jako hmotu organického původu (Příroda 2011, Alternativní zdroje energie 2011). V této práci je označena pojmem biomasa nejsvrchnější část půdy bez makroorganismů. Nalezené obsahy rtuti jsou sumarizovány v Tab. 16. Vyšší obsah rtuti v biomase v Rudolticích (0,15 mg/kg) souvisí s mírným travním pokryvem. V Žernosekách se hodnota rtuti v biomase (0,05 mg/kg) neliší od hodnoty v 1 cm. To může souviset s písčitou půdou, která se tam vyskytuje (nesouvislý pokryv travin, větší póry). Dále k biomase řadíme i listy vinné révy, réví a surové bobule. Obsah rtuti v těchto částech je sumarizován v následující kapitole.

Rtut' ve vinné révě

Vzorky odebrané z vinné révy byly zvoleny podle následující úvahy. Bobule mají dost pevnou slupku, která slouží jako bariéra pro vstup nežádoucích látek do dužniny kryjící semena. Proto bylo zvoleno, že budou odebrány bobule v neporušeném stavu a bobule vylisované. Druhé zmíněné bobule měly ukázat, zda v nich dochází k zachycení rtuti. Listy a réví byly zvoleny pro srovnání absorpční schopnosti, kdy bylo předpokládáno, že větší absorpční povrch listu prokáže vyšší obsah rtuti než réví. Vhodné by bylo odebrat i kořeny, kde by se projevila absorpce rtuti z půdy do rostliny. Bohužel to nebylo možné vzhledem k složitému kořenovému systému a kvůli možnému poškození rostliny.

Rtuť se do rostlin dostává nejvíce z atmosféry. Obsah rtuti z půdy je mnohem nižší. Atmosférický příspěvek celkového obsahu rtuti přechází do listů z 90-95 %, zatímco do kořenů z 30-60 % (Mosbaek a kol. 1988). Těmto obecně známým faktům odpovídá trend obsahu rtuti jednotlivých částech vinné révy. Nejvíce rtuti v rostlině vinné révy se akumuluje v listech jak ukazuje Tab. 16. V listech v Rudolticích bylo naměřeno 0,0931 mg/kg rtuti a v Malých Žernosekách 0,0287 mg/kg. Zadržení souvisí s jejich velkým absorpčním povrchem, kde se rtuť může zachytit. Zadržování rtuti v listech chrání réví (jednoleté dřevo), kde se příliš rtuti nezachycuje i díky tomu, že jeho absorpční povrch není velký. V réví z Rudoltic bylo naměřeno 0,0018 mg/kg rtuti a v réví z Malých Žernosek 0,0045 mg/kg rtuti (Tab. 16). Tento rozdíl zřejmě mohl souviset s odlišným olistěním rostlin, které se liší podle druhu vína. Bobule obsahují nejvíce rtuti ve slupce (Tab. 16.), která slouží jako ochranná vrstva dužniny a semen. Proto je obsah rtuti vyšší ve vylisovaných bobulích než v celých bobulích, kde je dužnina. Lze to ukázat na vzorcích z Rudoltic, kdy nezpracované bobule obsahovaly 0,0022 mg/kg rtuti, zatímco vylisované měly obsah rtuti 0,0068 mg/kg. Na vzorcích z Malých Žernosek nelze bohužel toto dokázat, protože vylisované hrozny nebyly dodány.

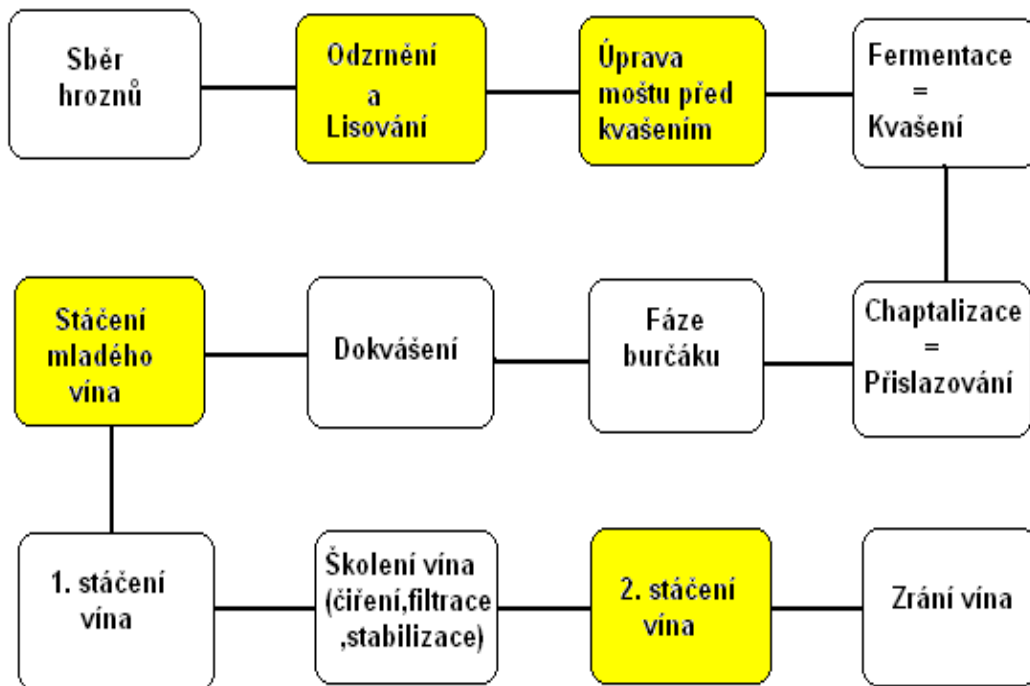
Chod obsahu rtuti v průběhu výroby vína

Jedním z hlavních cílů diplomové práce bylo vyhodnotit změny v obsahu rtuti v průběhu procesu výroby vína. Kromě samotného stanovení obsahů rtuti bylo i určení možných příčin, které mohly rtuť v materiálech z jednotlivých fází výroby vína ovlivňovat. Bohužel se tato diplomová práce nemohla opírat o naměřená data z jiných prací, protože o problematice z pohledu celého procesu výroby vína se nezmiňuje žádná publikace.

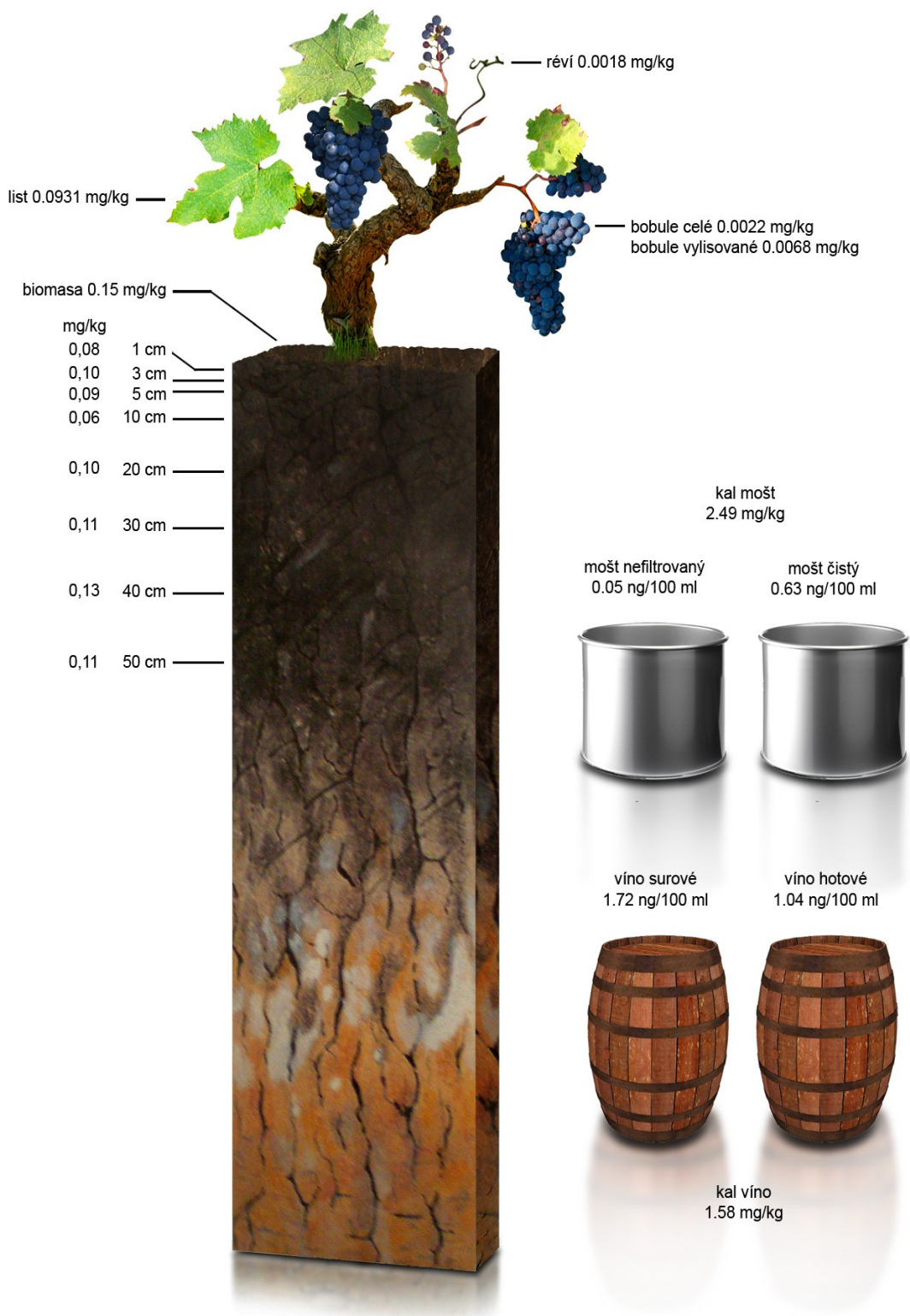
Volba výrobních fází vína, ve kterých byly odebrány vzorky pro stanovení rtuti, byly doporučeny vinaři z důvodů největších změn, které víno popř. mošt ovlivňují. Kaly by zvoleny na doporučení vinaře, protože se jedná o čistící proces, a dalo se tedy očekávat, že se zde bude docházet k významné změně v obsahu rtuti. Proces výroby vína je technologicky velmi složitý. Na obsah rtuti má vliv mnoho faktorů jako je prostředí výroby, manipulace s bobulemi, moštem, vínem, čistota a materiál nádob a nástrojů, filtrační materiály nebo množství přidávaných látek aj.

Proto byly odebrány vzorky nefiltrovaného moštu, čistého moštu, surového vína, hotového vína, kalů moštu a vína, a po zpracování metodou zachycení rtuti na pozlacený amalgamátor v nich stanovena rtuť. Vzorek nefiltrovaného moštu demonstruje první stupeň výroby, který byl odebrán po vylisování bobulí. Vzorek čistého moštu, byl odebrán po přefiltrování moštu. Další stupeň výroby je surové víno, které bylo odebráno při prvním stáčení po usazení zbytku

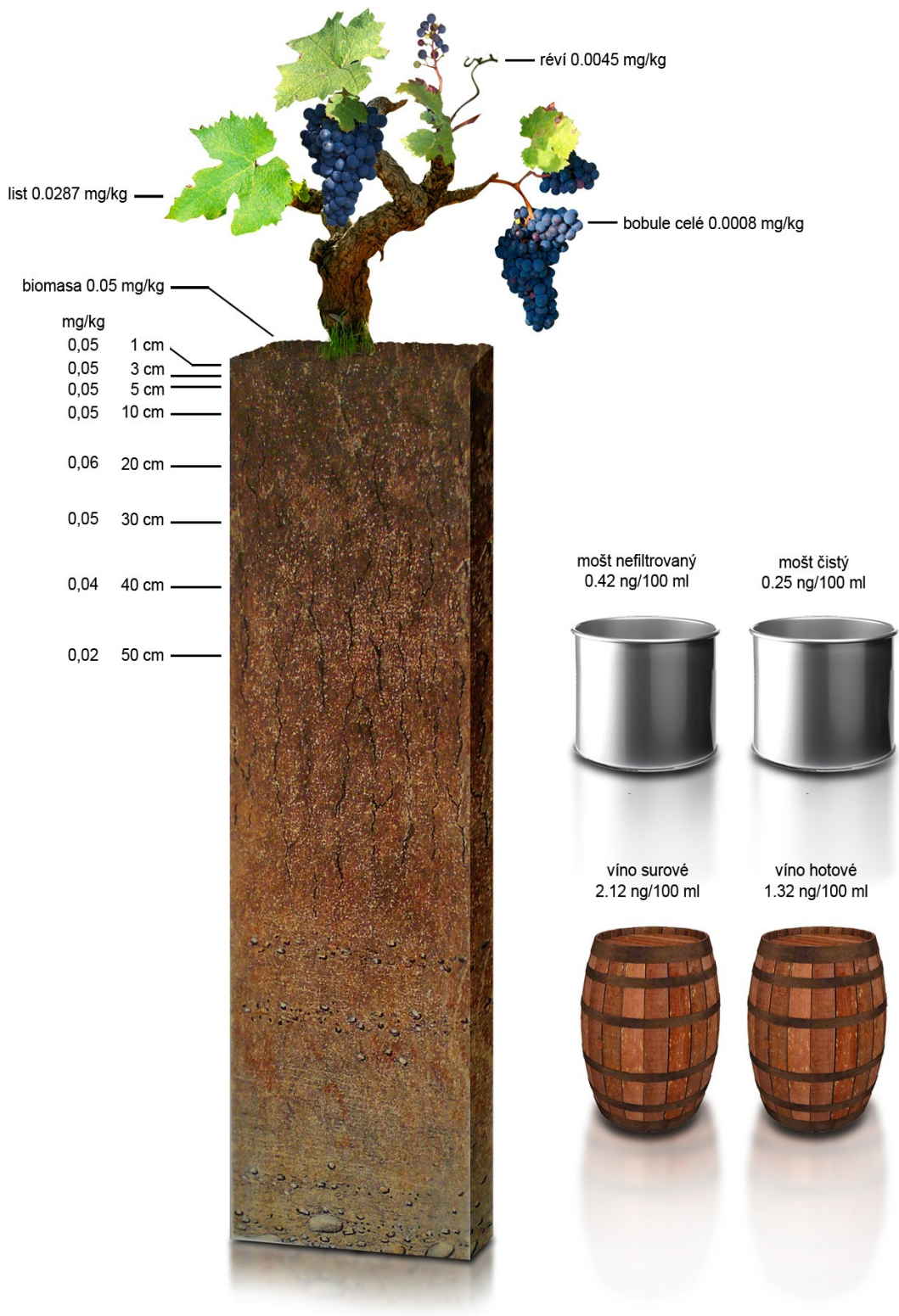
kvasinek před školením vína. Posledním vzorkem bylo hotové víno, které je připraveno k lahvování. Jednotlivé kroky výroby vína jsou schématicky uvedeny na Obr. 19.



Obr. 19. Proces výroby vína v krocích (žlutě označené - fáze odebrání vzorků)



Obr. 20. Geochemie rtuti ve vinici a obsahy rtuti v jednotlivých materiálech z výroby vína – Rudoltice nad Bílinou (Chrámce u Mostu)



Obr. 21. Geochemie rtuti ve vinici a obsahy rtuti v jednotlivých materiálech z výroby vína – Malé Žemoseky

Tab. 16. Výsledky obsahů rtuti

	Rudoltice n.B.	Malé Žernoseky
vzorky	Hg mg/kg	Hg mg/kg
1 cm	0,08	0,05
3 cm	0,1	0,05
5 cm	0,09	0,05
10 cm	0,06	0,05
20 cm	0,1	0,06
30 cm	0,11	0,05
40 cm	0,13	0,04
50 cm	0,11	0,02
Biomasa	0,15	0,05
Réví	0,0018	0,0045
Listy	0,0931	0,0287
Hrozny celé	0,0022	0,0008
Hrozny lis.	0,0068	
Kal mošt	2,49	
Kal víno	1,58	
	Hg ng/100 ml	Hg ng/100 ml
Mošt nefilt.	0,05	0,42
Mošt čistý	0,63	0,25
Víno surové	1,72	2,12
Víno hotové	1,04	1,32

Porovnání výsledků s jinými autory

Srovnání výsledků s jinými autory je obtížné, problematika chodu rtuti (geochemie rtuti na vinici a v procesu výroby vína) nebyla dosud studována v takové šíři, v jaké je uvedená v předložené práci. Pro jednotlivé materiály z přípravy vína (nefiltrovaný mošt, čistý mošt, surové víno, hotové víno, kal mošt a kal víno), kde by byla stanovena rtuť, nejsou dostupné žádné informace. Celkový obsah rtuti ve víně byl měřen pouze v lahvovém víně, kde je však vzít v úvahu, že zazátkováním láhve nekončí procesy zrání vína. Může docházet k dalším procesům (sorbece, oxidace) s tím, jak víno zraje po uzátkování láhve a probíhají v něm další reakce.

Frias a kol. (2003) stanovovali rtuť v lahvovém víně metodou AAS. Sladká vína obsahovala 2,6 – 4,9 $\mu\text{g.l}^{-1}$ rtuti a suchá vína 1,5 – 2,6 $\mu\text{g.l}^{-1}$ rtuti. Rozdíly v obsahu rtuti se lišily podle místa a druhu vína, ale ne s vinobraním. Novou metodu, kterou se dá stanovovat rtuť v lahvových vínech uvedl ve práci Li a kol. (2005). Pro metodu AFS byla navržena metoda PI – CVG, kde jako reduktant byl použit vzorek vína. V bílém víně naměřili v průměru $2,06 \pm 0,63 \mu\text{g.l}^{-1}$. Karadjova a kol (2004) použili pro stanovení rtuti v lahvovém víně metody ETAAS a CV AAS.

Metodou ETAAS naměřili v bílém víně $0,5 \pm 0,1 \mu\text{g.l}^{-1}$ rtuti, v červeném víně $0,6 \pm 0,1 \mu\text{g.l}^{-1}$ rtuti. Metodou CV AAS byly hodnoty rtuti v bílém víně $0,52 \pm 0,07 \mu\text{g.l}^{-1}$ a $0,58 \pm 0,08 \mu\text{g.l}^{-1}$. Capelo a kol. (2003) se zabývali měřením rtuti v bílém víně metodou FI-CV-AAS s předchozím ošetřením vzorků ozonem, kterým se snížil obsah chemických činidel používaných v této metodě.

Srovnání obsahu rtuti v moštu a víně

V této části se pokusíme vysvětlit změny v obsahu rtuti v průběhu výroby vína. Nelze se však opírat o možnost porovnání s jinými autory, proto jsou výsledky vyhodnoceny v závislosti na základních informacích, které o vínu máme.

Jedním z hlavních poznatků předkládané diplomové práce je průkaz, že při procesu výroby vína se rtuť zachycuje ve velké míře v kalech. Proces odkalení slouží k čištění produktu od nežádoucích látek. Odkalují se ve značné míře kromě anorganických látek také organické částice, na které se rtuť může přednostně zachytit. Bohužel byly dodány vzorky kalů pouze z Chrámců u Mostu, proto není možné porovnání výsledků, ale opíráme se o logickou úvahu. Kal moštu (Chrámce 2,49 mg/kg) vykazuje vyšší obsah rtuti než kal vína (Chrámce 1,58 mg/kg), protože obsahuje ještě pevné zbytky z lisování bobulí. Nižší obsah rtuti v hotovém víně (Chrámce 1,04 ng/100 ml, M. Žernoseky 1,32 ng/100 ml) oproti surovému (Chrámce 1,72 ng/100 ml, M. Žernoseky 2,12 ng/100 ml) může být dán usazením rtuti v kalu, kde se zachytí na flokulující částice. V úvahu připadají též další, alternativní materiály, se kterými přichází mošt do dlouhodobějšího kontaktu a které mohou vázat významná množství rtuti. Jedná se o materiál nádob na lisování, kvasných nádob, sudů. Podařilo se nám zjistit, že vinaři v Chrámcích u Mostu a Malých Žernosekách používají sudy ze dřeva/nerez oceli, avšak vzorky těchto materiálů jsou pochopitelně k analýzám nedostupné.

Rozdíl v obsahu rtuti v moštech je dán především množstvím zbytkových pevných částic. Proto se dost liší hodnoty rtuti v nefiltrovaném moštu z Chrámců (0,05 ng/100 ml) a Malých Žernosek (0,42 ng/100 ml) – obsahoval viditelně méně částic. To samozřejmě souvisí s technikou lisování, kterou vinaři používají.

Důležité je zde zmínit vysoké RSD (* odkaz u tabulek na str. 37) při stanovení rtuti v moštech. Tyto hodnoty jsou vysoké, protože vzorky moštu nejsou homogenní; obsahují suspendované částice. Vzorky, které obsahovaly velké množství pevných částic by bylo vhodné homogenizovat např. rozmixováním; pouhé protřepání se tedy ukázalo v případě moštů jako nedostatečné. K tomuto závěru jsme však došli až po měření.

Mošty obsahovaly velké množství oxidu uhličitého, které společně s redukčním prostředím, které vytvářejí ve vínu přítomné organismy, mohlo napomoci rychlejšímu úniku rtuti z moštů. Během manipulace s kapalnými vzorky docházelo k postupnému snížení obsahu oxidu uhličitého a mírnému zvýšení obsahu rtuti. Není jasné, zda se jedná o kontaminaci rtutí z prostředí, koncentrování rtuti nebo nějaký další efekt. Tento jev by se mohl dále zkoumat a vyhodnotit.

Vyšší množství rtuti ve vínu oproti moštu může způsobovat především přídavek oxidu siřičitého, s kterým rtuť v mírně kyselém prostředí reaguje podle této rovnice (9):



Vzniklý komplexní anion bis(sulfito) rtuťnatý je ve vodě dobře rozpustný (nabitá částice) a tímto způsobem může docházet k mobilizaci rtuti, původně zachycené v moštu nebo vínu. Případně spolu s plynným SO_2 , ze kterého vzniká hydrogensulfitový anion, může docházet ke kontaminaci vína plynnou rtutí. Od vinaře byl dodán vzorek disiřičitanu sodného, který byl následně analyzován na analyzátoru AMA 254. Hodnota rtuti ve vzorku disiřičitanu sodného byla v průměru 16,08 ng/g. Jeden litr bílého vína obsahuje tedy maximálně 1,9 g disiřičitanu sodného (maximální množství síry v bílém víně je 40 mg/l). To znamená, že v 1 l vína je necelé 2 ng rtuti z přidávaného disiřičitanu sodného.

Oxid siřičitý je nezbytná látka, která se ve výrobě vína používá. Nelze jí vynechat, ani zatím nahradit. Vinaři musí dodržovat normy obsahu oxidu siřičitého pro daný typ vína, ale snaží se využívat co nejmenší množství. Dá se proto říci, že obsah rtuti postupujícím procesem výroby vína vždy poroste vlivem obsahu oxidu siřičitého.

Technické aspekty související se studiem geochemie rtuti v procesu výroby vína

Třebaže rtuť je důvěrně známý a podrobně studovaný kontaminant, a třebaže vinařství má v Evropě dlouhou tradici, analytických dat o chodu rtuti na vinici a v průběhu produkce vína není mnoho. Je to patrně dané technickými aspekty, souvisejícími s odběrem vzorku a analytickými úskalími stanovení rtuti. Další část diskuse je věnována proto právě těmto aspektům.

Vzorky - příprava

Vzorky pro tato měření jsou diametrálně odlišné od běžných vzorků pro stanovení rtuti, odebíraných v rámci studia environmentální geochemie rtuti, případně při sledování kontaminace prostředí rtutí, v naprosté většině antropogenního původu (technologické procesy užívající rtuť). U vzorků materiálů pro geochemii rtuti na vinici dochází k tomu, že koncentrace

zájmového analytu v čase není konstantní. Dochází k procesům oxidace, kvašení, kdy probíhají chemické reakce. Vzorky s vysokým obsahem organické hmoty (typicky bohaté ethanolom) mají samy redukční účinky, redukují Hg^{2+} na Hg^0 a dochází k úniku rtuti. Proto se vzorky ve většině případů musí stabilizovat. Vzorky pro tuto práci byly zpracovávány odlišně. Musely být upraveny s ohledem na výše uvedené procesy, se značnou dávkou předvidání. Pro pevné vzorky se osvědčilo rychlé usušení na vzduchu bez přídavku stabilizačních činidel. Po usušení je koncentrace rtuti prakticky konstantní. Z předchozích prací (Hojdová a kol. 2008) je známo, že zvolený způsob sušení nevede v případě pevných vzorků ke ztrátám analytu. Jediné čemu bylo třeba zabránit, byla kontaminace.

Kapalné vzorky byly skladovány v uzavřených tmavých lahvích v chladničce ihned po svém naplnění. Tím se vytvořil prakticky rovnovážný systém, kdy po dlouhodobém stání rtuť, která byla v roztoku přítomna, ekvilibrovala vůči okolním zdrojům (stěny, vinný kal). Další kontaminaci je samozřejmě třeba zabránit i při manipulaci s analytem v laboratoři. Je nutné, aby se zajistila čistota přidávaných materiálů během analytického procesu. Do vyhodnocovaných vzorků moštů a vín se přidávala pouze demineralizovaná voda a chlorid cínatý rozpuštěný v kyselině chlorovodíkové. Slepý vzorek také obsahoval pouze demineralizovanou vodu a chlorid cínatý rozpuštěný v kyselině chlorovodíkové.

Pro nedostatek informací o tomto typu měření, jsme se zabývali hlavně zjištěním metodiky, kterou je možné rtuť v mošttech vínech stanovovat. Nalézt vhodnou metodiku zabralo většinu času stanoveného pro experimentální část práce. Samotné stanovení celkové rtuti bylo obtížné. Z malého obsahu rtuti vyplývá, že obsah jednotlivých forem rtuti bude ještě nižší. Je možné se domnívat, že vzorky obsahovaly Hg^{2+} s Hg komplexy organických látek. Další možností by mohly být methylované formy rtuti, o kterých však nejsou žádné informace.

Analytické aspekty

Obsah rtuti v různých typech vzorků je možné stanovit několika metodami (viz kapitola Analytické metody stanovení rtuti). Přesto nelze použít metodiky bez rozmyslu. Rtuť je prvek pro své chování problémový, proto musíme brát v úvahu jeho specifické chování, typ vzorku a posoudit možnost analýzy.

Stanovení rtuti na analyzátoru AMA 254 je jednoduché a bezproblémové. Proto byl tento přístroj využit na všechny pevné vzorky, kdy nebyla nutná jejich chemická předúprava před měřením. Pro stanovení rtuti v materiálech z výroby vína však analyzátor AMA 254 nešel použít přímo. Spíše se nepředpokládalo a teprve v průběhu měření se prokázalo, že obsah rtuti ve vzorcích vína je velmi malý a prakticky pokaždé nižší než je detekční limit přístroje AMA 254 osazeného běžnou víceúčelovou měřicí květou. Možnost, jak řešit danou situaci je a) nabohacování vzorku na amalgamátoru opakovaným zpracováním vzorku bez vypuzení

zachycené rtuti mezi vzorky, nebo b) osazení přístroje delší měřicí celou, uzpůsobenou pro měření absorpce UV záření na delší optické trase. Varianta a) byla vícekrát testována (na lahvovém víně), avšak nevedla k cíli. Počet nabohacení je totiž v praxi omezen na přibližně tři, protože se vzrůstajícím počtem nabohacení roste i pozadí stanovení a vzrůstá chyba experimentu. Celkový objem kapaliny k analýze je tedy omezen na 3×0.2 ml, tj. 0.6 ml vzorku. Varianta b) nebyla ověřena, avšak podle informací od výrobce je měření s citlivější celou provázeno vzrůstem šumu přístroje, takže pravděpodobně by též nevedlo k cíli. Pokud by se přistoupilo k nabohacování rtuti v analyzátoru, došlo by k zvýšení chyby v měření. Proto se hledala jiná metoda, kterou by bylo možné rtuť stanovit. Problémem stanovení stopových množství rtuti ve víně je její vazba na organickou hmotu a obsah těkavých látek (hlavně ethanolu).

Měření – Blok I.

V moštu a ve víně jsme očekávali velmi nízké obsahy rtuti. Proto byl v prvním bloku měření vybrán přístroj PS Analytical Millennium Merlin System, jehož princip je založen na atomové fluorescenci a jeho detekční limit pro rtuť je 0,1 ng/l . Tento přístroj je určen především na měření běžných vod, proto se nakonec ukázal nevhodným pro naše měření. Součástí přístroje je hydrofilní membrána, která slouží především k odstranění vodní páry nebo aerosolu a zabrání jejich výskytu ve fluorescenční cele. Pokud by k tomu nedošlo, docházelo by ke zhášení fluorescence. Membrána částečně propustí malé molekuly ethanolu, z nichž většina dojde do měřicí cely a dojde

k nežádoucímu zhášení fluorescence (Corns 1992). Tento přístroj je velice citlivý, proto jsme se rozhodli odbourat ethanol přidávkou peroxidu vodíku. Protože každý vzorek obsahoval jiný obsah ethanolu, bylo by náročné stanovit vhodné množství peroxidu vodíku na odbourání. Stejně jako ethanol působí na zhášení fluorescence i organické látky, které se v moštech a víně nacházejí, a které se obtížně odbourávají. Protože každý mošt a víno jsou jiné, bylo by nutné hledat koncentrace látek potřebných k odbourání organických látek pro každý vzorek jednotlivě. To je pochopitelně velmi složité a časově náročné.

Pro červené víno by této metoda byla ještě méně vhodná než pro bílé, protože obsahuje více organických látek než víno bílé.

Měření – Blok II.

Po zamítnutí využití přístroje PS Analytical Millennium Merlin System pro stanovení obsahu rtuti v moštech a vínech, bylo nutné najít jinou metodu, kde by nevedla přítomnost velkého množství organických látek a ethanolu. Zvolili jsme metodu založenou na zachycení rtuti na pozlaceném amalgamátoru s následnou analýzou na analyzátoru AMA 254.

Problémem se u této metody ukázalo zachycení rtuti na pozlacený amalgamátor.

Materiál, který byl použit na amalgamátor, tedy křemenná nebo skelná vata, měl pro ten to účel klady i záporů. Kladem je rozhodně jednoduchá příprava smotku na pozlacování. Nelze opomenout i dobré přizpůsobení se skleněné trubičce, do které byl amalgamátor vkládán. Při měření se však vyskytly podstatný problém, které je potřeba zmínit. Vlivem vypařování vzorku docházelo k zapaření skleněné trubičky, která byla utěsněna amalgamátozem. Vlivem kondenzace par docházelo k postupnému zmenšování smotku ztrátou vláken, a tím tedy i postupnému zmenšování obsahu zlata. Řešilo se to výrobou více amalgamátorů po dobu měření. Také se ukázalo, že odolnější sklená vata neztrácí tolik vláken ale velmi brzy se láme, tudíž se ukázalo, že pro měření není vůbec vhodná. Pokud by tato metoda byla dále využívána, bylo by vhodné najít materiál, na který se nejen dobře sorbuje zlato, ale je i stálý ve vlhkém prostředí. Nejlepší by byla zlatá vata, která není komerčně dostupná.

Amalgám byl v našem případě přenášěn v zazátkované lahvičce z jedné laboratoře do druhé, kde je umístěn analyzátor AMA 254. Docházelo tedy manipulaci s nasyceným amalgámem, které by se dalo zamezit umístěním měřicí aparatury k analyzátoru. S amalgamátozem by bylo vhodné co nejméně manipulovat, aby nedošlo k nežádoucí kontaminaci. Důležité je zajistit, aby sama aparatura byla nastavena na konstantní podmínky po celou dobu měření. Tedy aby byla teplota zahřívání vodní lázně, promíchávání, rychlost probublávání a čas měření byly neustále totožné. Kapalné vzorky, které do nastavené aparatury dáváme musí být řádně protřepané, aby došlo k promíšení sedimentu s tekutinou. Jak již bylo řečeno v podkapitole „srovnání obsahu rtuti v moštu a víně“, je nutné vzorky s obsahem větších částic pevných látek před protřepaním předupravit např. rozmixováním, aby došlo k homogenizaci vzorku.

Metoda zachycení rtuti na pozlacený amalgamátor se ukázala jako vhodná, protože zde nebylo nutné řešit odbourání ethanolu ani organických látek. Tento postup by bylo tedy možné bez omezení použít pro stanovení rtuti v bílých i červených vínech.

6. ZÁVĚR

U půd se potvrdil očekávaný trend obsahu rtuti v půdním profilu, postavený na korelaci mezi obsahem organické hmoty (popř. jílových částic) ve vzorku a obsahem rtuti. Rozdíl mezi obsahy rtuti v půdě ve zkoumaných oblastech je dán pravděpodobně přítomností vyššího průtokového koeficientu souvisejícího s větší pórovitostí půdního typu v Malých Žernosekách.

Obsah rtuti v rostlině vinné révy ukázal přednostní zachycení rtuti na listech, které chrání réví a slupkách bobulí, chránící dužninu před nežádoucími látkami.

U výroby vína se zvyšoval obsah rtuti od moštu k vínu. Mošty obsahovaly vymačkanou dužninu bez slupek, kde je více rtuti, a také obsahovaly velké množství oxidu uhličitého, které společně s redukčním prostředím vytvářejí ve vínu přítomné organismy, mohlo napomoci rychlejšímu úniku rtuti z moštů. Postupnému navyšování rtuti mohly napomoci přídavky nezbytného SO₂ několikrát během výroby vína a také prostředí a materiály, s kterými je mošt nebo víno v kontaktu.

Důležitým důkazem o čištění vína je zachycení rtuti v kalech z moštu a vína, kde se rtuť nachytá na flokulující částice.

Jako nevhodná metodika se ukázalo stanovení rtuti ve moštech a vínu pomocí PS Analytical Millenium Merlin System. Důvodem byl problém přípravy vzorku obsahujícího mnoho organických látek a ethanolu pro tento velmi citlivý přístroj. Proto se zvolila metoda zachycení rtuti na pozlaceném amalgamátoru s následnou analýzou pomocí analyzátoru AMA 254. Tento způsob měření se ukázal jako vhodný pro měření vzorků bílého i červeného vína, protože zde nevadí obsah organických látek ani ethanolu. Zvolená metoda by se mohla dále rozvíjet a vylepšovat i pro jiné typy vzorků.

Stanovení rtuti v materiálech v jednotlivých fázích výroby vína není jednoduché. Nelze se opírat o žádná předchozí měření celého procesu výroby vína, proto jsou závěry založeny na základních informacích, které z oblasti vinařství máme. Jedná se o zajímavé téma, proto by se mohl dále proces výroby vína z hlediska obsahu rtuti studovat a porovnávat.

7. Použitá literatura

Adriano D. C., 2001. *Trace elements in terrestrial environments: biochemistry, bioavailability and risks of metals*. 2nd ed., Springer, New York, 867 str.

Altec Ltd., 2002. *AMA 254 Advanced Mercury Analyse: Návod na obsluhu*. Altec s.r.o., Praha, 131 str.

Brandão G.P., Calixto de Campos R., Luna A.S., 2005. Determination of mercury in gazoline by cold vapor atomic absorption spektrometry with direct reduction in microemulsion media. *Spectrochim.Acta*, 60(5): 625-631

Burg R., Greenwood M.R., 1991. *Mercury*. In: Merian E. (ed.) *Metals and Their Compounds in the Enviroment: Occurrence, Analysis and Biological Enviroment*. 1st ed., VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, str. 1045 – 1088

Burrini C., Cagnini A., 1997. Determination of mercury in urine by ET-AAS using complexation with dithizone and extraction with cyclohexane. *Talanta*, 44(7): 1219-1223

Capelo J. L., Pedro H.A., Mota A. M., 2003. Ozone treatment for mercury determination in white wines. *Talanta*, 66(4): 485-491

Cava-Montesinos P., Ródenas-Torralba E., Morales-Rubio Á., Luisa Cervera M., de la Guardia M., 2004. Cold vapour atomic fluorescence determination of mercury in milk by slurry sampling using multicommutation. *Anal. Chim.Acta*, 506(2): 145–153

Chen J., Wei F., Wu Y., Adriano D. C., 1991. Background concentrations of elements in soils of China. *Water Air Soil Pollut.* 57-58(1): 699-712

Corns W. T., Ebdon L., Hill S. J., Stockwell P. B., 1992. Effect of moisture on the cold vapour determination of mercury and its removal by use of membrane dryer tubes. *Analyst*, 117: 717 – 720

Dominé A., 2005. *Vino*. Slovart, Praha, 928 str.

EPA, 2005. *Mercury in water by cold vapour atomic fluorescence spectrometry*. U.S. Enviromental Protection Agency, Washington DC, 33 str.

Fara M., 2004. *Problematika emisí rtuti*. EGÚ Praha Engineering, a.s., 95.str.

Frias S., Diaz C., Conde J. E., Trujillo J. P. P., 2003. Selenium and mercury concentrations in sweet and dry bottled wines from the Canary Islands, Spain. *Food. Addit. Contam.*, 20(3): 237-240.

Greenwood N.N., Earnshaw A., 1993. *Chemie prvků. Sv. 2.*, Informatorium, 1993, 794 – 1635 str.

- Havelka J., 1989. *Ložiska rudných a nerudných surovin*. Vydavatelství VŠB, Ostrava, 446 str.
- Hojdová M., Navrátil T., Rohovec J., 2008. Mercury distribution and speciation in soils affected by historic mercury mining. *Water Air Soil Pollut*, 200: 89-99
- Holzbecher Z., Churáček J a kol., 1987. *Analytická chemie*. SNTL, Praha, 664 str.
- Holtzclaw H. F. Jr., Robinson W. R., Nebergall W. H., 1984. *College chemistry with qualitative analysis*. 7th ed., D. C. Heath and Company, Lexington, 991 str.
- Jia X., Han Y., Liu X., Duan T., Chen H., 2011. Speciation of mercury in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta*. 66(1): 88-92
- Karadjova I., Arpadjan S., Cvetković J., Stafilov T., 2004. Sensitive method for trace determination of mercury in wines usány electrothermal atomic absorption spectrometry. *Microchim. Acta*, 147: 39-43.
- Kraus V., Ackermann P., Hubáček V., 2000. *Rukověť vinaře*, Květ, Praha, 262 str.
- Kolthoff I. M., Sandell E. B., 1936. *Textbook of quantitative inorganic analysis*. The Macmillan company, New York, 749 str.
- Le L. A., Trinh A. D., Nguyen D. T., Bui M. L., 2011. Speciation of arsenik in environmental samples of the Nha Trang Barbor, Vietnam, using HPLC coupled HG-AAS. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 86(4): 415-418
- Leopold K., Harwardt L., Schuster M., Schlemmer G., 2008. A new fully automated on-line digestion system for ultra trace analysis of mercury in natural waters by means of FI-CV-AFS. *Talanta*, 76(2): 382-388
- Li Y., Zheng Ch., Ma Q., Wu L., Hu Ch., Hou X., 2005. Sample matrix-assisted photo-induced chemical vapor generation: a reagent free green analytical method for ultrasensitive detection of mercury in wine or liquor samples. *J. Anal. At. Spectrom.*, 21(1): 82-85.
- Lindqvist O., Johansson K., Aastrup M., Anderson A., Bringmark L., Hovsenius G., Hakanson L.,
- Iverfeldt A., Meili M., Timm B., 1991. Mercury in the Swedish Environment - Recent Research on Causes, Consequences and Corrective Methods. *Water, Air and Soil Pollut.*, 55: 1-2

- Malík F., 2003. *Ze života vína*. Filip Trend Publishing, Pardubice, 221 str.
- Mosbaek H., Tjell J. C., Sevel T., 1988. Plant Uptake of Mercury in Background Areas. *Chemosphere*, 17(6):1227-1236
- Opekar F., Jelínek I., Rychlovský P., Plzák Z., 2003. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Karolinum, Praha, 201 str.
- Pacyna E.G., Pacyna J.M., Sundseth K., Muthe J., Kindbom K., Wilson S., Steenhuisen F., Maxson P., 2010. Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. *Atmos. Environ.*, 44(20): 2487-2499
- Pansu M., Gautheyrou J., 2006. *Handbook of Soil Analysis: Mineral, Organic and Inorganic Methods*. Springer, Berlin, 993 str.
- Příbil R., 1977. *Komplexometrie*. Praha, SNTL, 512 str.
- P S Analytical, 2007. *PSA 10.025 Millenium Merlin User Manual*. P S Analytical Ltd., UK, 49 str.
- Priewe J., 2003. *Nová škola vína*. Euromedia Group k.s. - Knižní klub, Praha, 256 str.
- Remy H., 1971. *Anorganická chemie II.vyd.*, SNTL, Praha, 835 str.
- Renger F., Kalous J., 2004. *Analytická chemie I.* Univerzita Pardubice, Pardubice, 154 str.
- Ruprich J., Řehůrková I., Drápal J., Kozáková M., 2004. *Stanovisko vědeckého výboru pro potraviny ve věci: Methylrtuť v rybách a rybích výrobcích*. Státní zdravotní ústav, Brno, 16 str.
- Schuster E., 1991. The Behavior of Mercury in the Soil with special emphasis on Complexation and Adsorption processes- A Review of the Literature. *Water Air Soil Pollut.* 56: 667-680.
- Simon V., Doležel J., 1989. *Chemická analýza kvalitativní*. Karolinum, Praha, 263 str.
- Szakova I., Kolihova D., Miholova D., Mader P., 2004. Single-purpose atomic absorption spectrometer AMA-254 for mercury determination and its performance in analysis of agricultural and environmental materials. *Chem. Pap.*, 58(5): 311-315
- Šelepová I., Levinský O., Žák J., 1983. *Technický naučný slovník, V. díl*. SNTL, Praha, 568 str.
- Tichý M., 2003. *Toxikologie pro chemiky: Toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa*. Karolinum, Praha, 114 str.

Terzano R., Santoro A., Spagnuolo M., Vekemans B., Medici L., Janssens K., Göttlicher J., Denecke M. A., Mangold S., Ruggiero P., 2010. Solving mercury (Hg) speciation in soil samples by synchrotron X-ray microspectroscopic techniques. *Environ. Pollut.*, 158(8): 2702 – 2709

Tomášek M., 2000. *Půdy České republiky*. ČGÚ, Praha, 68 str.

Wängberg I., Barregard L., Sällsten G., Haeger-Eugensson M., Munthe J., Sommar J., 2005. Emissions, dispersion and human exposure of mercury from a Swedish chlor-alkali plant. *Atmos. Environ.*, 39 (39): 7451-7458

Whitten K. W., Davis R. E., Peck M. L., 2000. *General chemistry: with qualitative analysis*. 6th ed., Saunders College Pub., Fort Worth, 1140 str.

Wood G. B., 1867. *A Treatise On Therapeutics, And Pharmacology Or Materia Medica Vol.*, 3th ed., J. B. Lippincott & Co, Philadelphia, 996 str.

Yilmaz S., Sadikoglu M., 2011. Study of heavy metal pollution in seawater of Kepez Barbor Canakkale (Turkey). *Environ Monit Assess*, 173(1-4): 899-904

Zhang W. B., Yang X. A., Ma Y. Y., Zhu H. X., Wang S .B., 2011. Continuous flow electrolytic cold vapor generation atomic fluorescence spectrometric determination of Hg in water samples. *Microchemical Journal*, 97(2): 201-206

Zýka J., Vláčil F. a kol., 1979. *Analytická příručka: Díl I.* 3. vyd., SNTL, Praha, 578 str.

Internetové zdroje:

Alternativní zdroje energie, 2011. <http://www.alternativni-zdroje.cz/vyroba-energie-biomasa.htm>, 4.4. 2011

Arnika, 2010. www.toxickelatky.arnika.org, 2.10. 2010

Česká geologická služba (ČGS): lokalizační a mapová aplikace, 2011, http://www.geology.cz/app/ciselniky/lokalizace/show_map.php?mapa=g50zj&y=762300&x=992300&r=3500&s=1&legselect=0, http://www.geology.cz/app/ciselniky/lokalizace/show_map.php?mapa=g50zj&y=789300&x=988300&s=1, 13.2. 2011

Environment Canada, 2010.

<http://www.ec.gc.ca/mercure-mercury/default.asp?lang=En&n=67E16201-1>, 20. 2. 2011

Global wines, 2009. <http://www.global-wines.cz/vyroba-vina>, 21.11.2010

- GreenFacts: Facts on Health and the Environment, 2004.
<http://www.greenfacts.org/en/mercury/1-2/mercury-1.htm>, 28.2.2011
- Hájek M., 2006. *Přehled látek obsažených ve víně*.
<http://projektysipvz.gytool.cz/ProjektySIPVZ/Default.aspx?uid=595>, 20.2.2011
- Integrovaný registr znečištění (IRZ), 2011. <http://www.irz.cz>, 20.11. 2011
- Koplík R., 2011. Speciální analýza potravin: Atomová spektrometrie, VŠCHT, Ústav chemie a analýzy potravin, <http://web.vscht.cz/koplikr/Atomov%C3%A1%20%20spektrometrie.pdf>, 14.3.2011
- Labworld, 2010. <http://www.labworld.co.za/downloads/PSAnalytical/10025%20Millennium%20Merlin%20V1-1.pdf> 15.11. 2010
- Mapy.cz., <http://www.mapy.cz>, 27.11. 2010
- Ministerstvo životního prostředí (MŽP), 2010.
http://www.mzp.cz/cz/news_tz090220Nairobi_zaver, 2.10. 2010
- North Carolina Department of Environment and Natural Resources,
<http://portal.ncdenr.org/web/guest/home>, 25.2. 2011
- Pragolab, 2010. <http://www.pragolab.eu/kategorie/59/lyofilizace-a-zakcentrovani-vzorku>, 15.8. 2010
- Příroda, 2010. <http://www.priroda.cz/clanky.php?detail=126>, 4.4. 2011
- PS Analytical, 2007. <http://www.psanalytical.com>, 15.11. 2010
- Seaplanet, 2009. <http://www.seaplanet.eu/index.php/cs/energie/nove-zdroje/273-co-je-biomasa-a-jak-se-pouiva>, 4.4.2011
- Svět vína, 2008. <http://www.svetvina.cz/rubrika.php?rid=38>, 7.1.2011
- U.S. Geological Survey, 1997. *Mercury contamination of aquatic ecosystems*.
<http://www.usgs.gov/>, 5.2. 2010
- United Nations Environment Programme (UNEP), 2005.
<http://www.chem.unep.ch/MERCURY/>, 13.6.2008
- United States Environmental Protection Agency (EPA), 2010. www.epa.gov/, 12.1.2011
- Vinařství Chrámce u Mostu, 2010. <http://www.ceske-vinarstvi.cz/main.php?page=historie>, 31.8.2010
- Vinařství sv. Tomáše, 2010. <http://www.vinarstvisvtomase.cz/index.html>, 31.8. 2010
- wiseGeek, 2010. <http://www.wisegeek.com/what-is-lyophilization.htm>, 31.8. 2010

