



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

MONITORING OBSAHU RTUTI A METHYLRTUTI V RYBÍM MASE A ZHODNOCENÍ RIZIK SPOJENÝCH S KONZUMACÍ TOHOTO MASA

MONITORING OF MERCURY AND METHYLMERCURY CONTENT IN FISH MEAT AND EVALUATION OF
RISKS ASSOCIATED WITH THE CONSUMPTION OF THIS MEAT

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Lucie Křížová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1505/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Lucie Křížová**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Monitoring obsahu rtuti a methylrtuti v rybím mase a zhodnocení rizik spojených s konzumací tohoto masa

Zadání diplomové práce:

1. Vypracování literární rešerše k tématu DP
2. Optimalizace postupu přípravy vzorku k analýze
3. Analýza reálných vzorků rybího masa
4. Zpracování a zhodnocení naměřených výsledků

Termín odevzdání diplomové práce: 28.5.2021:

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

Bc. Lucie Křížová
student(ka)

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Rtuť a její sloučeniny jsou jedním z nejtoxičtějších globálních polutantů životního prostředí. Vyskytuje se ve všech složkách životního prostředí a konzumací ryb se dostává i do potravního řetězce a lidského těla.

Teoretická část práce se zabývá vlastnostmi rtuti, výskytem, zdroji znečištění a toxicitou jednotlivých forem rtuti. Dále popisuje analytické metody používané ke stanovení obsahu celkové rtuti a chemických forem rtuti.

Praktická část práce se zabývá monitoringem obsahu celkové rtuti a methylrtuti v 12 vzorcích rybiho masa. Pro extrakci methylrtuti byla využita nově vyvinutá metoda. Ke stanovení celkového obsahu rtuti a obsahu methylrtuti byl využit jednoúčelový analyzátor AMA 254. Na základě naměřených koncentrací bylo zhodnoceno riziko spojené s konzumací toho masa.

ABSTRACT

Mercury and its compounds are one of the most toxic global pollutants in the environment. It occurs in all segments of the environment, and it attains the food chain and human body by people consuming fish.

The theoretical part of this thesis examines the characteristics of mercury, its occurrence, the roots of its pollution, and the toxicity of various forms of mercury. Consequently, the thesis delineates analytical methodologies applied to determine the overall level of mercury and chemical forms of mercury.

The practical part focuses on monitoring the level of mercury and methylmercury in 12 extracts of fish meat. The analyzer AMA 254 has been used to determine the level of mercury and methylmercury in these extracts. Based on the level that resulted from the measurements, the thesis concludes a risk that correlates with consuming this type of meat.

KLÍČOVÁ SLOVA

rtuť, methylrtuť, ryby, absorpční atomová spektrometrie

KEYWORDS

mercury, methylmercury, fish, atomic absorption spectrometry

KŘÍŽOVÁ, Lucie. *Monitoring obsahu rtuti a methylrtuti v rybím mase a zhodnocení rizik spojených s konzumací tohoto masa*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131147>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Pavel Diviš.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D., za odborné vedení mé diplomové práce, za ochotu, trpělivost, čas a cenné rady, které mi poskytl při jejím zpracování.

ÚVOD	7
1 TEORETICKÁ ČÁST	8
1.1 Rtuť a její vlastnosti.....	8
1.1.1 Elementární rtuť	8
1.1.2 Anorganické formy rtuti.....	8
1.1.3 Organické formy rtuti.....	9
1.2 Rtuť v životním prostředí.....	9
1.2.1 Výskyt a využití rtuti	9
1.2.2 Zdroje znečištění	10
1.2.3 Globální cyklus rtuti	14
1.3 Rtuť ve vodním ekosystému	14
1.3.1 Methylace rtuti	15
1.3.2 Bioakumulace a biomagnifikace rtuti v rybí tkáni.....	16
1.4 Toxicita rtuti	17
1.4.1 Elementární rtuť	18
1.4.2 Anorganické formy	18
1.4.3 Organické formy	18
1.4.4 Minamata, Japonsko	18
1.4.5 Minamatská úmluva.....	19
1.5 Konzumace ryb.....	19
1.5.1 Spotřeba ryb	20
1.6 Expoziční dávky.....	20
1.6.1 Legislativa regulující obsah rtuti v rybím mase.....	21
1.7 Stanovení celkového obsahu rtuti	21
1.7.1 Atomová absorpční spektrometrie (AAS).....	21
1.7.2 Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)	22
1.7.3 Jednoúčelový analyzátor AMA 254.....	22
1.7.4 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS).....	24
1.7.5 Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES)	24
1.8 Stanovení chemických forem rtuti	24
1.8.1 Odběr, příprava a uchování vzorků.....	25
1.8.2 Extrakce forem rtuti z matrice	25
1.8.3 Metody separace chemických forem rtuti.....	25
1.8.4 Detekce chemických forem rtuti	26
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
2.1 Chemikálie	27
2.2 Přístroje a pomůcky	27
2.3 Vzorky ryb	27
2.4 Pracovní postupy	29
2.4.1 Certifikovaný referenční materiál	29

2.4.2 Příprava vzorků	29
2.4.3 Extrakce methylrtuti.....	30
2.4.4 Příprava přístroje AMA 254	30
2.4.5 Validace stanovení rtuti na AMA 254	31
2.4.6 Stanovení koncentrace methylrtuti na AMA 254	31
3 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	32
3.1 Slepý pokus	32
3.2 Mez detekce a mez stanovitelnosti	32
3.3 Stanovení celkové rtuti.....	32
3.4 Optimalizace postupu extrakce methylrtuti	35
3.5 Stanovení methylrtuti.....	35
3.5.1 Losos obecný (chov)	36
3.5.2 Žralok.....	36
3.5.3 Losos obecný (lov).....	37
3.5.4 Pstruh duhový	38
3.5.5 Tuňák žlutoploutvý	38
3.5.6 Mořský vlk	39
3.5.7 Kapr obecný	40
3.5.8 Pangas spodnooký.....	40
3.5.9 Halibut.....	41
3.5.10 Candát obecný.....	42
3.5.11 Okoun nilský	42
3.5.12 Treska tmavá.....	43
3.6 Porovnání obsahu celkové rtuti a methylrtuti ve vybraných vzorcích.....	43
3.7 Zhodnocení rizik spojených s konzumací rybího masa	44
3.7.1 Odhadovaný denní příjem (EDI).....	44
3.7.2 Maximální množství ryb (MAF).....	45
4 ZÁVĚR	47
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	48
SEZNAM OBRÁZKU.....	54
SEZNAM TABULEK	55
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	56
SEZNAM PŘÍLOH	58
PŘÍLOHY	59

ÚVOD

Rtuť a její sloučeniny patří mezi toxické látky vyskytující se v životním prostředí. Rtuť je v přírodě vázaná především ve sloučeninách a nepředstavuje žádné riziko. Do životního prostředí se rtuť uvolňuje řadou přírodních procesů jako je sopečná činnost, eroze nebo lesní požáry. V současnosti se odhaduje, že až dvě třetiny uvolněné rtuti v životním prostředí je antropogenního původu neboli v důsledku lidské činnosti např. těžba zlata, výroba vinylchloridu, zubní výplně a další. Rtuť je vysoce rezistentní, a proto může zůstat v oběhu po tisíce let. Kontaminuje místa na kilometry vzdálená od původního zdroje, a proto je globálním problémem. Kontaminuje také půdu, vodu a podléhá různým transformacím. Z pohledu toxicity je nejdůležitější biochemická přeměna rtuti na organickou formu methylrtuť.

Rtuť ve vodních sedimentech a ve vodě má vliv i na živočichy v ní žijící. Rtuť má schopnost bioakumulace a po požití rtuti zůstává v těle živočicha. Toxická forma methylrtuť je díky své lipofilní povaze akumulována v rybím masu snadněji než forma anorganická a konzumací rybího masa se dostává rtuť i její formy i do potravního řetězce a lidského těla.

Toxicita rtuti se liší od způsobu expozice, dávce i na chemické formě rtuti. Nejvíce nebezpečná je již zmíněna methylrtuť, která má neurotoxické účinky. Poškozuje centrální nervovou soustavu, způsobuje motorické poruchy a prostupuje biologickými membránami. Nejohroženější skupinou jsou děti, těhotné a kojící ženy.

Vzhledem k její vysoké toxicitě je důležité monitorovat ve složkách životního prostředí nejen obsah celkové rtuti, ale také její chemické formy. Ke stanovení jednotlivých forem slouží tzv. speciální analýza. Obsah celkové rtuti se stanovuje využitím různě modifikovaných technik atomové absorpční spektrometrie.

Cílem této práce je stanovit obsah celkové rtuti a methylrtuti v rybím masu pomocí jednoúčelového analyzátoru AMA 254. K extrakci methylrtuti z rybího masa bude využita nově vyvinutá extrakční metoda. Na základě výsledných hodnot bude zhodnoceno riziko spojené s konzumací rybího masa.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Rtuť a její vlastnosti

Rtuť je těžký stříbrolesklý kov. Její vlastnosti se odráží i v latinském názvu *hydrargyrum* (překl. kapalné stříbro) a označujeme ji symbolem Hg [1].

Rtuť a její sloučeniny jsou jedny z nejvíce toxických a škodlivých látek, které se vyskytují v životním prostředí a zejména ve vodních ekosystémech. V životním prostředí najdeme rtuť v mnoha chemických formách např. anorganické, kam spadá elementární rtuť, rtuťné nebo rtuťnaté ionty, anebo ve formě organické, kam zařazujeme tzv. organortuťnaté/organokovové sloučeniny. Ve sloučeninách se rtuť nachází v oxidačních stavech 0, +I a +II a jednotlivé sloučeniny se výrazně liší nejen svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi, ale také svojí toxicitou [2].

1.1.1 Elementární rtuť

Rtuť patří do skupiny přechodných kovů. Jako jediný kov je při normální teplotě a tlaku v kapalném stavu a jeho páry jsou výhradně jednoatomové. Má nízký bod tání, vysokou teplotu varu a je téměř nerozpustná ve vodě. Vysoká hodnota tenze par je nebezpečná z pohledu inhalační toxicity [1][3].

Tabulka 1: Vybrané vlastnosti elementární rtuti

protonové číslo	80
elektronegativita	1,9
relativní atomová hmotnost	200,59 ($\pm 0,03$)
teplota tání [°C]	-38,87
teplota varu [°C]	356,58
hustota při 20 °C [g/cm ³]	13,534
rozpustnost ve vodě při 20 °C [g/l]	0,06
tenze par [Pa]	0,163 (20 °C); 2,53 (25 °C)

1.1.2 Anorganické formy rtuti

V anorganických sloučeninách se rtuť vyskytuje v oxidačním stavu +I a +II. Ve rtuťných sloučeninách se vyskytuje jako dvoujaderný ion Hg_2^{2+} . Mezi nejběžnější sloučeniny rtuti patří halogenidy. Rtuťnaté halogenidy HgX_2 ($X = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) mají kovalentní charakter vazeb, jen HgF_2 je iontová sloučenina. Jedná se o nízkotající těkavé látky rozpustné v mnoha organických rozpouštědlech a jejich rozpustnost ve vodě klesá s rostoucí molekulovou hmotností. Nejznámější rtuťný halogenid je kalomel (Hg_2Cl_2), který se dříve hojně využíval v lékařství [1][2].

Mezi další anorganické sloučeniny patří např. sulfid rtuťnatý (HgS). Patří mezi nejrozšířenější nerost pod triviálním názvem cinabarit neboli rumělka. Dvojmocná rtuť vytváří také oxidy, sulfidy a soli silných oxokyselin, např. dusičnany, chloristany a sírany, a koordinační sloučeniny, kde nejčastěji tvoří sulfidické můstky (Hg-S) [1][2].

1.1.3 Organické formy rtuti

Organické formy rtuti mají na atom kovu navázaný jeden nebo dva uhlovodíkové zbytky. Vytvořené sloučeniny typu $RHgX$ nebo $RHgR'$ obsahují nejčastěji zbytky methylové (CH_3-), ethylové (C_2H_5-) nebo fenylové (C_6H_5-) a na pozici X je aniont – halogenidy, dusičnany, sulfidy nebo sírany. Podle navázané skupiny rozlišujeme alkylderiváty a arylderiváty. Nejznámějším, nejrozšířenějším a nejrizikovějším alkylderivátem je methylrtuť (MeHg), v menší míře se vyskytují další formy jako je dimethylrtuť a ethylrtuť. Mezi arylderiváty se řadí fenylrtuť a její deriváty [2][4].

1.2 Rtuť v životním prostředí

Rtuť se přirozeně vyskytuje v zemské kůře, ale zřídka v její elementární formě. Častěji se rtuť vyskytuje vázaná ve sloučeninách, např. v minerálu rumělka, který obsahuje 86,2 % rtuti. Ve sloučeninách je rtuť obsažena v bezpečné formě a pro životní prostředí nepředstavuje žádné velké riziko. Nebezpečí její toxicity nastává uvolněním velkého množství rtuti do životního prostředí v důsledku lidské neboli antropogenní činnosti. Její rovnováha se tak naruší a obsah rtuti je v prostředí mnohonásobně vyšší, než by byl přirozeně [2][5].

Kvůli antropogenním činnostem byla rtuť zařazena Světovou zdravotnickou organizací (WHO) mezi látky významně ohrožující lidské zdraví společně s dalšími 3 těžkými kovy: kadmíem, olovem a arsenem. A to hlavně z toho důvodu, že během posledních 60 let byla pochopena rizika pro lidské zdraví spojená s expozicí rtutí a její cyklus a odolnost v životním prostředí. Rtuť je problémem globálních rozměrů i proto, že v přírodě cirkuluje až 3 000 let. Díky její odolnosti by se hladina rtuti snížila, po zastavení všech antropogenních činnostech, až za stovky let [5][6][7].

1.2.1 Výskyt a využití rtuti

V současné době se těží rtuť pouze ve 4 státech – v Číně, Mexiku, Indonésii a Kyrgyzstánu. Rtuť našla a stále v malém měřítku nachází využití v různých průmyslových procesech jako je těžba zlata, výroba vinylchloridu či chemikálií na bázi chloru a dále např. v zubních výplních, bateriích apod. V roce 2015 bylo celosvětově spotřebováno 4 716 tun rtuti. Toto číslo je odhadem o 38 % vyšší, než tomu bylo v roce 2005, kdy spotřeba rtuti činila 3 415 tun [8][9][10].

1.2.1.1 Výroba vinylchloridu

Až jednu třetinu celosvětové produkce rtuti využívá Čína, která v roce 2014 spotřebovala odhadem 1 216 tun rtuti. Čína je největší uživatelem rtuti při výrobě vinylchloridu, zatímco evropské země již využívají technologie bez rtuti. Čína je ale vázaná Minamatskou úmluvou (viz kapitola 1.4.5) a je nucena podniknout kroky k vyřešení tohoto problému a ke snížení produkce rtuti [8].

1.2.1.2 Těžba zlata

Rtuť se využívá v malém měřítku i při těžbě zlata např. v jihovýchodní Asii, Africe nebo Střední a Jižní Americe. Těžba probíhá tak, že vytěžená ruda je rozdrcena na menší části a následně se míchá s vodou a rtutí za současného drcení. Během mletí rtuť zachycuje zlaté částice a vzniká tak sloučenina zvaná amalgám. Amalgám se následně zahřeje, čímž se vypaří rtuť a zůstává jen zlato. Odpařená rtuť se uvolňuje do ovzduší [11].

1.2.1.3 Zubní amalgámy

Nejrozšířenější způsob užití rtuti v EU je zubní lékařství. Zubní amalgámové výplně se skládají přibližně z 50 % z rtuti a dalšího kovu, např. stříbro, měď nebo cín. Amalgámy jsou

v posledních letech velice diskutované téma vzhledem k toxicitě rtuti, která se může z výplně uvolňovat v malých koncentracích i při žvýkání a párám rtuti je vystaven i zubní lékař. V EU se na základě Minamatské úmluvy a nařízení Evropského parlamentu a rady EU z roku 2017 nesmí od 1. 7. 2018 používat amalgámové plomby u dětí do 15 let a těhotných či kojících žen a od 1. 1. 2019 se smí užívat pouze kapslový amalgám, který má předem určenou dávku rtuti a ochraňuje tak zubního lékaře i pacienta před expozicí rtuti. Celkově by se použití amalgámů mělo postupně snižovat a pokud možno do roku 2030 zcela ukončit [12][13][14].

1.2.1.4 Vakcíny

Ve vakcínách se využívá jako konzervační látka zvaná thiomersal. Jedná se o sůl, která obsahuje až 50 % ethylrtuti a slouží jako antibakteriální a antiplísňové činidlo ve vakcínách proti tetanu, záškrtu nebo proti chřipce. Množství thiomersalu obsažené ve vakcíně je velmi malé a nezpůsobuje jakýkoliv zdravotní problém. Od jeho používání se upustilo a dnes najdeme redukované množství pouze ve vakcíně proti hepatitidě B [15].

1.2.2 Zdroje znečištění

Rtuť se do životního prostředí uvolňuje řadou přírodních procesů (sopečná činnost, eroze, lesní požáry) nebo důsledkem antropogenních činností, které lze rozdělit na úmyslné a neúmyslné. Mezi úmyslné patří procesy, kde se záměrně využívá rtuť, např. výroba vinylchloridu, baterie, lampy, těžba zlata, zubní výplně. Neúmyslné uvolnění rtuti nastává např. při spalování tuhých paliv (uhlí, rašelina, dřevo), při zpracování kovů nebo při spalování odpadů [16].

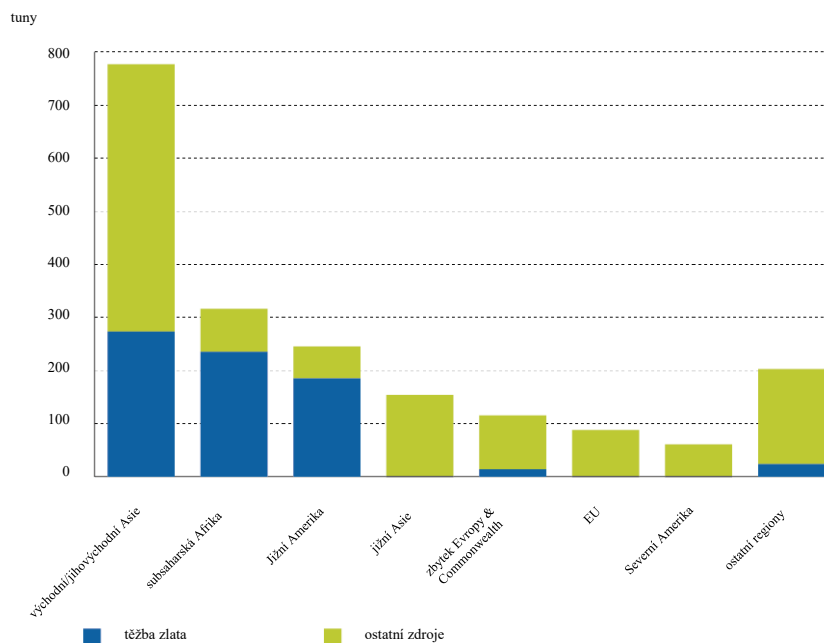
1.2.2.1 Přírodní zdroje

Rtuť se může přirozeně do ovzduší uvolňovat způsoby, který byly již zmíněné výše. Geologické zdroje jsou především v oblasti západní Severní Ameriky, střední Evropy a jižní Číny. V těchto oblastech najdeme nejrozšířenější minerál rtuti, červeně zbarvenou rumělku [6].

Na uvolnění rtuti do přírody můžou mít vliv i další jevy jako jsou klimatické změny. Ty by mohly způsobit tání permafrostu, kde je uloženo téměř 2x více rtuti než v oceánech a atmosféře dohromady. Tání permafrostu na severní polokouli se tak považuje za další přírodní zdroj emise rtuti, který v příštím století roztaje a zvýší tak koncentraci rtuti v ovzduší [17][18].

1.2.2.2 Antropogenní činnosti

Na základě dat Evropské agentury pro životní prostředí (EEA) vyplývá, že používání rtuti při antropogenních činnostech se v Evropě výrazně liší od ostatních částí světa. Následující Obrázek 1 znázorňuje emise rtuti do ovzduší z roku 2010 a porovnává znečištění způsobené těžbou zlata oproti ostatním zdrojům. Celkově se mohlo odhadem do ovzduší uvolnit až 2000 tun za rok 2010. Největším uživatelem rtuti je Asie, která vyprodukovala přibližně 780 tun a tvoří tak téměř polovinu globálních emisí. Země Evropské unie vyprodukovali dohromady necelých 100 tun a celosvětově to představuje pouze 5% podíl emisí uvolněných do životního prostředí [19].



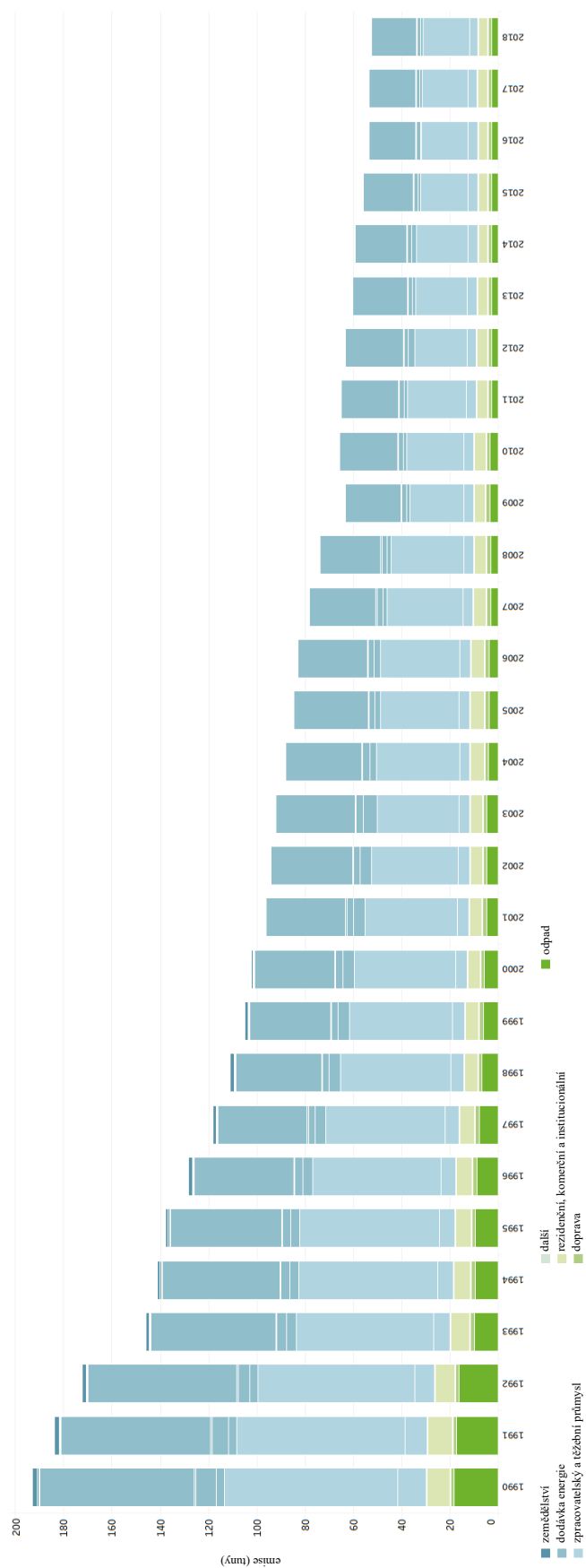
Obrázek 1: Globální emise rtuti do ovzduší v roce 2010

V následujícím grafu (obrázek 2) Evropské agentury pro životní prostředí je vidět, že emise rtuti se v Evropě od 1990 snižují. V roce 1990 bylo celkem uvolněno 192,8 tun rtuti z odvětví: zemědělství, zdroje energie, zpracovatelský a těžební průmysl nebo odpady. Největší zastoupení má právě výroba energie a tepla a zpracovatelský průmysl, kam spadá opracování kovů a chemikálie. Celková hmotnost uvolněné rtuti postupně každým rokem klesla, od roku 2001 pod hodnotu 100 tun a v roce 2018 klesla téměř o polovinu, konkrétně na 52,9 tun [20].

Další graf (obrázek 3) ukazuje konkrétně Českou republiku, která se snaží množství uvolněné rtuti také od roku 1990 k roku 2018 postupně snižovat. V roce 1990 ČR uvolnila 4,9 tun rtuti, nejvíce z odvětví zpracovatelského a těžebního průmysl a zajištění energie. Od roku 1997 si ČR drží hodnotu pod 4 tuny a od roku 2011 dokonce pod hranicí 3 tun [20].

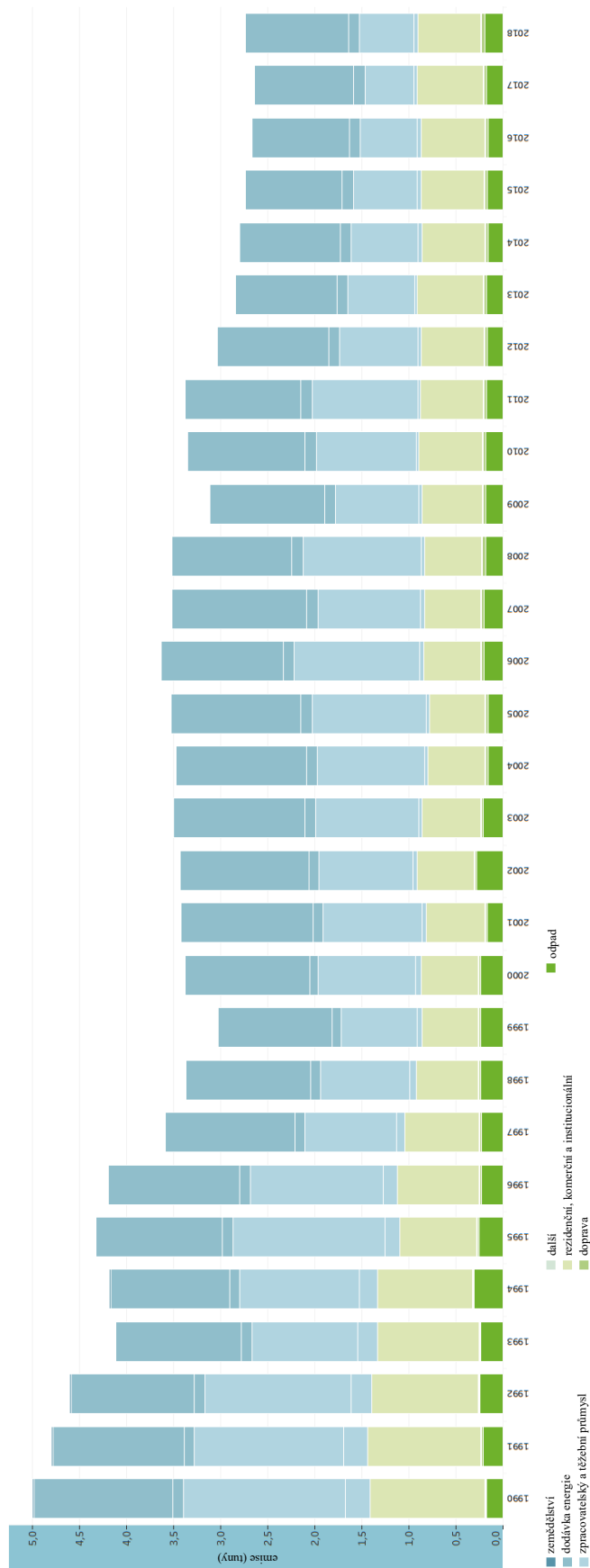
Mezi členské státy EEA patří všechny země Evropské unie a dále Velká Británie, Island, Turecko, Norsko, Švýcarsko a Lichtenštejnsko. Dále spolupracuje s Albánií, Bosnou a Hercegovinou, Kosovem, Černou horou, Srbskem a Makedonií [21].

Emise rtuti znečišťující ovzduší v 33 členských zemí EEA



Obrázek 2: Emise rtuti v 33 členských zemí EEA

Emise rtuti znečišťující ovzduší v ČR

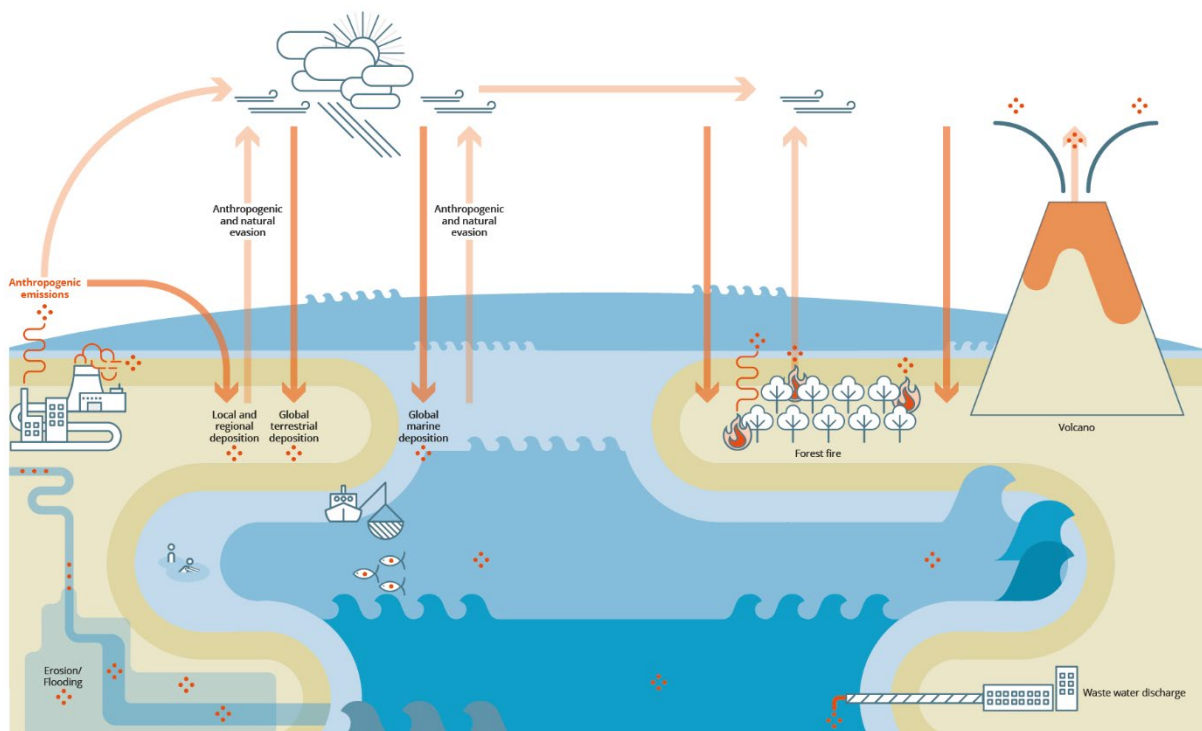


Obrázek 3: Emise rtuti v České republice

1.2.3 Globální cyklus rtuti

Znečištění rtuť, již výše zmíněnými způsoby, představuje globální riziko. Rtuť je vysoce rezistentní a může kontaminovat místo na kilometry vzdálené od původního zdroje znečištění. Do atmosféry se dostává v elementární formě $Hg^{(0)}$, vydrží 6-12 měsíců a podléhá různým transformacím na jiné formy. Antropogenními zdroji může být do životního prostředí uvolňována i forma $Hg^{(II)}$, která má životnost v řádech dnů až týdnů a je rozpustnější ve vodě než $Hg^{(0)}$. Tyto formy se ukládají v půdě nebo v povrchových vodách a odtud se mohou zpět uvolňovat do ovzduší nebo se akumulovat ve vodních sedimentech. Ve vodním ekosystému se část rtuti přeměňuje na velmi toxickou formu methylrtuť (viz kapitola 1.3.1), která se následně bioakumuluje v rybím masu a konzumací ryb se dostává do potravinového řetězce a lidského těla [6][22].

Obrázek 4 zobrazuje Globální cyklus rtuti, který zahrnuje jak přírodní zdroje znečištění, tak antropogenní činnosti. Jakmile se rtuť jednou uvolní, koluje mezi vzduchem, pevninou a vodou, dokud není uložena hluboko v oceánských sedimentech. Z vodního prostředí se uvolňují těkavé formy jako je elementární rtuť a dimethylrtuť. V sedimentech se ukládají komplexní nebo iontové sloučeniny, které se naváží na pevné částice [2][23]. Podrobnější přeměnu forem rtuti ve vodním prostředí zobrazuje obrázek 5 [24].

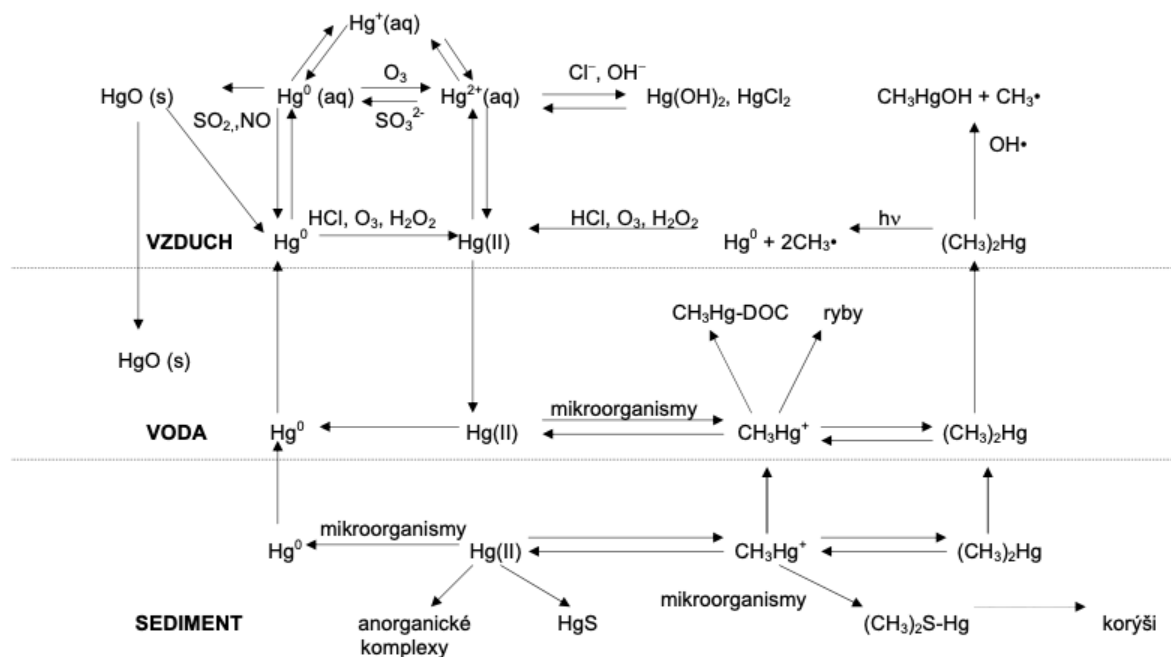


Obrázek 4: Globální cyklus rtuti

1.3 Rtuť ve vodním ekosystému

Vodní prostředí slouží jako dlouhodobé úložiště rtuti. V mělkém oceánu se životnost rtuti odhaduje na 30 let, v hlubokém oceánu na stovky let. Rtuť přítomná v mělké vodě podléhá globálnímu cyklu, může se tak uvolnit do ovzduší a vrátit zpět do oceánu, případně uložit do půdy. Dle odhadů je v oceánech uloženo až 350 000 tun rtuti, což je přibližně 60x více než v atmosféře. Až dvě třetiny uložené rtuti v oceánech jsou dopadem lidské činnosti [23][25].

V životním prostředí se rtuť transformuje biotickou nebo abiotickou oxidací a redukcí, podléhá biologickým transformacím mezi anorganickou a organickou formou a fotolýze organických sloučenin rtuti. Nejdůležitější proces přeměny rtuti v povrchových vodách je biotransformace. Anorganická forma rtuti, vstupující do vodního ekosystému, může být snadno přeměněna mikroorganismy za aerobních i anaerobních podmínek. Tento biochemický proces patří mezi toxikologicky nejdůležitější, protože při tomto procesu vzniká velice toxická forma methylrtuť (MeHg) [26]. Obrázek 5 popisuje transformace forem rtuti probíhající ve složkách vodního ekosystému. Přeměny probíhají ve všech složkách životního prostředí – voda, vzduch, sediment [2].



Přerušovaná čára představuje hranici mezi složkami životního prostředí
 aq = kapalná fáze, DOC = rozpuštěné organické látky, s = pevná fáze

Obrázek 5: Přeměna sloučenin rtuti ve složkách vodního ekosystému

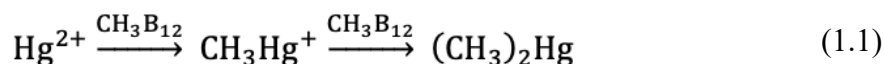
1.3.1 Methylace rtuti

Jedná se většinou o mikrobiálně řízený proces. Probíhá za anaerobních i aerobních podmínek a je výrazně ovlivňován fyzikálně-chemickými parametry – pH, teplota vody, přítomnost světla, koncentrace kyslíku v případě aerobní methylace. Tento děj urychluje kyselé prostředí a vyšší teplota. I přesto, že methylrtuť tvoří obvykle jen malou část celkového množství rtuti ve vodě a sedimentech, z hlediska rizik pro lidské zdraví je toxikologicky nejdůležitější formou. MeHg je forma rtuti, která znepokojuje člověka nejvíce hlavně kvůli bioakumulativní a lipofilní povaze, je lépe zadržována organismy vyšší úrovně než jiné formy rtuti a biomagnifikuje prostřednictvím potravinového řetězce ve vodních ekosystémech. Ve formě MeHg se vyskytuje až 85 % celkového množství rtuti ve svalové tkáni ryb [26][27][28].

1.3.1.1 Biotický způsob methylace

Methylace rtuti probíhá většinou neenzymatickou methylací rtuťnatých iontů methylkobalaminovými sloučeninami (CH_3B_{12}) v přítomnosti různých mikroorganismů, které se vyskytují v sedimentech – viz rovnice (1.1) [2]. Vitamin B12, kobalamin, tam hraje roli

transfurního nosiče methylové skupiny. Kobalt v tomto komplexu může nabývat tří oxidačních stavů (+I, +II, +III) a všechny tyto tři formy a mohou podílet na methylačním procesu. MeHg je produkována především anaerobními bakteriemi mající schopnost redukovat sulfáty např. bakterie z rodu např. *Desulfovibrio*, *Candida albicans* nebo *Saccharomyces cerevisiae* [26][27][29].



Pro zmíněné mikroorganismy je methylace detoxifikační mechanismus – rtuť je snadněji vyloučena z bakteriální buňky. Rychlost methylace závisí na koncentraci methylkobalaminových sloučenin, na dostupnosti anorganické formy Hg^{2+} a koncentraci kyslíku ve vodě. Methylace může být zpomalována vyšší koncentrací rozpuštěné organické látky, kdy dochází k sorpci iontů Hg^{2+} na organické částice při nízkém pH a snižuje se jejich dostupnost pro mikrobiální methylace [26][27].

Při pH v rozmezí 4-9 a normální koncentraci sulfidu vytváří rtuť sulfid rtuťnatý, který je ve vodě nerozpustný a snižuje tak dostupnost rtuti pro ryby. Kyselé podmínky inhibují tvorbu sulfidu rtuťnatého a podporují methylaci [26].

1.3.1.2 Abiotický způsob methylace

Při abiotické methylaci dochází k redukcí anorganické rtuti Hg^{2+} na kovovou rtuť v přítomnosti rozpustných huminových látek. Tento proces zesiluje světlo a probíhá za aerobních i anaerobních podmínek [26].

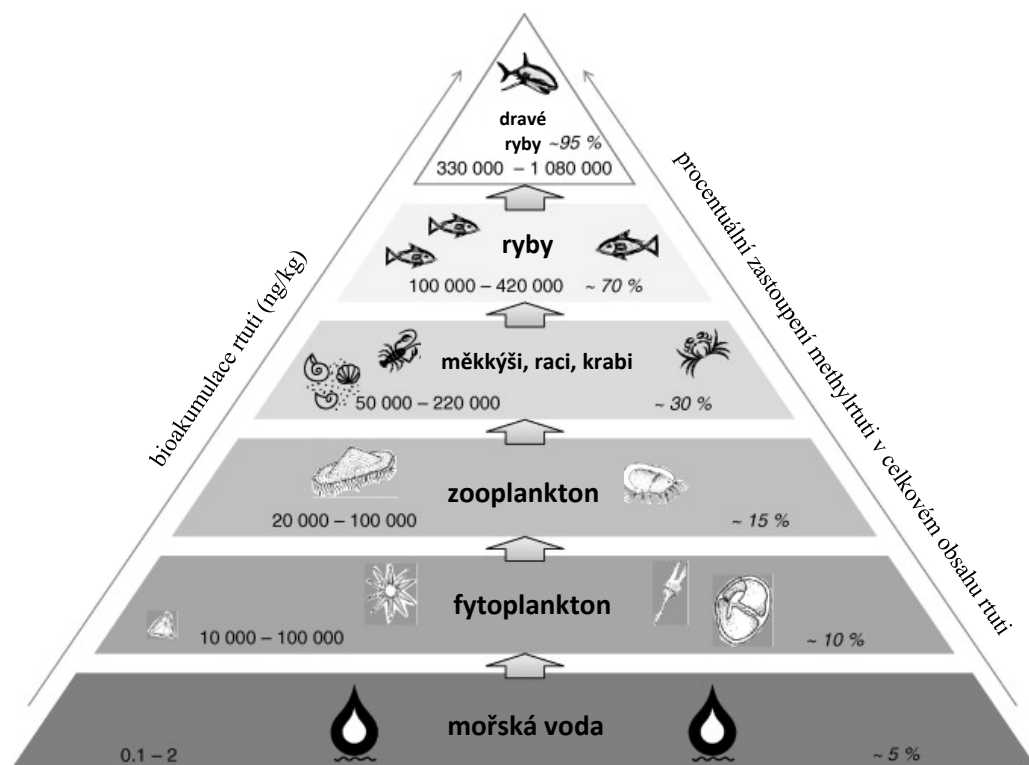
1.3.1.3 Mikrobiální degradace methylrtuti

Většina mikroorganismů, která je schopna methylace, má zároveň schopnost methylrtuť i degradovat. Biologická demethylace může probíhat dvěma způsoby. První cestou dochází k reduktivní demethylaci rtuti až na elementární formu za současného vzniku methanu. Redukce oxidované formy rtuti na formu elementární probíhá za pomoci cytoplazmatické reduktázy. Elementární forma může poté vést k úniku plynné rtuti z vody, půdy a sedimentů. Druhý způsob je oxidativní demethylace, při které se MeHg degraduje na anorganickou formu Hg^{2+} , CO_2 a malé množství methanu. Anorganická forma může být k dispozici pro methylaci. Tento mechanismus je pro mikroorganismy opět detoxifikační a zvyšuje odolnost mikroorganismů vůči silně jedovaté formě Hg^{2+} [26][27].

1.3.2 Bioakumulace a biomagnifikace rtuti v rybí tkáni

Vodní organismy mohou přijímat rtuť z potravy, vody nebo sedimentu, Bioakumulace je proces, při kterém se hromadí požitá rtuť v organismech, protože proces eliminace je pomalejší než proces absorpce. Tento proces je intenzivně studován, protože ryby jsou primárním zdrojem methylrtuti v lidské potravě a methylrtuť se akumuluje díky lipofilní povaze jednodušeji než anorganické formy. Bioakumulace je závislá na trofické úrovni organismu v potravní pyramidě viz Obrázek 6. Bezobratlé organismy obsahují z celkového množství rtuti kolem 50 % ve formě methylrtuti, ryby zhruba 60 % a piscivorní ptáci až 95 %. Větší koncentrace organické formy je přisuzována faktu, že ryby přednostně vylučují formu anorganickou, která má kratší poločas rozpadu [25][26].

Proces biomagnifikace je zvyšování koncentrace rtuti při pohybu potravinovou sítí, kdy dravé ryby sní kořist s již nahromaděnou rtuť. V organismech může proto být daleko vyšší koncentrace než ve vodě, ve které žijí. Vyšší koncentrace rtuti tak díky biomagnifikace můžeme najít u dravých ryb jako je žralok, mečoun nebo tuňák [25][30].



Obrázek 6: Bioakumulace rtuti ve vodním ekosystému

V letech 2010 až 2012 byla provedena studie DEMOCOPHES, která v 17 evropských zemích, včetně ČR, sledovala 4 biomarkery: rtuť z vlasu, kadmium, kotinin a některé ftaláty z moči. V rámci studie bylo odebráno téměř 4000 vzorků dětem ve věku 6-11 let a jejich matkám mladších 45 let z městských i venkovských oblastí. Účastníci museli poskytnout informace o životním stylu, výživě apod. Výsledky studie ukazují, že matky mající vyšší příjem ryb, mají zároveň vyšší hladinu rtuti v těle. Průměrnou hodnotu rtuti ve vzorcích ze zúčastněných zemí překročily především španělské a portugalské matky, a to téměř 6x. Téměř dvojnásobnou koncentraci rtuti ve zkoumaných vzorcích měly i matky z Kypru, Dánska, Lucemburska a Belgie, kde také konzumují větší množství ryb, avšak nevolí dravé ryby. Ostatní země (ČR, Irsko, Švýcarsko, Velká Británie, Polsko, Slovensko, Německo, Rumunsko a Maďarsko) v rámci zkoumaných vzorků vykazovaly průměrnou nebo spíše podprůměrnou koncentraci rtuti [31].

1.4 Toxicita rtuti

Jako u všech toxických látek jsou účinky rtuti závislé na dávce, na způsobu expozice a na tom, kolik naše tělo absorbovalo. Expozice rtuti může mít širokou škálu účinků, které se liší v závislosti na době expozice. U rtuti záleží i na formě, protože různé formy zůstávají v našich tkáních různou dobu. Rtuť může být škodlivá i při velmi nízkých hladinách, zejména pro plod a děti [32][33].

Projevy intoxikace mohou být akutní nebo chronické. Mezi hlavní příznaky akutní intoxikace patří třes, brnění, ztráta paměti, poškození plic, nadměrné močení a přítomnost bílkoviny v moči. Mezi chronické projevy se řadí únava, slabost, psychické poruchy, poškození zraku, kardiovaskulární onemocnění, poškození ledvin (tzv. nefrotický syndrom) [34].

1.4.1 Elementární rtuť

Tato forma, která se vyskytuje v plynné formě, se do těla dostává vdechováním par. Absorbuje se až 80 % dávky, je rozpustná v tucích a proniká membránami. Je snadno absorbována a rychle se oxiduje na formu Hg^{2+} . Tato forma se váže na thiolovou skupinu a nejvíce se koncentruje v ledvinách a játrech. Akutní intoxikace se projevuje akutním zánětem průdušek, plic, lehkým poškozením jater nebo ledvin v kombinaci s postižením centrální nervové soustavy (CNS). Při dlouhodobé intoxikaci párami rtuti je nejvíce ohrožená CNS díky snadné prostupnosti přes hematoencefalickou bariéru [32][35][36].

Vylučování rtuti je velmi pomalé. Po skočení expozice může vyloučení trvat několik měsíců i let. Eliminace probíhá hlavně exkrecí formy Hg^{2+} výkaly, slinnými, slznými nebo potními žlázami. Část se nevratně ukládá ve vlasech a nehtech, kde více než 80 % je ve formě methylrtuti [36].

1.4.2 Anorganické formy

Anorganické formy rtuti, především rtuťné jsou oproti rtuťnatým méně rozpustné ve vodě a tím i hůře vstřebatelné. I jejich prostupnost přes hematoencefalickou bariéru a placentu je horší. Nejvíce se kumuluje v ledvinách, játrech a mozku. Při požití této formy se absorbuje zhruba 2–38 % [35][36].

1.4.3 Organické formy

Většinu obsahu rtuti v lidském těle zaujímají organické formy a z 80–90 % pochází z konzumace ryb. Methylrtuť je nejtoxičtější forma také díky své vysoké absorpci. Při vdechování i požití se absorbuje až 95 % dávky a proudí rovnou do krve. Methylrtuť se snadno rozpouští v tucích a je snadněji absorbována v gastrointestinálním traktu než formy anorganické. MeHg má vysokou afinitu k thiolové skupině. Po oddělení methylrtuti žaludeční šťávou se tak spojí s cysteinem ve dvanáctníku a do různých tkání a orgánů je distribuována pomocí červených krvinek a krevních cév. Schopnost projít přes hematoencefalickou membránu způsobuje akumulaci v CNS, která má vyšší obsah tuků a způsobuje poruchy neuronů [35][36].

Hlavní cestou vylučování MeHg je žluč a výkaly. Část rtuti je reabsorbována enterohepatálním oběhem a je vrácena zpět do jater, druhá část je demetylována a vylučuje se stolicí. Močí se vylučuje tak malé množství MeHg, které nelze přesně detekovat kvůli anorganické formě. Poločas rozpadu, tj. doba, za kterou se koncentrace sníží o polovinu, je u MeHg přibližně 70 dní. U kojících žen se může MeHg vylučovat i mateřským mlékem [35].

MeHg je považována za neurotoxin, který způsobuje motorické poruchy, třes rukou, zhoršené vidění, nespavost, ztrátu paměti, záškuby svalů. U těhotných žen se akumuluje nejvíce v mozku plodu. I když ženy nevykazovaly příznaky intoxikace, rodily se jim děti s poruchou inteligence a CNS jako je paralýza. Poprvé se její toxické účinky projevily v japonském zálivu Minamata (viz kapitola 1.4.4) [33][35].

Další organickou formou, která se potencionálně může dostat do lidského těla ve vakcíně je ethylrtuť. Po podání se u ethylrtuti pozoruje rychlejší pokles hladiny v krvi a dochází k rychlejší přeměně na anorganickou formu. Biologický rozpad se odhaduje na 14–18 dní [37].

1.4.4 Minamata, Japonsko

Minamata je město v prefektuře Kumamoto v Japonsku, v blízkosti moře Shiranui. Od roku 1908 zde vyráběla firma Chisso dusíkatá hnojiva a v roce 1921 zde začali vyrábět širokou škálu organických sloučenin. Jednou takovou sloučeninou byl acetaldehyd, při jehož výrobě se používala rtuť jako katalyzátor. Firma Chisso vypouštěla odpadní vodu z výroby acetaldehydu do zálivu. Tato voda však obsahovala methylrtuť, která při výrobě acetaldehydu vznikala. První

příznaky intoxikace byly pozorovány kolem roku 1950, ale až v roce 1958 byla methylrtuť zmíněna jako jeden z kovů, který mohl otravu způsobit [38].

První podivné jevy byly pozorovány u ryb a mořských ptáků. Situace se však nijak neřešila a v roce 1953 se projevovalo divné chování u místních koček konzumující velké množství ryb. Během tohoto období bylo i několik pacientů s neurologickými příznaky neznámého důvodu. Až roce 1956, kdy bylo hospitalizováno několik pacientů, včetně malých dětí, s podobnými příznaky, se začalo pátrat po příčině. Studie poukázovaly na souvislost mezi povoláním rybáře, konzumací ryb ulovených v zátocě Minamata a vzdáleností od zálivu. Výsledkem byla informace, že nemoc není nakažlivá, ale je způsobená otravou těžkým kovem v zátocě Minamata. Stejný toxikant mohl i za otravu ryb a měkkýšů a příčinou je kontaminovaná odpadní voda. Nebyla vzata však žádná opatření jako např. zákaz rybolovu nebo zákaz konzumace ryb a nemoc zvaná „Minamata disease“ se šířila [38].

Kromě toho, že se zde poprvé objevily toxické účinky methylrtuti, došlo zde ještě k objevu jedné nové informace a to, že placenta nechrání plod před jedy. Minamata byl první případ, kde došlo k chemické otravě plodu průchodem přes placentu. Tato skutečnost byla potvrzena v roce 1968 měřením koncentrace methylrtuti v pupečnickové šňůře. Mnoho kojenců bylo postižených s příznaky podobné mozkové obrně už od roku 1955, Pacienti vykazovali příznaky jako je mentální retardace, deformace končetin, poruchy koordinace, špatné reflexy, špatný růst a měli svalové křeče [35][38].

V roce 1965 došlo k podobné otravě methylrtutí v Niigatě, kde odpovědná továrna fungovala podobným způsobem jako Chisso v Minamatě. Bylo zasaženo více než 1500 osob [38].

1.4.5 Minamatská úmluva

Minamatská úmluva je první globální dohodou na ochranu lidského zdraví a životního prostředí, konkrétně před nepříznivými účinky rtuti. Dohoda byla formálně schválena na zasedání Intergovernmental Neogating Committee v Ženevě a následně podepsána v japonském Kumomato v roce 2013 a 16. 8. 2017 vstoupila v platnost. Úmluvu podepsalo 127 smluvních stran, včetně ČR, a je pojmenována po katastrofickém znečištění v japonském zálivu Minamata v padesátých letech minulého století [39].

Mezi hlavní zájmy úmluvy patří zákaz vzniku nových rtuťových dolů, postupné snižování používání rtuti v řadě výrobků a procesů, kontrolní opatření týkající se emisí do ovzduší a úniků do půdy a vody, regulace řemeslné těžby a těžby zlata v malém měřítku. Úmluva se také zabývá dočasným skladování, likvidací rtuti a kontaminovanými místy [39][40].

Momentálními cíli bylo pro smluvní strany do roku 2020 ukončit výrobu, vývoz a dovoz výrobků s přidanou rtutí, včetně určitých lamp, baterií, kosmetiky a pesticidů. Všechny strany musí nadále redukovat používání amalgámů a snížit použití rtuti o jednu polovinu při výrobě vinylchloridu do roku 2025 [40].

1.5 Konzumace ryb

Ryby jsou zdrojem nutričně významných bílkovin, lipidů, vitamínů a minerálních složek. Rybí maso obsahuje z 50–83 % vodu, proto není úplně soudržné a špatně se uchovává. Bílkoviny tvořící 15–20 % jsou vysoce kvalitní. Obsahuje také všechny esenciální aminokyseliny a jsou velice dobře stravitelné. Obsah tuků se může pohybovat v rozmezí 1–35 % a dle množství tuku ryby rozdělujeme na druhy s nízkým obsahem do 2 %, středně tučné do 10 % a tučné nad 10 % tuku. V rybách najdeme i vitaminy, a to hlavně ty v tučných rozpustné A a D a ve vodě rozpustný komplex B. Ryby mají ještě další velmi důležitou látku, a to jsou nenasycené mastné kyseliny omega-3, konkrétně EPA (kyselina eikosapentanenová) a DHA (kyselina dokosahehexaenová), které prospívají srdeční činnosti, snižují hladinu cholesterolu v krvi a lidské tělo si je nedokáže vytvořit [42].

Lidé, kteří konzumují ryby výjimečně nebo vůbec a tím nepokryjí potřebné množství omega-3, by měli nenasycené mastné kyseliny doplňovat pomocí doplňků stravy. EPA se přirozeně vyskytuje rybím oleji, který se získává hlavně z čerstvých jater některých druhů tresky. EPA podporuje snížení hladiny cholesterolu, podporuje kvalitu cév a má protizánětlivý efekt. DHA se stejně jako EPA vyskytuje v rybím oleji. Je důležitá pro správnou činnost buněčných stěn, nervového a kardiovaskulárního systému, také podporuje paměť a je důležitá u dětí pro rozvoj mentálních funkcí. Obě kyseliny příznivě působí i na imunitní systém. Mezi rostlinné zdroje omega-3 patří např. lněná semínka nebo lněný olej, kde se nachází ALA (kyselina alfa-linolenová) [43].

1.5.1 Spotřeba ryb

Optimální spotřeba by měla být 17 kg ryb na osobu za jeden rok. Celosvětově se průměrná roční spotřeba pohybuje kolem 20,3 kg na osobu dle FAO (Food and Agriculture Organization). V ČR je dle rybářského sdružení ČR a Českého statistického úřadu (ČSÚ) průměrná spotřeba dlouhodobě podprůměrná. Pohybuje se kolem hodnoty 5 kg/osoba/rok viz tabulka 2. Podle optimální spotřeby by měl člověk konzumovat 2-3 porce za týden (1 porce = ±150 g). Na základě spotřeby v ČR však průměrný obyvatel ČR konzumuje přibližně 1 porci jednou za 10 dní [44].

Tabulka 2: Spotřeba ryb v ČR (údaje v kg/osoba/rok)

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
celková spotřeba ryb	5,1	5,4	5,4	5,3	5,4	5,5	5,1	5,4	4,2	4,2
z toho sladkovodní tuzemského původu	1,4	1,5	1,5	1,4	1,3	1,4	1,3	1,3	1,3	1,3

1.5.1.1 Zahraněční obchod

Do České republiky se více ryb doveze, než vyveze. Ročně se doveze přibližně 45 000 tun, z největší části ryby již opracované (filé), v menším množství ryby mražené, dále chlazené/čerstvé a nejméně ryby živé. Dovoz převyšuje vývoz více než dvojnásobně. Průměrně se ročně vyveze kolem 26 000 tun a nejvíce zastoupený ve vývozu ryb je živý kapr [44].

1.6 Expoziční dávky

Expozice rtuti a jejím sloučeninám je diskutované téma veřejného zdraví. Téměř každý člověk je nějakým způsobem expozici rtuti vystaven, ať už je to ze zubního amalgámu, konzumací ryb nebo z vakcín. Biomonitoring rtuti lze provést z krve, moči nebo analýzou vlasu [45][46].

Expozice populace je zjišťována v Centru zdraví, výživy a potravin Státního zdravotního úřadu (CZVP SZÚ). Ten zajišťuje tzv. Monitoring zdravotního stavu obyvatelstva v ČR (MZSO) od roku 1994. Limitní hodnota pro potraviny nezahrnující ryby/mořské plody je pro celkovou rtuť stanovena na 4 µg/kg tělesné hmotnosti za týden. Z hlediska možné intoxikace rtutí jsou považovány za zdroj ryby, mořské plody a rybí výrobky. Ostatní potraviny nepředstavují větší riziko, protože se v nich rtuť vyskytuje především v jiných formách, které jsou považovány za méně rizikové. Maximální limit pro přídatné látky v potravinářství je dle nařízení Komise EU č.231/2012 od 100 do 3000 µg/kg. Jsou stanoveny i hladiny rtuti pro vodu a minerální vodu na 1 µg/l [36][46].

Co se týče expozice rtuti z amalgámových výplní, tak z jedné výplně o ploše 0,4 cm² se za den uvolní přibližně 15 µg rtuti. Hladina rtuti pak koreluje s počtem výplní a dle WHO (World Health Organization) se příjem rtuti z amalgámů pohybuje v rozmezí 1,2-27 µg. Tento příjem je pod hodnotou tolerovaného denního příjmu, který byl WHO stanoven na 40 µg [47].

1.6.1 Legislativa regulující obsah rtuti v rybím mase

Nařízení ES 1881/2006 vydané v roce 2006 stanovuje maximální limity kontaminujících látek včetně rtuti. Na produkty rybolovu je obsah rtuti povolen do 0,5 mg/kg, pro vybrané druhy ryb (mořské ryby, štika obecná a úhoř říční) je limit stanoven do 1,0 mg/kg. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) stanovil týdenní tolerovaný příjem rtuti 1,6 µg/kg t. hm. Pro dospělého člověka vážícího 70 kg by to bylo 112 µg/kg rtuti na týden [45][48].

Pro posouzení expozice rtuti stanovila WHO výpočet EDI – Estimated Daily Intake viz vzorec (1.2), zahrnující množství rtuti (THg), denní konzumaci ryb a tělesnou hmotnost [49].

$$EDI \left(\frac{\mu g}{kg} \right) = \frac{THg \left(\frac{\mu g}{g} \right) * \text{denní konzumace ryb (g)}}{\text{tělesná hmotnost (kg)}} \quad (1.2)$$

Pro odhad maximálního množství ryb, které lze konzumovat, aniž by byl překročen tolerovatelný týdenní limit slouží výpočet MAF – Maximum Amount of Fish viz vzorec (1.3) [49].

$$MAF(g) = \frac{1,6 \left(\frac{\mu g}{kg} \right) * \text{tělesná hmotnost (kg)}}{THg \left(\frac{\mu g}{g} \right)} \quad (1.3)$$

1.7 Stanovení celkového obsahu rtuti

Pro stanovení celkového obsahu rtuti ve vzorku je potřeba nejprve převést všechny chemické formy rtuti do jedné formy. Organické formy se tak převádí na formu anorganickou (Hg²⁺) a ta je následně stanovena, v závislosti na způsobu detekce, buď přímo nebo po redukci jako rtuť atomární. Chemické formy se oxidují na formu Hg²⁺ silnými kyselinami (HCl, H₂SO₄, HNO₃), oxidačními činidly v kyselém prostředí (H₂O₂, K₂Cr₂O₇, KMnO₄ a další), UV a mikrovlnným zářením. Nejúčinnější je fotooxidace, tj. chemické oxidace současně s UV zářením.

Pro stanovení celkové koncentrace rtuti se v praxi využívá atomová absorpční spektrometrie (AAS), atomová fluorescenční spektrometrie (AFS), atomová emisní spektrometrie (AES), hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) nebo optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES).

Pro přímé stanovení rtuti v pevných a kapalných vzorcích bez potřeby předchozí úpravy vzorku, např. mineralizace, se používá jednoúčelový analyzátor Advanced Mercury Analyser (AMA) 254. Přístroj funguje na principu generaci par a jejich záchytu na zlatém amalgamátoru [2].

1.7.1 Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

Princip metody AAS je absorpce elektromagnetického záření volnými atomy stanovovaného prvku v plynném stavu. Při stanovení rtuti se měří absorpce záření na rezonanční čáře 253,7 nm. Volné atomy vznikají v atomizátorech, které mohou být plamenové nebo elektrotermické. Oba způsoby atomizace mají malou citlivost. Metoda AAS často využívá techniku studených par (CV), která dosahuje velmi dobré citlivosti a vysoké selektivity [50][51].

1.7.2 Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)

Metoda AFS sleduje emise záření atomy v plynném stavu, při přechodu elektronů do nižšího energetického stavu. Atomy jsou excitovány absorpcí elektromagnetického záření. Stejně jako u AAS se u AFS nejčastěji využívá technika generace studených par rtuti (CV-AFS).

Rtuť má za laboratorní teploty vysokou tenzi par a lze při této teplotě měřit absorpci či fluorescenci volných atomů rtuti a stanovit tak její koncentraci. Redukcí dvojmocné rtuti na elementární se generují studené páry, které jsou vedeny proudem vzduchu, argonu nebo dusíku do kyvety. Pro nízké koncentrace se využívá zachycení rtuti na amalgamační prekoncentrační jednotce, která zvyšuje citlivost stanovení [52][53].

1.7.3 Jednoúčelový analyzátor AMA 254

Advanced Mercury Analyser AMA 254 je jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr pro přímé stanovení obsahu rtuti v pevných i kapalných vzorcích. Vzorky není potřeba před měřením chemicky předupravovat (např. mineralizovat apod.). Analyzátor díky technice generování par kovové rtuti a následným zachycením a nabohacením na zlatém amalgamátoru dosahuje velmi vysoké citlivosti stanovení. Blokové schéma přístroje je uvedeno na obrázek 7.

Dávkovací zařízení (1) a dávkovací lodička (21) slouží k zavedení vzorku o známé navážce do přístroje. Lodička je povelem z řídicího počítače automaticky zavedena do spalovací trubice (2), kde dochází k termickému rozkladu vzorku pomocí spalovací pece (4) v předem určeném časovém intervalu. V druhé části spalovací trubice se nachází katalyzátor, který je vyhříván na konstantní teplotu 550 °C pomocí katalytické pece (3).

Na konci spalovací trubice se nachází amalgamátor (5). Ten slouží k záchytu rtuti z proudu plynných produktů rozkladu vzorku a zachycená rtuť je uvolněna ohřevem pomocí vypuzovací pece (6).

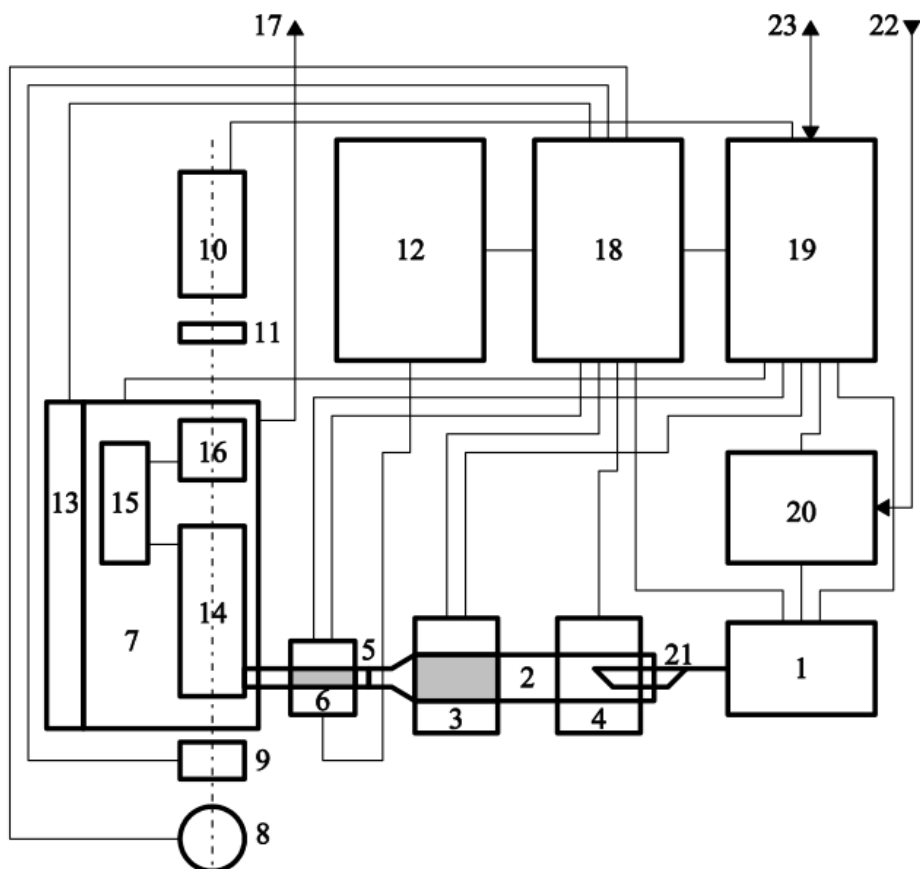
Vypuzené páry rtuti jsou následně vedeny do bloku měřících kyvet (7). Blok je vyhříván na 120 °C pomocí topení (13) aby nedošlo ke kondenzaci vody. Blok kyvet se skládá z dvou sériově uspořádaných kyvet – delší (14) a kratší (16) měřící kyvety jejichž délka je v poměru 10:1. Zpoždovací nádobka (15) je umístěna mimo optickou osu a je zapojena mezi těmito dvěma kyvetami.

Principem metody je měření absorbance záření na vlnové délce 253,7 nm. Zdrojem záření je zde nízkotlaká rtuťová výbojka (8) zastíněná clonkou (9). Záření procházející interferenčním filtrem (11) je detekováno polovodičovou UV diodou (10).

Po vypuzení rtuti urychluje vychladnutí amalgamátoru chladicí čerpadlo (12). Analogová elektronika (18) obsahuje zdroj pro rtuťovou výbojku, napájecí zdroj pro digitální část a výkonné spínače pece a ostatní akční členy. Digitální část (19) s mikroprocesorem 8051 obsahuje číslicové obvody, 12bitový A/D převodník a měřící zesilovače detektoru a čidel. Z této části vychází také komunikace s PC (23).

Po celou dobu prochází přístrojem kyslík. Od vstupu (22) až po výstup (17) je jeho průtok regulován pomocí regulátoru průtoku (20).

Naměřená data jsou zobrazena v řídicím počítači s ovládacím programem a převedena do formy přístupné uživateli [54].



Obrázek 7: Blokové schéma analyzátoru AMA 254

- | | |
|--------------------------|----------------------------------|
| 1 – dávkovací zařízení | 13 – topení bloku měřících kyvet |
| 2 – spalovací trubice | 14 – delší měřící kyveta |
| 3 – katalytická pec | 15 – zpoždovací nádobka |
| 4 – spalovací pec | 16 – kratší měřící kyveta |
| 5 – amalgamátor | 17 – výstup kyslíku |
| 6 – vypuzovací pec | 18 – analogová elektronika |
| 7 – blok měřících kyvet | 19 – mikropočítač |
| 8 – rtuťová výbojka | 20 – regulátor průtoku kyslíku |
| 9 – clonka | 21 – dávkovací lodička |
| 10 – detektor | 22 – vstup kyslíku |
| 11 – interferenční filtr | 23 – komunikace s PC |
| 12 – chladičí čerpadlo | |

1.7.4 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem dosahuje velice nízkých limitů detekce téměř pro všechny prvky, jejich spektra jsou jednoznačná a jednoduchá a má široké uplatnění ve všech oblastech prvkové analýzy. Tato metoda kombinuje indukčně vázané plazma jako zdroj kladně nabitých částic a hmotnostní spektrometrii, která tyto částice detekuje. Převod kapalného vzorku na aerosol a plazmová hlavice je totožná jako u ICP-OES. Ve spojení MS s ICP se nejčastěji používá jako iontový filtr kvadrupól a jako detektor zde slouží elektronový násobič. Metoda ICP-MS umožňuje kvalitativní analýzu, ale její hlavní oblastí je analýza kvantitativní [51].

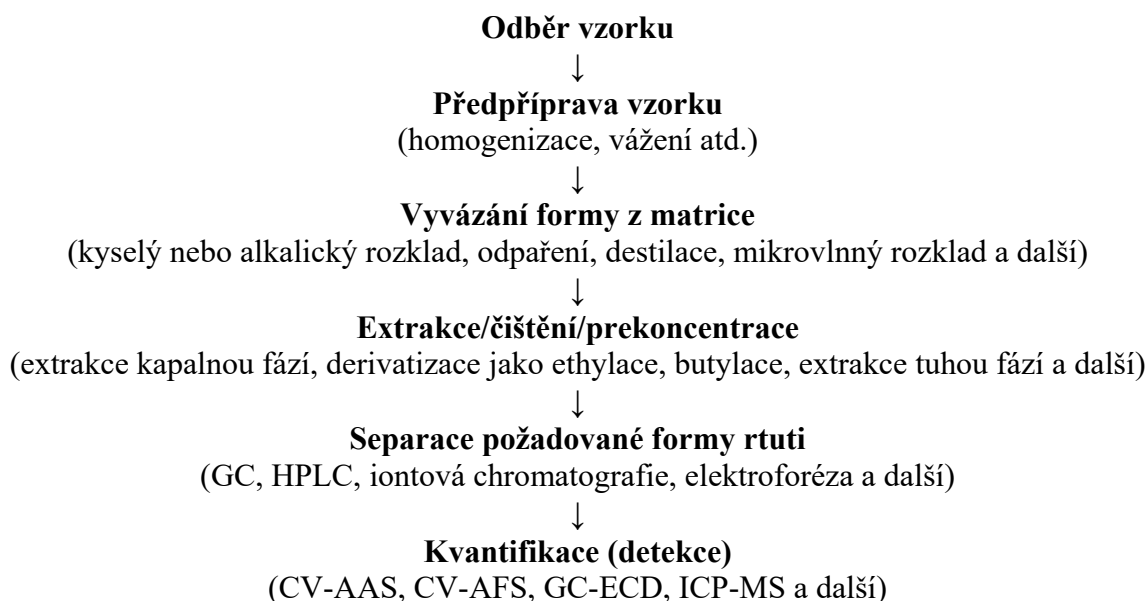
1.7.5 Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES)

Tato metoda slouží k prvkové analýze kapalných vzorků. Plazma vzniká v proudu plynu, nejčastěji argonu, za atmosférického tlaku. Vznik plazmatu inicializuje jiskrový výboj, při kterém vznikají ionty argonu a volné elektrony, které jsou urychleny vysokofrekvenčním elektromagnetickým polem a ionizují další atomy argonu. Plazmová hlavice dosahuje nejvyšší teploty až 10 000 K.

Kapalný vzorek je nejprve převeden na aerosol pomocí různých typů zmlžovačů. V mlžné komoře je aerosol dále modifikován na co nejmenší částice. Aerosol je vnášen v toku argonu do plazmové hlavice tzv. analytickým kanálem o teplotě kolem 5 000 K, kde je vzorek rozložen, atomizován a excitován. Elektrony z excitovaného stavu přechází do základního stavu s nižší energií za současné emise záření, které je charakteristické pro daný prvek. Vlnová délka emitovaného záření je charakteristická pro každý prvek a využívá se ke kvalitativnímu vyhodnocení. Intenzita emitovaného záření je lineárně závislá na koncentraci analyzovaného prvku ve vzorku [51].

1.8 Stanovení chemických forem rtuti

Ke stanovení chemických forem rtuti se používá tzv. speciální analýza. Speciální analýza stanovuje jednotlivé fyzikálně chemické formy prvku a jejich součet koncentrací tvoří celkovou koncentraci prvku ve vzorku. Speciální analýza využívá rozdílné fyzikální a chemické vlastnosti a zahrnuje kroky separace v kombinaci se selektivní detekcí. Nejběžnější kroky speciální analýzy zobrazuje následující schéma [55][56].



1.8.1 Odběr, příprava a uchování vzorků

Odběr a uchování vzorku pro stanovení chemických sloučenin rtuti je náročný proces na standardizaci podmínek. Během odběru, skladování a analýzy by podmínky měly zaručit, že nedojde ke změně složení vzorku. Způsob odběru musí zajistit reprezentativnost vzorku až do doby analýzy, proto v průběhu odběru a přípravě nesmí dojít k celkovému poklesu množství rtuti a nesmí dojít ani ke změně poměru jednotlivých chemických forem. Významným zdrojem ztrát je odpařování a transformace těkavých forem rtuti. Nejčastěji dochází k přeměně methylrtuti na anorganickou rtuť [2][57].

Stabilitu anorganických a organických forem rtuti ovlivňuje např. koncentrace jednotlivých sloučenin, složení matrice, materiál odběrové nádoby, teplota, při které se vzorek skladuje, pH vzorku, světlo, a další [2][57].

Při odběru je nutné vzorek zakonzervovat tak, aby celkové množství rtuti a poměr jednotlivých forem byl konstantní. Jako konzervační činidla se používají nejčastěji minerální kyseliny v kombinaci se silnými oxidačními činidly. Stabilita vzorku se také podporuje jejich zmrazením a skladováním v nádobách z vhodného materiálu, např. tmavé sklo Pyrex nebo polytetrafluorethylen (PTFE) [2][57].

1.8.2 Extrakce forem rtuti z matrice

Nejkomplikovanější část analýzy je izolace chemické formy rtuti z biologického materiálu. Při izolaci dochází k vytěsnění formy z matrice a nesmí přitom dojít ke ztrátám nebo kontaminaci. Zároveň nesmí dojít k jakékoliv transformaci formy dané rtuti a extrakční výtěžky musí být kvantitativní a reprodukovatelné [2].

K extrakci specií rtuti se nejčastěji využívá kyselá nebo alkalická hydrolyza. Methylrtuť je v biologickém materiálu vázána především na thiolové skupiny proteinů, a proto je k extrakci vhodná koncentrovaná kyselina chlorovodíková. Reakcí HCl a MeHg vzniká sloučenina CH_3HgCl . Pro některé materiály se využívá alkalická hydrolyza, při níž se štěpí tuky a bílkoviny [58].

Specie rtuti se ve vodách vyskytují ve velmi nízkých koncentracích, které nejsou dostatečné, a proto je potřebné zařadit krok prekoncentrace. Tímto krokem se dosáhne odpovídajícím detekčním limitům. Využívá se metoda derivatizace, extrakce z kapaliny do kapaliny nebo extrakce tuhou fází [59].

Extrakce z kapaliny do kapaliny je nejčastější. Vzniklá sloučenina CH_3HgCl je extrahována z vodné fáze do organické, nejčastěji pomocí nepolárního rozpouštědla toluenu nebo benzenu. Následuje další extrakce do vodného roztoku thiosíranu sodného. Při tomto kroku ale dochází k velkým ztrátám analytu. Nedávno byla publikována nově vyvinutá extrakce methylrtuti, kde se v extrakce zpět do vodného prostředí provedla pomocí L-cysteinu. Tato metoda byla využita v praktické části diplomové práce [58][60].

1.8.3 Metody separace chemických forem rtuti

K separaci jednotlivých chemických forem rtuti se nejčastěji využívá kapalinová nebo plynová chromatografie, méně často se využívají elektromigrační techniky. Selektivní detekce umožňuje velmi citlivě stanovit všechny přítomné chemické formy rtuti [2][55].

1.8.3.1 Kapalinová chromatografie (HPLC)

Stanovení sloučenin rtuti kapalinovou chromatografií s normálním uspořádáním fází bylo postupně nahrazeno vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií na reverzních fází (nepolární stacionární fáze a polární mobilní fáze). Výhodou této metody je příprava vzorku, která je jednodušší, protože nevyžaduje derivatizaci a lze dávkovat větší množství vzorku. Jako mobilní fáze se používají směsi polárního rozpouštědla a vody (např. methanol-voda, acetonitril-voda).

Iontové a nízkomolekulární izolované formy rtuti mohou způsobovat problém, a to ten, že slabě interagují se stacionární fází. K vytvoření stabilních neutrálních komplexů se využívají modifikátory tzv. komplexotvorní činidla, díky kterým se překonají rozdíly mezi chemickými a fyzikálními vlastnostmi jednotlivých forem rtuti a umožňují stanovit odlišné sloučeniny. Jako modifikátory se používají chelatační činidla, např. 2-sulfanylethanol, L-cystein, dithizon a další, a ion-párová činidla [2][55][61].

1.8.3.2 Plynová chromatografie (GC)

Při separaci chemických forem rtuti pomocí plynové chromatografie je důležitým krokem derivatizace neboli chemická modifikace analytu na těkavou, termicky stabilní formu. Při tomto kroku nesmí dojít k porušení původních vazeb. Derivatizace slouží také k izolaci analytu z matrice a lze provést např. alkylací Grignardovými činidly, alkylací tetraalkylboritany nebo tvorbou hydridů ve vodném prostředí. Nejčastěji se používá ethylace tetraethylboritanem sodným. Izolace a prekoncentrace se provádí mikroextrakcí na pevné fázi (SMPE). Pro separaci se používají kapilární chromatografické kolony s nepolárními typy fází na bázi poly(dimethylsiloxanu) [2].

1.8.4 Detekce chemických forem rtuti

Pro detekci chemický forem rtuti separovaných kapalinovou chromatografií se využívají např. UV detektory, CV-AFS, CV-AAS, ICP-MS, dále také elektrochemické a piezoelektrické. Pro detektory využívající techniku generace studených par je nutné převést formu rtuti na Hg^{2+} a následně redukovat na rtuť elementární.

U plynové chromatografie se nejčastěji využívá detektor elektronového záchytu (ECD), ale jeho nevýhodou je nízká selektivita detekce. Dále se využívá AFS, jehož pořizovací cena je nízká nebo ICP-MS, který umožňuje detekovat více prvků. Další možností je AES a atomová emisní spektrometrie s mikrovlnně vázaným plazmatem (AES-MIP) [2].

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Chemikálie

- NaCl – PENTA s.r.o., Česká republika, 25% roztok
- toluen – Sigma-Aldrich, Německo
- HCl p.a. – ANALYTIKA spol s.r.o., Česká republika
- L-cystein – Sigma-Aldrich, Německo, 1% roztok
- HNO₃ – ANALYTIKA spol s.r.o., Česká republika, 1% roztok
- CRM-ERM-CE464 – Institute for Reference Materials and Measurements, Belgie
- CRM-ERM-BB422 – Institute for Reference Materials and Measurements, Belgie

2.2 Přístroje a pomůcky

- jednoúčelový atomový absorpční spektrometr AMA 254, Altec s.r.o., Praha ČR
- analytické váhy – KERN ABJ
- homogenizér – Ultra-turrax T18 basic, IKA, Německo
- třepačka – GFL 3006
- centrifuga – Rotofix 32 A, Hettich, Německo
- ultrazvuk – Ultrasonic Compact cleaner, PS03000A
- vortex – TTS2 yellowline, IMLAB
- horkovzdušná sušárna
- laboratorní pomůcky – kádinky, odměrné baňky, pipety, centrifugační zkumavky, dělicí nálevky

Laboratorní pomůcky (pipety, dělicí nálevky) byly před použitím promyty 1% roztokem HNO₃ kvůli možné kontaminaci.

2.3 Vzorky ryb

1. losos obecný (chov) – filet
 - mořská ryba
 - čerstvá, chlazená
 - země původu: Norsko
 - chov
2. žralok steak
 - mořská ryba
 - rozmražená
 - oblast lovu: FAO 67 – Tichý oceán

3. losos obecný (lov) – filet
 - mořská ryba
 - rozmražená
 - oblast lovu: FAO 21 – severozápadní Atlantik

4. pstruh duhový – filet
 - sladkovodní ryba
 - čerstvá, chlazená
 - původ: ČR/Itálie
 - chov

5. tuňák žlutoploutvý – filet
 - mořská ryba
 - čerstvá, chlazená
 - oblast lovu: FAO 51– Indický oceán

6. mořský vlk – filet
 - mořská ryba
 - čerstvá, chlazená
 - země původu: Chorvatsko/Řecko
 - chov

7. kapr obecný – filet
 - sladkovodní ryba
 - čerstvá, chlazená
 - země původu: neznámá
 - chov

8. pangas spodnooký –filet
 - sladkovodní ryba
 - čerstvá, chlazená
 - země původu: neznámá
 - chov

9. halibut – filet
 - mořská ryba
 - čerstvá, chlazená
 - oblast lovu: FAO 27 – severovýchodní Atlantik (vyjma Baltického moře)

10. candát obecný – filet
 - sladkovodní ryba
 - rozmražená
 - země původu: Rusko
 - chov

11. okoun nilský – filet
 - sladkovodní ryba
 - čerstvá, chlazená
 - země původu: Tanzanie
 - chov

12. treska tmavá – filet
 - mořská ryba
 - čerstvá, chlazená
 - oblast lovu: FAO 27 – severovýchodní Atlantik (vyjma Baltického moře)

2.4 Pracovní postupy

2.4.1 Certifikovaný referenční materiál

Pro určení výtěžnosti metody byly použity certifikované referenční materiály (CRM) z Institute for Reference Materials and Measurements, Belgie. (ERM-CE-464 a ERM-BB422). CRM s označením ERM-CE464 je lyofilizovaná svalovina tuňáka s obsahem celkové rtuti THg = 5,24 mg/kg a s obsahem methylrtuť 5,50 mg/kg. Byl použit pro metodu extrakce, která byla použita u reálných vzorků. CRM s označením ERM-BB422 je rybí svalovina s obsahem rtuti Hg = 0,601 mg/kg. Tento CRM byl použit pro kontrolu správnosti měření a pro ověření správné funkce přístroje AMA 254.

2.4.2 Příprava vzorků

Vzorky 1–12 reprezentují spotřební koš a byly zakoupeny v prodejní síti Ocean 48 a Rybárna Špilar-Oceán. Byla oddělena svalová tkáň od kůže, rozřezaná na menší kousky a následně pomocí ručního homogenizátoru zhomogenizována. K extrakci bylo použito 1 g zhomogenizované svalové tkáně. Vzorek byl vážen s přesností na dvě desetinná místa a každý vzorek byl změřen ve 3x ve 3 opakováních. Konkrétní navážky vzorků pro extrakci jsou uvedeny v Příloha 1.

2.4.3 Extrakce methylrtuti

Na extrakci methylrtuti z rybí svaloviny byla použita metoda extrakce publikovaná autory Kim et al. v [60]. Metoda je založená na hydrolyze vázané methylrtuti kyselinou chlorovodíkovou a na extrakci methylrtuti do toluenu. Do centrifugační zkumavky byl navážen 1 g homogenizovaného vzorku rybí svaloviny. Přidalo se 10 ml 25% roztoku NaCl, 4 ml HCl a 10 ml toluenu. Vzorek se 2 min potřepával pomocí vortexu a mechanické třepačky. Následně byly vzorky odstředěny v centrifuze po dobu 20 min a 3000 ot./min. Po odstředění byla odpipetována celá toluenová fáze do dělicí nálevky a bylo přidáno 5 ml 1% roztoku L-cysteinu. Vzorek se poté 10 min protřepával pomocí mechanické třepačky, následně byla oddělena spodní L-cysteinová fáze a byla proměřena pomocí AMA 254.

Tento postup byl optimalizován viz kapitola 3.4.

2.4.4 Příprava přístroje AMA 254

Před analýzou je vždy nutné zapnutí přístroje, otevření přívodu kyslíku a spuštění počítače s ovládacím programem. Přístroj je potřeba nechat zahřát na provozní teplotu. Přípravenost přístroje lze ověřit v ovládacím programu.

Další důležitý krok před analýzou je čištění přístroje od možných zbytků rtuti z předchozích měření. Čištění se provádí analýzou destilované vody. Na dávkovací lodičku se napipetuje 100 μ l vody a je spuštěna analýza v režimu 60s–120s–45s (sušení–rozklad–čekání). Naměřená absorbance musí být nižší než 0,005. V případě vyšší hodnoty je nutné proces čištění opakovat do dosažení požadované hodnoty. Čištění se provádí mezi měřením vzorků s vyšším rozdílem koncentrací, po 5 měřeních a také na konci měření před vypnutím přístroje.

U přístroje AMA 254 není nutné provádět kalibraci, protože kalibrace je součástí programového vybavení a je velmi stabilní. Kalibrace je platná i několik týdnů až měsíců a pro rutinní měření postačuje provést ověření kalibrace analýzou kontrolního standardu nebo v tomto případě analýzou certifikovaného referenčního materiálu.

Po spuštění a zahřátí přístroje bylo provedeno čištění. Před každým měřením byla ověřena správnost měření a fungování přístroje analýzou CRM. Poté byly analyzovány všechny zpracované vzorky. Bylo dávkováno 100 μ L v případě kapalného vzorku a ± 150 mg v případě pevného vzorku na vypálenou lodičku. Analýza kapalných vzorků probíhala v režimu 60s–120s–45s. U pevných vzorků byla doba rozkladu prodloužena a analýza probíhala v režimu 60s–150s–45s.

Tabulka 3: Technické parametry přístroje AMA 254

zdroj záření	nízkotlaká rtuťová výbojka
vlnová délka	253,65 nm
interferenční filtr	254 nm, pološířka 9 nm
detektor	křemíková UV dioda
nosný plyn, průtok	O ₂ , 200 ml/min

2.4.5 Validace stanovení rtuti na AMA 254

2.4.5.1 Mez detekce

LOD je nejmenší hodnota koncentrace analytu ve vzorku, která může být detekována. LOD je dle definice IUPAC vypočítána jako součet průměrného měření slepých pokusů a trojnásobku směrodatné odchylky slepého pokusu.

$$LOD = x_0 + t(n - 1, \alpha = 0,99) \cdot s \quad (2.1)$$

x_0 – průměrná hodnota slepého pokusu
 t – studentův koeficient
 $n-1$ – stupeň volnosti
 α – hladina významnosti
 s – směrodatná odchylka

2.4.5.2 Mez stanovitelnosti

Mez stanovitelnosti (LOQ) je nejnížší množství analytu ve vzorku, které lze s přesností stanovit. LOQ je dle definice IUPAC vypočítána jako součet průměrného měření slepých pokusů a desetinásobku směrodatné odchylky slepého pokusu.

$$LOQ = x_0 + t(n - 1, \alpha = 0,99) \cdot 3 \cdot s \quad (2.2)$$

x_0 – průměrná hodnota slepého pokusu
 t – studentův koeficient
 $n-1$ – stupeň volnosti
 α – hladina významnosti
 s – směrodatná odchylka

2.4.6 Stanovení koncentrace methylrtuti na AMA 254

Z publikace [62] byl použit vzorec pro výpočet methylrtuti viz rovnice (2.3). Do přístroje AMA 254 bylo dávkováno 100 μL extraktu a bylo zaznamenáno množství rtuti v [ng]. Množství rtuti bylo přepočteno na objem a vyjádřeno v [$\mu\text{g/L}$]. Tato koncentrace pak byla dosazena do vzorce (2.3).

$$MeHg \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{C \cdot 5 \cdot D}{w \cdot 1000} \quad (2.3)$$

C – koncentrace extraktu vyjádřená v [$\mu\text{g/L}$]
 5 – objem 1 % roztoku L-cysteinu
 D – ředící faktor v případě potřeby
 w – navážka vzorku v [g]

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Slepý pokus

Každé měření v oblasti stopové koncentrace podléhá rušivým vlivům. Mezi nejvýznamnější patří kontaminace prostředím, použitými chemikáliemi apod. Při měření pomocí AMA 254 se projevuje jako nenulový naměřený signál. Jeho variabilita je vyjádřena směrodatnou odchylkou a je podstatná pro určení meze detekce a stanovitelnosti.

Slepý pokus neboli tzv. blank byl změřen 8x. Blank pro metylrtuť obsahoval všechny chemikálie pro extrakci bez vzorku. Jeho průměrná hodnota byla odečtena od každého naměřeného množství rtuti a takto korigovaná hodnota byla přepočítána na koncentraci. Průměrná hodnota blanku pro metylrtuť byla $0,082 \pm 0,016$. Pro stanovení THg byla hodnota slepého pokusu a směrodatné odchylky převzata ze softwaru přístroje AMA 254, kde je zaznamenána hodnota slepého pokusu před každým použitím přístroje (analýza s prázdnou navažovací lodičkou).

3.2 Mez detekce a mez stanovitelnosti

Teoretická mez detekce (LOD) analyzátoru AMA 254 je 0,01 ng Hg. Reálně je LOD obvykle vyšší, přičemž hlavním zdrojem variability výsledku měření slepých pokusů je kontaminace.

Stanovené LOD a LOQ jsou shrnuty v tabulce 4.

Tabulka 4: Mez detekce a mez stanovitelnosti pro stanovení THg a MeHg

	slepý pokus (ng)	směrodatná odchylka	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
THg	0,0025	0,016	0,0007	0,002
MeHg	0,0819	0,0156	0,0064	0,0119

3.3 Stanovení celkové rtuti

Na certifikovaných materiálech byla ověřena správnost měření analýzou celkové rtuti. CRM byl navážen do spalovací lodičky a změřen. Množství bylo přepočítáno na [mg/kg] viz tabulka 5. Z výsledků je vidět, že zjištěný obsah rtuti souhlasí s deklarovaným obsahem rtuti v CRM s přihlédnutím k nejistotě. Přístroj AMA 254 fungoval správně.

Tabulka 5: Stanovení celkové rtuti v CRM

vzorek	deklarované množství THg v [mg/kg]	navážka [mg]	obsah THg v navážce [ng]	zjištěný obsah THg v [mg/kg]
ERM-CE464	5,24	13,05	66,5570	5,1
ERM-BB422	0,601	78,6	50,6308	0,64

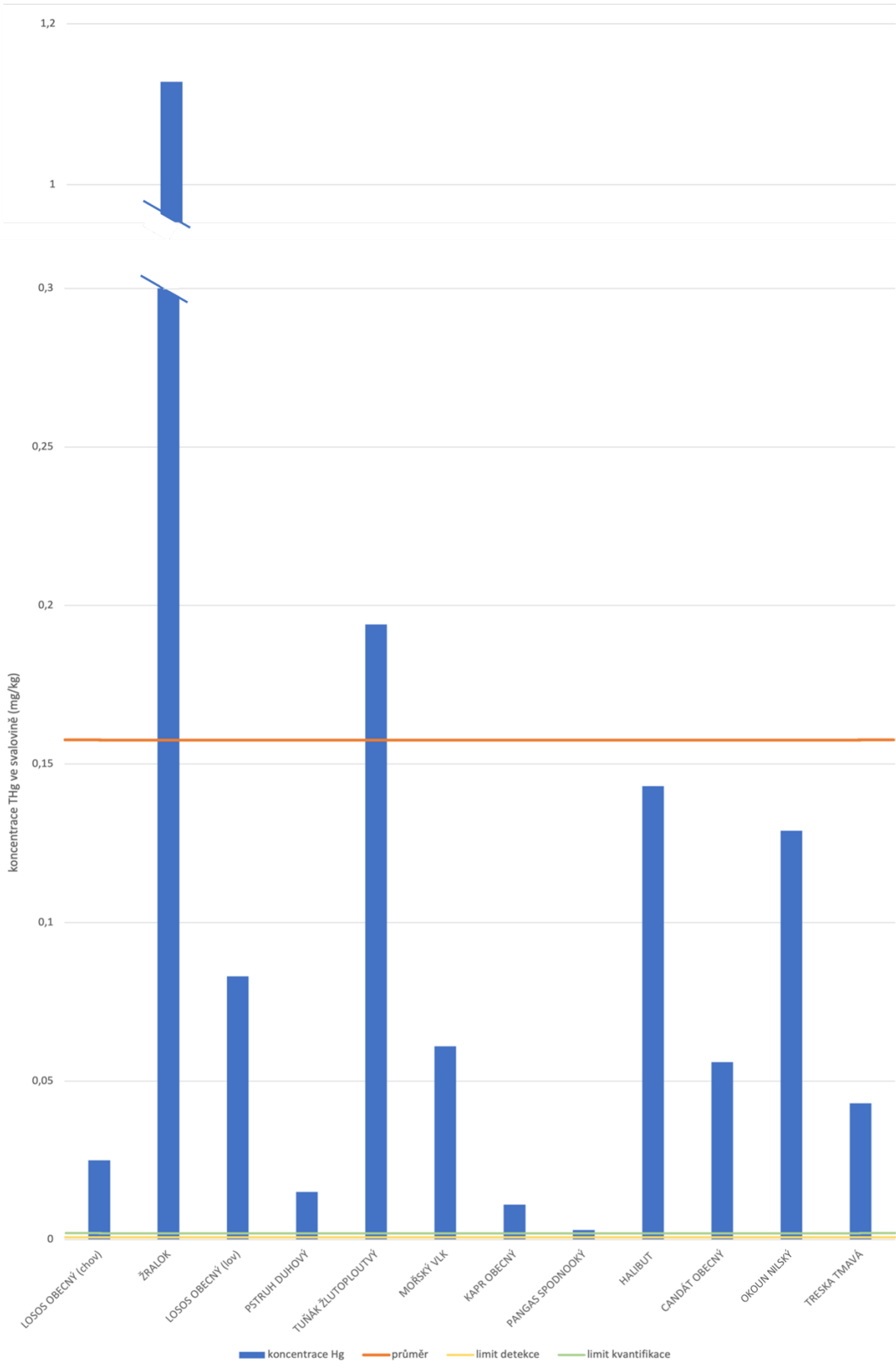
Pro stanovení celkového obsahu rtuti ve vybraných vzorcích bylo naváženo 120–180 mg homogenizované rybí svaloviny a vloženo na vypálenou lodičku. Konkrétní navážka vzorku byla uvedena v ovládacím programu přístroje a vzorek byl proměřen analyzátozem AMA 254 v režimu pro pevné vzorky 60s–150s–45s. Tabulka 6 uvádí naměřený obsah celkové rtuti ve zkoumaných vzorcích ryb a obsah THg v druhově stejných rybách zjištěný jinými autory v jiných publikacích.

Software WinAMA automaticky vyhodnotil naměřené hodnoty koncentrace v konkrétní navážce vzorku. Hodnoty byly z přístroje udány v jednotkách [ng] v navážce vzorku, následně byly přepočítány na mg/kg. Naměřené výsledky byly zpracovány pomocí Microsoft Excel 2019.

Tabulka 6: Stanovení celkové rtuti ve vybraných druzích ryb a obsah THg z literatury

	navážka [mg]	THg v navážce [ng]	THg [mg/kg]	THg z literatury [mg/kg]
losos obecný (chov)	138,4	3,460	0,025	0,001 – 0,079 ^[63]
žralok	167,2	188,582	1,128	0,032 – 2,5 ^[63]
losos obecný (lov)	145	12,092	0,083	0,028 – 0,032 ^[64]
pstruh duhový	157,2	2,355	0,015	0,023 – 0,084 ^[63]
tuňák žlutoploutvý	146,1	28,357	0,194	0,074 – 0,515 ^[63]
mořský vlk	168,6	10,255	0,061	0,03 – 0,259 ^[63]
kapr obecný	127,2	1,443	0,011	0,029 – 0,052 ^[63]
pangas spodnooký	134,5	0,381	0,003	0,002 – 0,56 ^[63]
halibut	154,1	21,974	0,143	0,05 – 0,52 ^[63]
candát obecný	140,8	7,938	0,056	0,152 ^[65]
okoun nilský	173	22,364	0,129	0,055 – 0,109 ^[63]
treska tmavá	175,9	7,529	0,043	0,027 – 0,25 ^[63]

Pro stanovení celkové rtuti byl vypočítán LOD=0,0007 mg/kg a LOQ=0,002 mg/kg (viz tabulka 5). Stanovená mez detekce a mez stanovitelnosti byly dostačující pro všechny vzorky. Naměřené koncentrace celkové rtuti ve vzorcích rybí svaloviny se pohybovaly v rozmezí 0,003 až 1,128 mg/kg. Dle platného nařízení ES 1881/2006 je pro produkty rybolovu povolen limit 0,5 mg/kg rtuti, s výjimkou pro mořské ryby, úhoře říčního a štiky obecné, které mají limit povolen do 1,0 mg/kg. Limit byl v tomto případě překročen pouze u vzorku žraloka, jehož hodnota 1,128 mg/kg překročila stanovený limit. Výsledné hodnoty jsou graficky znázorněny v obrázek 8.



Obrázek 8: Obsah THg ve vybraných druzích ryb

3.4 Optimalizace postupu extrakce methylrtuti

Postup extrakce byl ověřen na CRM ERM-CE464, který má deklarovaný obsah methylrtuti 5,50 mg/kg s tolerancí 0,17. Byl navážen 1 g CRM a byl proveden postup extrakce dle publikace [60]. Bylo získáno pouze 2,133 mg/kg MeHg. Extrakce byla proto optimalizována o krok reextrakce dle publikace [62] a byl zvýšen počet otáček při odstředování z 3000 ot./min na 3500 ot./min. Po odstředění bylo odpipetováno pouze 10 ml toluenové fáze do dělicí nálevky a provedla se reextrakce přidáním 10 ml toluenu k původnímu vzorku. Ten byl opět protřepán a následně znovu odstředěn 20 min při 3500 ot./min. Po druhém odstředění byla odpipetována celá toluenová fáze do dělicí nálevky a bylo přidáno 5 ml 1% roztoku L-cysteinu. Tímto postupem bylo získáno 4,666 mg/kg MeHg. Výtěžnost byla stále nižší než 90 %, proto byla vyzkoušena další reextrakce. Použití dvojnásobné reextrakce již nemělo efekt na zvýšení výtěžnosti, proto byla dále prováděna pouze jednou. Celkový obsah MeHg byl vypočítán dle rovnice (2.1).

Tabulka 7: Výtěžnost MeHg z CRM

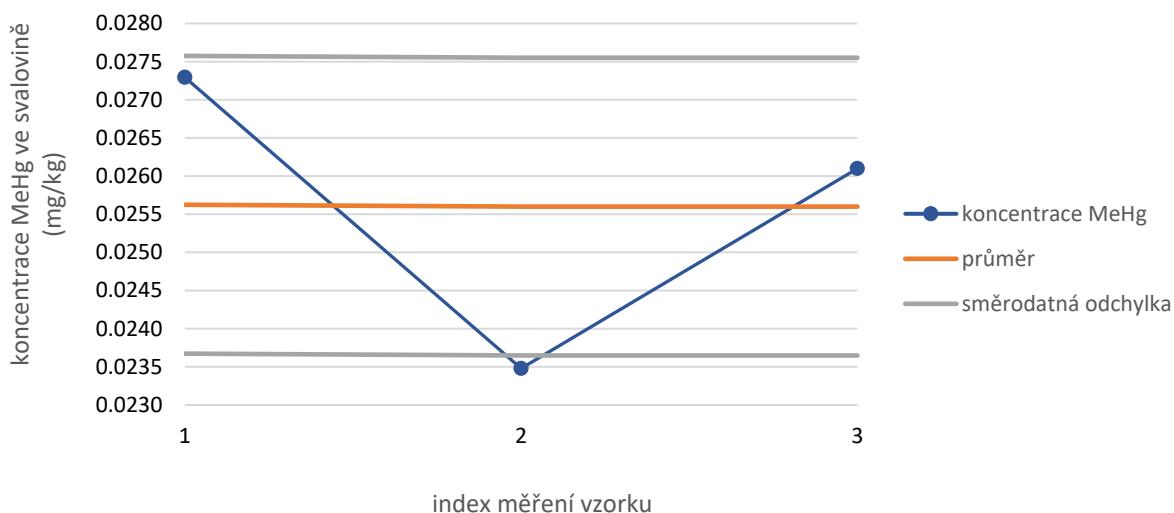
	obsah MeHg v 100 μ L	obsah MeHg [μ g/L]	obsah MeHg [mg/kg]	výtěžnost [%]
extrakce dle [60]	46,26 ng	426,6	2,133	38,78
optimalizovaná extrakce s reextrakcí dle[62]	93,33 ng	933,3	4,666	84,83
optimalizovaná extrakce s 2x reextrakcí	79,56 ng	795,6	3,978	72,32

Kim et al. [60] ve své práci dosahoval výtěžnosti až 97 %, v této práci byla maximální dosažená výtěžnost 85 %. Nízkou výtěžnost mohli ovlivnit vlastnosti vzorku. Mohl být i nedostatečný objem přidávaného L-cysteinu. V publikaci [62] bylo použito o 1 ml cysteinu více pro extrakci.

3.5 Stanovení methylrtuti

Pro stanovení obsahu methylrtuti byl vypočítán $LOD=0,0064$ mg/kg a $LOQ=0,0119$ mg/kg (viz tabulka 4). Mez detekce ani mez stanovitelnosti nebyly dostatečné pro stanovení koncentrace methylrtuti ve 3 vzorcích ryb; pstruh duhový, kapr obecný a pangas spodnooký. V těchto vzorcích nebylo možné MeHg detekovat ani kvantifikovat. Navážka pro toto stanovení činila 100 μ L cysteinové fáze a analýza probíhala v režimu pro kapalné vzorky 60s-120s-45s. Stanovení koncentrace methylrtuti ve vzorcích ryb jsou uvedeny v kapitolách 3.5.1 – 3.5.12.

3.5.1 Losos obecný (chov)

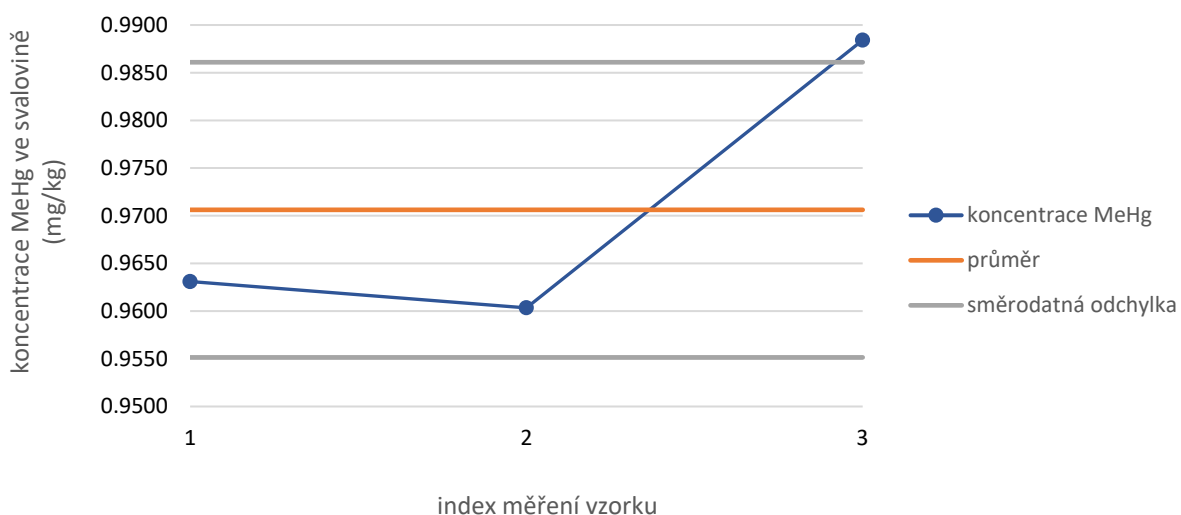


Obrázek 9: Obsah MeHg ve vzorku č. 1 – losos obecný (chov)

Losos obecný se řadí mezi sladkovodní ryby, kde se narodí, ale většinu života tráví v moři. Průměrná koncentrace MeHg lososa z chovu byla $0,025 \pm 0,0020$ mg/kg, která je dle očekávání nižší než u lososa divokého. Nižší hodnota může být způsobena kontrolovaným chovem. Losos konzumuje hmyz, korýše a menší ryby jako jsou sledi. Patří mezi ryby s vyšším obsahem tuku.

Obsah methylrtuti ve svalovině lososa pocházejícího z chovu v publikaci [66] byl v rozmezí 0,025–0,048 mg/kg, což souhlasí s naměřenou koncentrací methylrtuti ve vzorku lososa analyzovaném v této diplomové práci. Vzorky ryb v této publikaci pocházely z norského chovu stejně jako analyzovaný vzorek lososa v této diplomové práci.

3.5.2 Žralok



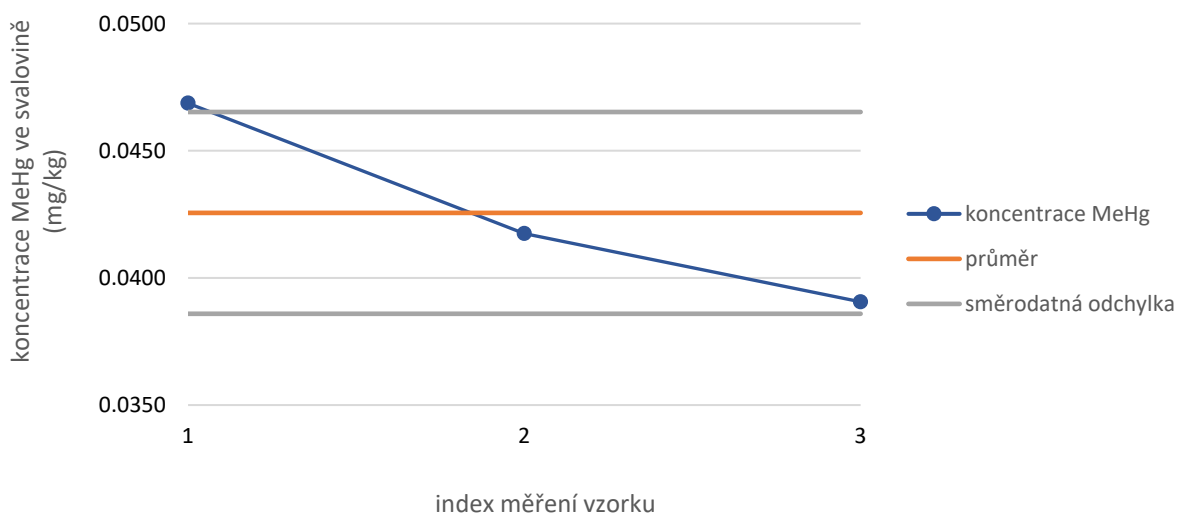
Obrázek 10: Obsah MeHg ve vzorku č. 2 – žralok

Průměrný obsah MeHg u vzorku žraloka byl nejvyšší ze všech analyzovaných vzorků, a to $0,9706 \pm 0,0155$ mg/kg. Žralok je na vrcholu potravního řetězce a jeho potravou jsou hlavně ryby, např. tuňáci, dále savci, mořské želvy i ptáci. Celkový obsah rtuti potvrzuje proces

biomagnifikace i bioakumulace, jelikož žralok se dožívá až 70 let. Konkrétní vzorek pochází z oblasti lovu FAO 67 – Tichý oceán.

Obsah methylrtuti ve svalovině žraloka udávaný v publikaci [67] se pohyboval v rozmezí 0,3–1,5 mg/kg. Vzorky analyzované v práci [67] pocházely z prodejní sítě v Kanadě. Obsah methylrtuti ve svalovině žraloka zjištěný v této diplomové práci je srovnatelný s výsledky publikovanými autory práce [67].

3.5.3 Losos obecný (lov)

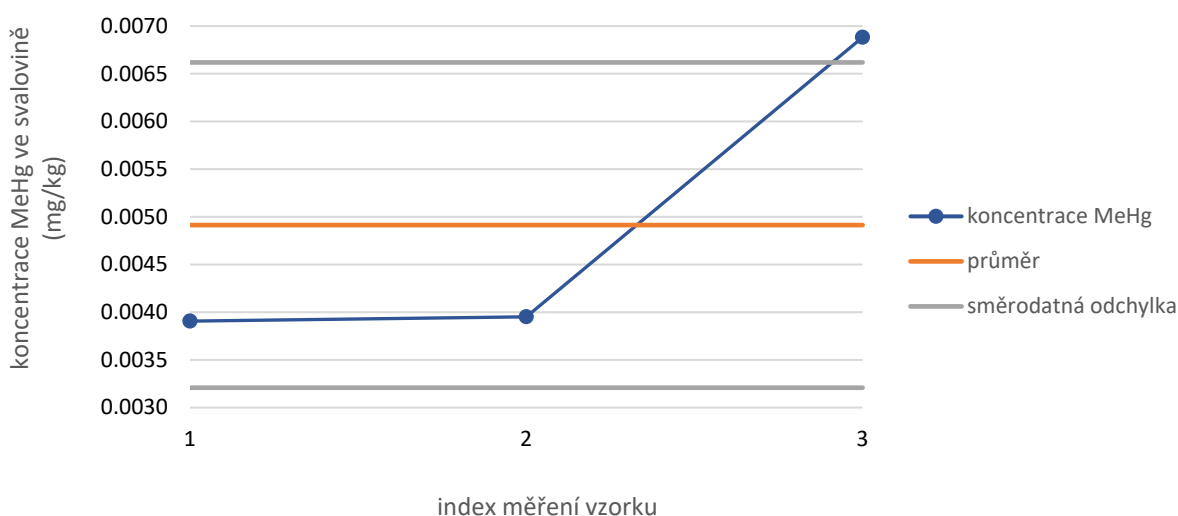


Obrázek 11: Obsah MeHg ve vzorku č. 3 – losos obecný (lov)

Losos obecný z lovu, konkrétně z oblasti FAO 21 – severozápadní Atlantik, byl zařazen do analýzy z důvodu porovnání obsahu THg a MeHg s lososem z chovu. Dle očekávání byla průměrná koncentrace MeHg $0,0426 \pm 0,0040$ mg/kg u losos z lovu vyšší než u lososa z chovu.

Obsah methylrtuti ve svalovině lososa publikovaný v pracích [66] a [68] se pohyboval v rozmezí 0,023–0,048 mg/kg. Naměřená koncentrace methylrtuti ve svalovině lososa odloveného z oceánu odpovídá danému rozmezí a je na horní hranici. Rozdíl v obsahu methylrtuti udávanému v literatuře a nalezenému v této diplomové práci může být způsoben tím, že vzorky pocházely z jiné oblasti.

3.5.4 Pstruh duhový

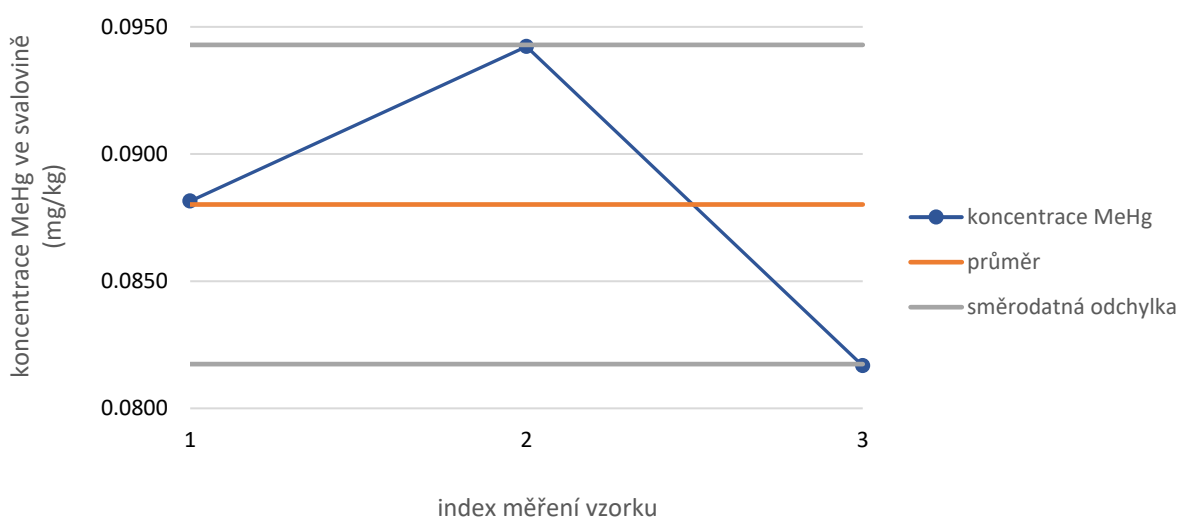


Obrázek 12: Obsah MeHg ve vzorku č. 4 – pstruh duhový

Průměrná koncentrace MeHg ve svalovině pstruha duhového byla $0,0049 \pm 0,0017$ mg/kg. Tato hodnota je nižší než mez detekce, proto jsou tyto výsledky pouze orientační. Pstruh duhový je malý dravec, který se v potravním řetězci řadí mezi malé ryby. Konzumuje vodní bezobratlé druhy, hmyz, větší druhy perlooček a menší ryby. Nízká koncentrace MeHg v této rybě může být způsobena i tím, že ryba pochází z kontrolovaného chovu.

Naměřená koncentrace methylrtuti v analyzovaném vzorku je v porovnání s naměřenou koncentrací v publikaci [69] výrazně nižší. Koncentrace methylrtuti uváděná v publikaci [69] se pohybovala v $0,029\text{--}0,072$ mg/kg.

3.5.5 Tuňák žlutoploutvý



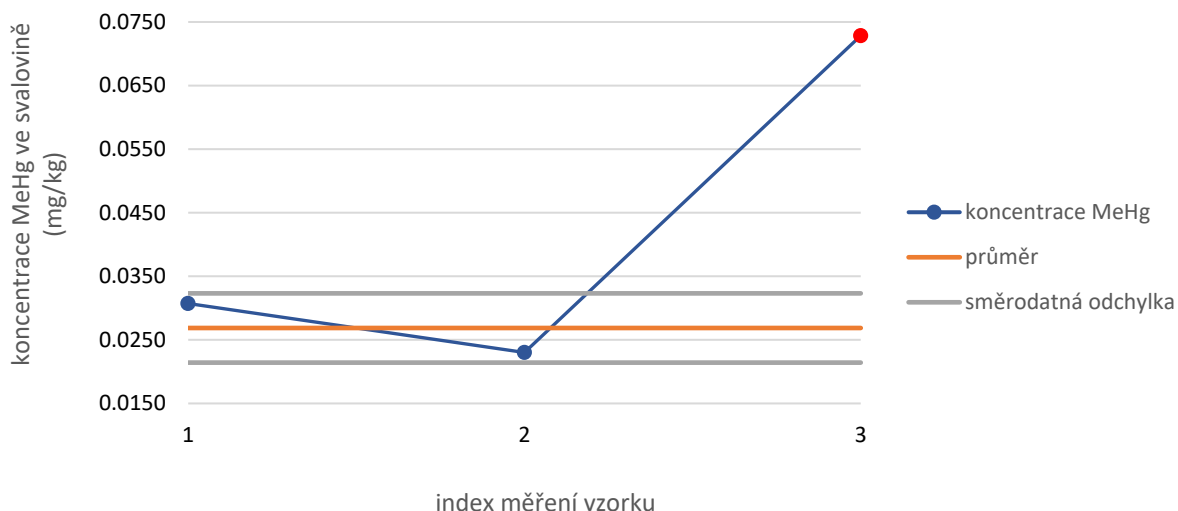
Obrázek 13: Obsah MeHg ve vzorku č. 5 – tuňák žlutoploutvý

Obsah MeHg v tuňákovi žlutoploutvém $0,0880 \pm 0,0063$ mg/kg byl druhý nejvyšší z analyzovaných vzorků. Tuňák dorůstá do délky až 3 m a váhy 60–70 kg. Patří mezi ryby s vyšším obsahem tuku a v potravním řetězci už se řadí mezi predátory lovcí v malých hejnech ryb. Konkrétní vzorek pochází z lovu v oblasti FAO 51– Indický oceán. I přesto, že tuňák má

vysoký obsah tuku, nepochází z chovu a je to velký dravec, je hodnota THg (0,194 mg/kg) poměrně nízká.

V porovnání s publikacemi [66] a [67], které udávají rozmezí 0,044–1,3 mg/kg methylrtuti, je naměřená koncentrace methylrtuti ve vzorku tuňáka zkoumaného v této diplomové práci průměrná a zapadá do udávaného rozsahu obsahu methylrtuti ve svalovině tuňáka.

3.5.6 Mořský vlk

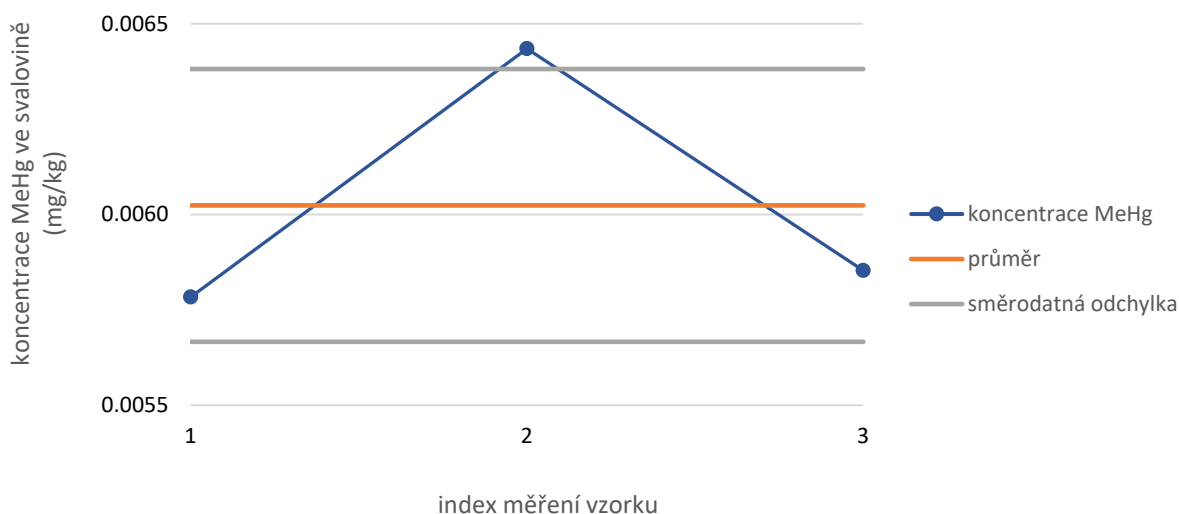


Obrázek 14: Obsah MeHg ve vzorku č. 6 – mořský vlk

U vzorku mořského vlka byl průměrný obsah MeHg $0,0269 \pm 0,0054$ mg/kg. Ze statistického vyhodnocení byla vyřazena třetí hodnota, v grafu červeně označená, která byla považována za odlehlou. Mořský vlk se živí menšími rybami, měkkýši a korýši, patří v potravním řetězci mezi malé dravce. Celkový obsah THg i MeHg je v analyzovaném vzorku nízký nejspíš i z důvodu, že ryba pochází z kontrolovaného chovu.

Obsah methylrtuti ve svalovině mořského vlka analyzovaného v této práci byl výrazně nižší, než uvádějí autoři v publikaci [70]. V této publikaci bylo analyzováno 27 vzorků mořského vlka odchycených v laguně Ortobello ve střední Itálii a byla naměřena koncentrace methylrtuti v rozmezí 0,341–1,53 mg/kg. Analyzovaný vzorek v této diplomové práci nepocházel z volného odchyty, ale pocházel z kontrolovaného chovu, což může vysvětlovat zjištěné rozdíly v koncentraci methylrtuti. Kontrolovaný chov probíhá na farmách za přísně sledovaných podmínek, zatímco pohyb a chování ryb na volném moři lze jen těžko sledovat a může docházet k intoxikaci ve větším měřítku.

3.5.7 Kapr obecný

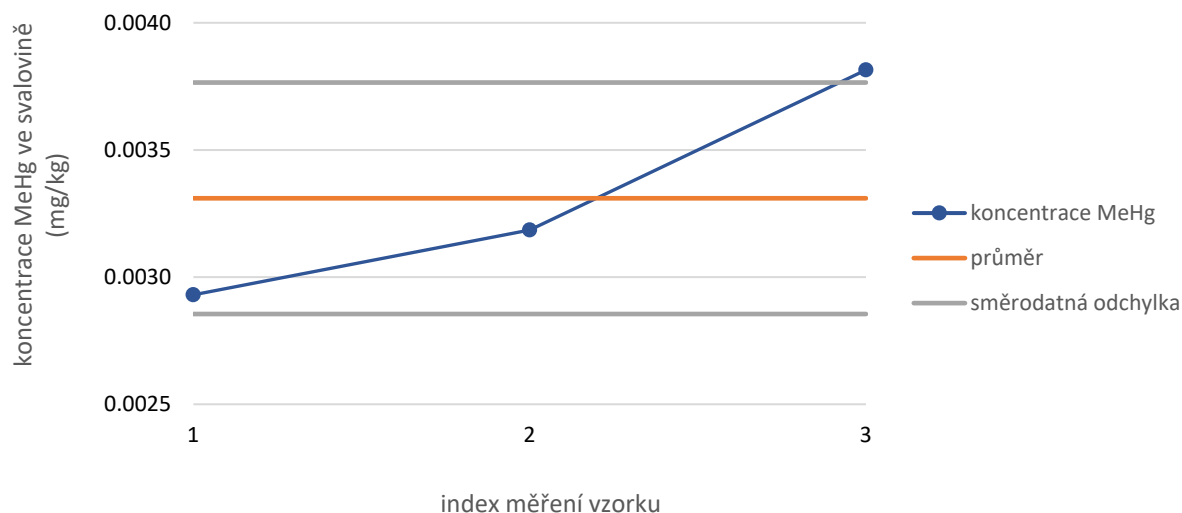


Obrázek 15: Obsah MeHg ve vzorku č. 7 – kapr obecný

Průměrný obsah MeHg u vzorku kapra ($0,0060 \pm 0,0004$ mg/kg) byl nižší než mez detekce, proto jsou tyto výsledky pouze orientační. Kapr patří stejně jako pstruh duhový v potravním řetězci mezi malé ryby. Kapr je všežravec, žíví se planktonem, bentickými organismy, vodními rostlinami. Nízká koncentrace rtuti i této ryby může být způsobena tím, že ryb pochází z kontrolovaného chovu.

V publikaci [66] a [69] je uváděna koncentrace methylrtuti ve svalovině kapra v rozmezí 0,008–0,106 mg/kg. V této diplomové práci nebylo možné u analyzovaného vzorku kapra množství methylrtuti přesně kvantifikovat, koncentrace methylrtuti jsou u kapra velmi nízké.

3.5.8 Pangas spodnooký

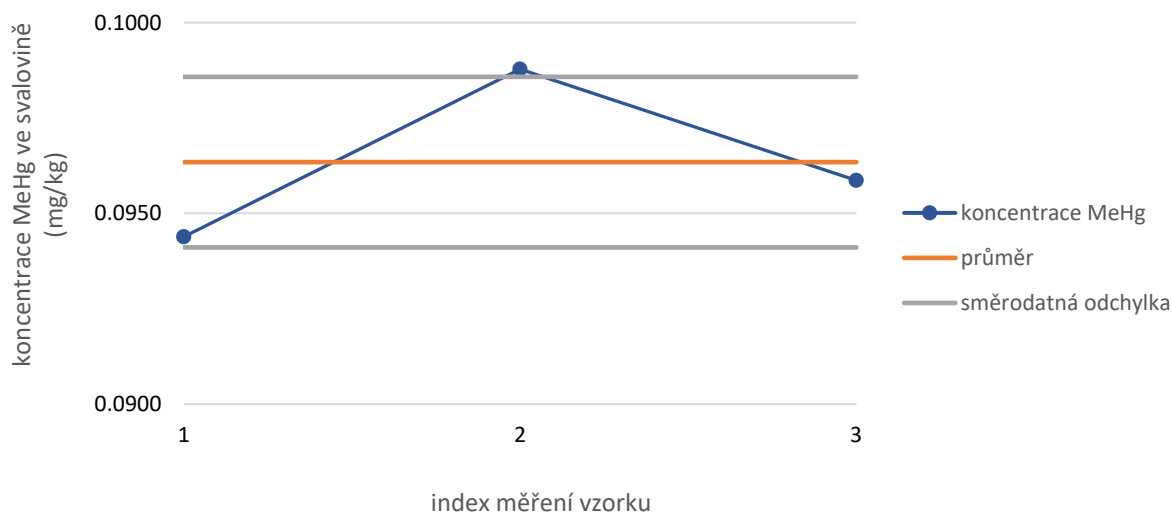


Obrázek 16: Obsah MeHg ve vzorku č. 8 – pangas spodnooký

Průměrná koncentrace MeHg u vzorku pangase spodnookého ($0,0033 \pm 0,0005$ mg/kg) je nižší než mez detekce, proto jsou tyto výsledky pouze orientační. Nízká koncentrace rtuti u této ryby může být způsobena tím, že ryba pochází z kontrolovaného chovu.

V publikaci [66] a [71] byla naměřena koncentrace methylrtuti ve svalovině pangase v rozmezí 0,004–0,016 mg/kg. V této diplomové práci byla koncentrace methylrtuti ve zkoumaném vzorku pangase velmi nízká, pod limitem detekce použité metody.

3.5.9 Halibut

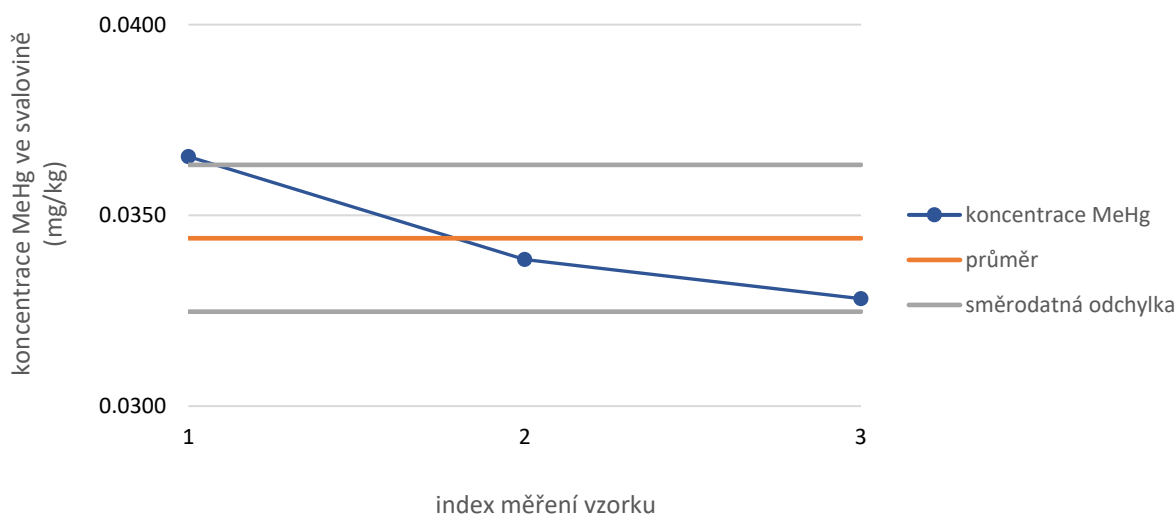


Obrázek 17: Obsah MeHg ve vzorku č. 9 – halibut

Ve svalovině halibuta byla zjištěna druhá nejvyšší koncentrace MeHg ($0,0963 \pm 0,0022$ mg/kg) a třetí nejvyšší koncentrace THg z analyzovaných vzorků. Tato dravá ryba se živí krevetami, olihněmi a malými rybami, v potravním řetězci se tak řadí už mezi střední ryby a vyšší hodnota MeHg i THg zde může být odrazem i původu, protože nepochází z kontrolovaného chovu. Ryba byla ulovena v oblasti FAO 27 severovýchodní Atlantik (vyjma Baltického moře).

Obsah methylrtuti ve svalovině halibuta udávaný v publikaci [69] a [71] se pohyboval v rozmezí 0,009–0,228 mg/kg. Naměřená koncentrace methylrtuti v analyzovaném vzorku halibuta v rámci této diplomové práce souhlasí s výsledky uváděnými v literatuře a pohybuje se někde ve středu udávaného rozmezí koncentrací, což může být způsobeno tím, že vzorek halibuta analyzovaného v této práci pocházel z jiné oblasti než vzorky analyzované v pracích [69] a [71].

3.5.10 Candát obecný

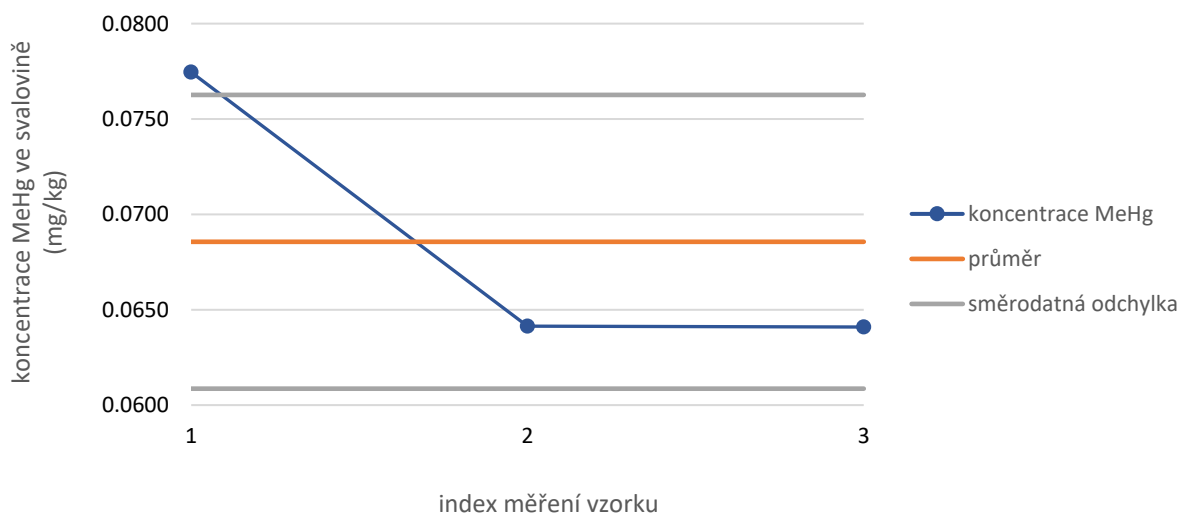


Obrázek 18: Obsah MeHg ve vzorku č. 10 – candát obecný

Průměrná koncentrace MeHg ve svalovině candáta obecného byla $0,0344 \pm 0,0019$ mg/kg. Candát v mládí konzumuje vodní bezobratlí, v dospělosti vyhledává menší ryby, kterých je i několik desítek za den. Obsah MeHg u candáta je vzhledem k ostatním analyzovaným vzorkům relativně nízký, ale tvoří 60,80 % celkového obsahu methylrtuti, což potvrzuje proces biomagnifikace.

Naměřená koncentrace methylrtuti ve svalovině candáta je ve srovnání s naměřenými koncentracemi methylrtuti v publikaci [69] poměrně nízká. V publikaci [69] se obsah methylrtuti pohyboval od 0,019 do 0,698 mg/kg. Nízká koncentrace methylrtuti ve vzorku analyzovaném v této diplomové práci mohla být způsobena věkem ryby, velikostí nebo i místem původu ryby.

3.5.11 Okoun nilský



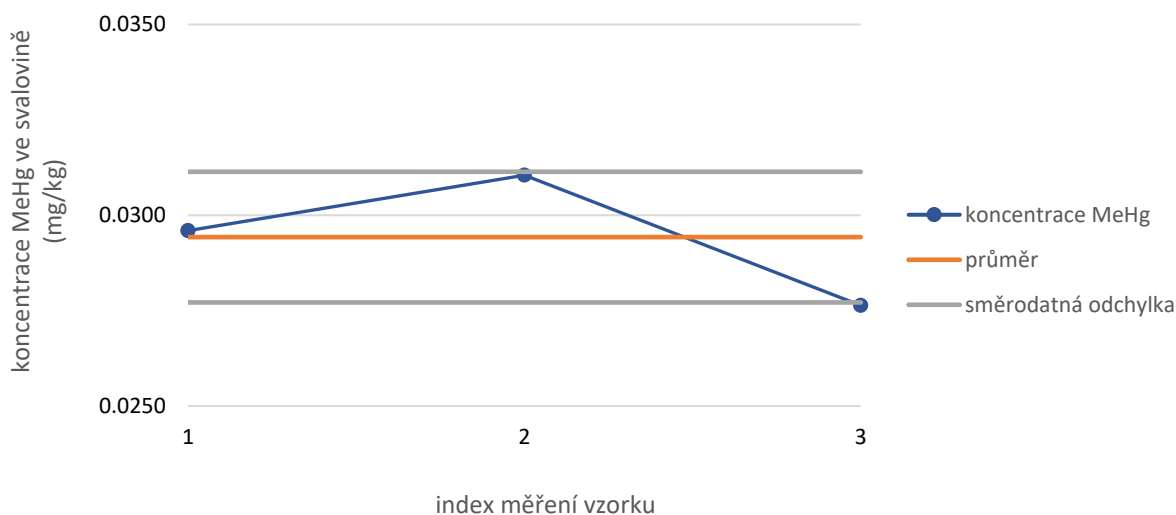
Obrázek 19: Obsah MeHg ve vzorku č. 11 – okoun nilský

Průměrná koncentrace MeHg $0,0686 \pm 0,0077$ mg/kg ve svalovině okouna nilského byla čtvrtá nejvyšší z analyzovaných vzorků a nejvyšší z ryb sladkovodních. Tento dravec

konzumuje stejně jako candát v mladším věku planktonní organismy, v dospělém věku drobné ryby. Okoun stejně jako candát patří mezi ryby s nízkým obsahem tuku, v dospělosti dorůstají stejných rozměrů a hodnoty okouna jsou dvojnásobné. Konkrétní vzorek ryby pocházel z kontrolovaného chovu.

Obsah methylrtuti ve svalovině okouna udávaný v publikaci [72] byl v rozmezí 0,022–0,124 mg/kg. Koncentrace methylrtuti ve svalovině okouna analyzované v této diplomové práci souhlasí s výsledky udávanými v literatuře a vzhledem k udávanému rozsahu koncentrace je spíše průměrná.

3.5.12 Treska tmavá



Obrázek 20: Obsah MeHg ve vzorku č. 12 – treska tmavá

Průměrná koncentrace MeHg ve svalovině tresky tmavé byla $0,0294 \pm 0,0017$ mg/kg. Treska tmavá konzumuje koryše a menší ryby. V potravním řetězci se řadí mezi malé ryby. Konkrétní vzorek tresky pochází z lovu z oblasti FAO 27 – severovýchodní Atlantik (vyjma Baltického moře). Celkový obsah rtuti byl srovnatelný např. s candátem nebo mořským vlkem, kteří pocházeli z chovu. Na rozdíl od těchto vzorků ale treska vykazovala vyšší obsah MeHg, která tvořila 68,77 % celkového obsahu THg.

V publikaci [69] byl naměřen obsah methylrtuti ve svalovině tresky v rozmezí 0,001–0,48 mg/kg. Koncentrace methylrtuti ve vzorku tresky analyzované v této diplomové práci je v porovnání s touto publikací [69] průměrná. Vzorek tresky analyzovaný v této práci pocházel z jiné oblasti než vzorky analyzované v práci [69].

3.6 Porovnání obsahu celkové rtuti a methylrtuti ve vybraných vzorcích

Tabulka 8 uvádí výsledky celkového obsahu rtuti a methylrtuti ve zkoumaných vzorcích. Zároveň je zde uveden procentuální obsah methylrtuti vzhledem k celkovému obsahu rtuti. Obsah methylrtuti se pohyboval v rozmezí 44 až 86 % z celkového obsahu rtuti. U lososa z chovu byla všechna detekovaná rtuť ve formě methylrtuti, naměřené koncentrace však byly poměrně nízké. Literatura obecně uvádí, že z celkového obsahu rtuti v rybách je 60 až 85 % ve formě methylrtuti, což koreluje s výsledky zjištěnými v této práci. V této práci byl analyzován pouze jedlý podíl (svalovina) ryb. Je pravděpodobné, že methylrtuť by byla obsažena také v nejedlém podílu ryb (orgány).

Tabulka 8: Obsah THg a MeHg a poměr obsahů MeHg k THg. RSD <10 %, n=3

vzorek	THg [mg/kg]	MeHg [mg/kg]	% MeHg
losos obecný (chov)	0,025	0,0256	100
žralok	1,128	0,9706	86,06
losos obecný (divoký)	0,083	0,0426	51,03
pstruh duhový	0,015	<LOD	
tuňák žlutoploutvý	0,194	0,0880	45,33
mořský vlk	0,061	0,0269	44,19
kapr obecný	0,011	<LOD	
pangas spodnooký	0,003	<LOD	
halibut	0,143	0,0963	67,54
candát obecný	0,056	0,0343	60,80
okoun nilský	0,129	0,0686	53,06
treska tmavá	0,043	0,0294	68,77
THg = koncentrace celkové rtuti, MeHg = koncentrace methylrtuti			

3.7 Zhodnocení rizik spojených s konzumací rybiho masa

3.7.1 Odhadovaný denní příjem (EDI)

Na základě rovnice (1.2) na str. 21 a naměřených hodnot byl vypočítán odhadovaný denní příjem pro vybrané druhy ryb.

EDI byl vypočítán pro optimální spotřebu ryb. Pokud bychom předpokládali, že jedna porce je 150 g a měli bychom konzumovat 2 až 3 porce týdně, roční konzumace by se pochybovala mezi 15,6 až 23,4 kg na osobu. Při výpočtu EDI bylo počítáno se spotřebou 375 g za týden (=53,6 g/den). Jako tělesná hmotnost byla opět zvolena hodnota 70 kg.

Vzhledem k tomu, že průměrná spotřeba ryb je v ČR velice podprůměrná, byl EDI vypočítán i pro průměrnou roční spotřebu v ČR, což je 5 kg na osobu, tj. 33 porcí (porce=150 g). Průměrný Čech tak konzumuje 150g porci ryby jednou za 10 dní, denní konzumace je 15 g. Tělesná hmotnost byla opět brána hodnota 70 kg.

Následující tabulka 9 ukazuje odhadovaný denní příjem rtuti pro vybrané druhy ryb a také odhadovaný týdenní příjem rtuti pro 70kg osobu pro optimální spotřebu a pro průměrnou spotřebu v ČR.

Tabulka 9: Výpočet EDI pro vybrané druhy ryb

	EDI pro optimální spotřebu		EDI pro spotřebu v ČR [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	
	denní příjem Hg [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	týdenní příjem Hg pro 70kg osobu [μg]	denní příjem Hg [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	týdenní příjem Hg pro 70kg osobu [μg]
losos obecný (chov)	0,019	9,38	0,005	2,625
žralok	0,864	423,226	0,242	118,44
losos obecný (lov)	0,064	31,142	0,018	8,715
pstruh duhový	0,011	5,628	0,003	1,575
tuňák žlutoploutvý	0,149	72,789	0,042	20,370
mořský vlk	0,047	22,887	0,013	6,405
kapr obecný	0,008	4,127	0,002	1,155
pangas spodnooký	0,002	1,126	0,001	0,315
halibut	0,109	53,654	0,031	15,015
candát obecný	0,043	21,011	0,012	5,880
okoun nilský	0,099	48,401	0,028	13,545
treska tmavá	0,033	16,134	0,009	4,515

Na základě doporučení ESFA je stanoven tolerovatelný týdenní limit příjmu rtuti na 1,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tělesné hmotnosti. V tomto případě by pro 70kg osobu byl tolerovatelný týdenní příjem rtuti 112 μg .

Tento limit by byl překročen pouze při konzumaci žraloka. Pokud by člověk konzumoval při optimální spotřebě 375 g/týden dané ryby, překročila by tolerovatelný limit téměř 4x. Limit by byl překročen při konzumaci tohoto masa i v ČR.

Při konzumaci ostatních druhů testovaných ryb nehrozí překročení tolerovatelného limitu ani při optimální spotřebě, ani při podprůměrné spotřebě v ČR.

3.7.2 Maximální množství ryb (MAF)

Na základě rovnice (1.3) na str. 21 a naměřených hodnot bylo spočítáno maximální množství ryby, které lze za týden zkonsumovat tak, aby nebyl překročen tolerovatelný týdenní příjem rtuti 1,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tělesné hmotnosti pro vybrané druhy ryb. MAF byl spočítán opět pro osobu o hmotnosti 70kg.

Tabulka 10: Výpočet MAF pro vybrané druhy ryb

	MAF za týden [g]
losos obecný (chov)	4 480
žralok	99,3
losos obecný (lov)	1 349,4
pstruh duhový	7 466,7
tuňák žlutoploutvý	577,3
mořský vlk	1 836,1
kapr obecný	10 181,8
pangas spodnooký	37 333,3
halibut	783,2
candát obecný	2 000
okoun nilský	868,2
treska tmavá	2 604,6

Pro všechny testované ryby je MAF dostatečný a při konzumaci 2–3 150g porcí za týden naprosto bezpečný. Riziko představuje konzumace žraloka, u kterého dojde k překročení tolerovatelného týdenního příjmu již při konzumaci 99g porce.

4 ZÁVĚR

V diplomové práci byl monitorován obsah celkové rtuti a methylrtuti v rybím masu a bylo zhodnoceno riziko spojené s konzumací tohoto masa. Reálné vzorky ryb reprezentovali spotřební koš a byly zakoupeny v prodejní síti Ocean 48 v Brně a Rybárna Špilar-Oceán v Plzni. Bylo vybráno 12 druhů ryb – losos obecný (chov), žralok, losos obecný (lov), pstruh duhový, tuňák žlutoploutvý, mořský vlk, kapr obecný, pangas spodnooký, halibut, candát obecný, okoun nilský a treska tmavá. Ke stanovení obsahu celkové rtuti a obsahu methylrtuti byl použit atomový absorpční spektrometr AMA 254.

Ke stanovení obsahu celkové rtuti byl dostatečný LOD i LOQ pro všechny vzorky. Výsledné koncentrace celkové rtuti se u vybraných druhů pohybovaly v rozmezí 0,003 až 1,128 mg/kg. Celkem 11 vzorků splnilo platné nařízení ES 1881/2006, které udává maximální limit kontaminujících látek v potravinách. V produktech rybolovu je povolen limit 0,5 mg/kg rtuti. Výjimku mají mořské ryby, štika obecná a úhoř říční, které mají limit povolen do 1,0 mg/kg. Tento limit nesplnil vzorek žraloka, který obsahoval 1,128 mg/kg celkové rtuti. Naměřené koncentrace rtuti odpovídají původu vzorku a postavení daného druhu v potravním řetězci.

K izolaci methylrtuti byla použita nově vyvinutá extrakční metoda založená na hydrolýze kyselinou chlorovodíkovou, extrakci do toluenu a zpětné extrakci do L-cysteinu. K ověření postupu extrakce byl použit certifikovaný referenční materiál ERM-CE464. Výtěžnost extrakce byla nejprve 39 %, po provedení reextrakce však bylo dosaženo 85% výtěžnosti.

Optimalizovaný postup extrakce umožnil analýzu obsahu methylrtuti na přístroji AMA 254. Pro 3 vzorky (pstruh duhový, kapr obecný a pangas spodnooký) nebyl dostačující LOD a LOQ. U zbývajících 8 vzorků se průměrné naměřené koncentrace pohybovaly v rozmezí 0,0256 až 0,9706 mg/kg methylrtuti. Procentuální zastoupení methylrtuti v celkovém obsahu rtuti se pohybovalo průměrně od 44,19 do 86,06 % a odpovídá postavení daného druhu v potravním řetězci.

Na základně naměřených hodnot a výpočtů dle WHO byl pro vybrané vzorky vypočítán odhadovaný denní příjem rtuti a maximální množství ryb, které lze za týden konzumovat, aby nebyl překročen doporučený tolerovatelný denní příjem rtuti dle EFSA. Vzhledem k podprůměrné roční spotřebě ryb v ČR nepředstavuje konzumace vybraných ryb pro české obyvatele žádné riziko. Tolerovatelný denní příjem rtuti by byl překročen pouze u konzumace konkrétního vzorku žraloka.

Konzumace ryb je, i přes možné riziko kontaminace rtutí, zdraví prospěšná. Rybí maso je zdrojem bílkovin, tuků, vitaminů A a D, a hlavně nenasycených mastných kyselin omega-3 (EPA a DHA), které snižují onemocnění kardiovaskulárního systému, podporují imunitní systém a udržují správnou funkci nervové soustavy a mozku. V ČR by se proto konzumace ryb měla zvýšit na doporučené 2–3 porce týdně. Toto množství by z hlediska možné expozice rtutí stále nemělo představovat větší riziko.

Výsledky této práce potvrzují, že častá konzumace dravých ryb by mohla představovat možné riziko spojené s expozicí rtuti, a proto lidé konzumující ryby 2–3x týdně, děti, těhotné a kojící ženy, by měli volit ryby méně dravé, případně konzumaci dravých ryb omezit.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] GREENWOOD, N. N. a Alan EARNSHAW. Chemie prvků. Praha: Informatorium, 1993. ISBN 80-85427-38-9.
- [2] HOUSEROVÁ, Pavlína, Karel JANÁK, Petr KUBÁŇ, Jana PAVLÍČKOVÁ a Vlastimil KUBÁŇ. Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech – vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení. Chemické Listy. 2006, 2006(100), 862-876.
- [3] Bezpečnostní list: Rtut'. In: Praha: PENTA, 2006. Dostupné také z: <https://chemistry.ujep.cz/userfiles/files/Rtut.pdf>
- [4] VELÍŠEK, Josef. Vodní toxikologie pro rybáře. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 2014. ISBN 978-80-87437-89-6.
- [5] MARNANE, Ian. *Mercury: a persistent threat to the environment and people's health*. European Environment Agency [online]. Copenhagen, 2018 [cit. 2021-1-21]. Dostupné z: <https://www.eea.europa.eu/articles/mercury-a-persistent-threat-to>
- [6] STREETS, David G., Hannah M. HOROWITZ, Daniel J. JACOB, Zifeng LU, Leonard LEVIN, Arnout F. H. TER SCHURE a Elsie M. SUNDERLAND. Total Mercury Released to the Environment by Human Activities. *Environmental Science & Technology*. 2017, 51(11), 5969-5977. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.7b00451
- [7] SELIN, Noelle E. Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annual Review of Environment and Resources*. 2009, 34(1), 43-63. ISSN 1543-5938. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.environ.051308.084314
- [8] SELIN, Henrik, Susan Egan KEANE, Shuxiao WANG, Noelle E. SELIN, Kenneth DAVIS a Dominique BALLY. Linking science and policy to support the implementation of the Minamata Convention on Mercury. *Ambio*. 2018, 47(2), 198-215. ISSN 0044-7447. Dostupné z: doi:10.1007/s13280-017-1003-x
- [9] UN Environment, 2017. Global mercury supply, trade and demand. United Nations Environment Programme, Chemicals and Health Branch. Geneva, Switzerland. Dostupné z: https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/21725/global_mercury.pdf?sequence=1&
- [10] UNEP, 2006, Summary of supply, trade and demand information for mercury, Analysis requested by UNEP Governing Council decision 23/9 IV, United Nations Environment Programme, Chemicals Branch, Geneva, Switzerland. Dostupné z: <http://mddconsortium.org/wp-content/uploads/2014/11/UN-HgSupplyTradeDemand-Final-Nov2006.pdf>
- [11] APPEL, Peter Wiltje Uitterdijk a Leoncio Degay NA-OY. Mercury-Free Gold Extraction Using Borax for Small-Scale Gold Miners. *Journal of Environmental Protection*. 2014, 05(06), 493-499. ISSN 2152-2197. Dostupné z: doi:10.4236/jep.2014.56052
- [12] Nařízení evropského parlamentu a rady (EU). In: *Úřední věstník Evropské unie*, 2017, 2017/852, 137/1. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0852&from=EN>

- [13] BHARTI, Ramesh, KulvinderKaur WADHWANI, AseemPrakash TIKKU a Anil CHANDRA. Dental amalgam: An update. *Journal of Conservative Dentistry*. 2010, 13(4). ISSN 0972-0707. Dostupné z: doi:10.4103/0972-0707.73380
- [14] ERÇİN, Özlem, Begüm BERKMEN, Elif DURUKAN a Neslihan ARHUN. Awareness About Dental Amalgam Among Turkish Dentists and Patients: A Questionnaire and Search Engine Based Cross-Sectional Study. *International Dental Journal*. 2021, 71(2), 113-121. ISSN 00206539. Dostupné z: doi:10.1111/idj.12610
- [15] PETRÁŠ, Marek. Thiomersal používaný ve vakcínách. *Správné očkování – veškeré informace o očkování a vakcínách, ale nejen o nich* [online]. 2008 [cit. 2021-6-20]. Dostupné z: https://www.vakciny.net/AKTUALITY/akt_2008_20.htm
- [16] Main global potential sources of mercury emissions. European environmental agency [online]. 2018 [cit. 2021-1-28]. Dostupné z: <https://www.eea.europa.eu/media/infographics/main-global-potential-sources-of/view>
- [17] KRABBENHOFT, D. P. a E. M. SUNDERLAND. Global Change and Mercury. *Science*. 2013, 341(6153), 1457-1458. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1242838
- [18] SCHUSTER, Paul F., Kevin M. SCHAEFER, George R. AIKEN, et al. Permafrost Stores a Globally Significant Amount of Mercury. *Geophysical Research Letters*. 2018, 45(3), 1463-1471. ISSN 0094-8276. Dostupné z: doi:10.1002/2017GL075571
- [19] Global mercury emissions to air in 2010, by region, by distinguishing between small-scale gold mining and other sources. *European environmental agency* [online]. 2013 [cit. 2021-2-1]. Dostupné z: https://www.eea.europa.eu/media/infographics/global-mercury-releases-to-air-1/image/image_view_fullscreen
- [20] Air pollutant emissions data viewer (Gothenburg Protocol, LRTAP Convention) 1990-2018. *European environmental agency* [online]. [cit. 2021-2-1]. Dostupné z: <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/dashboards/air-pollutant-emissions-data-viewer-3>
- [21] EEA member countries. *European environmental agency* [online]. [cit. 2021-1-2] Dostupné z: <https://www.eea.europa.eu/countries-and-regions>
- [22] UN Environment, 2019. Global Mercury Assessment 2018. UN Environment Programme, Chemicals and Health Branch Geneva, Switzerland. ISBN: 978-92-807-3744-8. Dostupné z: <https://www.unep.org/resources/publication/global-mercury-assessment-2018>
- [23] UNEP, 2013. Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport. UNEP Chemicals Branch, Geneva, Switzerland. 44pp. Dostupné z: <https://www.amap.no/documents/doc/global-mercury-assessment-2013-sources-emissions-releases-and-environmental-transport/847>
- [24] The global mercury cycle [online]. 2020 [cit. 2021-2-12] Dostupné z: <https://www.eea.europa.eu/media/infographics/the-global-mercury-cycle/view>
- [25] *Mercury in Europe's Environment: A priority for European and global action* [online]. 2018 [cit. 2021-2-15]. ISBN 978-92-9213-984-1. ISSN 1977-8449. Dostupné z: <https://www.eea.europa.eu/publications/mercury-in-europe-s-environment>
- [26] U. S. Department of health and human services: *Toxicological profile for mercury*, Agency for Substances and Disease Registry, 33–74, 380–396, 1999

- [27] HSU-KIM, Heileen, Katarzyna H. KUCHARZYK, Tong ZHANG a Marc A. DESHUSSES. Mechanisms Regulating Mercury Bioavailability for Methylating Microorganisms in the Aquatic Environment: A Critical Review. *Environmental Science & Technology*. 2013, 47(6), 2441-2456. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es304370g
- [28] TUHOVČÁKOVÁ, L. *Analýza alkylderiváty rtuti v biotických maticích*. Brno, 2008. 61s. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí diplomové práce Mgr. Helena Doležalová Weissmannová, Ph.D.
- [29] DOLEŽALOVÁ, J. *Stanovení alkylderivátů rtuti ve vodním ekosystému*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 73 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
- [30] LEOPOLD, Kerstin, Michael FOULKES a Paul J. WORSFOLD. Preconcentration techniques for the determination of mercury species in natural waters. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2009, 28(4), 426-435. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2009.02.004
- [31] *DEMOCOPHES Human biomonitoring on a European scale*. In: . Belgie: Health, food chain safety and environment, 2013, s. 28. Dostupné z: <http://www.euhbm.info/euresult/media-corner/press-kit>
- [32] MIKLAVČIČ, Ana, Darja MAZEJ, Radojko JAČIMOVIĆ, Tatjana DIZDAREVIŠ a Milena HORVAT. Mercury in food items from the Idrija Mercury Mine area. *Environmental Research*. 2013, 125, 61-68. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2013.02.008
- [33] Inorganic – Inorganic: The Other Mercury: Risher, John F, MS, PhD; Rosa, Christopher T De, MS, PhD. *Journal of Environmental Health; Denver Sv. 70, Čís. 4, (Nov 2007): 9-16; discussion 40*
- [34] Mercury's human uptake potential and relevant impacts. *Europeans environment agency* [online]. [cit. 2021-2-26] Dostupné z: <https://www.eea.europa.eu/media/infographics/mercuri-s-human-uptake-potential/view>
- [35] HONG, Young-Seoub, Yu-Mi KIM a Kyung-Eun LEE. Methylmercury Exposure and Health Effects. *Journal of Preventive Medicine & Public Health*. 2012, 45(6), 353-363. ISSN 1975-8375. Dostupné z: doi:10.3961/jpmph.2012.45.6.353
- [36] Tuček, M.: *Současná zdravotní rizika expozice rtuti a jejím sloučeninám*, 1.lékařská fakulta UK, Praha, 2006
- [37] Nastavení rozhodovacího limitu pro obsah rtuti v ledvinách potravinových zvířat (s výjimkou ryb) [online]. *Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv*. 2014 [cit. 2021-3-3] Dostupné z: http://www.uskvbl.cz/attachments/779_Stanovisko%20pro%20SVS%202014-srpen.pdf
- [38] YORIFUJI, Takashi, Toshihide TSUDA a Masazumi HARADA. *Minamata disease: a challenge for democracy and justice* [online]. 2013 [cit. 2021-3-5]. Dostupné také z: <https://www.eea.europa.eu/publications/late-lessons-2/late-lessons-chapters/late-lessons-ii-chapter-5/view>
- [39] *Minamata convention on mercury: text and annexes* [online]. United Nations Environment Programme, 2019 [cit. 2021-3-6]. Dostupné také z:

<https://www.mercuryconvention.org/Portals/11/documents/Booklets/COP3-version/Minamata-Convention-booklet-Sep2019-EN.pdf>

- [40] *Minamata convention on mercury* [online]. UN Environment Programme, 2021 [cit. 2021-3-6]. Dostupné také z: <https://www.mercuryconvention.org>
- [41] *Progress report 2020: Overview of the Minamata Convention on Mercury activities* [online]. UN Environment Programme. Geneva, Switzerland, 2021 [cit. 2021-3-7]. Dostupné také z: <https://mercuryconvention.org/Portals/11/documents/Minamata-Progress-report-2020.pdf>
- [42] *Situační a výhledová zpráva: Ryby*. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2019. ISBN 978-80-7434-537-1. ISSN 1211-7692.
- [43] ANDRT, Tomáš. EPA a DHA. *Celostní medicína* [online]. 2001–2021, 2011 [cit. 2021-6-12]. Dostupné z: <https://www.celostnimedicina.cz/epa-a-dha.htm>
- [44] *Situační a výhledová zpráva: Ryby*. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2020. ISBN 978-80-7434-582-1. ISSN 1211-7692.
- [45] HÁJKOVÁ, Eva. Jaké je nebezpečí rtuti, kde všude se s ní setkáme a jak testovat. *Institut funkční medicíny a výživy* [online]. 2018 [cit. 2021-6-13]. Dostupné z: <https://ifmv.cz/jake-je-nebezpeci-rtuti-kde-vsude-se-s-ni-setkame-a-jak-testovat/>
- [46] RUPRICH, J. a kol. *Nebojte se rtuti v rybách výrobcích na trhu v ČR* [online]. CZVP Brno, SZÚ Praha, 2020 [cit. 2021-6-14]. Dostupné také z: http://www.szu.cz/uploads/CZVP/Nebojte_se_rtuti_v3.pdf
- [47] URBAN., Pavel. Aktuální problémy neurotoxicity rtuti. *Neurologie v praxi* [online]. Praha: Centrum pracovního lékařství, SZÚ, 2006 [cit. 2021-6-15]. Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2006/05/05.pdf>
- [48] SEDLÁČKOVÁ, L., K KRUŽÍKOVÁ a Z. SVOBODOVÁ. Obsah celkové rtuti ve sladkovodních rybách volných vod ve vybraných evropských lokalitách. *Bulletin* [online]. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2021, 48(1) [cit. 2021-6-16]. Dostupné z: http://www.frov.jcu.cz/files/bulletin/2012/Buletin_1_2012.pdf
- [49] FERREIRA DA SILVA, Stephani a Marcelo DE OLIVEIRA LIMA. Mercury in fish marketed in the Amazon Triple Frontier and Health Risk Assessment. *Chemosphere*. 2020, 248. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.125989
- [50] PAŘÍKOVÁ, L. *Rtuť v odpadních vodách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 62 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Hana Dočekalová, CSc.
- [51] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-951-8.
- [52] HILL, Steve J. a Andy S. FISHER. Atomic Fluorescence, Methods and Instrumentation. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. Elsevier, 2017, 2017, s. 65-69. ISBN 9780128032244. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-803224-4.00371-X
- [53] Komárek, J.: *Atomová absorpční spektrometrie*, Masarykova Univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta, Brno 2000, ISBN 80–210–2500X
- [54] Pracovní návod pro obsluhu AMA 254, Altec s.r.o. (2002)

- [55] HOUSEROVÁ, Pavlína, David MATĚJÍČEK, Vlastimil KUBÁŇ, Jana PAVLÍČKOVÁ a Josef KOMÁREK. Stanovení chemických forem rtuti kapalinovou chromatografií s detekcí atomovou fluorescenční spektrometrií technikou generace studených par. *Chemické listy*. 2007(101), 495–503.
- [56] CORNELIS, Rita. *Handbook of elemental speciation II: species in the environment, food, medicine & occupational health*. Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, N.J.: J. Wiley, c2005. ISBN 9780470855980.
- [57] YU, Li-Ping a Xiu-Ping YAN. Factors affecting the stability of inorganic and methylmercury during sample storage. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2003, 22(4), 245-253. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/S0165-9936(03)00407-2
- [58] ŠPIČKA, Jiří, Lubomír SVOBODA a Dagmar JANOUŠKOVÁ. Stanovení CH₃Hg skupin v rybím mase metodou HPLC s UV detekcí. *Chemické listy*. 2003(97), 1024–1026.
- [59] HOUSEROVÁ, Pavlína, David MATĚJÍČEK a Vlastimil KUBÁŇ. High-performance liquid chromatographic/ion-trap mass spectrometric speciation of aquatic mercury as its pyrrolidinedithiocarbamate complexes. *Analytica Chimica Acta*. 2007, 596(2), 242-250. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2007.06.020
- [60] KIM, Tae-Hun, Min-Ja CHO, Yongmin LEE, et al. Methylmercury Determination in Fish by Direct Mercury Analyzer. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. 2020, 103(1), 244-249. ISSN 1060-3271. Dostupné z: doi:10.5740/jaoacint.18-0254
- [61] HALKO, Radoslav a Milan HUTTA. Špeciácia a stanovenie ortuti metódami vysokoúčinnejšej kvapalinovej chromatografie. *Chemické listy*. 2000(94), 292–298.
- [62] CALDERÓN, J., S. GONÇALVES, F. CORDEIRO a B. DE LA CALLE. Determination of methylmercury in seafood by elemental mercury analyzer. *JRC Technical report*. European commission, 2013.
- [63] DIVIŠ, Pavel. Stanovení obsahu celkové rtuti v rybách z obchodní sítě České republiky. *Maso*. 2016, 27(5), 52-55.
- [64] SENILA, Marin, Eniko COVACI, Oana CADAR, Michaela PONTA, Maria FRENTIU a Tiberiu FRENTIU. Mercury speciation in fish tissue by eco-scale thermal decomposition atomic absorption spectrometry: method validation and risk exposure to methylmercury. *Chemical Papers*. 2018, 72(2), 441-448. ISSN 2585-7290. Dostupné z: doi:10.1007/s11696-017-0296-3
- [65] GORBUNOV, Anatolij V., Boris V. ERMOLAEV, Sergey M. LYAPUNOV, Olga I. OKINA, Sergey S. PAVLOV a Marina V. FRONTASYEVA. Estimation of Mercury Intake from Consumption of Fish and Seafood in Russia. *Food and Nutrition Sciences*. 2016, 07(07), 516-523. ISSN 2157-944X. Dostupné z: doi:10.4236/fns.2016.77053
- [66] SENILA, Marin, Eniko COVACI, Oana CADAR, Michaela PONTA, Maria FRENTIU a Tiberiu FRENTIU. Mercury speciation in fish tissue by eco-scale thermal decomposition atomic absorption spectrometry: method validation and risk exposure to methylmercury. *Chemical Papers*. 2018, 72(2), 441-448. ISSN 2585-7290. Dostupné z: doi:10.1007/s11696-017-0296-3

- [67] FORSYTH *, Don S., V. CASEY, R. W. DABEKA a A. MCKENZIE. Methylmercury levels in predatory fish species marketed in Canada. *Food Additives and Contaminants*. 2004, **21**(9), 849-856. ISSN 0265-203X. Dostupné z: doi:10.1080/02652030400004259
- [68] ZHANG, Xiaoming, A SATHY NAIDU, John J KELLEY, Stephen C JEWETT, Doug DASHER a Lawrence K DUFFY. Baseline Concentrations of Total Mercury and Methylmercury in Salmon Returning Via the Bering Sea (1999–2000). *Marine Pollution Bulletin*. 2001, **42**(10), 993-997. ISSN 0025326X. Dostupné z: doi:10.1016/S0025-326X(01)00200-4
- [69] LACKNER, Julia, Michael WEISS, Christine MÜLLER-GRAF, Matthias GREINER, Yi HU a Lawrence K DUFFY. Disease burden of methylmercury in the German birth cohort 2014. *PLOS ONE*. 2018, **13**(1), 993-997. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0190409
- [70] MINIERO, R., E. BECCALONI, M. CARERE, et al. Mercury (Hg) and methyl mercury (MeHg) concentrations in fish from the coastal lagoon of Orbetello, central Italy. *Marine Pollution Bulletin*. 2013, **76**(1-2), 365-369. ISSN 0025326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2013.08.012
- [71] CHAN, Peggy Hiu Ying, Michael Ho Ming CHAN, Albert Martin LI, et al. Methylmercury levels in commonly consumed fish and methylmercury exposure of children and women of childbearing age in Hong Kong, a high fish consumption community. *Environmental Research*. 2018, **166**(1-2), 418-426. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2018.06.033
- [72] ARINAITWE, Kenneth, Arne KOCH, Anthony TAABU-MUNYAHU, et al. Spatial profiles of perfluoroalkyl substances and mercury in fish from northern Lake Victoria, East Africa. *Chemosphere*. 2020, **260**(1-2), 418-426. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.127536

SEZNAM OBRÁZKU

Obrázek 1: Globální emise rtuti do ovzduší v roce 2010	11
Obrázek 2: Emise rtuti v 33 členských zemí EEA	12
Obrázek 3: Emise rtuti v České republice	13
Obrázek 4: Globální cyklus rtuti	14
Obrázek 5: Přeměna sloučenin rtuti ve složkách vodního ekosystému.....	15
Obrázek 6: Bioakumulace rtuti ve vodním ekosystému.....	17
Obrázek 7: Blokové schéma analyzátoru AMA 254	23
Obrázek 8: Obsah THg ve vybraných druzích ryb	34
Obrázek 9: Obsah MeHg ve vzorku č. 1 – losos obecný (chov)	36
Obrázek 10: Obsah MeHg ve vzorku č. 2 – žralok	36
Obrázek 11: Obsah MeHg ve vzorku č. 3 – losos obecný (lov).....	37
Obrázek 12: Obsah MeHg ve vzorku č. 4 – pstruh duhový	38
Obrázek 13: Obsah MeHg ve vzorku č. 5 – tuňák žlutoploutvý	38
Obrázek 14: Obsah MeHg ve vzorku č. 6 – mořský vlk	39
Obrázek 15: Obsah MeHg ve vzorku č. 7 – kapr obecný.....	40
Obrázek 16: Obsah MeHg ve vzorku č. 8 – pangas spodnooký.....	40
Obrázek 17: Obsah MeHg ve vzorku č. 9 – halibut	41
Obrázek 18: Obsah MeHg ve vzorku č. 10 – candát obecný	42
Obrázek 19: Obsah MeHg ve vzorku č. 11 – okoun nilský.....	42
Obrázek 20: Obsah MeHg ve vzorku č. 12 – treska tmavá	43

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Vybrané vlastnosti elementární rtuti	8
Tabulka 2: Spotřeba ryb v ČR (údaje v kg/osoba/rok).....	20
Tabulka 3: Technické parametry přístroje AMA 254	30
Tabulka 4: Mez detekce a mez stanovitelnosti pro stanovení THg a MeHg.....	32
Tabulka 5: Stanovení celkové rtuti v CRM.....	32
Tabulka 6: Stanovení celkové rtuti ve vybraných druzích ryb a obsah THg z literatury	33
Tabulka 7: Výtěžnost MeHg z CRM.....	35
Tabulka 8: Obsah THg a MeHg a poměr obsahů MeHg k THg. RSD <10 %, n=3.....	44
Tabulka 9: Výpočet EDI pro vybrané druhy ryb.....	45
Tabulka 10: Výpočet MAF pro vybrané druhy ryb.....	46

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AAS	atomová absorpční spektrometrie
AES	atomová emisní spektrometrie
AES-MIP	atomová emisní spektrometrie s mikrovlnně vázaným plazmatem
AFS	atomová fluorescenční spektrometrie
ALA	kyselina alfa-linolenová
AMA 254	Advanced Mercury Analyzaser 254
CH ₃ -	methyl
C ₂ H ₅ -	ethyl
CH ₃ B ₁₂	methylkobalamin
CH ₃ HgCl	chlorid methylrtuti
C ₆ H ₅ -	fenyl
CNS	centrální nervová soustava
CO ₂	oxid uhličitý
CRM	certifikovaný referenční materiál
CV-AAS	atomová absorpční spektrometrie s technikou generace studených par
CV-AFS	atomová fluorescenční spektrometrie s technikou generace studených par
CZVP SZÚ	Centrum zdraví, výživy a potravin Státního zdravotního úřadu
ČR	Česká republika
ČSÚ	Český statistický úřad
DHA	kyselina dokosaheptaenová
EDI	estimated daily intake odhadovaný denní příjem
EEA	European environment agency Evropská agentura pro životní prostředí
EFSA	European food safety authority Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EPA	kyselina eikosapentaenová
ES	Evropské společenství
EU	Evropská unie
FAO	Food and agriculture organization Organizace pro výživu a zemědělství
GC	plynová chromatografie
GC-ECD	plynová chromatografie s detektorem elektronového záchytu
HCl	kyselina chlorovodíková

Hg ⁰	elementární rtuť
Hg ²⁺	rtuťnaté ionty
Hg ₂ ²⁺	rtuťné ionty
Hg ₂ Cl ₂	chlorid rtuťný (kalomel)
HgF ₂	fluorid rtuťnatý
HgS	sulfid rtuťnatý
HgX ₂	rtuťnatý halogenid (X=Cl, Br, I)
HNO ₃	kyselina dusičná
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
IUPAC	International union of pure and applied chemistry Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
LOD	limit detekce
LOQ	limit kvantifikace
MAF	maximum amount of fish maximální množství ryb
MeHg	methylrtuť
MZSO	Monitoring zdravotního stavu obyvatelstva
NaCl	chlorid sodný
PTFE	polytetrafluorethylen
SMPE	mikroextrakce na pevné fázi
THg	obsah celkové rtuti
UV	ultrafialová
WHO	World health organization Světová zdravotnická organizace

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Navážky a průměrná hodnota navážky vybraných vzorků.....	59
---	----

PŘÍLOHY

Příloha 1: Navážky a průměrná hodnota navážky vybraných vzorků

vzorek	navážka [g]	průměr [g]	vzorek	navážka [g]	průměr [g]
losos obecný (chov)	1,003	1,004	kapr obecný	1,004	1,006
	1,007			1,006	
	1,002			1,007	
žralok	1,006	1,006	pangas spodnooký	1,000	1,001
	1,008			1,004	
	1,004			1,000	
losos obecný (lov)	1,009	1,006	halibut	1,002	1,005
	1,007			1,009	
	1,002			1,005	
pstruh duhový	1,000	1,003	candát obecný	1,008	1,008
	1,000			1,006	
	1,008			1,009	
tuňák žlutoploutvý	1,003	1,002	okoun nilský	1,006	1,006
	1,000			1,009	
	1,004			1,002	
mořský vlk	1,008	1,007	treska tmavá	1,009	1,005
	1,007			1,000	
	1,005			1,005	