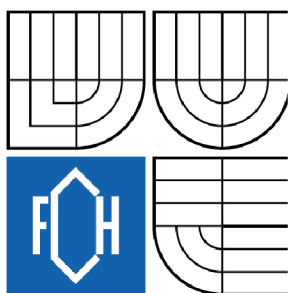


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VYBRANÉ MIKRONUTRIENTY A TĚŽKÉ KOVY V OVOCI

THE SELECTED MICRONUTRIENTS AND HEAVY METALS IN FRUITS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

KRISTÝNA FORMANOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Mgr. DANA VRÁNOVÁ, Ph.D.



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-DIP0688/2011** Akademický rok: **2011/2012**
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student(ka): **Bc. Kristýna Formanová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin (N2901)
Studijní obor: Potravinářská chemie (2901T010)
Vedoucí práce **Mgr. Dana Vránová, Ph.D.**
Konzultanti:

Název bakalářské práce:

Vybrané mikronutrienty a těžké kovy v ovoci

Zadání diplomové práce:

1. Vypracujte literární rešerši k dané problematice
2. Popište použité metody
3. Zpracujte naměřené výsledky z experimentů
4. Vyhodnoťte získané výsledky formou diskuse

Termín odevzdání diplomové práce: 11.5.2012

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Kristýna Formanová

Student(ka)

Mgr. Dana Vránová, Ph.D.

Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.

Ředitel ústavu

V Brně, dne 24.1.2012

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

V dnešní době je především kvalita potravin diskutovaným tématem nejen v ČR. V této práci jsme se zaměřily na mikronutrienty a těžké kovy v jahodách. Jahody jsou velmi atraktivním ovocem konzumovaným všemi věkovými skupinami od dětí až po seniory, kterým přináší nejen chuťové potěšení, ale i pozitivní účinky na jejich organismus. Měkká struktura plodů by mohla přispívat k akumulaci těžkých kovů, které v určitém množství mohou představovat nebezpečí z hlediska akutní toxicity či, co je pravděpodobnější, z hlediska chronického působení. V období jaro - podzim roku 2011 byly nasbírány vzorky jahod z domácího pěstování v ČR a zakoupeny vzorky plodů, které jsou běžně k dostání v obchodních řetězcích v tomto období. Analýza prvků byla provedena metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, která patří mezi velmi citlivé metody stanovení prvků.

ABSTRACT

Today is the food quality a discussed topic not only in the Czech Republic. In this work we focused on micronutrients and heavy metals in strawberries. Strawberries are very attractive fruit consumed by all age groups from children to seniors. These bring not only gustatory pleasure but also positive effects on human organism. Soft fruit structure could contribute to the accumulation of heavy metals, which can be dangerous in certain quantities in terms of acute toxicity or what is more likely in terms of chronic exposure. In the spring - autumn of 2011 samples from the home cultivation of strawberries in the Czech Republic were collected and also samples of fruits that are commonly available in supermarket chains in this period were purchased. The element analysis was performed by the mass spectrometry with inductively coupled plasma, which belongs to a very sensitive method of elements determination.

KLÍČOVÁ SLOVA

Těžké kovy; Životní prostředí; Esenciální minerální látky; Jahody; ICP- MS

KEYWORDS

Heavy metals; Environment; Essential minerals; Strawberries; ICP- MS

FORMANOVÁ, K. *Vybrané mikromutrienty a těžké kovy v ovoci*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. 72 s. Vedoucí diplomové práce Mgr. Dana Vránová, Ph.D.

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

Děkuji paní Mgr. Daně Vránové, Ph.D. za odborné poradenství, ochotu a pomoc při vypracovávání mé diplomové práce. A dále bych chtěla poděkovat Ing. Jaromírovi Pořízkovi za pomoc a odborné vedení v průběhu experimentální části této práce.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Těžké kovy	8
2.1.1	Znečištění životního prostředí těžkými kovy	8
2.1.2	Metabolismus kovů	11
2.2	Chelátotvorné látky	16
2.3	Minerální látky	17
2.3.1	Esenciální látky v potravinovém řetězci	18
2.3.2	Toxické kovy v potravinovém řetězci	25
2.4	Jahody	29
2.5	Instrumentální techniky prvkové analýzy	31
2.5.1	Atomová absorpční spektrometrie AAS	31
2.5.2	Atomová emisní spektrometrie AES	32
2.6	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS	33
2.6.1	Historie	33
2.6.2	Instrumentace	34
2.6.3	Spektrální a nespektrální interference	38
2.7	Mineralizace vzorku	40
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	42
3.1	Pomůcky	42
3.2	Chemikálie	42
3.3	Přístroje	42
3.4	Vzorky	42
3.5	Analýza	43
3.5.1	Příprava vzorků	43
3.5.2	Vlastní měření	44
3.5.3	Přepočítání naměřených dat	45
3.6	Výsledky a diskuse	45
3.6.1	Koncentrace esenciálních prvků v analyzovaných jahodách	47

3.6.2	Koncentrace toxických a možných toxických prvků v analyzovaných jahodách....	60
4	ZÁVĚR	65
5	POUŽITÁ LITERATURA	66
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	71
7	SEZNAM PŘÍLOH.....	72

1 ÚVOD

S dobou dochází k velkým pokrokům ve všech oblastech průmyslu. Tento rozvoj má pro společnost jistě velké přínosy, ale je s ním spojen i jeden hlavní negativní účinek a to znečišťování životního prostředí toxickými kovy. Hlavní zdroje kontaminace jsou např. spalování fosilních paliv, doprava, průmyslová výroba, použití jednotlivých prvků v průmyslu a v technice a s tím související produkce odpadů, nadměrné používání minerálních hnojiv. V rámci potravinového řetězce se tak kovy mohou dostat až k člověku, jako ke konzumentovi kontaminované potraviny, a ovlivnit tak jeho zdraví. Tyto látky mohou způsobit akutní či chronické potíže, z hlediska konzumace kontaminované potraviny připadá v úvahu převážně chronické působení, které je spojené s ukládáním kovů ve tkáních a orgánech a jejich následným poškozením. Proto obsah toxických prvků v potravinách patří mezi hlavní ukazatele zdravotní nezávadnosti a je regulován legislativou.

V této práci jsme se zaměřily na možnost akumulace těžkých kovů nebo toxických prvků z životního prostředí v drobném ovoci, konkrétně v jahodách, které se pro to zdají být vhodným prostředím z hlediska své měkké struktury. Dále nás zajímalo, zda se jahody zakoupené v obchodních řetězcích liší v obsahu esenciálních prvků a případně kontaminujících kovů v porovnání s jahodami vypěstovanými na vlastní zahrádce či jestli konzervace v plechovce má nebo nemá vliv na obsah kovů v plodech v porovnání s konzervací ve skle.

Jahody jsou atraktivní ovoce nejen díky své výborné chuti, ale i pozitivním účinkům, které svým konzumentům přináší. Mezi jejich hlavní účinky patří: zbavení střeva jedovatých látek, zmírnění zažívacích obtíží, posílení imunitního systému a látkové výměny, podpoření růstu buněk a krevtvorby, odvodnění organismu, snížení krevního tlaku, posílení kostí, vlasů a kůže. A to vše díky svému chemickému složení, obsahu vody, vitaminů, minerálů, jednoduchých cukrů a dalších nutričně významných látek

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Těžké kovy

Těžké kovy jsou definovány jako kovy, jejichž specifická hmotnost je větší než $5 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ nebo jejichž soli se srážejí sulfidem sodným za vzniku málo rozpustných sulfidů. [4] Jedná se o prvky: La, Ce, Pr, Zr, Hf, Th, V, Nb, Ta, Cr, Mo, W, U, Mn, Re, Fe, Co, Ni, Ru, Rh, Pd, Os, Ir, Pt, Cu, Ag, Au, Zn, Cd, Hg, Ga, In, Tl, Ge, Sn, Pb, As, Bi, Sb, Te. U teluru a arsenu lze hovořit o elementární formě. Za nejnebezpečnější se považují kadmium, rtuť a olovo. [3] Označení těžké kovy se někdy používá jako synonymum pro kovy toxické, což ale může vést k nesrovnalostem. Ne všechny těžké kovy jsou toxické a ne všechny toxické kovy jsou těžké. Např. železo a mangan patří mezi těžké kovy, ale nelze je řadit mezi toxické. Některé kovy jsou pro organismus nepostradatelné, nazývají se esenciálními, mají důležité biologické funkce a jsou běžně součástí biomasy organismů. Na druhé straně při překročení jejich doporučené denní dávky působí toxicky. Jedná se o Ca, Mg, K, Na, Mn, Fe, Cu, Zn, Co, Mo, Ni, Se. [4]

Výskyt a koncentrace těžkých kovů v životním prostředí má dopad na celý potravinový řetězec, na jehož konci stojí sám člověk, jehož zdraví je tímto ovlivněno ba někdy ohroženo [8], protože těžké kovy mají dlouhý poločas rozpadu, nejsou biologicky odbouratelné, a mohou se akumulovat v různých orgánech těla a vést k nežádoucím účinkům. [12] Více než dospělí jsou k těmto negativním účinkům náchylné děti, protože jejich imunitní a nervový systém se stále vyvíjí. [18] Průmyslem užívané kovy a procesy uvádějí velké množství potenciálně toxických kovů do atmosféry a do vodního a zemského prostředí. [11] Mezi těžké kovy, které se ve velké míře vyskytují v průmyslových oblastech, patří arzen, nikl, kadmium a zinek. [9] Kromě životního prostředí může být významným zdrojem kontaminace potravin kontakt dané potraviny s kovem během procesu výroby, skladování anebo kov může pocházet z obalu. [17]

2.1.1 Znečištění životního prostředí těžkými kovy

Těžké kovy mohou znečišťovat jak ovzduší, tak půdu i vodu. Stupeň znečištění ovzduší je posuzován podle celkového množství dispergovaných částic – aerosolů. Vzhledem k tomu, že atmosféra má značnou pohyblivost, tak dochází ke snadné disperzi a distribuci látek. Většina atmosférických dějů se uskutečňuje v troposféře (do výše 15 km), kde také dochází k rychlým změnám díky činnosti člověka. [3]

Transport látek v atmosféře lze rozdělit do tří kategorií:

- 1) Lokální transport – jedná se o okamžitou depozici danou směrem větrů, většinou se jedná o vzdálenost do 50 km
- 2) Regionální transport – pro sledování je nezbytná znalost předpovědi počasí a fotodegradačních procesů, vzdálenost je několik stovek km
- 3) Globální transport - sleduje se rovnováha mezi globálními zdroji a celým rezervoárem Země. Výjimkou je rtuť, která může být transportována na velké vzdálenosti bez chemických změn.

Zdrojem znečištění atmosféry jsou především spalovací procesy, což je globální problém. K lokálnímu znečištění dochází při těžbě, zpracování a využití těchto kovů. Nejvyšší koncentrace se nacházejí v blízkosti průmyslových a městských aglomerací. [3]

Kovy, které se nacházejí ve vodách ve stopovém množství, jsou přirozeného původu. Některé těžké kovy se mohou stát toxickými, pokud se ve vodě nacházejí v enormním množství a představují tak hrozbu pro ekosystém. [10] Hlavním zdrojem znečištění jsou odpadní vody,

jako výsledek průmyslové a zemědělské činnosti, dále pak atmosférické srážky znečištěné exhalacemi ze spalování fosilních paliv a výfukové plyny motorových vozidel. [3] Jednou z nevýhod je schopnost akumulace těchto kovů ve vodní biotě (fauna i flora vody), kde mohou působit toxicky, jako enzymové jedy vodní fauny. Obsah těžkých kovů v místních rybách a vodních živočiších významně souvisí s jejich koncentrací ve vodě a sedimentech. [18] V povrchových vodách je největší pozornost věnována především kovům v rybách, jakožto konečnému článku potravního řetězce, z hlediska ovlivnění hygienické kvality masa. Kovy se do organismu ryb dostávají potravou. Stupeň hromadění kovů v tkáních ryb je závislý na mnoha faktorech: např. koncentraci daného prvku v daném prostředí, fyzikálně – chemických vlastnostech vody, věku, druhu a hmotnosti ryb a na dalších. [3, 10] Např.: Měď je velice toxická pro sladkovodní a mořské bezobratlovce, ale voda s neutrálním pH má pro ně „ochranné“ schopnosti. Kadmium je méně toxické ve vodě mořské, kde dochází ke vzniku komplexů Cd s chloridy mořské vody, v tomto případě je pak koncentrace volného Cd nižší než ve vodě sladké. [10]

Nečistoty v půdě většinou mají dlouhodobý nebo trvalý charakter. Kontaminace půdy může být způsobena různými cestami:

- Městské průmyslové aerosoly vzniklé spalováním paliv, metalurgickými závody a ostatním průmyslem
- Tekuté a pevné odpady zvířat a lidí
- Odpady po těžbě
- Průmyslové a zemědělské chemikálie (např. pesticidy, hnojící směsi) [7, 11]

K největší kontaminaci dochází v blízkosti frekventovaných komunikací a záleží na mnoha faktorech: vzdálenost od vozovky, druhu vegetace a morfologii listů, délce expozice, hustotě provozu, stáří a rychlosti vozidel, typu půdy a kovů. [8] Půda je komplexní ekologický systém a její pH, organická hmota, obsah vody, obsah iontů, činnost kořenů rostlin i aktivita půdní mikroflóry mohou ovlivnit biotoxicitu těžkých kovů a později příjem a akumulaci rostlinami. [15] Z půdy se kovy mohou dostávat do rostlin dvěma způsoby: přijímáním kořeny nebo mimokořenovým příjmem, tzv. foliárně, absorpcí přes povrch listů prostřednictvím znečištěné atmosféry. Vstupními cestami jsou různá poranění, průduchy a trhliny. V porovnání se stonky a jedlými částmi rostlin akumulují listy větší množství kovů, především listy měkké s chloupky, které zvětšují plochu pro možnou absorpci. [3, 9, 11] Používáním odpadních vod pro zavlažování zemědělské půdy dochází ke změnám ve fyzikálně - chemických vlastnostech půdy, hlavní změnou je zvýšení množství organického uhlíku, což může ovlivnit i dostupnost těžkých kovů. Toto bylo potvrzeno i v některých studiích. [14] Skupina českých vědců se zabývala vzájemnými interakcemi některých kovů v houbách. Potvrdili, co již bylo známo, že ve vzorcích získaných z průmyslových oblastí se vyskytuje významně větší množství těžkých kovů než ve vzorcích z „čistých“ oblastí. Také zjistili, že obsah zinku ve vzorcích z průmyslových oblastí je v porovnání se vzorky „čistých“ míst nižší, tedy přítomnost Cd, Cu, Hg a Pb pravděpodobně negativně ovlivnila jeho akumulaci. Z toho můžeme vyvodit, že zinek (či jiný prvek) může být nahrazen některými těžkými kovy, pokud je rostoucí houba s nimi v neustálém kontaktu a existuje mezi prvky/kovy vzájemný vztah. [13]

Jak již bylo řečeno, těžké kovy, mohou vstupovat do potravního řetězce a následně ovlivnit či ohrozit lidské zdraví. Je proto nutné zabránit vstupu kovů do životního prostředí, což není zcela

možné. Hledají se tedy možné způsoby, jak množství těchto „nebezpečných“ kovů alespoň minimalizovat. Jedna z možností je zpracovávat odpadní vodu kontaminovanou kovy ještě dříve, než se uvolní do životního prostředí. Odstranění kovů z anorganických tekutých odpadů je možné dosáhnout za pomoci konvenčních procesů, jako je chemické srážení, flotace, adsorpce, iontová výměna a elektrochemické odstranění. Z nichž nejvíce používanou metodou je chemické srážení. Konvenční procesy ale mají významné nevýhody, proto je snaha o rozvoj a vývoj levnějších a efektivnějších technologií, které by snížily množství produkovaných odpadních vod a zlepšily kvalitu zpracovaného tekutého odpadu. Adsorpce přináší jednu z alternativních úprav a jsou pro ni hledány vhodné a levné adsorbenty. Tyto adsorbenty mohou být minerálního, organického nebo biologického původu (úprava přírodní hlíny modifikací polymerním materiálem, dojde tak k významnému zlepšení její kapacity pro odstranění těžkých kovů z vodného roztoku), zeolity, průmyslové vedlejší produkty (např. železářský kal, popílek hydratovaný oxid titaničitý), zemědělské odpady (např. skořápky ořechů, rýžové lusky, pekanové skořápky, kukuřičné klasy nebo obaly), biomasa a polymerní materiál. Tabulka 1 shrnuje výhody a nevýhody konvenčních a nově používaných metod. V nedávné době se zvýšilo užívání membránové separace pro odstranění anorganických tekutých odpadů. Podle velikosti částic, které mohou být zadrženy, existují různé typy: jako ultrafiltrace, nanofiltrace a reverzní osmóza. Další možností je elektrodialýza, fotokatalytický proces či novější možnost, fytořemediace. [19] Fytořemediace využívá schopnosti rostlin přijímat a akumulovat těžké kovy ve svých tkáních [15], což velmi souvisí s mnoha faktory, které se týkají jak půdy, tak i samotných rostlin. Rostliny používané k těmto účelům musí splňovat alespoň dvě základní podmínky: akumulovat těžké kovy a zároveň být odolné vůči dalším polutantům v půdě. To splňují např. kukuřice, pšenice, ječmen, slunečnice či konopí. [20] Další prováděné studie se zaměřují na zkoušku nových rostlin, které by bylo možné použít v budoucnosti, např. bavlnu, len, konopí [20], bažinaté rostliny (okřehek, vodní hyacint, vrba, orobinec širokolistý a rákos) [21, 22].

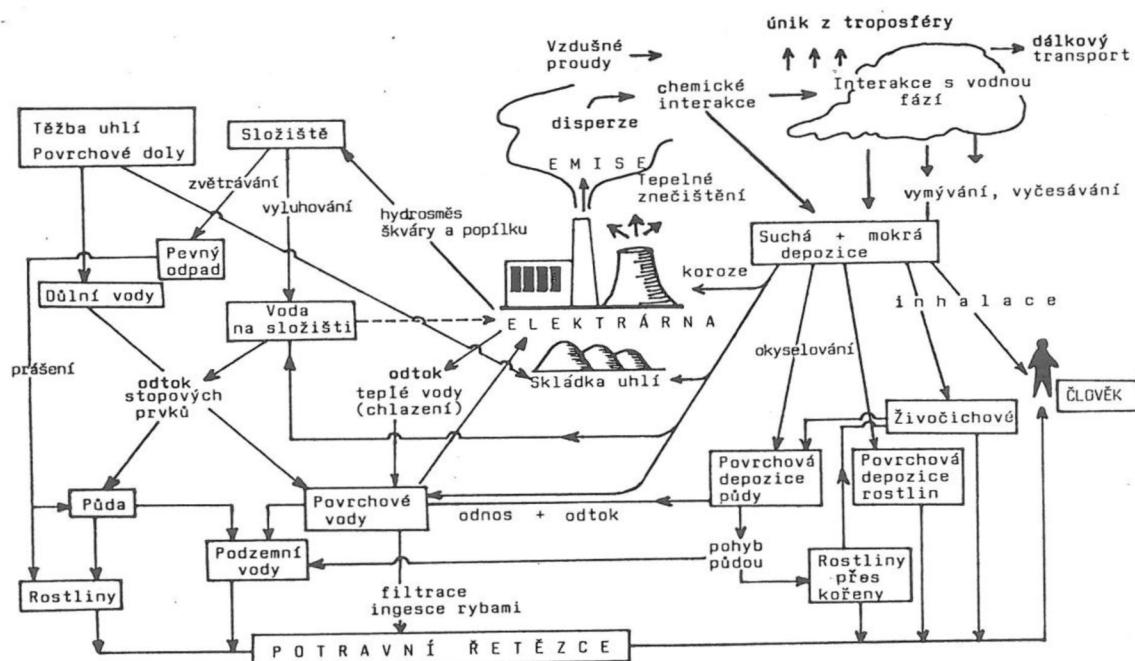
Polutanty těžkých kovů z půdy mohou do lidského těla vstupovat a způsobit zdravotní riziko dvěma způsoby:

- 1) Půda – potrava - lidské tělo = nepřímá expozice - Tato cesta expozice zahrnuje těžké kovy obsažené v rýži, pšenici, zelenině, ovoci a dalších potravinách, a měla by jí být věnována větší pozornost než expozici následující. [16]
- 2) Půda – lidské tělo = přímá expozice - Tento způsob expozice zahrnuje konzumaci (spolknutí) půdy, adsorpci kůží a expozici inhalací. Např. u čínských dětí je spolknutí či konzumace půdy hlavní cestou expozice těžkými kovy. [16]

Tab. 1: Hlavní výhody a nevýhody různých fyzikálně - chemických metod pro odstranění těžkých kovů z odpadních vod [19]

Metoda	Výhody	Nevýhody
Chemické srážení	Nízké investiční výdaje, jednoduchá operace.	Tvorba kalu, navíc výdaje pro čištění kalů.
Adsorpce s novými adsorbenty	Levné, jednoduché pracovní podmínky, možnost širokého rozpětí pH, vysoká kapacita vázání kovů.	Nízká selektivita, tvorba odpadních produktů.

Membránová filtrace	Malé prostorové vybavení, nízký tlak, vysoká separační selektivita.	Vysoce nákladné z důvodu znečištění membrány.
---------------------	---	---



Obr. 1: Schéma distribuce a pohybu stopových prvků v okolí klasické tepelné elektrárny [3]

2.1.2 Metabolismus kovů

Pokud dojde ke styku toxické látky a organismu dochází postupně k absorpci, distribuci a biotransformaci látky v organismu a následně je tato látka vylučována:

2.1.2.1 Absorpce

Kovy se mohou do organismu dostávat několika cestami, nejčastěji trávicím systémem, plicemi a kůží. Transport přes placentu je významný pro vývoj plodu. Sloučeniny kovů mohou být po průniku přes membrány v místě vstřebání zadržovány nebo mohou pronikat do krve. [2]

A. Trávicí systém – Nejčastěji se toxické látky dostávají do gastrointestinálního traktu prostřednictvím potravy. K absorpci může docházet v dutině ústní, žaludku, tenkém a tlustém střevě, ale i v konečníku. Mechanismus vstřebávání je často prostá difuze a závisí na mnoha faktorech:

- fyzikálně – chemické vlastnosti látky
- rozpustnost toxické látky
- pH prostředí
- velikost povrchu částic - např. As_2O_3 je toxicitější ve formě jemného prášku; kovová rtuť je per os netoxická
- ovlivnění intestinální permeability
- ovlivnění liposolubility – liposolubilita usnadňuje vstřebávání toxické látky
- ovlivnění motility střeva

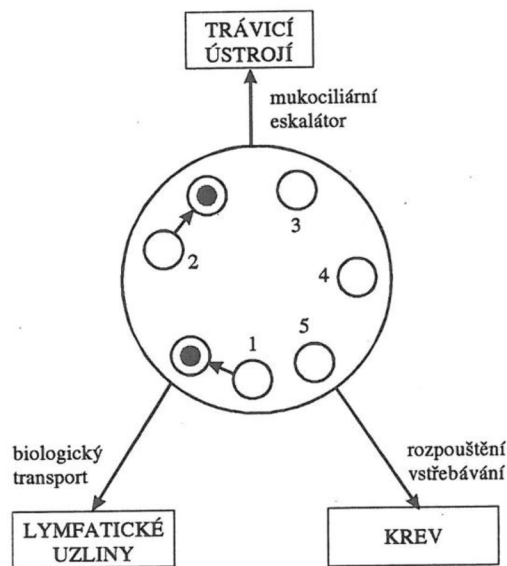
- ovlivnění rychlosti vyprazdňování žaludku
- interakce s jinou látkou – např. kadmium snižuje absorpci zinku a mědi, mléko zvyšuje absorpci olova
- věk
- biotransformace
- koncentrace toxické látky v krvi [1, 2]

B. Pľíce – Do dýchacího ústrojí mohou kovy vstupovat ve formě plynů, par nebo částic. Častá expozice nastává např. při otravách oxidem uhelnatým či při průmyslové výrobě.

Absorpce plynů – Toxická látka se velmi rychle dostává do krve, protože difuze přes buněčnou membránu probíhá snadno. Molekuly plynu se v krvi rozpustí a vytvoří rovnovážný stav. Rychlost absorpce závisí na rozpustnosti těchto plynů v krvi. Plyny s nízkou rozpustností se z alveol do krve dostanou jen v malém množství během každé cirkulace. Rychlost absorpce této látky může být zvýšena zvýšeným průtokem krve, kdy dochází k rychlejšímu odstraňování látky z alveol. Plyny s vysokou rozpustností jsou při každém respiračním cyklu přenášeny do krve ve velkém množství a k rovnovážnému stavu dochází za delší dobu (jedna hodina a déle). Následně je plyn rozpuštěný v krvi přenášen do tkáně, tento přenos opět končí rovnovážným stavem mezi krví a tkání. [1] Z kovů bylo nejvíce prostudováno vstřebávání par elementární rtuti. Nepochárné páry rtuti pronikají do krve snadno. Ostatní kovy se ve formě par vyskytují pouze za vysokých teplot. Údaje o pľicním vstřebávání olova a rtuti chybějí, ale předpokládá se, že vstřebávání je vysoké, asi z 80%. [2]

Absorpce pevných aerosolů – U absorpce pevných aerosolů je důležitá velikost vdechnutých částic. Částice o velikosti 5 μm a větší jsou ukládány v nasofaryngeální oblasti a odtud jsou odstraňovány kýchním či čistěním nosu. Rozpustné částice mohou být vstřebány nosním epitelem nebo rozpuštěny v mukóze a vedeny do faryngu. Menší částice, o velikosti 2 - 5 μm , se hlavně ukládají v tracheobronchiální oblasti pľic, odkud jsou odstraňovány do řasinkového epitelu. Tento transport se urychluje kašláním a kýchním. Nakonec mohou být takovéto částice spolknuty a vstřebány v GITu. Velmi malé částice, 1 μm a menší, prostupují do alveolárních váčků a mohou být přenášeny do krve i do lymfatických cest. [1] Schematické znázornění distribuce v pľicích a z pľic, viz obr. 2.

Absorpce tekutých aerosolů – Tekuté aerosoly zahrnují částice menší než 1 μm , které se mohou vstřebávat v alveolách. Předpokládají se tři možné mechanismy: fyzikální proces (transport částic z alveol do úst a následně spolknutí), fagocytóza makrofágy (fagocytované částice opět mohou být spolknuty), vstup do lymfatických kapilár. [1]



Obr. 2: Mechanismy plicní clearance [2]

1. Fagocytóza a přesun do lymfatické uzliny
2. Fagocytóza a přesun do trávicího ústrojí
3. Přímý přesun do trávicího ústrojí
4. Rozpouštění a vstřebávání do krve
5. Částice zůstává deponovaná na místě v plicích, nejvíce je fagocytována bazálními buňkami epitelu

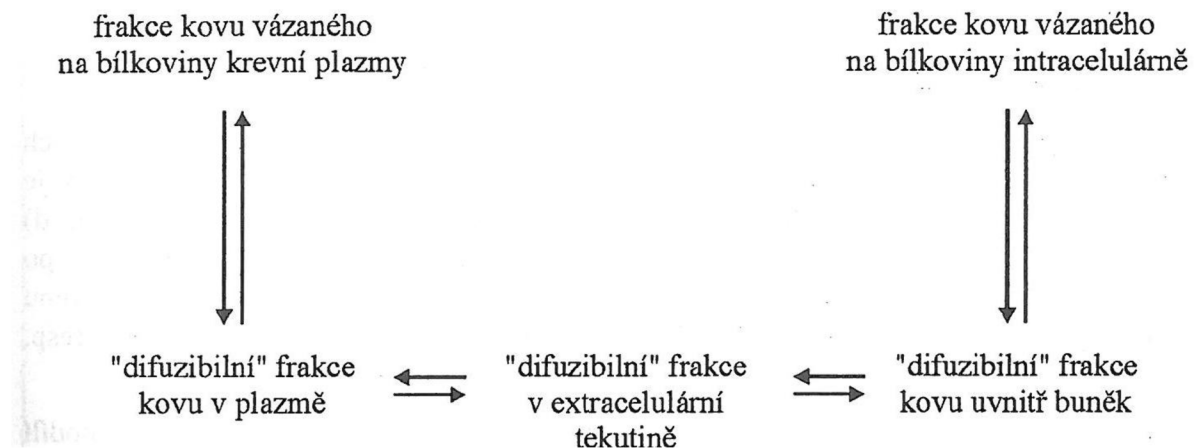
C. Kůže – I když je kůže dobrou bariérou, mohou přes ni do organismu pronikat některé chemické látky (např. nervové plyny, tetrachlormetan, některé insekticidy). Látka musí projít přes pokožku a škáru. Odstranění nebo poškození (chemikáliemi, popáleninami, kožním onemocněním) povrchové vrstvy (*stratum corneum*) může vysoce zvýšit prostup toxických látek do organismu.

V první fázi prochází chemické látky přes *stratum corneum* pasivní difuzí. Polární látky procházejí přes jeho bílkovinný povrch, nepolární látky se v něm rozpouštějí. Druhá fáze je též založena na difuzi, tentokrát přes nižší vrstvy pokožky a přes škáru. Následně látky vstupují do krevního a lymfatického oběhu. [1]

D. Placenta – Prostup toxické látky přes placentu hraje velkou roli při vývoji embrya. Většina toxických látek přechází přes placentu prostou difuzí, jejíž rychlost závisí na liposolibilitě dané látky (např. mozek koncentruje olovo). [1] Průnik a zachycení kovu placentou mohou ovlivnit rozdíly ve struktuře placenty a implantaci plodu, stadium těhotenství a chemická forma kovu v mateřské krvi. U experimentálních zvířat i u lidí byl prokázán velmi malý průnik kadmia placentou, jeho koncentrace v játrech matky byla tisíckrát vyšší než v játrech plodu. Placentární bariéra brání průniku rtuťnatého iontu více než průniku elementární rtuti. Alkylsloucheniny rtuti pronikají placentou lépe. [2]

2.1.2.2 Distribuce

Rozdělení toxické látky do jednotlivých buněk, tkání a orgánů je komplexní děj, který závisí na prokrvení tkáně a na rychlosti přestupu toxické látky z kapilárního řečiště do tkáňových tekutin a z tkáňových tekutin do buněk tkání (viz obr. 3). Přestup toxických látek je především pasivní difuzí nebo speciálním transportem. Důležitým faktorem je vazba toxické látky v některých orgánech či tkáních, kde se koncentrují a následně tyto tkáně či orgány slouží jako depa. Velice důležitá je ireverzibilní vazba na plazmatické a specifické bílkoviny v orgánech. Z plazmatických bílkovin je to především albumin (jedno nebo více vazebných míst, může sloužit jako depotní nebo transportní bílkovina), transferin a ceruloplasmin (vazba kovů), alfa a beta - lipoproteiny (vazba vitaminů rozpustných v tucích, cholesterolu, xenobiotik a steroidních hormonů), gama - globulin (vazba antigenu). Navázáním látky na bílkovinu nedochází k přestupu přes stěnu kapilár, transportu do extracelulárního prostoru a vylučování ledvinami. Nejvíce toxických látek se koncentruje v játrech a ledvinách. Vychytávání v játrech je velice rychlé. Kadmium, zinek a olovo se v játrech i ledvinách váží na bílkovinu metalothionein. V tukové tkáni se koncentrují lipofilní toxické látky. Dalším orgánem, kde může docházet přímo k inkorporaci prvků do tkáně, je kost (např. fluor, olovo, stroncium). Nemusí zde působit přímo toxicky (např. olovo), ale mohou navodit osteosarkom. [1] Distribuce do mozku je omezena hematoencefalickou bariérou a závisí na liposolubilitě a chemické formě toxické látky a na věku. Kadmium proniká do mozku jen obtížně. Olovo do mozku proniká, ale nijak se zde významně nehromadí. Mnohem rychleji do mozku pronikají nepolární organické sloučeniny než sloučeniny anorganické. [2]



Obr. 3: Schéma transportu kovu mezi plazmou a tkáněmi [2]

2.1.2.3 Biotransformace

Živočišný organismus má schopnost tzv. biotransformací enzymaticky konvertovat lipofilní látky na hydrofilní metabolity, které jsou z organismu vylučovány, kdežto lipofilní sloučeniny mají tendenci z exkrečních tekutin difundovat a neabsorbovat. Nejdůležitější je biotransformace v játrech, plicích, ledvinách, kůži a GI mukóze. V játrech mají tuto schopnost všechny buňky (hepatocyty), v ostatních orgánech pouze jeden či dva typy buněk. Enzymy, jež se podílejí na biotransformaci, jsou lokalizovány v endoplazmatickém retikulu. Mikrosomální enzymy katalyzují reakce v I. fázi, kde probíhají především reakce oxidativní. Cytosolové enzymy

katalyzují reakce II. fáze, kde se uplatňují konjugační a syntetické reakce. Výsledný konjugát má zvýšenou rozpustnost ve vodě a schopnost ionizace při fyziologickém pH. Obě fáze se též nazývají detoxikací, protože usnadňují eliminaci cizích látek z organismu. [1]

2.1.2.4 Exkrece

Hlavními vylučovacími cestami kovů z organismu jsou moč a stolice. Na vylučování se mohou účastnit i další vylučovací cesty, jako jsou plíce, pot, slzy, kůže, vlasy, nehty a mateřské mléko. [2]

- A. Ledviny - Mechanismus vylučování kovů ledvinami je ovlivněn vazbou kovů na různé komponenty krve a na vytváření komplexů s nimi. Z tubulárního lumenu mohou být kovy resorbovány do buněk a odtud transportovány do peritubulárních kapilár nebo zůstávají deponovány v ledvinách. Resorpce v tubulech je ovlivňována změnou pH moči, kompeticí s jinými látkami apod. Neresorbovaný kov se dostává do moči. Mechanismus hromadění kovů v ledvinách není zcela jasný. Některé kovy (Cd, Zn, Cu, Hg) se v ledvinách váží na specifické metaloproteiny. Vylučování ledvinami závisí na správné funkci glomerulů a tubulů, proto při poškození některé z funkcí může být vylučování kovů významně ovlivněno. U onemocnění ledvin s proteinurií může dojít i k významnému zvýšení vylučování kovů vázaných na bílkoviny. Naopak při poklesu glomerulární filtrace může koncentrace v krevní plazmě stoupat. [1]
- B. Stolice – Celkové množství kovu nalezené ve stolici je dáno neabsorbovanou částí kovu po jeho perorálním příjmu a částí vyloučenou v trávicím ústrojí. Je třeba uvažovat o vylučování kovů slinami, přes žaludeční stěnu, žlučí, pankreatickou šťávou, přes střevní stěnu. Není jednoznačné určit mechanismus vylučování kovů přes stěnu GITu, protože se jedná o komplexní děj. Předpokládá se podíl aktivního a pasivního transportu. Významným mechanismem je olupování střevní sliznice. Výměna epitelových buněk střevní sliznice je velmi rychlá. Pokud dochází k hromadění kovu v epitelové buňce, jsou olupující se buňky významným zdrojem kovu ve stolici. [2] Žlučová exkrece je nejdůležitější částí fekální exkrece. Xenobiotika vylučována do žluče se dělí do tří skupin na základě poměru jejich koncentrace ve žluči k jejich koncentraci v plazmě:
- První skupina – poměr přibližně 1 – sodík, draslík, glukóza, rtuť, thalium, cesium, kobalt
 - Druhá skupina – poměr 10 až 100 – žlučové kyseliny, bilirubin, olovo, arsen, mangan a další; velice rychlé vylučování do žluče
 - Třetí skupina – poměr menší než 1 – inulin, albumin, zlato, zinek, chrom [1]

Poměr vylučování kovů stolicí a močí z organismu se u různých kovů liší, viz tab. 2. Tento poměr je určován fyzikálně – chemickými vlastnostmi komplexů kovu s biomolekulami, způsobem podání, cestou vstupu do organismu, typem expozice, dávkou, distribucí kovu, vazbou na plazmatické bílkoviny. [2]

Tab. 2: Hlavní cesty vylučování kovů po perorálním podání [2]

Skupina periodického systému prvků	Moč	Stolice
1 a	Li, Na, K, Rh, Cs	-
b	-	Cu, Ag, Au
2 a	Ba, Mg, Ca	Ba, Sr, Mg, Ca
b	Cd, Hg	Zn, Hg
3a	Ti	Al, Ga, In
b	-	Sc, Y, lantanidy, aktinidy
4a	Ge (germaničitan)	Sn, Pb
b	Ti (titaničitan)	Ti, Zr
5a	As (arzeničnan), Sb (antimoničnan)	As ³⁺ , Sb ³⁺ , Bi ³⁺
b	Nb (niobičnan), V (vanadičnan)	V, Ta
6a	Se (trimetylselenan), Te (teluran)	Se, Te
b	Mo (molybdenan), W (wolframan), Cr (chroman)	Cr
7b	Mn (manganistan)	Mg, Re, Tc, Fe, Co, Ni
8	-	Ru, Rh, Pd, Ir, Pt

- C. Plice – Plicemi jsou často eliminovány látky, které jsou za tělesné teploty v plynné fázi. Není popsán žádný specializovaný transportní mechanismus, jedná se pravděpodobně o prostou difúzi. Plyny s nízkou rozpustností v krvi jsou vylučovány rychle a naopak. [1]
- D. Mateřské mléko – Vylučování cizorodých látek mateřským mlékem je závažné z hlediska vážného nebezpečí pro novorozence. Experimentální studie potvrdily, že kadmium je zachycováno tkání mléčné žlázy, ale vylučování mateřským mlékem je velmi nízké. Vylučování olova mateřským mlékem se zvyšuje spolu se zvyšující se koncentrací olova v krvi matky. [2]

Ostatní cesty vylučování mají z hlediska kovů malý význam. Cenné může být však stanovení kovů ve vlasech, nehtech či slinách z hlediska biologického monitorování expozice osob.

2.2 Chelátotvorné látky

Terapeutické chelátotvorné látky jsou sloučeniny, které se používají při intoxikaci kovu jako antidota. Podstatou toxického účinku těžkých kovů v biologických systémech je reakce s ligandy, které jsou nezbytné pro normální funkce těchto systémů. Vysoká afinita většiny těžkých kovů je k – SH skupinám, proto se mechanismus toxického účinku těžkých kovů vysvětluje inaktivací některých enzymových systémů. V systémech se však objevují další významné ligandy, např. – H,

- COO⁻ , PO₄H₂⁻ , NH₂⁻ , imidazol. Chelátotvorné látky mají obecnou vlastnost, a to vytvářet s kovem pevný komplex, tím zabraňuje vazbě na ligandy v organismu. Chelát je komplex kovu a chelátotvorné látky s dvěma nebo více ligandy, výsledkem je heterocyklický kruh. Základní princip chelatace kovů je založen na teorii tvrdé – měkké – kyseliny – zásady (hard – soft – acid – base, HSAB), podle níž můžeme kovy rozdělit do tří skupin: měkké, hraniční a tvrdé (tab. 3). Obecným principem této teorie je, že měkké kovové ionty (tzv. „hledáči síry“) tvoří stabilnější komplexy s měkkými ligandy. Tvrdé kovové ionty (tzv. „hledáči kyslíku“) tvoří stabilní komplexy s tvrdými ligandy. [2])

Tab. 3: Rozdělení kovových iontů podle teorie HSBA [2]

Měkké	Hraniční	Tvrde
Hg ²⁺	Pb ²⁺	Na ⁺
Au ⁺	Cd ²⁺	K ⁺
Cu ⁺	Cu ²⁺	Mg ²⁺
Pt ⁴⁺	As ³⁺	Ca ²⁺
Tl ⁺	Zn ²⁺	Al ³⁺
Ag ⁺		Be ²⁺
		Sr ²⁺

Ideální farmakokinetické vlastnosti chelátotvorných látek:

- Dobré vstřebávání v GITu
- Distribuce látky by měla být ideálně identická s distribucí kovu
- Látka v organismu by měla být pomalu degradována
- Vzniklý komplex s kovem by měl být rychle vylučován z organismu

Základní principy pro klinickou účinnost chelátotvorné látky:

- Vysoká afinita chelátotvorné látky pro toxický kov
- Nízká toxicita látky a vzniklého komplexu s kovem
- Minimální interakce chelátotvorné látky s biomolekulami organismu
- Průnik látky do míst, kde je deponován kov
- Minimální metabolismus chelátotvorné látky
- Rychlá eliminace vzniklého komplexu
- Možnost podat látku vhodnou cestou, nejlépe per os
- Dostatečná čistota a nízká cena chelátotvorné látky [2]

2.3 Minerální látky

Minerální látky jsou definovány jako prvky obsažené v popelu potravin, přesněji jako prvky, které zůstávají ve vzorku potravin po úplné oxidaci organického podílu na oxid uhličitý, vodu aj. [5] Minerální prvky jsou pro organismus velmi důležité, mají funkci jak biochemickou (udržování osmolarity vnitřního prostředí, činnost enzymů a hormonů), tak i strukturní (součást

kostí a zubů). Společně s vitaminy se nacházejí v běžné potravě, nejvíce však v ovoci, zelenině, obilovinách i živočišné potravě. [6] Minerální látky můžeme dělit podle několika hledisek:

1) Podle množství:

- Majoritní (makroelementy, makroprvky) se vyskytují v potravinách ve větším množství, obvykle ve stovkách až deseti tisících $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Patří sem Na, K, Mg, Ca, Cl, P a S
- Minoritní tvoří přechod mezi makroprvky a mikroprvky, obvykle jsou v potravinách obsaženy v několika desítkách či stovkách $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Řadí se sem Fe a Zn.
- Stopové (mikroelementy, mikroprvky) jsou v potravinách zastoupeny v nižších koncentracích, desítky $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a méně. Z hlediska potravin jsou důležité Al, As, B, Cd, Co, Cr, Cu, F, (Fe), Hg, I, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Sn, (Zn).

Množství minerálních prvků v potravinách je velmi variabilní. U rostlin je jejich obsah závislý na obsahu prvků v půdě, na vlastnostech půdy, způsobu a míře hnojení, klimatických podmínkách, stupni zralosti plodiny. [5]

2) Podle fyziologického významu

- Esenciální neboli prvky nezbytné jsou takové, které musí organismus přijímat v určitém množství pro zajištění biologických funkcí.
Esenciální majoritní – Na, K, Mg, Ca, Cl, P, S
Esenciální stopové – Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Mo, Cr, Se, I, F, B, Si
- Neesenciální prvky jsou takové, u kterých není dosud známá biologická funkce, a nejsou zároveň výrazně toxické. Patří sem takové prvky, které jsou v potravinách zastoupeny ve stopách (Li, Rb, Cs, Ti, Au, Sn, Bi, Te, Br)
- Toxické prvky vykazují v elementární formě nebo ve formě svých sloučenin toxické účinky. Mechanismus často spočívá v inhibici metabolicky významných enzymů. Nejdůležitější toxické prvky v potravinách jsou Pb, Cd, Hg, As. Tyto prvky se často považují za kontaminanty v potravě. Znečištění probíhá zpravidla v průběhu technologického zpracování nebo již ve fázi zemědělské produkce. [5]

2.3.1 Esenciální látky v potravinovém řetězci

2.3.1.1 DRASLÍK (ionty K^+)

Biologický význam: Draslík patří mezi intracelulární prvky, společně se sodíkem a chloridem udržuje osmotický tlak tekutin a acidobazickou rovnováhu v organismu. Tento prvek je potřebný pro aktivaci glykolytických enzymů a enzymů dýchacího řetězce, významně ovlivňuje svalovou aktivitu, zejména aktivitu srdečního svalu.

Nedostatek: Nedostatek draslíku vyvolaný např. nadměrnou ztrátou tekutin, může vyvolat poruchu ledvin, svalovou slabost a nepravidelnost srdeční činnosti.

Výskyt v potravinách: Mimořádný výskyt draslíku je v některých rostlinných materiálech, např. v čaji a pražené kávě může dosáhnout až 2 %. [5] Z dalších potravin je to mléko, jádrové ovoce, maso, luštěniny. [6]

2.3.1.2 SODÍK (ionty Na^+)

Biologický význam: Sodík se nachází v extracelulárním prostoru. Kromě udržování osmotického tlaku a acidobazické rovnováhy je potřebný pro aktivaci α -amylasy. [5]

Nadbytek: Dlouhodobý příjem může vést k hypertenzi [5] a otokům [6].

Nedostatek: Nedostatek sodíku se může objevit při nadměrném pocení nebo při špatné funkci ledvin. Hlavními projevy jsou svalové křeče, bolesti hlavy a průjemy.

Výskyt v potravinách: Sodík se svým obsahem v potravinách rostlinného původu řadí spíše k minoritním prvky, ale jeho obsah se může zvýšit až o několik řádů solením. [5] Tedy největším zdrojem je kuchyňská sůl, dále maso, vejce, mořské ryby. [6]

2.3.1.3 VÁPŇÍK (ionty Ca^{2+})

Biologický význam: Vápník je hlavní minerální složkou v lidském těle, 99% je obsaženo v kostech a zubech jako fosforečnan vápenatý. Vápenaté ionty plní převážně funkci stavební, vazba na bílkoviny osteokalcin a osteonektin. Dále se účastní nervové a svalové činnosti, je nutný pro srážení krve. Resorpce z potravy probíhá v tenkém střevě. Resorpci vápníku zvyšuje vyšší obsah bílkovin v dietě. [5]

Nedostatek: Nedostatek vápníku způsobuje tetanické křeče, v kostech se nedostatek projevuje řídnutím kostí, vyšší lomivostí. U dětí se toto onemocnění nazývá osteomalacie, u dospělých osteoporóza. [6]

Nadbytek: Při dlouhodobém příjmu vápníku v potravě nebo ve formě potravinových doplňků dochází k nadměrnému zatěžování ledvin. [6]

Výskyt v potravinách: nejvýznamnějším zdrojem je mléko a mléčné výrobky, dále jahody, květák, brokolice (hlavně za syrova). [6]

2.3.1.4 HOŘČÍK (ionty Mg^{2+})

Biologický význam: Hořčík se nachází v lidském těle v kostech a měkkých tkáních (pankreas, játra a kosterní svalstvo). Tento prvek je nezbytný pro všechny metabolické děje, kde se tvoří nebo hydrolyzuje ATP. Stabilizuje makromolekuly DNA a aktivuje některé enzymy, např. fosfotransferasy a fosfatasy. Hořčík je esenciální pro všechny fotosyntetizující organismy, protože je vázán v chlorofylu. Společně s vápníkem ovlivňuje permeabilitu biologických membrán a dráždivost buněk. [5]

Nedostatek vede ke zvýšené dráždivosti. Některé složky vlákniny a fytová kyselina snižují resorpci hořčíku. [5]

Nadbytek způsobuje útlum nervové činnosti. [5]

Výskyt v potravinách: Významným zdrojem jsou zelené části rostlin, celozrnné pečivo, obiloviny, brambory. [6]

2.3.1.5 ŽELEZO (ionty Fe^{2+} a Fe^{3+})

Biologický význam: Funkce železa je dána sloučeninami, ve kterých je obsaženo. Převážně se účastní transportu kyslíku v krevním řečišti a skladování kyslíku ve svalové tkáni (železo vázané

v hemoglobinu a myoglobinu). Jako transportní forma slouží transferin, který obsahuje Fe^{3+} ve vazbě na apoprotein. Zásobní formou jsou feritin a hemosiderin, které se vyskytují převážně ve slezině a kostní dřeni. Kromě těchto sloučenin se železo vyskytuje i v dalších biologicky významných sloučeninách, jako např. rubredoxiny, ferredoxiny. Tyto látky působí jako přenašeč elektronů reverzibilní změnou mocenství železa. [5]

Metabolismus: Resorpce dvojmocného železa probíhá snadněji než resorpce trojmocného železa. Během trávení potravy dochází v GITu k částečné redukci trojmocného železa v potravě na dvojmocné, na čemž se podílí enzym ferrireduktasa. V buňkách střevní sliznice se vstřebané železo z části skladuje ve formě feritinu a z části přechází do krve. Před vazbou na apoferritin je nutná oxidace železnatých iontů na železité. Membránový přestup dvojmocného železa z enterocytů do krevního oběhu zajišťuje membránový protein, feroportin. V krevním oběhu dochází k oxidaci železnatých iontů na železité a ty pak vstupují do transferinu, který zajišťuje přenos železa do všech tkání. V cílových tkáních je transferin zachycen specifickými receptory a přenášené železo je uvolněno pro syntézu hemových bílkovin a jiných metaloproteinů nebo je dočasně fixováno ve feritinu. Podstatná část přenášeného železa je z transferinu odebrána v kostní dřeni pro tvorbu erytrocytů. Erytrocyty absorbují celé molekuly transferinu. Apotransferin je z erytrocytu uvolněn a železo je zabudováno do porfyrinového skeletu. Poškozené a staré erytrocyty jsou zachyceny buňkami retikuloendotelového systému, lokalizované v játrech, slezině a kostní dřeni. V těchto buňkách je železo po uvolnění z hemu uskladněno ve feritinu nebo hemosiderinu nebo je uvolněno do krevní plazmy, kde je po oxidaci na Fe^{3+} opět zachyceno v transferinu.

Resorpce železa v GITu je ovlivňována biologickými a chemickými faktory. Některé sloučeniny zvyšují jeho biologickou využitelnost ze stravy. Takovými látkami jsou kyselina askorbová, organické kyseliny, aminokyseliny (histidin, cystein) a sacharidy. Naopak existují i látky, které resorpci železa snižují. Buď s železem tvoří nerozpustné sloučeniny, nebo tak stabilní rozpustné sloučeniny, že z nich železo nemůže být uvolněno. Takovými látkami jsou především trisloviny, fenolové látky, fytoová kyselina, vláknina, vyšší dávky fosforu a vápníku. [5]

Nedostatek: Nedostatečný příjem železa stravou vede k hypochromní mikrocytární anemii, chudokrevnosti a zhoršení imunity. U anemie je v krvi sníženo množství hemoglobinu a červených krvinek, což má za následek omezení přenosu kyslíku ke tkáním a sníženou výkonnost organismu. Těžká anemie může vést až k selhání srdce. Při deficitu železa lze rozlišit tři stadia. V prvním stadiu se snižují zásoby železa a klesá hladina feritinu v plazmě, žádné funkční změny. Ve druhém stadiu se zvyšuje podíl protoporfyrinu v erytrocytech a hladina hemoglobinu je mírně snížena. Celkový obsah železa v plazmě, plazmový obsah feritinu a tkáňový obsah železa silně klesá. Ve třetím stadiu se objevují příznaky anemie, dochází k poklesu hladiny hemoglobinu a ke zmenšení červených krvinek. [5]

Nadbytek: Ve větším množství se železo stává pro člověka toxické. Akutní otravy se často vyskytují náhodně u dětí, kdy požily léčiva obsahující Fe^{2+} soli. Toxicita závisí na obsahu elementárního železa v jednotlivých sloučeninách. Smrtelnou intoxikaci u dítěte způsobí např. již 0,5 g Fe. Akutní otrava se projevuje nejprve zvracením. Důsledkem ulcerace GITu se dostává krev do stolice i zvratků. Následuje metabolická acidóza, poškození jater. Pokud pacient toto stadium přežije, dostaví se pozdní účinky: selhání ledvin a jaterní cirhóza. S chronickou expozicí

jsou často spojovány tzv. hemosiderózy, které postihují především dospělé jedince. Klinické příznaky jsou poškození jater až cirhóza, diabetes, případně fibróza pankreatu. Někdy se tento jev popisuje jako bronzový diabetes. Železo se může kumulovat v organismu z těchto příčin:

- Abnormální absorpce z GITu – jedná se pravděpodobně o geneticky podmíněnou odchylku, mluví se o tzv. idiopatické hemochromatóze
- Zvýšený přísun v dietě – např. hemosideróza Bantů, podle příslušníků afrického kmene, jehož příslušníci denně připravují stravu a fermentované nápoje v železných nádobách
- Často opakované transfuze krve – nadbytečné železo se ukládá ve formě hemosiderinu do jater, pankreatu, srdce [1]

Z hlediska průmyslové toxikologie mají význam zejména oxidy železa, které se uvolňují v hutích. Nejtoxičtější je pentakarbonyl železa $\text{Fe}(\text{CO})_5$. Elementární železo je inertní a při vdechování jeho prachu nepředstavuje riziko. Při dlouhodobé inhalaci ve velkém množství může vzniknout pneumokonióza, označovaná jako sideróza. Chronická inhalační expozice parám oxidů železa může způsobit horečku slévačů. [1]

Výskyt v potravinách: Hlavním zdrojem jsou vnitřnosti, maso, žloutek, listová zelenina, luštěniny, lesní jahody, borůvky, hrozny. [6]

2.3.1.6 ZINEK (iont Zn^{2+})

Biologický význam: Asi polovina celkového zinku je obsažena ve svalové hmotě a zhruba třetina v kostech. Vysoké koncentrace se nacházejí v kůži, vlasech, nehtech, očních tkáních, játrech, ledvinách, slezině a v mužských pohlavních orgánech. V buňkách jater, ledvin a některých dalších vnitřních orgánů je zinek vázán v metalothioneinech. V krevní plazmě je zinek vázán na sérový albumin, menší část na α_2 - makroglobulin. Zinek je součástí asi 200 metaloenzymů, je nezbytný pro jejich katalytickou funkci, u dalších metaloenzymů se zinek podílí na fixaci prostorové struktury molekuly. Savčími enzymy obsahujícími zinek jsou: alkoholdehydrogenáza, laktátdehydrogenáza, superoxidismutáza, karboxypeptidáza A a B, dipeptidáza nebo karbonatanhydratáza. Zinek je potřebný pro tvorbu a působení pankreatického hormonu insulinu. [5]

Metabolismus: Resorpce zinku probíhá převážně v duodenu. Na jeho transportu do střevních buněk se podílí tzv. přenašeč dvojmocných kationtů. V erytrocytech je zinek vázán v metalothioneinu nebo v komplexu s bílkovinou CRIP (z angl. *Cysteine-Rich Intestinal Protein*). Vysoký obsah bílkovin a aminokyselin zvyšuje účinnost resorpce. Naopak působí kyselina fytová a vláknina. [5]

Nedostatek: Při deficitu zinku v organismu se rozvíjí široké spektrum klinických účinků, které závisí na věku, deficitu dalších kovů. Hlavní příznaky se týkají poškození imunitního systému, především zvýšená vnímavost vůči infekcím [1], dále pak snížená reprodukční schopnost, poruchy růstu a vývoje, neuropsychické abnormality, ztráta chuti, změny na kůži, vypadávání vlasů a zhoršení kvality nehtů. [5]

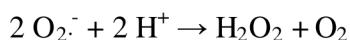
Nadbytek: Toxicita tohoto prvku je ve srovnání s jinými prvky mnohem menší. Existují velké rozdíly mezi dávkou nutriční a toxickou. Za maximální denní přijatelnou zátěž organismu se považuje 1 mg/kg tělesné hmotnosti. Kovový zinek je neškodný. Vzácně se vyskytla alimentární otrava, např. ovocnými šťávami z pozinkovaných nádob. Pacienti měli GI potíže včetně průjmů. Riziko představuje především průmyslová expozice parám zinku a ZnO , kdy po inhalaci se může

objevit tzv. slévačská horečka, která nemusí být specifická pouze pro zinek, objevuje se i při inhalaci par Cu, Cd, Fe. [1] Z počátku se dostaví pocity malátnosti, bolesti hlavy, sucho v ústech s pocitem kovové chuti, škrábání v krku, bolesti na prsou a dráždivý kašel. [2] Nástup horečky přichází 4 - 8 hodin po expozici, projevuje se zimnicí, horečkou, třesavkou a pocením. Toto stadium trvá 24 - 48 hodin. Vdechnutí práškového ZnO způsobuje zejména u dětí pneumokoniózu. Skalice bílá (ZnSO₄) působí v malých koncentracích emeticky, pro člověka je smrtelná dávka 5 – 10 g. Koncentrované roztoky leptají. Chronická expozice může být jak profesionální, tak i u obyvatelstva průmyslových aglomerací; může vést k poškození jaterních buněk a také negativně působí na reprodukci. [1]

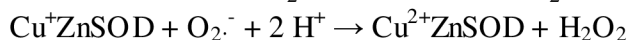
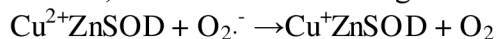
Výskyt v potravinách: Zinek je obsažen hlavně v mouce, chlebě a pekařských výrobcích, luštěninách, mase a rybách. [6]

2.3.1.7 MĚĎ (iont Cu²⁺)

Biologický význam: Měď se v lidském těle nachází v různých tkáních a orgánech, např. v játrech, ledvinách, svalstvu, mozku, plicích. V jaterních buňkách je vázána v molekulách enzymu superoxidodismutasy, který je důležitý pro ochranu před poškozením volnými radikály. Katalyzuje disproportionaci superoxidových anionradikálů, které jsou toxickými produkty metabolismu kyslíku:



Vzniklý peroxid vodíku je následně rozložen za účasti dalšího enzymu, jako katalázy, peroxidázy. Mechanismus reakce je dvoustepňový. Při reakci oxidované formy enzymu (Cu²⁺) s první částicí superoxidu vzniká molekula kyslíku a redukovaný enzym (Cu⁺) a ten pak s druhou částicí superoxidu poskytuje peroxid vodíku, současně dochází k regeneraci původního enzymu:



V mozkové tkáni se měď vykytuje jako metaloprotein, cerebropretein. Více než 90% mědi v krvi je obsaženo v plazmě jako ceruloplasmin ze skupiny α₂- globulinů. Ceruloplasmin má katalytickou aktivitu ferroxidázy, katalyzuje oxidaci vstřebaných iontů Fe²⁺ v krevní plazmě na Fe³⁺. V erythrocytech je měď obsažena v dalším proteinu erythrocytinu. [5]

Metabolismus: Měď se absorbuje v duodenu a jejunu. [2] Ke vstřebávání dochází dvěma mechanismy: aktivním transportem, který převažuje při nedostatku mědi v organismu, a prostou difúzí. [5] Ke vzniku projevů toxicity dochází až při vysokém příjmu měďnatých sloučenin. Absorpci zhoršuje vysoký příjem Zn, Mo, Cd a vitamínu C. Mezi mědí a zinkem existuje vztah, při kterém deficit zinku a zinkurie vede ke zvýšení hladin mědi a ceruloplasminu. V séru je měď z 90 - 95% vázána na protein, ceruloplasmin, zbytek na erythrocyty [1] a albumin (takto vázaná měď je transportována přes membrány [2]). Z organismu dochází k vylučování především žlučí. Do žluče je měď exkretována přes koncentrační gradient. Vylučování mědi močí je ovlivněno u člověka přítomností molybdenu v dietě. Při nízkých koncentracích molybdenu je vylučování do moče nízké a naopak. U Wilsonovy choroby, vrozené poruchy metabolismu mědi, vylučování mědi močí stoupá. Na druhé straně u zdravých lidí je vylučování stolicí vyšší než u osob s Wilsonovou chorobou. [2]

Nedostatek: Deficit mědi u člověka je velmi vzácný. Při dlouhodobém nižším příjmu se mohou vyskytnout vyšší hladiny cholesterolu v krvi, zněny srdečního rytmu a snižuje se glukosou tolerance [5], anémie, neutropenie a odchylky na kostech. [11]

Nadbytek: Nejčastěji vznikají akutní intoxikace po požití rozpustných měďnatých solí, nejčastěji CuSO₄. Za smrtelnou dávku je považováno kolem 10 g. Dávka 0,1 - 0,2 g vede reflexně ke zvracení, při požití většího množství se projevuje leptavý účinek, který postihuje GIT a způsobuje tak krvavý průjem s následnou hypotenzí a šokem. Systémová toxicita je spojena s poškozením jater, ledvin a hemolýzou. Toxicita nerozpustných sloučenin je nižší. Zvláště u citlivých dětí může vznikat jaterní cirhóza. Po inhalaci měďného prachu a dýmu dochází k rozvoji slévačské horečky, která je doprovázena i postižením trávicího ústrojí. [1] Soli mědi působí dráždivě na neporušenou kůži, kde způsobují svědění, erytém a zánět kůže. [2]

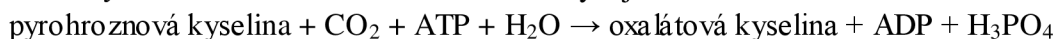
Za intoxikaci lze považovat i onemocnění Wilsnova nemoc. Jedná se o geneticky podmíněné anomálie metabolismu tohoto kovu, charakteristická je zvýšená koncentrace volné mědi a v důsledku toho její nadměrná kumulace v játrech, mozku, ledvinách a rohovce. Další podobnou chorobou je Menkesova nemoc, kterou jsou postiženy především děti, většina pacientů do 3 let umírá. V játrech a mozku se měď vyskytuje v menších koncentracích, ale v ostatních tkáních je její obsah vyšší. Charakteristické pro klinický obraz jsou mentální a růstová retardace a bílé kudrnaté vlasy. [1]

Ve studiích prováděných na zvířatech měď zvyšovala riziko výskytu hepatocelulárního a ledvinového karcinomu. [23]

Výskyt v potravinách: Významnými zdroji mědi jsou vnitřnosti, luštěniny, listová zelenina, lesní plody, ořechy. [6]

2.3.1.8 MANGAN (Mn²⁺)

Biologický význam: Vyšší koncentrace manganu jsou obsaženy v kostech, játrech, pankreatu a ledvinách. Nižší koncentrace se nacházejí v mozku, slezině, srdci a plicích. Existuje několik enzymů, které obsahují ve své molekule mangan, jedná se o oxidoreduktázy, kde katalýza oxidoredukční reakce souvisí se změnou mocenství manganu. Z dalších tříd je mangan součástí transferáz, hydroláz a ligáz. K nejdůležitějším patří pyruvátkarboxyláza a argináza. Pyruvátkarboxyláza za účasti kofaktoru biotinu katalyzuje reakci:



Argináza katalyzuje hydrolyzu argininu na močovinu a ornitin, což je hlavní děj zajišťující exkreci amoniakálního dusíku uvolněného při odbourání aminokyselin ve formě močoviny. Kromě pravých metaloenzymů existuje řada enzymů aktivovaných ionty manganu, např. hydrolázy, kinázy, dekarboxylázy a glykosyltransferázy. [5]

Metabolismus: Resorpce manganu z potravy probíhá ve všech částech tenkého střeva. Není přesně znám mechanismus vstřebávání, ale existují určité podobnosti s metabolizmem železa. Vstřebaný mangan je v krevní plazmě přenášen ve vazbě na transferin. Stejně jako u železa je pro vazbu manganu v molekule transferinu nutná oxidace dvojmocných iontů na trojmocné, což pravděpodobně zajišťuje ceruloplazmin. Vysoký příjem železa v dietě může snížit účinnost resorpce manganu. Též vysoké dávky vápníku a fosfátů snižují biologickou využitelnost manganu. Hlavní cestou vylučování vstřebaného manganu je exkrece žlučí. [5]

Nedostatek: Dlouhodobý deficit v dietě se může projevit zpomaleným růstem, abnormálním vývojem kostí a poškozením reprodukční funkce. U novorozenců může mít deficit za následek poruchu hybnosti. [5]

Nadbytek: Otrava manganem je téměř nemožná. Toxické účinky nastávají při velmi vysokých dávkách nebo při dlouhodobé expozici. Při chronických expozicích, u horníků pracujících v prašném prostředí s manganovou rudou, se objevují psychické poruchy a neurologické příznaky podobné Parkinsonově chorobě. Při inhalaci se může objevit snížený krevní tlak, zvýšená hladina vápníku, bilirubinu, cholesterolu a celkových lipidů v krevním séru, naopak snížená hladina hořčíku a bílkovin. [5]

Výskyt v potravinách: V živočišných potravinách je výskyt manganu malý. Dobrymi zdroji jsou obiloviny a luštěniny, lesní plody, čajové lístky nebo některé druhy koření, např. hřebíček, kardamom a zázvor. [5]

2.3.1.9 CHROM (ionty Cr^{3+})

Biologický význam: Chrom je esenciálním prvkem v oxidačním čísle III, naopak sloučeniny šestimocného chromu jsou toxické, přisuzují se jim i alergenní, mutagenní a karcinogenní účinky. Jako esenciální prvek se chrom podílí na metabolismu sacharidů, umožňuje insulinem stimulovanou utilizaci glukosy. Biologický komplex chromu v trojmocné formě s oligopeptidy, zvaný chromodulin, který je začleněn do mechanismu zesílení účinku inzulínu, zvyšuje aktivitu insulinových receptorů za přítomnosti inzulínu. Potenciací účinku inzulínu a dalšími mechanismy zasahují sloučeniny chromu také do metabolismu lipidů a bílkovin. Chrom chrání molekuly RNA před tepelnou denaturací. [5]

Metabolismus: Anorganické sloučeniny šestimocného chromu rychle pronikají buněčnými membránami. Z perorálně podaného množství se vstřebává jen velmi malé množství. Absorpce mohou snižovat některé kovy (Fe, Zn), které s chromem tvoří komplexy. Cr^{6+} se vstřebává i plicemi a kůží. Z plic je chrom uvolňován pozvolna. Chrom je vázán v erytrocytech, kde je také transportován. Exkrece je ledvinami, 80 – 90 %. U akutních intoxikací je exkrece velmi pomalá. Chrom v biologických materiálech je pravděpodobně vždy trojmocný a nepřechází na šestimocné formy. [1]

Nedostatek: Při deficitu se projevuje snížená glukózová tolerance, trvale zvýšená hladina glukózy v krvi, zvyšuje se hladina cholesterolu a triacylglycerolů v krevním séru. [5]

Nadbytek chromu se projevuje toxicky. Toxicita chromu je podmíněna mocenstvím. Závažné poškození v organismu způsobuje šestimocná forma, jejíž toxické účinky jsou vysvětlovány mohutným oxidačním působením Cr^{6+} . Za smrtelnou dávku pro člověka je považována dávka 0,5 - 8,0 g dichromanu draselného.

Při akutní systémové toxicitě je dominující akutní tubulární nekróza, tato porucha ledvin může ovlivnit exkreci některých léčiv. Lokální působení sloučenin Cr^{6+} dráždí kůži a sliznice. Důsledkem jsou dermatitidy a ulcerace (tzv. chromové vředy). Dále tyto sloučeniny vyvolávají alergické dermatózy. [1] Inhalace šestimocného chromu vede k tvorbě vředů na nosní sliznici, pokud trvá expozice déle, může dojít až k perforaci nosní přepážky. Vředy se objevují i na sliznici dutiny ústní, mandlí, hrtanu, hltanu, průdušnici, ve středním uchu. [1] Expozice inhalací je nejvíce prostudována u svářečů. Bylo zjištěno významně zvýšené vylučování chromu močí po ukončení směny. Dále také svářeči - kuřáci vylučují inhalovaný chrom intenzivněji

močí, kde jsou nalezeny koncentrace asi dvakrát vyšší než u nekuřáků. Rozdíl lze vysvětlit i obsahem chromu v cigaretách a také zpomalením samočisticí schopnosti plic. Proto částice obsahující chrom zůstávají v plicích kuřáků delší dobu a mohou zvyšovat i jeho karcinogenní účinky. [2]

Při chronické expozici se jako nejzávažnější jeví karcinogenita. U člověka jsou prokázány nádory plic [23] a bronchů. Vznik nádorů lze sledovat po velmi dlouhé době, až 10 - 20 let. Dále je chrom podezřelý i z karcinomu jícnu, žaludku, pankreatu a vedlejších nosních dutin. [1]

Výskyt v potravinách: Zdrojem jsou játra, pивní kvasnice, celá obilná zrna, ořechy, sýr. [6]

2.3.2 Toxické kovy v potravinovém řetězci

První zmínky o možnosti toxických účinků některých kovů (např. olovo, měď, antimon) se objevily již 1500 let př. n. l. v Ebersových papyrusech. Anorganické sloučeniny olova, rtuti, arsenu a antimonu patřily k jedům využívajících se k odstraňování politicky nežádoucích osob. Ve středověku v Itálii se velice rozmohl „trend“ travičství. Nejznámější travičkou této doby byla „Lady Toffana“, která připravovala k těmto účelům kosmetické výrobky obsahující arsen. Na druhé straně ve 20. století arsen tvořil hlavní složky léčiv pro terapii syphilis. [1]

Průmyslová toxikologie se zabývá toxickými látkami, které se vyskytují v průmyslu, a následně s pomocí pracovního lékařství stanovuje maximální přípustné koncentrace, dávky a expozice chemických látek. Toxikologie životního prostředí se soustřeďuje na chemické znečištění životního prostředí (tj. vody, potravin a ovzduší) ve vztahu k jeho působení na člověka a zvířata. Součástí této oblasti toxikologie je i ekotoxikologie, která je specificky zaměřena na vlivy toxických látek na dynamiku populace v ekosystému. [1]

2.3.2.1 KADMIUM (Cd)

Kadmium je kov chemicky příbuzný zinku, což se odráží i v jeho toxických účincích. Přírodně se vyskytuje v rudách společně se zinkem a olovem ve formě sulfidů. Kadmium v anorganických a organických sloučeninách nabývá formy dvojmocného kationtu. Většina studií byla doposud zaměřena na podávání vysokých dávek tohoto prvku. V současnosti se studie zaměřují na dlouhodobou expozici malých dávek. [2]

Výskyt a použití: Kadmium se pro svoji vysokou odolnost vůči korozi a vhodným elektrochemickým vlastnostem používá v průmyslu, např. při výrobě Ni - Cd baterií, lehkotavitelných slitin, barev na sklo [1], plechů zejména v automobilovém průmyslu [2]. Zdrojem znečištění jsou kovohutě, zvláště při zpracování Cd a jeho slitin, průmysl barviv a výroba plastů a akumulátorů. [2] K dalšímu uvolňování Cd do životního prostředí dochází spalováním fosilních paliv. Avšak největší zdroj příjmu představuje pro populaci kontaminovaná potrava, v důsledku používání superfosfátových hnojiv z afrických ložisek. Významné koncentrace byly nalezeny v obilninách, bramborách, zelenině, zvěřině, zvířecích vnitřnostech (játra, ledviny). Nekontaminovaná potrava obsahuje méně než 0,05 µg Cd/g, průměrný denní příjem je 50 µg. K dennímu příjmu významně přispívá kouření, jedna cigareta obsahuje 1 - 2 µg Cd, z toho je po inhalaci asi 10 % absorbováno. [1] Možná je i kontaminace pitné vody, která je způsobena obsahem kadmia v pozinkovaných nebo pokadmiovaných vodovodních kohoutech a trubkách. [2]

Metabolismus: Z toxikologického hlediska mají význam sloučeniny Cd^{2+} . Kadmium je poměrně špatně absorbované z GIT, asi 5 – 8 %. Ale i přesto je u člověka hlavní příjem alimentární cestou. Absorpce se zvyšuje při deficitu Fe, Zn, Ca a při nízkoproteinové dietě. V krvi se váže na krevní buňky, albumin, alfa- globuliny a metalothionein. Asi 50 % celkového obsahu Cd se nachází v játrech a ledvinách. Tyto orgány obsahují metalothionein, který má vysokou afinitu k Cd. Placenta má schopnost syntetizovat tento nízkomolekulární protein, který je určitou bariérou proti obsahu Cd v mateřském organismu, čímž se vysvětluje téměř nulový výskyt Cd u novorozenců a malé množství v mateřském mléce. [1]

Cd společně s dalšími kovy (jako Pb a Hg) kompetují o vazebná místa na metalothioneinu se Zn, což snižuje příjem Zn z potravy při kontaminaci prostředí těmito kovy. Biologický poločas je pro kadmium 10 - 30 let. Mechanismem toxického účinku je inhibice sulfhydrylových enzymů. Kadmium kompetuje s Cu, Zn a Fe. [1] Hlavní cestou vylučování kadmia z organismu je trávicí ústrojí, jež zahrnuje i exkreci prostřednictvím pankreatické šťávy a sekreci střevní stěnou. Nejvýznamnější je ale vylučování žlučí. Zvýšený obsah kadmia ve žluči se objevuje tehdy, když obsah kadmia v játrech dosáhne určité hladiny. To bylo potvrzeno i experimentálně. [2]

Toxicita pro člověka: Akutní toxicita se rozvíjí po inhalaci par nebo požití vysokých koncentrací kadmia (v ovocných šťávách, vínu z nádob vyrobených z pokadmiovaného plechu). Po požití se objevuje nevolnost, zvracení, průjem, bolesti břicha. [1] Letální dávka při perorálním podání pro člověka je 350 až 8900 mg. No- effect level (dávka nevyvolávající žádný účinek) je odhadována na 3 mg Cd^{2+} . [2] WHO ve spolupráci s FAO stanovila maximální dovolené množství kadmia v cereáliích a luštěninách na 0,5 ppm. [11] Inhalace par Cd po 24 hodinách způsobí rozvoj akutní pneumonie s následným nástupem pulmonálního edému. [1] Letální koncentrace dýmů CdO je přibližně 5 mg · m⁻³ při osmihodinové expozici. [2]

Projevy chronické expozice záleží na cestě expozice. Jak po inhalaci, tak i po podání per os, jsou postiženy ledviny. Změny v plicích byly pozorovány pouze po pulmonální expozici. Nefrotoxicita se projeví až po překročení určité koncentrace v ledvině (200 $\mu\text{g/g}$). Mezi hlavní projevy patří glykosurie, snížená reabsorpce fosfátů, aminoacidurie, proteinurie. [1] Světová zdravotnická organizace považuje za kritickou hodnotu pro tubulární proteinurii dávku 100 – 300 $\mu\text{g Cd}\cdot\text{g}^{-1}$. [2] Velkým ukazatelem ledvinového poškození je přítomnost β_2 - mikroglobulinu v moči. V plicích Cd navozuje emphysem a fibrózu. [1] Chronická expozice může způsobovat osteomalacii, která byla popsána v Japonsku u žen po menopauze nebo u lidí konzumujících po dlouhou dobu rýži a sojové boby kontaminované kadmium, onemocnění bylo nazváno Itai - Itai (bolí- bolí) [15], hlavními projevy byly revmatické bolesti dlouhých kostí, páteře a pánve. Kadmium vyvolává zvýšenou exkreci vápenatých iontů, čímž je zřejmě zabraňováno konverzi na 1, 25 - dihydroxy formu vitamínu D. [1]

U lidí profesionálně exponovaných byl zjištěn větší výskyt rakoviny. Kadmium zřejmě indikuje nádory plic [1], prostaty, ledvina a vaječnicků [23]. Riziko karcinogenních účinků se zvyšuje se současným příjmem dusičnanů a dusitanů potravou a i při kouření. [1]

2.3.2.2 OLOVO (Pb)

Toxicita olova je známa již po staletí. Zájem o studium toxického účinku tohoto prvku neustále roste z důvodu širšího použití v různých oblastech průmyslu, zvláště používání tetraethylolova jako antidetonálního činidla v benzínech, a následně zvýšené kontaminaci

životního prostředí. V anorganických sloučeninách se vyskytuje ve dvojmocné formě. Anorganické soli jsou špatně rozpustné s výjimkou octanu, dusičnanu, chlorečnanu, chloristanu, a částečně i chloridu. Z organických sloučenin jsou nejvýznamnější tetraethyl – a tetramethylolovo. [25]

Výskyt a použití: Olovo je všudypřítomný kov, vyskytuje se v půdě, vodě i v atmosférických částech biosféry. V rudách se vyskytuje jako sulfid, uhličitan a síran. Největší spotřeba je při výrobě baterií, alkylsloučenin (jako přísady do benzínu), kabelů, barviv, slitin, broků apod. Z celkového množství je více jak polovina spotřebována v automobilovém průmyslu. [2] Právě automobilové výfukové plyny jsou velkým zdrojem kontaminace životního prostředí. Do organismu se pak olovo dostává ve vdechovaném vzduchu ve formě par nebo pevných částic, ze kterých je pak olovo docela dobře absorbováno. Z potravin určité riziko představují nápoje a zelenina, které vzhledem ke kyselému pH uvolňují olovo ze špatně glazovaných plechovek, z nádobí zdobeného barvou s obsahem olova. Vysoké koncentrace mohou být obsaženy v rostlinách rostoucích podél silnic. Se vzdáleností od silnice prudce klesá hladina olova ve vegetaci. O požitelnosti lze uvažovat od 100 m od frekventované silnice. Někdy může být znečištěna i pitná voda, která je transportována olovenými trubkami. [1] Časté intoxikace jsou zaznamenány s použitím olovnatých barev (akutní otrava batolete, které olizovalo postýlku natřenou touto barvou). Průmyslové intoxikace jsou nejčastěji při výrobě ve slévárnách, hutích a ve výrobně akumulátorů. [25]

Metabolismus: Hlavními cestami vstupu olova do organismu jsou GIT a respirační aparát. Perorální vstřebání se mění s věkem: dospělí absorbují asi 10 %, děti až 40 %. O transportu přes střevní bariéru není zatím dostatek poznatků, uvažuje se o kompetici olovnatých iontů a iontů vápenatých o stejný transportní mechanismus. [1] Absorpci olova dále zvyšuje deficit železa v potravě, vitamínu D, hladovění či příjem mléka. [2] Inhalace plicemi závisí na objemu vdechovaného vzduchu, velikosti částic (částice menší jak 0,5 μm jsou v plicích zadržovány). Vstřebažené množství plicemi je u dospělých větší než u dětí. [1] Lépe rozpustné sloučeniny olova jsou i lépe vstřebatelné, ale u plic se uvažuje o skutečnosti, že i sloučeniny, které jsou považovány za nerozpustné, mohou být rozpustné v plicním sekretu. [2] Olovo prochází placentární bariérou a do mateřského mléka. Anorganické sloučeniny se neabsorbují kůží, ale lipofilní organické sloučeniny mohou pronikat porušenou kůží. Více jak 90 % olova je v organismu vázáno na erytrocyty. Anorganické sloučeniny jsou nejdříve distribuovány do měkkých tkání (ledvin, jater), pak dochází k redistribuci a hlavním depotním místem jsou kosti. Zde je biologický poločas 10 - 20 let. Takto zabudované olovo není toxické, ale některé faktory (infekce, gravidita, intoxikace etanolem) mohou způsobit jeho vyplavení. [1] Exkrece perorálně přijatého olova je převážně stolicí, vstřebažené olovo je vylučováno močí. [2]

Toxicita pro člověka:

- Anorganické sloučeniny – Akutní otravy jsou poměrně vzácné, vznikají po inhalaci par nebo požití vysoce kontaminované potravy. V klinickém obraze se objevuje neurotoxicita a hemolýza s následným poškozením ledvin v důsledku hemoglobinurie. Při chronické intoxikaci je nejzávažnější neurotoxicita. Nejcitlivější jsou děti (hlavně batolata, novorozenci a plod).

Encefalopatie, často projevem intoxikace u dětí, způsobená olovem začíná závratěmi, ataxií a může končit kómátem a smrtí. Patologickým nálezem bývá edém mozku. Olovo ovlivňuje také hladkou svalovinu střev, mezi symptomy převažuje anorexie a zácpa. Při závažné intoxikaci vznikají záchvatovitě intestinální spasmy, které způsobují trýznivé bolesti břicha nebo koliky. Další častý účinek při chronické expozici je hematologický – rozvoj anémie. Jedním z faktorů je možnost inhibice některých enzymů, které zodpovídají za syntézu hemu. [1] Nefrotoxicita způsobená olovem se projevuje ve dvou formách:

1. Reversibilní tubulární dysfunkce – hlavně u dětí s akutní expozicí [1], charakterizovaná aminoacidurií, glykosurií, hyperfosfaturií a hyposfátemií. [2]
2. Ireversibilní intersticiální nefropatie – u pracovníků v průmyslu. [1] Světová zdravotnická organizace uvádí koncentraci olova v krvi asi 70 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ [2]

Vizuálně lze u intoxikovaného zpozorovat bledost v obličeji, šedý lem kolem dásní (podobná pigmentace i po absorpci Hg, Ag, Fe). Pro člověka zřejmě olovo a jeho sloučeniny karcinogenní nejsou, i když v některých epidemiologických studiích byla zvýšena incidence nádorů ledvin u lidí s dlouholetou profesionální expozicí. [1]

- Organické sloučeniny olova – tetramethylolovo a tetraethylolovo jsou lipofilní sloučeniny, které se snadno absorbují kůží, GITem, plicemi a rychle dochází k distribuci do tukových tkání. Tetraethylolovo poškozuje především CNS, nevyvolává anémii. [1]

2.3.2.3 NIKL (Ni)

Biologický význam: Dosud není známá žádná specifická biochemická funkce niklu v živočišných organismech, avšak tento prvek může některé enzymy aktivovat. Např. kalcineurin je silně aktivován nikelnatými ionty. U rostlin a mikroorganismů byly zjištěny některé metaloenzymy obsahující nikl.

Metabolismus: Z hlediska toxikologického představuje karbonyl niklu zvláštní okruh problémů zejména v souvislosti s profesionální expozicí. Nikl je vstřebáván z plic, trávicího ústrojí i kůží. [2] V GITu se nikl z anorganických sloučenin vstřebává jen částečně. Pouze lipofilní tetrakarbonyl niklu proniká hematoencefalickou, plicní a placentární bariérou. V plazmě je nikl transportován vázaný na sérový albumin. [1] Karbonyl niklu je po vstřebání rozložen na nikl, který je oxidován, a na oxid uhelnatý, který se váže na hemoglobin. [2] Anorganický nikl se vylučuje žlučí a močí. Tetrakarbonyl niklu je kromě toho exkretován i exhalací plicemi.

Předpokládá se, že mechanismem toxického účinku nikelnatých kationtů je peroxidace lipidů v cílových buňkách. [1]

Toxicita pro člověka: Z toxikologického hlediska jsou důležité dva toxické účinky niklu, a to karcinogenita a alergická kontaktní dermatitida. U pracovníků v průmyslu niklu a jeho sloučenin se vyskytují především karcinomy respiračního traktu. Karcinogenita závisí na rozpustnosti niklu či jeho sloučenin ve vodě; s poklesem rozpustnosti se karcinogenita zvyšuje. Pravděpodobnými karcinogeny jsou: tetrakarbonyl, sulfidy a oxidy niklu. [1] Latence mezi počátkem expozice a vznikem nádoru se pohybuje v širokém rozmezí (10 - 40 let, s průměrnou hodnotou 25 let). Zdůrazňuje se také nepříznivý účinek kouření u osob exponovaných niklem, výrazně dochází ke zvýšení pravděpodobnosti vzniku zhoubného nádoru plic. [2]

Nejběžnější formou alergické kontaktní dermatitidy je kožní reakce, odhaduje se, že 5 - 13 % všech ekzémů je způsobeno niklem. [1] Tato dermatitida bývá také označována jako niklový

svrab. Senzibilizace nastává i při používání běžných předmětů s obsahem niklu, jako třeba mince, šperky, kuchyňské nádobí, hodinky. [2]

Extrémně toxický je tetrakarbonyl niklu, kapalina s bodem varu 43°C. Po expozici jeho parám jsou primárně poškozeny alveoly a rozvíjí se akutní toxicita, projevovaná kašlem, dyspnoí, tachykardií, cyanózou. Symptomy jsou doprovázeny horečkou a leukocytózou. V konečné fázi dochází k respiračnímu selhání, eventuálně k edému mozku. [1]

Výskyt v potravinách: Vyšší koncentrace niklu se nacházejí v luštěninách, ořeších, čajových lístcích, kakaových bobech a výrobcích z kakaa a čokolády. [5]

2.4 Jahody

Toto drobné ovoce je pro člověka atraktivní nejen svojí charakteristickou vůní a chutí, ale i výživovou hodnotou. Především díky obsahu vlákniny a fruktosy, který může přispívat k regulaci hladiny krevního cukru, či esenciálních mastných kyselin, jejichž bohatým zdrojem jsou zrníčka obsahující až 72 % polynenasycených mastných kyselin. Velký zájem vzbuzují jahody hlavně z důvodu obsahu vitamínu C, který společně s obsahem kyseliny listové staví jahody jako nejbohatší přírodní zdroj těchto esenciálních mikronutrientů z veškerého ovoce. [24] Studované, stejně tak i kontrolní, skupiny ukazují, že vyšší příjem vitamínu C z potravy je často spojován s nižším výskytem srdečního a mozkocévního onemocnění, většiny typů nádorů a jiných zdravotních komplikací, jako např. otravy olovem. [31] Z dalších vitamínů mohou být zdrojem thiaminu, riboflavinu, niacinu, vitamínu B₆, K a E. Mohou být také bohaté na mangan, draslík a mohou sloužit i jako zdroj vápníku, jodu, hořčíku, mědi, železa a fosforu. Kromě výše uvedených látek jahody obsahují polyfenolické fyto-sloučeniny. [24] Množství živin a bioaktivních sloučenin je značně ovlivněno podmínkami pěstování, způsobem hnojení, regionálními a klimatickými podmínkami, stupněm zralosti, genotypovými odlišnostmi a posklizňovými procesy. Některé ze studií se zabývaly právě posklizňovými podmínkami, především vlivem teploty a relativní vlhkosti (RH) při skladování jahod na jejich kvalitu, jak vizuální tak biologickou, danou obsahem vitamínu C a polyfenolových sloučenin. Vzhled plodů byl nejlépe hodnocen při teplotě 0,5°C, nejhůře při 20°C, kde se již objevovaly známky znehodnocení z důvodů napadení plísní. Dále byl pozorován váhový úbytek u nebalených jahod při teplotě 20°C okolo 16 a 23 % po 3, respektive 4 dnech. V porovnání baleným ovocem byl tento úbytek 4x větší. Při teplotách 0,5 a 10°C bylo červené zbarvení relativně stabilní, ale při teplotě 20°C se plody zbarvily tmavě červeně. Což je důkazem, že při vyšších teplotách dochází k rychlejšímu zrání a také k větší akumulaci antokyanů. Obsah kyseliny askorbové zůstal po dobu dvou dnů stabilní při teplotě skladování, ale následně došlo k jeho poklesu při teplotách 0,5° a 20°C. Vyšší koncentrace kyseliny askorbové byla zaznamenána při 10°C. Celková koncentrace flavonoidů souvisí s podmínkami skladování, nejlépe vyhovuje RH 95 % a teplota 20°C. Celková antioxidační aktivita nebyla ovlivněna hodnotami RH, ale byla vyšší při 10°C v porovnání s dalšími teplotami. V souhrnu, provedená studie odhalila jako nejlepší teplotu pro uchování vizuální kvality jahod 0,5°C, přijatelné kvality je dosaženo též při uchování kolem 10°C po krátkou dobu, cca 4 dny. Při této teplotě je zrání ovoce však zpožděno, v porovnání s teplotou 20°C, ale poskytuje užitečnou rovnováhu mezi vizuální kvalitou a nutriční hodnotou. [32]

Jahody jsou plodem jahodníku (*Fragaria*), který potřebuje mírné hnojení a zavlažování a téměř neutrální pH půdy (6 - 6,5). Plody mohou být kontaminovány půdou a vzduchem, poměr kadmia v půdě a pH půdy pozitivně souvisí s obsahem kadmia v ovoci. [26, 27]

Mnoho epidemiologických studií ukazuje, že strava bohatá na ovoce a zeleninu je často spojena s nižším výskytem některých chronických patologií, zahrnujících obezitu, diabetes 2. typu, zánět, kardiovaskulární a neurologické onemocnění a rakovinu. Bobulovité ovoce, včetně jahod, hraje v této oblasti důležitou roli z důvodu vysokého obsahu bioaktivních sloučenin, tj. vitamínu C, kyseliny listové a fenolových složek, vyjadřováno jako relativní antioxidační kapacita. Fenolové sloučeniny, fytsloučeniny, nemají u rostlin a lidí esenciální či biologické funkce. Hlavní skupinu těchto sloučenin zastupují flavonoidy (hlavně antokyany), následovány hydrolyzovatelnými taniny a fenolovými kyselinami (hydroxybenzoová a hydroxykysliční kyselina) s kondenzovanými taniny. [24] Antokyany zodpovídají za atraktivní barvu jahod a bývají velmi důležité pro hodnocení zralosti. Během zrání dochází k proměně profilu obsahu antokyanů, k jejich akumulaci dochází v „red stage“ (stadium optimální zralosti) shodující se s červeným zbarvením ovoce, malý obsah antokyanů lze nalézt v růžově zbarveném ovoci a žádný obsah v zelených plodech. Mezi hlavní antokyany, které se mohou vyskytovat v jahodách, patří pelargonidin - 3 - glukosid, s kyanidin - 3 - glukosidem a pelargonidin - 3 - rutinosidem jako minoritními sloučeninami. Tyto sloučeniny tvoří 52 % až 92 % celkového obsahu flavonoidů jahod. [24, 28] Kromě glukosy a rutinosy, které jsou obvyklými substituujícími sacharidy, se v menší míře objevují i arabinosa a rhamnosa. [28] Hydrolyzovatelné taniny zahrnující ellagotaniny a gallotaniny po hydrolyze uvolňují kyselinu ellagovou s možnými chemoprotektivními a antioxidačními účinky, která se nachází nejen v bobulovém ovoci (jahodách, malinách a ostružinách), ale i např. v ořechách. [26] Z ostatních fenolových sloučenin, které tvoří pouze malou část bioaktivních látek jahod, je třeba zmínit především flavanoly a flavanoly. Flavanoly jsou deriváty kvercetinů a kemferolu, nejhojněji se vyskytují deriváty kvercetinů. Flavanoly jsou třídou flavonoidů, které se přirozeně neobjevují jako glykosidy. Mohou se vyskytovat jako monomery (katechiny) či v polymerní formě zvané kondenzované taniny [24] nebo prokyanidiny, které dodávají jahodám jejich typickou chuť. [29]

Antioxidační účinky (kapacita) ovoce úzce souvisí s přítomností sloučenin, tzv. antioxidantů, ty dokážou zachytit volné kyslíkové radikály. Kromě toho v dnešní době se polyfenolům připisuje role tzv. signálních molekul, zahrnutých v modulaci signálních drah a tím ovlivňují buněčnou funkci a genovou expresi. [29] Právě bobulové ovoce je řazeno díky svému obsahu vitamínu C a fenolových sloučenin mezi nejlepší zdroje antioxidantů. Jejich celková antioxidační kapacita je 4x větší v porovnání s dalším ovocem, 10x větší než u zeleniny a 40x větší než u cereálií. Samotné jahody mají antioxidační kapacitu větší než jablka, broskve, hrušky, grepy, pomeranče nebo kiwi. Vitamin C je zodpovědný za více než 30 % z celkové antioxidační kapacity jahodového extraktu, následován antokyany s 25 – 40 %, zbytek je tvořen příspěvkem hlavně derivátů kyseliny ellagové a flavanolů. Antioxidační kapacita má stejnou tendenci jako obsah fenolových sloučenin, tedy největší kapacita i množství se nachází ve zralém ovoci a naopak, a souvisí také s podmínkami skladování (teplota skladování je rozhodující pro stabilitu fenolových antioxidantů) či posklizňovou úpravou. [24] Polyfenolové sloučeniny mohou snižovat riziko kardiovaskulárního onemocnění, zvyšovat hladinu HDL cholesterolu a snižovat systolický krevní tlak. Jedním z možných mechanismů působení proti KVO je již zmiňovaná antioxidační kapacita.

V testech prováděných in vitro byla pozorována lokalizace antokyanů bobulí v lipoproteinových oblastech nebo buněčných membránách, které obecně slouží jako cíle pro peroxidaci lipidů. Tato lokalizace by mohla být brána jako důkaz ochranné interakce flavonoidů s lipidovou dvojvrstvou. Studie provedené in vivo vycházejí částečně z přesvědčení, že antioxidanty mohou mít důležitý význam v zachování endoteliální funkce, tedy preventivně působí proti změnám endoteliálních buněk, které jsou spojeny s cévním onemocněním. [31] Onemocnění kardiovaskulárního systému je součástí tzv. metabolického syndromu, zahrnujícího také zvětšený obvod pasu, zvýšený krevní tlak, dyslipidemii, zvýšenou glykémii, a především zánět či aterosklerotické změny kardiovaskulárního systému. Antokyaniny bobulovitého ovoce mohou být jedny z hlavních bioaktivních sloučenin zlepšujících dyslipidemii. V jedné ze studií bylo prokázáno, že přidání jahod do stravy osob s metabolickým syndromem a zvýšeným cholesterolem významně snížilo hladinu celkového a LDL cholesterolu, ale nemělo vliv na triglyceridy, HDL či VLDL cholesterol. Např. ve studiích prováděných na zvířatech byly do jejich stravy přidávány čisté antokyaniny jahod, které působily preventivně proti rozvoji dyslipidemie a obezity. [30] Studie prováděné u lidí dlouhodobě užívajících antokyanový extrakt borůvek a černého rybízu, případně jejich kombinaci, prokázaly zvýšení hladiny HDL cholesterolu a snížení krevního tlaku. [24] Bohužel, ve studii prováděné s lyofilizovanými jahodami při krátkodobém podávání nebyly složky metabolického syndromu u lidí nijak ovlivněny, je tedy potřeba dalších studií, které by byly prováděny dlouhodobě. [30] Jak již bylo výše zmíněno, kromě antioxidantních účinků má bobulové ovoce (zahrnující i jahody) i chemoprotektivní účinky díky obsahu kyseliny ellagové a jejich derivátů nebo proantokyanů. I zde existuje několik mechanismů působení. Jedním z možných způsobů, jak bioaktivní sloučeniny jahod mohou zabraňovat mutagenézi a rakovinnému bujení, je jejich schopnost odstraňovat sloučeniny obsahující reaktivní kyslík a snižovat oxidační poškození DNA, stimulovat antioxidantní enzymy, potlačit tvorbu karcinogenně indukovaného DNA adduktu a zvýšit DNA opravy. Z těchto schopností plyne, že i v obraně proti rakovině hraje hlavní roli antioxidantace. [24]

2.5 Instrumentální techniky prvkové analýzy

Pro analýzu prvků v potravinách lze použít různé techniky jako atomovou emisní spektrometrii (AES), atomovou absorpční spektrometrii (AAS), atomovou emisní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES) a hmotnostní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). [17] Nejčastěji je k těmto účelům, ať už stanovení prvků či těžkých kovů v půdě nebo biologickém materiálu, využívána AAS, metody ICP-AES nebo ICP-MS jsou méně časté, i přesto že analýzy urychlují. Důvodem může být větší finanční náročnost pořízení přístroje, udržování chodu a samotných analýz. [7, 36] V poslední době ale přibývá prací, které využívají ICP-MS, hlavně díky jejím specifickým charakteristikám: nízké detekční limity, schopnost více prvkové detekce, široký lineární dynamický rozsah a další. [13, 17]

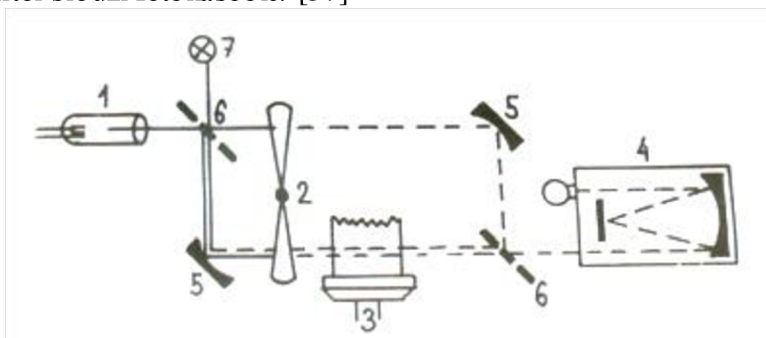
2.5.1 Atomová absorpční spektrometrie AAS

Principem metody je absorpce elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu s následnou excitací elektronu. Absorbované záření musí splňovat podmínku —,

—, kde E_0 je energie základní hladiny a E_1 , E_2 jsou energie excitovaných hladin. Je tedy vhodné použít jako zdroj záření prvek, který chceme stanovit. Dojde k absorpci pouze

části záření, která odpovídá svými vlnovými délkami rezonančním čarám. Pro měření se vybere čára, kde je absorpce záření největší. [37] Absorpce záření je úměrná koncentraci atomů prvku v plynné fázi a propuštěné záření se detekuje citlivým detektorem. Neabsorbované záření prochází mřížkovým monochromátorem a dopadá na fotonásobič. Vzniklý signál se po digitalizaci vyhodnotí v závislosti na koncentraci atomů. [38]

Instrumentace: Na obrázku 4 je znázorněno schéma uspořádání jednotlivých částí přístroje AAS. Jako zdroj záření se používá výbojka s dutou katodou, čímž je kovový váleček. Anodu tvoří wolframový nebo molybdenový drát. Lampa je plněna argonem nebo neonem. Při výboji vznikají ionty vzácného plynu, které bombardují kov, uvolněné atomy kovu jsou excitovány a při deexcitaci vysílají záření. K převedení vzorku do stavu volných atomů slouží atomizátor, plamenový nebo elektrotermický. U plamenového atomizátoru je aerosol vzorku vnášen plynem do plamene, kde se atomizuje. Dnes se používají převážně dva druhy plamenů: plamen vzduch - acetylen a oxid dusný - acetylen. Elektrotermickým atomizátorem je trubice vyhřívána elektrickým proudem, kde prochází záření. Hlavní součástí monochromátoru je mřížka. Jako detektor slouží fotonásobič. [37]



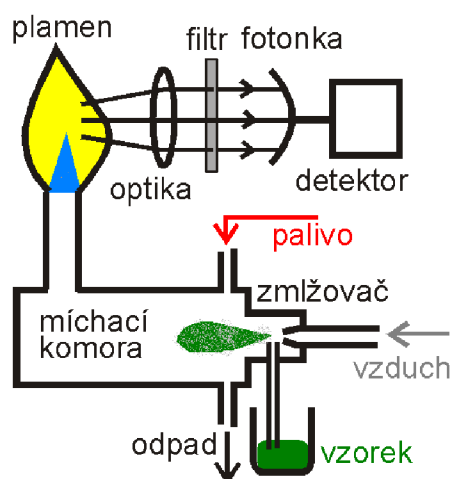
Obr. 4: Schéma AAS [50]
 1 – výbojka s dutou katodou
 2 – modulátor paprsku
 3 – absorpční zóna (plamen nebo elektrotermický atomizátor)
 4 – monochromátor a detektor
 5 – dutá zrcadla
 6 – polopropustná zrcadla
 7 – deuteriová lampa

2.5.2 Atomová emisní spektrometrie AES

Tato analytická metoda je založena na sledování emise elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu. Intenzita spektrální čáry je úměrná obsahu prvku.

Instrumentace: Optický emisní spektrometr se skládá z budícího zdroje, vlastního optického spektrometru a elektroniky s výpočetním systémem, viz obr. 5. Budící zdroj dodává energii k tomu, aby byl vzorek převeden nejdříve z tuhé fáze nebo roztoku do plynné fáze, kde pak nastane atomizace a excitace elektronů. Jako budící zdroj může sloužit jiskrový výboj, obloukový výboj či plazmový zdroj. Jiskrový výboj je krátkodobý elektrický výboj, který se opakuje. Využívá se hlavně pro kvalitativní analýzu kovů. Obloukový výboj je trvalý elektrický výboj mezi dvěma elektrodami. Katoda je z kovového vzorku. Díky své citlivosti je vhodný ke stanovení stopových prvků a kvalitativní analýze. V dnešní době se ale již nepoužívá. Jako

plazmový zdroj se používá indukčně vázaný plazmový výboj ICP. Jedná se o stále se rozvíjející metodu. Plazma vzniká působením vysokofrekvenčního elektromagnetického pole pomocí indukční cívky v prostředí argonu. Velkou předností je možnost analýzy velmi malých vzorků a nekovových materiálů s vysokou citlivostí. Vlastní optický spektrometr rozkládá záření z budícího zdroje na jednotlivé spektrální čáry a měří jejich intenzitu. Záření jednotlivých vlnových délek dopadá na výstupní štěrbinu (štěrbiny). Intenzita záření je měřena fotonásobičem, který je umístěn za výstupní štěrbinou. Sekvenční optické emisní spektrometry obsahují monochromátor, který měří pouze jednu vybranou spektrální čáru stanovovaného prvku. Simultánní optické emisní spektrometry („kvantometry“) měří současně pevně nastavené vybrané spektrální čáry. Obsahují více výstupních šterbin, místo monochromátoru mluvíme o polychromátoru, za kterými jsou fotonásobiče. Díky takovému uspořádání může být měřeno až několik desítek prvků najednou. Výsledky jsou získávány rychleji, ale přístroj je dražší. [37]



Obr. 5: Schéma atomové emisní spektrometrie [51]

2.6 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS

ICP-MS je spojením argonové ICP-techniky s horizontálním hořákem jako zdrojem iontů s kvadrupólovým nebo průletovým hmotnostním spektrometrem, sloužícím k separaci iontů podle poměru hmotnosti a náboje m/z . Ionizované částice procházejí soustavou mechanických clon a elektronové optiky při extrémně nízkém tlaku do hmotnostního spektrometru. [38] Hlavním problémem dříve bylo vyřešit spojení zdroje kladně nabitých částic (indukčně vázaného plazmatu) a hmotnostní spektrometrie, aby byl umožněn pohyb nabitých iontů z prostředí atmosférického tlaku (kde se nachází hořák) do prostředí s vysokým vakuem (kde je umístěn detektor iontů). [36]

2.6.1 Historie

O prvních možnostech, které technika ICP-MS nabízí, je zmíněno v publikaci od Houka et al., z roku 1980, což mělo vliv na vznik prvních komerčních přístrojů. Tyto systémy byly odvozeny ze dvou stávajících technologií - argonové ICP (používaná již v ICP-OES) a kvadrupólového hmotnostního spektrometru. Výkony prvních technologií byly působivé, ale přístroje velmi

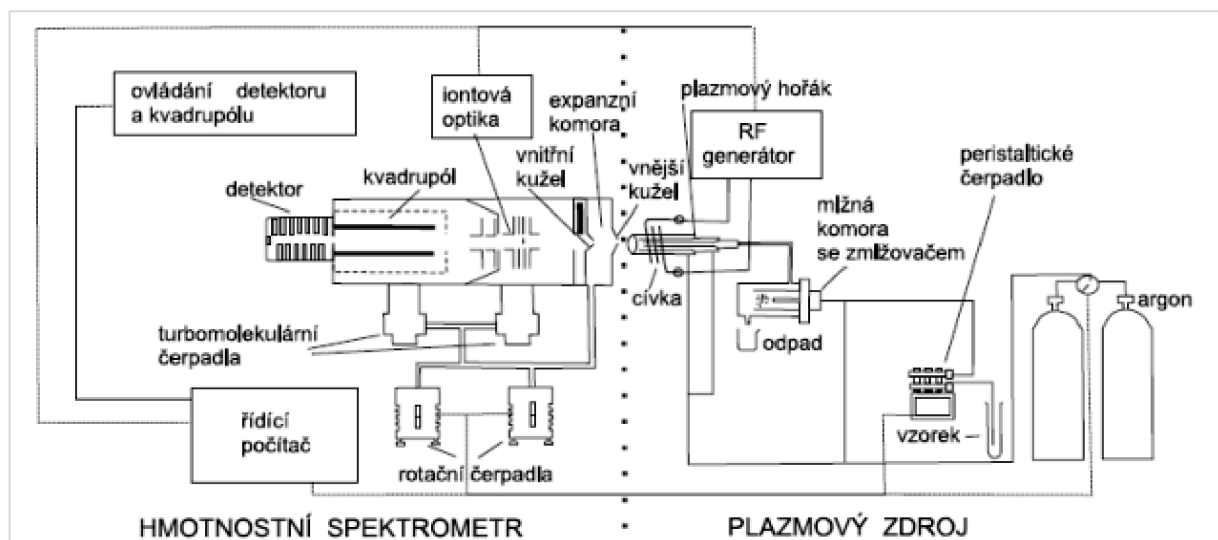
drahé, velké, složité, omezeně automatizované a s velkou odchylkou signálů. Dnes jsou tyto nedostatky odstraněny a přístroje vynikají:

- širokým prvkovým pokrytím (prakticky všechny prvky lze měřit ICP-MS, včetně alkálií a alkalických zemin, přechodových a jiných kovů, prvků vzácných zemin, většiny halogenů a některých nekovů)
- výkonem (vysoká citlivost a nízké signály pozadí spojené s nízkými detekčními limity, ve většině případů ppt)
- rychlostí analýzy (vysoká rychlost skenování kvadrupólového analyzátoru, měření kompletní sady prvků trvá jen asi 4 minuty na vzorek)
- nízkými limity detekce, v některých případech o dva až tři řády nižší než u emisní spektrometrie [41]
- širokým analytickým pracovním rozsahem, který přesahuje až šest řádů [39, 41]
- poskytováním informací o izotopech
- vynikajícím chromatografickým detektorem. [39]

Původně tyto přístroje vznikly pro potřeby geologických, oceánologických a ekologických laboratoří, další použití našly i v průmyslu, medicíně, u armády, policie či akademických pracovníků ve všech oborech, převážně zabývající se anorganickou prvkovou analýzou. [36]

2.6.2 Instrumentace

ICP-MS přístroj je složen ze základních částí jako je plazmový zdroj, spojení neboli expanzní komora a hmotnostní spektrometr tvořený iontovou optikou, kvadrupólem a detektorem. Obr. 6 ukazuje uspořádání a spojení jednotlivých částí přístroje.

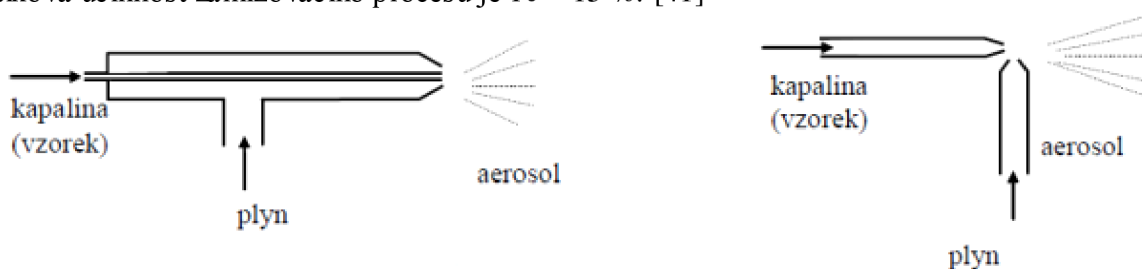


Obr. 6: Schéma přístroje ICP-MS [36]

2.6.2.1 Přívod vzorku a tvorba iontů

Vzorek je do indukčně vázaného plazmatu obvykle zaveden ve formě aerosolu, který vzniká průchodem kapalného vzorku přes jednoduchý pneumatický rozprašovač (nebulizér), cca 1 ml/min [40]. Výběr vhodného zmlžovače je závislý na spotřebě vzorku, charakteru aerosolu,

vlastnostech roztoku nebo suspenze. Mezi nejvíce používané patří koncentrický, který je náchylný k poškození suspenzí přítomné v nedokonale mineralizovaných vzorcích, nebo pravoúhlý. [36] Schematické znázornění těchto dvou typů je na obr. 7. Principem vzniku aerosolu je působení kinetické energie pracovního plynu, který vytéká z trysky rychlostí vyšší než je rychlost protékající kapaliny. [41] Sprejové komory jsou většinou vyrobeny z čistého křemene a stabilní vysoká teplota je zde udržována termoelektrickým zařízením, které zabraňuje signálovým odchylkám způsobeným rozsáhlými změnami v teplotě a také redukuje zatížení rozpouštědla na plazmě, což vede k vyšší teplotě plazmy a snížení interferencí oxidů. [39] Mezi nejefektivnější způsoby v poslední době patří ultrazvukový zmlžovač, který produkuje vibracemi piezoelektrické membrány mnohem jemnější aerosol než ostatní zmlžovače, čímž zvyšuje citlivost vlastního stanovení. [36] Větší kapky aerosolu jsou z proudu plynu odstraněny, jsou roztrženy vlivem nárazu na zakončení komory, a zbývající malé kapičky (částice $< 5 \mu\text{m}$) [36] jsou vtaheny do centrálního kanálu argonového plazmatu vlivem gravitace a turbulencí v proudu aerosolu. [39, 41] Tento proces probíhá v tzv. mlžných komorách, nejčastěji vyrobených z plastů odolných vůči různým chemikáliím, včetně kyseliny fluorovodíkové a organických rozpouštědel. Celková účinnost zmlžovacího procesu je 10 – 15 %. [41]

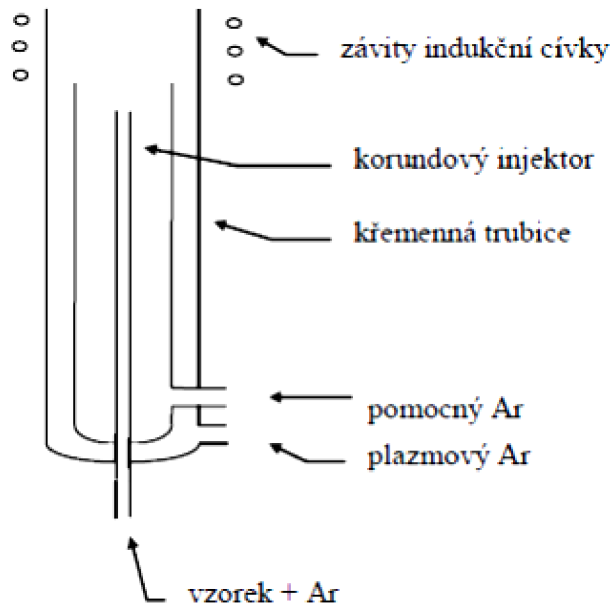


Obr. 7: Koncentrický a pravoúhlý zmlžovač [49]

2.6.2.2 Plazma

Samotné plazma vzniká v plazmovém hořáku díky radiofrekvenčnímu generátoru (s příkonem 750-1 500 W) [41], kde obvyklá frekvence je 27 nebo 40 MHz, a indukční cívce v proudu argonu. [40] Cívka má tři až pět dutých měděných závitů, které jsou chlazeny průtokem vody nebo argonu. [41] Tento plazmový hořák bývá identický s plazmovým hořákem používaným v ICP-OES. [36] Je tvořen třemi křemennými trubicemi (vnější, střední a injektor), schéma a vstup jednotlivých plynů je na obr. 8. V prostoru mezi vnější a střední trubicí protéká argon, tzv. plazmový plyn, rychlostí okolo 12 - 17 l/min, který vytváří výboj. Mezi střední trubicí a injektorem protéká pomocný plyn, střední plazmový, rychlostí přibližně 1 l/min, který slouží pro změnu polohy základu plazmatu vzhledem k trubicí a injektoru, jednoduše stabilizuje výboj. Nosný plyn vytváří analytický kanál a vnáší aerosol rychlostí 1 l/min. Injektor bývá zkonstruován i z jiných materiálů než jen z křemenného skla, např. hliníku, platiny, safíru. [40] Vznik plazmatu je podmíněn fluktuacemi elektrického pole v prostředí indukční cívky. Konstrukce cívky ovlivňuje vlastnosti plazmatu. Indukčně vázané plazma je velmi dobrým zdrojem iontů, jeho teplota (až 10 000 K, většinou 7 000 až 8 000 K) je schopna ionizovat většinu prvků. V prostředí argonu dochází ke kolizím jednotlivých částic- elektronů a iontů, které tvoří vlastní plazma. Průchodem aerosolu vzorku plazmatem vzniká pára, následně atomy a ionty. Minimální energie, která je potřebná pro ionizaci molekuly (atomu), se nazývá energie ionizační, případně ionizační

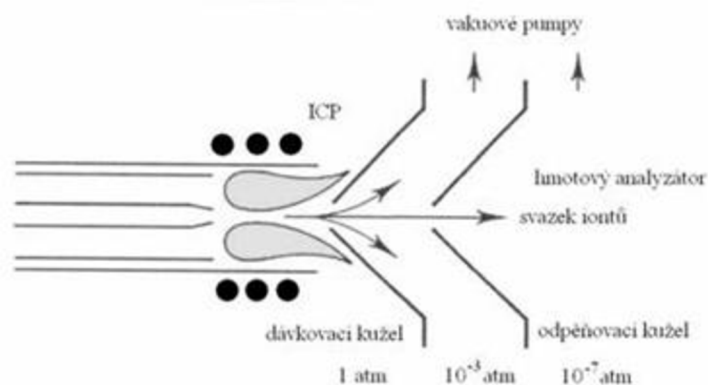
potenciál. Velká skupina prvků má ionizační potenciál menší než argon a získá v plazmatu s teplotou 8 000 K energii nutnou k vytvoření kladně nabitých iontů. Tyto prvky můžeme pomocí plazmatu ionizovat a následně analyzovat. Ostatní prvky, např. fluor nebo vzácné plyny, ionizovat a měřit v tomto prostředí nelze. [36]



Obr. 8: Plazmová hlavice [41]

2.6.2.3 Interface

Přechod iontů z plazmového výboje v prostředí atmosférického tlaku do vakuové části hmotnostního spektrometru je nejkritičtější fází analýzy [41] a schematicky je znázorněn na obr. 9. Kladně nabitě ionty vyráběné v plazmě jsou extrahovány do vakuového systému přes dvojici kónusů, které tvoří tzv. expanzní komoru. Kónusy jsou v podstatě kovové desky (nejčastěji z niklu nebo platiny) s centrálními otvory a chlazeny vodou. Malé otvory, typicky průměr 1 mm nebo méně, jsou používány k udržení vysokého vakua v regionu hmotnostního spektrometru. Tlakový gradient na obou stranách děliče tlaku vytváří paprsek ionizovaných částic, který vstupuje do vlastního spektrometru. [36, 39] Přes otvor prvního kónusu, tzv. sampleru, expanduje plazma do oblasti s pod tlakem řádově až stovek pascalů. Tohoto stupně vakua je dosaženo pomocí mechanické pumpy. Otvorem druhého kónusu, tzv. skimmeru, prochází centrální tok iontů do vlastního hmotnostního spektrometru a vytváří iontový paprsek. Uvnitř spektrometru je dosaženo velikosti vakua až 10^{-4} Pa za použití kombinace mechanické a turbomolekulární pumpy. [41]



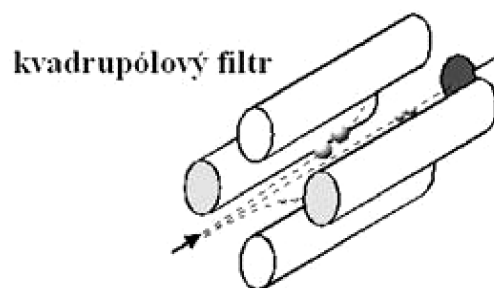
Obr. 9: Znárodnění interface ICP-MS [52]

2.6.2.4 Iontová optika

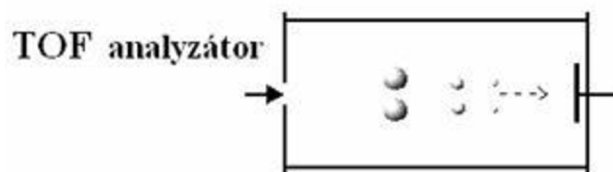
Úlohou iontové optiky je rozostření iontového svazku tak, aby obešel pohlcovač fotonů, poté ho opět zaostřit a urychlit do kvadrupólového separátoru. [36] Iontová optika je tvořena fotonovou zářkou, která brání fotonům z plazmatu vstoupit na detektor, který je na dopad fotonů citlivý. Druhou částí iontové optiky je čočka tvořena jednou nebo více elektrodami ve tvaru dutého válce. Elektrické pole těchto elektrod vychyluje dráhu iontů a do iontového filtru přivádí ionty s úzkým rozdělením kinetické energie. Iontová čočka ovlivňuje citlivost stanovení, měla by být optimalizována pro každou skupinu analyzovaných prvků s podobnou atomovou hmotností. [41]

2.6.2.5 Hmotnostní separátor

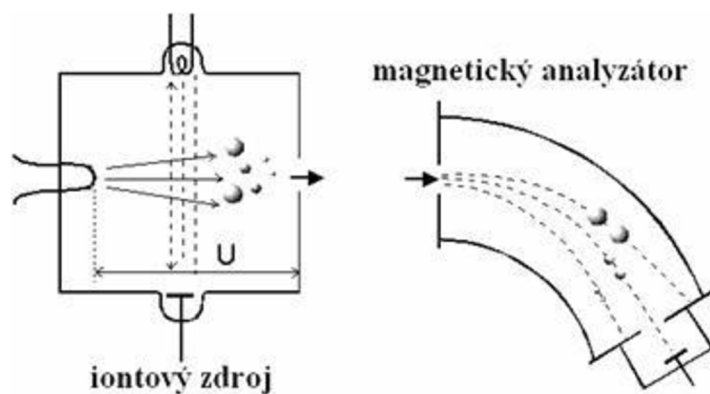
Tři typy hmotnostních analyzátorů mohou být použity u techniky ICP-MS, jsou to kvadrupól, magnetický separátor nebo TOF analyzátor (Time of flight). [39] Magnetický analyzátor (obr. 12) zaostřuje podle hybnosti částice k jejímu náboji, požadavku zaostření podle poměru hmotnosti a náboje lze dosáhnout pouze za předpokladu jednotné kinetické energie analyzovaného svazku iontů. V průletovém analyzátoru (analyzátor doby letu TOF), viz obr. 11, jsou ionty vypuštěny do urychlovací sekce, kde jsou urychleny elektrostatickým polem a pak postupují oblastí bez pole. Jejich rychlost je závislá na urychlovacím napětí, jejich hmotnosti a náboji. K separaci iontů dochází podle rychlosti a tedy průletového času. [38] Jedním z nejčastěji používaných separátorů ICP-MS je kvadrupól. [39] Kvadrupólový analyzátor je tvořen čtyřmi rovnoběžnými tyčemi kruhového průřezu, uspořádanými v podélné ose do čtverce, které oscilací svého elektromagnetického pole umožňují pohyb iontu směrem k detektoru, viz obr. 10. Na dvě úhlopříčně protilehlé tyče je vždy vkládán stejný potenciál ze stejnosměrné a vysokofrekvenční střídavé složky, tedy frekvence oscilace je konstantní, mění se amplituda napětí na tyčích, která umožní průchod iontu v závislosti na jeho náboji a hmotnosti. Filtrem projdou je ty ionty, které se pohybují po tzv. stabilní dráze, ostatní se vybíjejí dotekem s některou tyčí a jsou odstraněny vakuovými pumpami. Tento filtr je schopen dělit ionty bez ohledu na jejich počáteční energii, proto se využívá především při analýze iontů vznikajících s poměrně širokou distribucí energií. Podmínky na kvadrupólu se mění během zlomků vteřiny a umožňují tak analýzu v celém hmotnostním spektru během několika sekund. Tlak v prostoru kvadrupólu dosahuje až 10^{-5} Pa. [36, 38]



Obr. 10: Kvadrupólový analyzátor [49]



Obr. 11: Průletový analyzátor [49]



Obr. 12: Magnetický separátor [49]

2.6.2.6 Detekce

Prošlé ionty dopadají na detektor a jejich signál je zesílen v elektronovém násobiči. Dopadem jednoho iontu zde vzniká kaskádový tok elektronů, který je zaznamenán jako výsledný signál a je dále zpracován. [36] Vzniklá spektra reprezentují vzorek jednoduše a kvalitativně. Velikost každého vrcholu píku je přímo úměrná koncentraci prvku ve vzorku. Kvantitativní výsledky jsou získávány na základě porovnání intenzity signálu se signály, které jsou generované kalibračními standardy. Tlak v prostoru detektoru dosahuje až 10^{-5} Pa. [39]

2.6.3 Spektrální a nespektrální interference

Jak již bylo uvedeno, ICP-MS je velmi dobrou více prvkovou analytickou technikou, ale výsledná spektra mohou být zatíženy řadou interferencí. Tyto nedostatky mohou být v praxi opraveny matematicky nebo použitím přístrojů na základě kolizních/ reakčních cel (tzv. CRC). [39]

2.6.3.1 *Spektrální interference*

Hlavními zdroji spektrálních interferencí v ICP-MS jsou:

- Izobarické interference/ izobarický překryv: Jedná se o jevy spojené s překryvem izobarických iontů ve spektru. Z důvodu snahy o minimalizaci zátěže detektoru jsou některé částice v hmotnostním spektru přeskokovány. Těmito částicemi jsou ty, které se vyskytují v argonovém plazmatu nejčastěji, Ar^+ s hmotnostní jednotkou 40, ArAr^+ hmotnostní jednotkou 80 nebo ArO^+ s hmotnostní jednotkou 56. Potom se ale komplikuje stanovení některých prvků či izotopů, např. K a Ca, izotopy blízké 40; Fe, nejhojnější izotop ^{56}Fe ; Se, nejhojnější izotop ^{80}Se . Tento typ interferencí může být snadno eliminován počítačem. Ještě jednodušším řešením by bylo vybrat jiný izotop, bez rušení, pokud je k dispozici [36, 39]
- Dvakrát nabití ionty vznikají ztrátou dvou elektronů místo jednoho, jak je tomu běžně, a v hmotnostním spektru se projeví s poloviční hodnotou mateřského iontu, např. $^{140}\text{Ce}^{++}$ se projeví v hmotnostním spektru na pozici zdánlivě odpovídající $^{70}\text{Zn}^+$). Poměr mezi ionty nesoucími jeden nebo dva náboje je exponenciálně závislý na poměru prvního a druhého ionizačního potenciálu. Tento poměr lze však ovlivnit, snížit, vhodným nastavením měřicích podmínek, podmínek plazmy a hořáku. [36, 39]
- Polyatomové částice mohou vzniknout z prvků pocházejících z nosného plynu, matice vzorku a/nebo rozpouštědla vzorku, a nemají dlouhou životnost. Nejčastěji tyto částice tvoří Ar, O, C, N, H a další ionty. Přítomnost chloridů, síranů a fosforečnanů může také způsobit vznik nežádoucích interferencí. Problém interferencí byl u nově konstruovaných přístrojů odstraněn pomocí cely, kde kolizemi s He, CH_4 nebo NH_3 dochází k rozbití interferujících částic. Z důvodu předcházení interferencí se jako základní rozpouštědlo používá 1-5% roztok HNO_3 , který zajistí stabilitu iontů. Při běžných analýzách je však většina předpokládaných interferencí minimalizována vhodným nastavením parametrů zmlžovače a iontové optiky. [36, 41]
- Oxidové a hydroxidové ionty: Nejčastěji se jedná o vznik monoxidů a monohydroxidů MeO^+ a MeOH^+ . Oxidy vznikají nedokonalou atomizací vzorku nebo rekombinací atomů kovů se vzdušným kyslíkem a kyslíkem vzniklým disociací vody (voda slouží jako základní rozpouštědlo pro přípravu vzorků). Tvorba oxidových iontů může velice ztížit či dokonce znemožnit stanovení. Proto i stanovení stupně oxidových iontů je jedním ze standardních testů pro správnou funkci přístroje. V redukci oxidovaných iontů je účinná desolvatace aerosolu za pomoci jeho prudkého ohřevu s následným ochlazením nebo přidavek dusíku do plazmatu. Principem těchto opatření je odstranění kyslíku z plazmatu. Dalším možným způsobem je ovlivnění velikosti průtoku argonu zmlžovačem, kdy jeho snížením lze snížit i tvorbu oxidů a hydroxidů. Tento postup je však doprovázen snížením citlivosti stanovení. [41]

2.6.3.2 *Nespektrální interference*

Tento druh interferencí, nejčastěji se jedná o potlačení signálu, mohou vyvolávat matriční prvky ovlivněním energetických poměrů a ionizační rovnováhy plazmatu. [36] Další možností je

vliv celkového množství rozpuštěných látek ve vzorku. Vysoké množství rozpuštěných látek blokuje otvory vstupních kónusů a tím způsobuje významný posun signálu. Proto by obsah rozpuštěných látek ve vzorku neměl překročit hodnotu 2 000 mg/l. [41] Jednotlivé vlivy způsobující nespektrální interference je možno potlačit několika způsoby: měřením pomocí externího standardu (metoda standardního přídávku), pomocí interního standardu a metodou izotopového měření. Externí standard či standardní přírůvek zajišťuje stejné podmínky při měření standardu a vzorku. Interní standard je izotop, během jehož měření může reagovat řídicí systém na změny ve stabilitě signálu přístroje. Tak jsou opravovány výchytky změřené koncentrace analytu vzniklé náhodnou nestabilitou přístroje. Interní standard by měl být dobře ionizovatelný prvek, který se ve vzorku nevyskytuje, nejčastěji ^{115}In , ^{45}Sc , ^{209}Bi nebo ^{103}Rh . Ideální je použití jednoho z izotopů analyzovaného prvku, pak se jedná o metodu izotopového měření. Tato metoda je velmi pracná a náročná, ale velmi přesná. Proto je používána pro analýzu referenčních materiálů a vzorků vyžadujících vysokou přesnost stanovení. [36]

2.7 Mineralizace vzorku

Při důkazu a stanovení prvků, ze kterých se skládá organická matrice, je třeba vzorek nejprve mineralizovat, převést do roztoku. Doporučené postupy rozkladu vzorků potravin uvádí norma ČSN 56 0065 „Metody mineralizace vzorků před stanovením obsahu těžkých kovů v potravinách“. Mineralizovat je možné na mokré či suché cestě.

Mineralizace na mokré cestě je procesem oxidačního rozkladu v silně kyselém prostředí, může být prováděn v otevřeném či uzavřeném systému. V uzavřeném systému může být mineralizace vysokotlaká nebo nízkotlaká. Používaný ohřev může být tepelný nebo mikrovlnný. [34] Nejrozšířenější mineralizací za použití kyselin byla dříve Kjeldahlova metoda, s použitím koncentrované kyseliny sírové, katalyzátoru, látky zvyšující bod varu, pro stanovení dusíku v organických materiálech, ale dnes se v analytické praxi používá minimálně. Je nahrazována elektrickým ohřevem za definované teploty. Tepelný zdroj a rozkladné nádoby (zkumavky, kádinky, baňky) se volí tak, aby byl zajištěn rychlý a rovnoměrný přesun tepla. [33, 35] K mineralizaci na mokré cestě lze použít kyselinu sírovou, dusičnou, fosforečnou, případně v kombinaci s peroxidem vodíku. Mineralizace kombinací kyseliny sírové a peroxidu vodíku se využívá k přípravě mineralizátu rostlinného materiálu pro stanovení N, P, K, Ca, Mg a Na. Dále je možné stanovit Fe, Al, Mn, Cu, Zn, B. Mineralizace kyselinou sírovou (katalytické působení Se a Cu) je určena pro přípravu mineralizátu rostlinného materiálu ke stanovení N, není možné stanovit Cu a K. Kromě koncentrované kyseliny a katalyzátorů Se a Cu se přidává i síran draselný pro zvýšení bodu varu. Mineralizace kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku je využívána pro stanovení P, Ca, Mg a Na, možno dále stanovit Fe, Al, Mn, Cu, Zn a B, případně další prvky. Probíhá oxidace peroxidem vodíku v prostředí koncentrované kyseliny za varu. Mineralizace mikrovlnným ohřevem pro stanovení P, K, Ca, Mg a Na, dále Fe, Al, Mn, Cu, Zn a B je založena na oxidaci vzorku peroxidem vodíku v prostředí koncentrované kyseliny v uzavřeném systému za kontrolovaného nárůstu teploty a tlaku regulovanou absorpcí mikrovlnného záření [34] Tento způsob mineralizace je v porovnání s postupy při atmosférickém tlaku rychlejší. Tlakový rozklad je řazen mezi modernější a rychlejší způsoby rozkladu, prováděný v uzavřeném systému, např. v uzavíratelných teflonových či křemenných reakčních nádobách umístěných ve vnějším plášti. [35]

Mineralizace suchou cestou využívá spálení či tavení s následným rozpuštěním ve vhodné kyselině či kombinaci kyselin. Tavení se nejčastěji používá při kvalitativní analýze, stanovení halogenů. Provádí se v malých baňkách za přídavku sodíku nebo draslíku, případně peroxidu sodíku s přídavkem glukózy, sacharózy, etylenglykolu, dusičnanu draselného v Parrové-Wurzschnidtové niklové tlakové bombě. [35] Spalování je oxidace organické látky kyslíkem při zvýšené teplotě (450 - 550°C), případně za přídavku katalyzátorů. Tento způsob mineralizace se nejčastěji používá pro stanovení C, H, N, S a halogenů. Spalování probíhá ve spalovacích trubcích, baňkách, bombičkách nebo hořácích nebo v muflové peci s postupným zvyšováním teploty, tak aby nedošlo ke ztrátám stanovovaných prvků. Proces probíhá ve čtyřech fázích: sušení, zuhelnění, zpopelnění a rozpouštění popela ve vhodné zředěné kyselině. Tento způsob se využívá ke stanovení B, Mo, Cu, Zn, Mn, Fe, Al, Cd, Pb, Cr, Ni, Co a Be. Nejkritičtější fází je zuhelnění, může dojít k přehřátí vzorku v důsledku exotermních dějů a pak dochází ke ztrátám analytu těkáním. [34, 35]

Mineralizace je velmi častou příčinou kontaminace vzorku, je proto třeba dbát a volit během přípravy zařízení a chemikálie takové, které by vzorek kontaminovaly co nejméně. Při mletí vzorku je třeba použít vhodné mlecí elementy. Příkladem kontaminace niklem a chromem může být použití nerezových součástí, v případě hliníku potom korundové součásti, apod. [34]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Pomůcky

- Petriho misky
- Keramický nůž
- Plastové prkénko
- Třecí miska s tloučkem
- Kádinka na DEMI vodu
- Kádinky (50 ml)
- Pipety 10 ml, 2 ml
- Mikropipety
- Odměrné baňky (25 ml)
- Plastové zkumavky (10 ml)
- Filtrační papír pro kvantitativní analýzu
- Filtrační nálevky

3.2 Chemikálie

- DEMI voda = deionizovaná voda
- Tekutý dusík
- Kyselina dusičná HNO_3 67 % pro prvkovou analýzu, výrobce: Analphure SD, Analytika Praha spol. s. r. o.
- Peroxid vodíku H_2O_2 min. 30 % pro prvkovou analýzu, výrobce: Analytika Praha spol. s. r. o.
- Standardní roztoky prvků Na, K, Mg, Ca, V, Li, Ni, Cu, Ba, Pb, Mn, Fe, Zn, Cd, Cr s koncentrací $1,000 \pm 0,002 \text{ g l}^{-1}$, výrobce Analytika Praha spol. s. r. o.

3.3 Přístroje

- Digestoř
- Sušárna BINDER
- Třepačka VWR (Mini Shaker)
- Vařič
- Analytické digitální váhy
- Jednotka pro přípravu ultračisté vody PureLab Classic UV
- ICP- MS Thermo X-seriesQuad (Thermo Elemental, Winsford, UK)
- mraznička

3.4 Vzorky

Vzorky jahod byly zakoupeny v běžných obchodních řetězcích nebo sesbírány na zahradách v ČR během období jaro – podzim roku 2011. Přehled vzorků a jejich země/místa původu jsou uvedeny v tabulce 4. Většina vzorků byla získána v čerstvém stavu, ostatní jako mražené či konzervované, což je také v tabulce uvedeno. Pro uchování vzorků do doby analýzy, byly čerstvé plody zmrazeny (-18°C).

Tab. 4: Přehled jednotlivých vzorků s dobou sklizení/ zakoupení a místa původu

Forma, ve které byly plody pořízeny	Země/místo původu	Doba sklizně/ zakoupení
čerstvé	ČR - Padochov	06/2011
	ČR – Hustopeče nad Bečvou	06/2011
	ČR – Vedrovice u Moravského Krumlova	06/2011
	ČR – Brno, Starý Lískovec	05/2011
	ČR – Brno, Pisárky	06/2011
	ČR – Brno, Líšeň	06/2011
	Španělsko	03/2011
	Maroko	03/2011
	Řecko	05/2011
	Itálie	05/2011
	Německo	09/2011
	Polsko	09/2011
mražené	Belgie	10/2011
konzerva	Španělsko - výrobce Viva	10/2011
konzerva	Čína – výrobce Giana	10/2011
konzervované ve skle	Čína – výrobce Mikádo	10/2011

3.5 Analýza

3.5.1 Příprava vzorků

Jednotlivé vzorky byly nakrájeny na tenké plátky na plastovém prkénku s pomocí keramického nože, aby nedošlo ke kontaminaci kovy. Tyto plátky byly přeneseny na Petriho misky, ve kterých byly sušeny. Během práce musela být optimalizována metoda sušení. Při prvním pokusu, kdy jsme předpokládaly teplotu sušení 36°C po dobu tří dnů, nebylo dosaženo úspěchu. Všechny vzorky byly napadeny plísní. Důvodem byla zvolená teplota, optimální pro růst plísní, a také skutečnost, že jahody díky svému složení, obsahu jednoduchých sacharidů, jsou dobrou výživnou půdou pro plísně. Proto v následujícím pokusu byla zvolena ze začátku vysoká teplota, 75°C, s následným snižováním, aby nedošlo ke spálení. Jednotlivé teploty, při kterých bylo sušeno, jsou přehledně znázorněny v tabulce 5.

Tab. 5: Teploty a doba sušení

teplota T [°C]	doba t
75	90 min
54	90 min
46	40 min
42	20 min
37	25 min
34	50 min
30	48 hod

Vysušené plody byly homogenizovány pomocí třecí misky s tlučkem, pro dokonalejší homogenizaci byl použit tekutý dusík. Z takto vzniklého „jahodového“ prášku bylo na analytických vahách naváženo $\pm 0,3000$ g do 50 ml kádinky, přidáno 12 ml 67 % HNO_3 a 400 μl 30 % H_2O_2 a po dobu 60 min třepáno na třepačce při rychlosti 300 ot/min. Pro dokonalejší rozklad byla směs zahřáta. Po vychladnutí byl roztok filtrován do odměrných baněk o objemu 25 ml a na tento objem doplněn DEMI vodou. Procesy na třepačce, tepelný rozklad a filtrování byly prováděny v digestoři, aby páry, především oxidy dusíku, byly odsávány.

Při manipulaci se vzorky byly vždy použity jednorázové rukavice, aby bylo zabráněno možné kontaminaci. Během celé analýzy byla používána ultračistá voda (tzv. DEMI voda), což je speciálně upravená voda, zbavená nečistot a iontů, pomocí přístroje PureLab Classic UV.

3.5.2 Vlastní měření

Proměření všech vzorků bylo provedeno na hmotnostním spektrometru s indukčně vázaným plazmatem Thermo X-seriesQuad (Thermo Elemental, Winsford, UK) na Fakultě chemické, VUT v Brně. Nastavení přístroje bylo následující: průtok plazmového plynu byl 14,04 l/min, průtok pomocného plynu byl 0,94 l/min, průtok nosného plynu byl 0,97 l/min. Výkon radiofrekvenčního generátoru 1301,96 W. Použití kolizní cely v konfiguraci He/H (8 % vodíku) dovolilo stanovit prvky hmotnostního spektra, které jsou zatíženy spektrálními interferencemi. Pracovním plynem v kolizní cele bylo helium a vodík s průtokem 6,2 ul/min. Kontrolním parametrem účinnosti polyatomových interferencí byl monitoring signálu na hmotě 80, což je polyatomický ion Ar/Ar . Po optimalizaci byl signál na hmotě 80 při měření DEMI vody menší než 500 cps.

Pro kalibraci přístroje byla připravena ze zásobních roztoků prvků kalibrační řada v rozsahu 5 – 200 ppb (pro prvky Ni, Cu, Pb), 50 – 5 000 ppb (pro Mn a Fe) a 500 – 10 000 ppb (pro prvky Na, Mg, K, Ca). U kalibračních křivek byly stanoveny tzv. hodnoty spolehlivosti R, které dosahovaly hodnot 0,999 a vyšší, s výjimkou chromu. Byla získána lineární závislost u všech kalibračních křivek.

Metoda pro stanovení vybraných prvků v jahodách byla ověřena stanovením validačních parametrů. Linearita metody byla zachována v celém měřeném rozsahu. Výťažnost metody byla ověřena recovery testem spikovaných vzorků a pohybovala se od 94,6 (Fe) – 103,2 % (Zn). Detekční limity byly stanoveny analýzou blanku (10 opakování) a jsou uvedeny v tabulce 6. Přístrojová stabilita, resp. opakovatelnost byla ověřena. Všechny vzorky byly měřeny 3x a relativní směrodatné odchylky byly ve všech případech menší než 3 %. Další zpracování výsledků bylo provedeno za pomoci programu Microsoft Office Excell 2007.

Tab. 6: Detekční limity analyzovaných prvků

Cr	2,75 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Mg	2,475 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Fe	0,975 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Zn	3,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$	K	36,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Ni	0,325 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Cd	0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Ca	13,625 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Cu	0,175 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Na	22,425 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Mn	0,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$	Pb	0,05 $\mu\text{g}/\text{kg}$

3.5.3 Přepočet naměřených dat

Většina studií či legislativa udávají zjištěný obsah, resp. NPM (největší přípustné množství) prvků na čerstvou hmotnost jahod či potravin. Ale stanovení obsahu prvků v čerstvém ovoci pomocí ICP-MS není technicky možné. Proto byly proměřením a zpracováním vzorků stanoveny obsahy prvků v jednotlivých vzorcích vztažené na suchou hmotnost jahod, viz tabulky 9 a 10, a následným přepočtem bylo získáno pravděpodobné zastoupení prvků v čerstvých jahodách, tab. 8. Tyto výsledky byly použity převážně pro porovnání výsledků této práce s výsledky ostatních studií a v dalším kroku, aby bylo možné rozhodnout, zda v případě přítomnosti těžkých kovů jsou vzorky zdravotně závadné či nezávadné. V dřívějších studiích, např. [25], [46] a [13], byla provedena analýza vody v čerstvých jahodách a stanovené hodnoty (viz tab. 7) byly využity pro přepočet hodnot v našich analýzách.

Tab. 7: Průměrný obsah vody a sušiny v jahodách

Zdroj, studie	[25]	[46] bio jahody	[46] konvenční jahody	[13]
Množství vody v %	90,95	89,97	90,74	89,9
Průměrné množství vody v %	90,39			
Průměrné množství sušiny %	9,61			

Příklad přepočtu na váhu čerstvých jahod:

Jahody z Padochova – vápník – naměřené množství = 1,63 g Ca na kg suché hmotnosti

V 1kg:

$$\begin{array}{r}
 1,63 \text{ g} \dots\dots\dots 100 \% \\
 \underline{x \text{ g} \dots\dots\dots 9,61 \%} \\
 \text{—} \qquad \qquad \qquad = \underline{157 \text{ mg/kg}}
 \end{array}$$

3.6 Výsledky a diskuse

Následující tabulka 8 přehledně shrnuje stanovené množství jednotlivých prvků ve všech 16 analyzovaných vzorcích. Tato množství jsou uváděna v jednotkách hmotnosti vztažených na čerstvou hmotnost (mg/kg), které jsme získaly přepočtem naměřených dat na přístroji ICP-MS, jehož příklad je uveden výše. Vzorky zahrnovaly jahody z České republiky, zahraničí; plody čerstvé, které byly následně zmrazeny, a plody konzervované ve skle či plechových obalech, a mražené. Dále jsou zde pro porovnání uvedeny výsledky ze studií, které se zabývaly také stanovením některých prvků a toxických kovů v jahodách [42, 43, 44, 45].

Tab. 8: Přehled obsahu prvků v čerstvých jahodách

	Prvek [mg/kg]											
	Na	K	Ca	Mg	Mn	Fe	Zn	Cu	Cr	Cd	Pb	Ni
Padochov	19,89	756	157	69,48	0,86	2,34	0,16	0,312	0,0755	0,0021	0,050	0,250
Hustopeče n. B.	12,49	855	125	78,42	0,97	2,01	0,23	0,196	0,0341	0,0019	0,038	0,205
Vedrovice	4,13	805	167	80,44	1,07	1,32	0,12	0,112	0,0160	0,0013	0,011	0,056
St.Lískovec	10,96	822	180	70,06	1,07	1,28	0,11	0,094	0,0169	0,0013	0,020	0,080
Pisárky	15,47	752	125	58,24	1,39	1,31	0,15	0,190	0,0206	0,0042	0,039	0,274
Líšeň	5,71	718	135	51,22	0,59	1,14	0,14	0,117	0,0318	0,0024	0,026	0,040
Maroko	15,57	971	102	64,00	1,08	1,61	0,16	0,130	0,0378	0,0013	0,025	0,146
Řecko	17,49	1 076	132	85,24	2,60	1,41	0,12	0,212	0,0176	0,0037	0,081	0,170
Itálie	18,74	903	104	62,56	0,76	1,57	0,12	0,151	0,0476	0,0015	0,022	0,121
Německo	8,94	855	156	58,04	1,17	1,55	0,14	0,155	0,0191	0,0036	0,021	0,118
Polsko	8,75	1 019	138	74,29	1,00	1,65	0,13	0,132	0,0172	0,0048	0,018	0,060
Španělsko	13,26	1 028	69	101,96	3,01	1,40	0,19	0,131	0,0134	0,0016	0,011	0,070
Španělsko konz.	16,05	340	143	34,77	0,82	3,80	0,11	0,159	0,0391	0,0041	0,047	4,747
Čína konzerva	23,93	138	214	28,25	1,99	2,07	0,07	0,094	0,0594	0,0029	0,053	0,237
Čína sklo	21,15	264	114	31,42	0,46	1,26	0,11	0,420	0,0503	0,0016	0,037	0,121
Belgie	11,53	1 046	114	81,11	5,54	1,64	0,18	0,169	0,0282	0,0055	0,036	0,217
Chemie potravin [5]	15-30	1500	180-260	120-170	1,4-7,5	3,6-9,6	1,1-1,9	0,54-0,74	< 0,002-0,02	0,001-0,03	0,006-0,09	0,02-0,13
Studie [42, 45]	10	1530	160	130	3,86	4,1	1,4	0,48		0,014-0,034	0,014-0,037	0,068-0,132
Studie [43, 44]			140	100	2,9	3,8	0,33	0,816	0,18	0,021	0,074	

3.6.1 Koncentrace esenciálních prvků v analyzovaných jahodách

Stanovené koncentrace jednotlivých esenciálních prvků v analyzovaných vzorcích jahod, viz tab. 9, jsou uvedeny v jednotkách vztažených na suchou hmotnost. Veškerá následující hodnocení jsou prováděna na čerstvou váhu jahod.

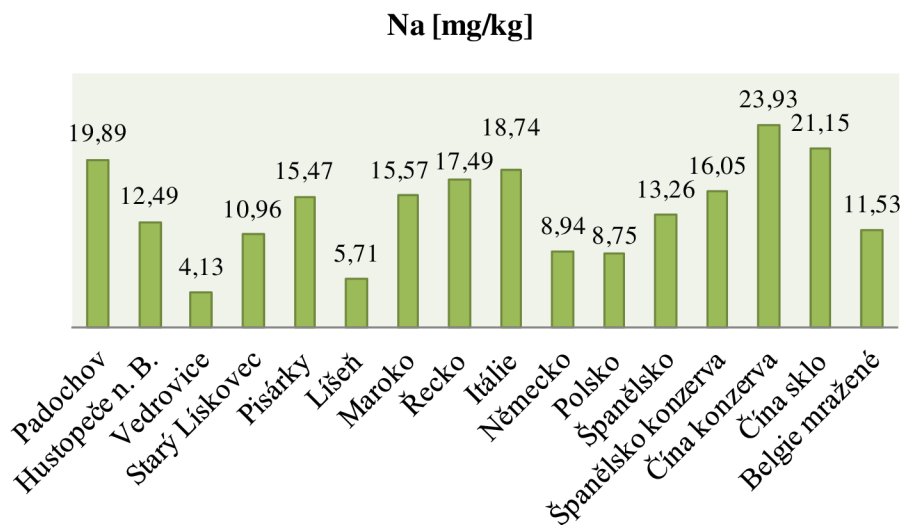
Tab. 9: Naměřený obsah esenciálních prvků ve vzorcích jahod vztažených na suchou hmotnost

	prvek								
	Na [mg/kg]	K [g/kg]	Ca [g/kg]	Mg [mg/kg]	Mn [mg/kg]	Fe [mg/kg]	Zn [mg/kg]	Cu [mg/kg]	Cr [mg/kg]
Padochov	207±3	7,87±0,12	1,63±0,03	723±30	9±0,4	24,4±0,7	1,65±0,01	3,25±0,07	0,786±0,008
Hustopeče n. Bečvou	130±3	8,9±0,3	1,30±0,06	816±24	10,1±0,4	20,9±0,7	2,37±0,10	2,04±0,04	0,355±0,015
Španělsko	138±4	10,7±0,3	0,72±0,02	1061±10	31,33±0,14	14,6±0,2	2,00±0,02	1,3597±0,0007	0,1391±0,0004
Ve drovice	43±2	8,377±0,114	1,737±0,034	837±5	11,109±0,013	13,7±0,6	1,27±0,05	1,17±0,05	0,167±0,008
Maroko	162±3	10,1±0,2	1,06±0,02	666±10	11,23±0,06	16,8±0,3	1,663±0,017	1,352±0,019	0,393±0,008
Řecko	182±4	11,2±0,4	1,37±0,06	887±27	27,1±0,5	14,65±0,14	1,27±0,05	2,21±0,02	0,183±0,003
Itálie	195±2	9,40±0,06	1,083±0,005	651±3	7,95±0,04	16,3±0,4	1,2±0,03	1,57±0,03	0,495±0,012
Starý Lískovec	114±3	8,55±0,03	1,87±0,06	729±3	11,1±0,2	13,3±0,6	1,127±0,010	0,982±0,015	0,176±0,003
Belgie- mražené	120±3	10,88±0,04	1,183±0,010	844±5	57,7±0,3	17,1±0,4	1,841±0,014	1,76±0,01	0,293±0,002
Konzerva Španělsko	167±2	3,54±0,04	1,492±0,004	361,8±1,4	8,50±0,04	39,5±0,3	1,168±0,014	1,657±0,011	0,407±0,003
Konzerva Čína	249±6	1,44±0,02	2,23±0,03	294±6	20,69±0,09	21,59±0,13	0,714±0,011	0,973±0,011	0,618±0,004
Sklo Čína	220,1±1,9	2,75±0,03	1,187±0,009	327±9	4,78±0,07	13,1±0,1	1,145±0,011	4,37±0,02	0,523±0,002
Německo	93±3	8,9±0,3	1,62±0,03	604±26	12,22±0,08	16,1±0,4	1,49±0,02	1,61±0,04	0,199±0,006
Polsko	91±3	10,6±0,3	1,44±0,04	773±20	10,44±0,11	17,2±0,4	1,34±0,04	1,37±0,03	0,179±0,004
Pisárky	161±5	7,83±0,15	1,299±0,019	606±10	14,5±0,2	13,6±0,4	1,52±0,06	1,98±0,04	0,214±0,007
Líšeň	59,4±1,2	7,47±0,07	1,403±0,002	533±4	6,16±0,09	11,89±0,12	1,427±0,010	1,219±0,006	0,331±0,004

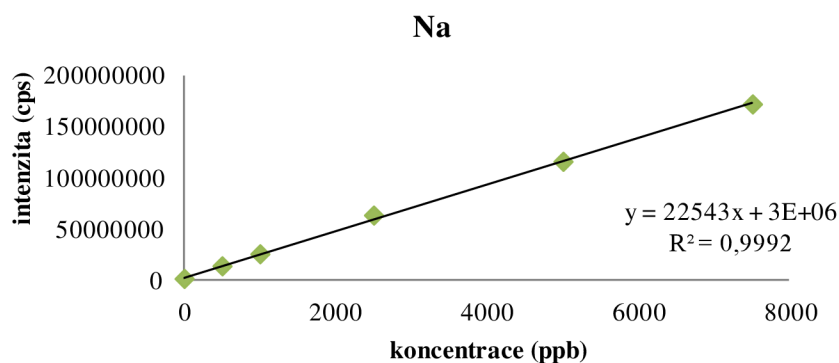
3.6.1.1 Sodík

Obsah sodíku v analyzovaných vzorcích jahod značně kolísal a pohyboval se v rozmezí 4,13 (jahody z Vedrovic) – 23,93 mg/kg (konzervované jahody původem z Číny), viz graf 1. Až na výjimky (Vedrovice, Líšeň) spadají všechny naměřené obsahy prvku v analyzovaných vzorcích do rozmezí hodnot udávaných literaturou, o čemž je možno se přesvědčit nahlédnutím do tabulky 8. Doporučeným denním příjmem pro dospělého člověka je 500 mg sodíku, viz tab. 11 v příloze 1.

Graf 1: Naměřený obsah sodíku v čerstvých plodech



Graf 2: Kalibrační křivka sodíku



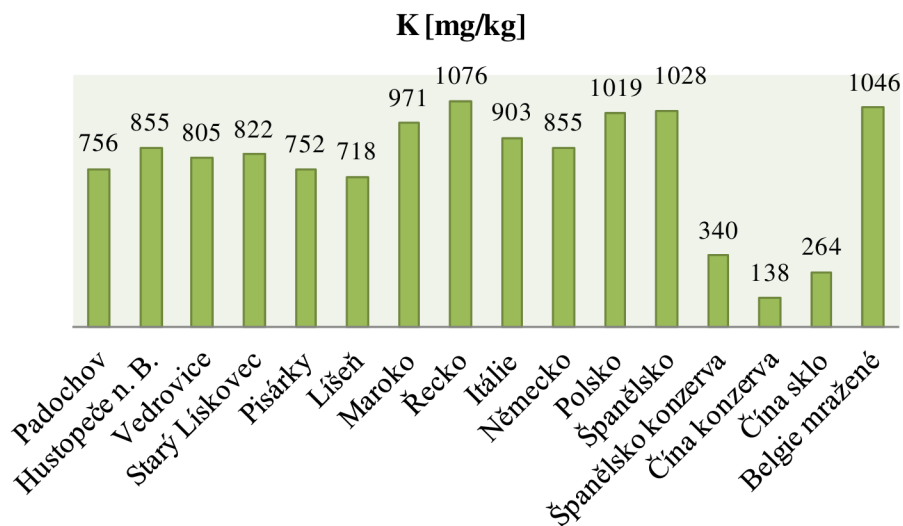
Pro sodík je kalibrační křivka uvedena v grafu 2. Hodnota pro mez detekce je 0,02 mg/kg. Sodík v potravinách rostlinného původu patří mezi minoritní esenciální prvky, což potvrdily i výsledky této studie. Množství sodíku v analyzovaných jahodách, vztaženo na 1 kg ovoce, je zanedbatelné. Dostatečným zdrojem sodíku je živočišná potrava. V dnešní době, kdy je nadměrně konzumována kuchyňská sůl a potraviny solené či konzervované, je doporučená denní dávka tohoto prvku velmi často překračována, a proto je snaha sodík ve formě NaCl (kuchyňské soli) co

nejvíce omezit, protože nadměrný příjem sodíku má negativní účinky na zdraví člověka, způsobuje např. hypertenzi.

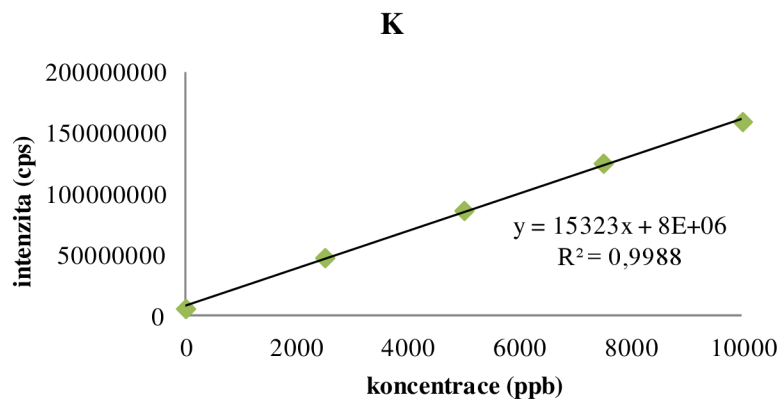
3.6.1.2 Draslík

Naměřené hodnoty koncentrací draslíku byly nejvyšší ze zjištěných koncentrací stanovených prvků v analyzovaných jahodách. Nejmenší množství obsahovaly konzervované jahody z Číny (plechovka), 138 mg/kg, a největší jahody z Řecka, 1 076 mg/kg. Z grafu 3 je vidět, že naměřené hodnoty u čerstvých jahod se mezi sebou nijak významně neliší. Naopak v porovnání s konzervovanými je zřejmé, že konzervované jahody jsou na draslík poměrně chudé, tedy procesem konzervace dochází ke značnému poklesu množství tohoto prvku. Dále lze z grafu 3 vypožorovat, že zahraniční jahody obsahují draslíku v porovnání s českými jahodami více.

Graf 3: Naměřený obsah draslíku v čerstvých plodech



Graf 4: Kalibrační křivka draslíku

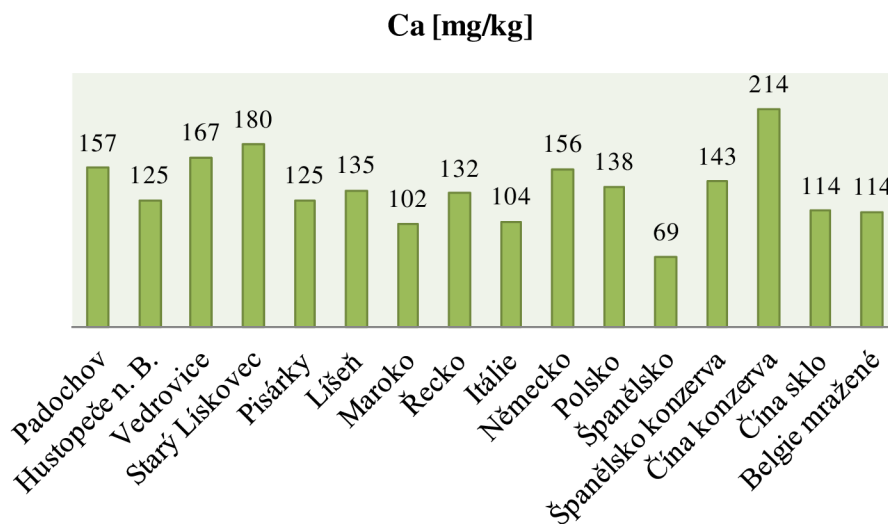


Kalibrační křivka pro draslík je uvedena v grafu 4. Hodnota pro mez detekce je 0,04 mg/kg. V porovnání s výsledky z ostatních studií či s literaturou, tab. 8, analyzované vzorky obsahovaly draslíku méně. V tab. 11, viz příloha 1, je uvedena doporučená denní dávka, která pro dospělého člověka činí 2,0 g a pro děti 0,5 - 1,6 g (podle věkové skupiny). Samotné jahody tuto dávku nepokryjí, to by člověk musel zkonzumovat kolem 2 kg jahod denně, což je množství udávané jako průměrná spotřeba člověka za rok [47, 48]. Ale v rámci konzumace pestré stravy mohou být jahody v kombinaci s dalšími potravinami, převážně zeleninou a dalším ovocem, které kromě minerálů obsahují i důležité vitaminy, např. vit. C, velmi vhodnou volbou pro přísun draslíku, který významně ovlivňuje svalovou aktivitu.

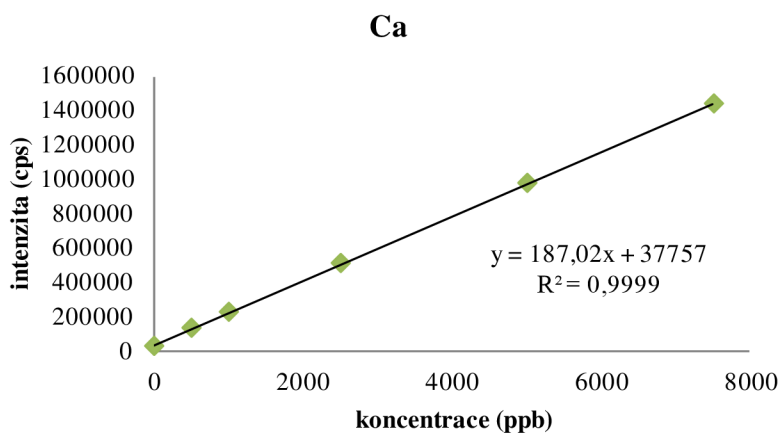
3.6.1.3 Vápník

V analyzovaných vzorcích je vápník druhým nejvíce vyskytujícím se prvkem, hned po draslíku. Jak je vidět v grafu 5, největší množství tohoto prvku bylo naměřeno v čínských jahodách konzervovaných v plechovce, 214 mg/kg. Nejmenší množství bylo stanoveno ve španělských jahodách, 69 mg/kg, viz graf 5. Z tohoto grafu je také zřejmé, že jahody pěstované v ČR obsahují větší množství vápníku v porovnání s jahodami ze zahraničí, viz tabulka 9. U konzervovaných jahod lze zaznamenat rozdíly v obsahu vápníku, jež mohou být dány způsobem pěstování, hnojení a v nemalé míře také vodou použitou v procesu konzervace, která může obsahovat větší množství tohoto prvku a přímo tak zvyšovat jeho množství v plodech. Doporučená denní dávka vápníku pro dospělého člověka je 800 mg, vyšší množství je doporučováno těhotným ženám a starším dětem a adolescentům, viz tab. 11 v příloze 1.

Graf 5: Naměřený obsah vápníku v čerstvých plodech



Graf 6: Kalibrační křivka vápníku

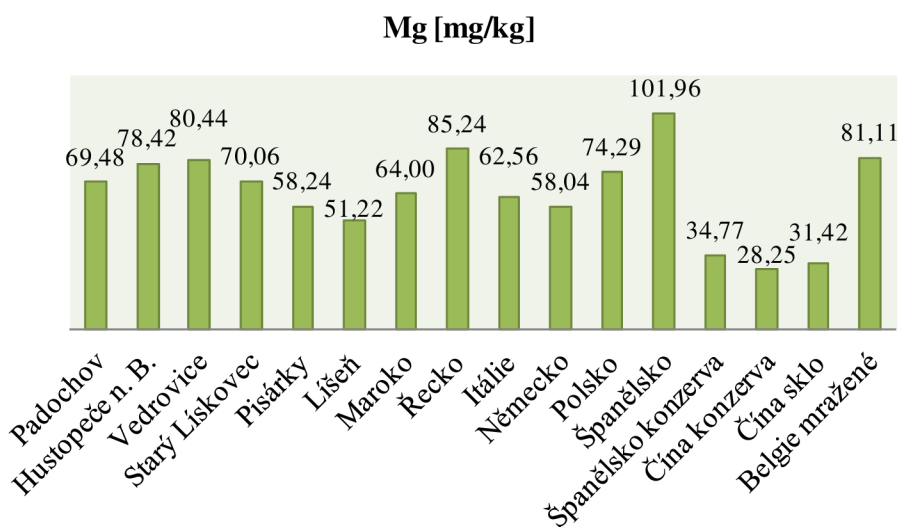


Kalibrační křivka vápníku je uvedena v grafu 6. Detekční limit je 0,01 mg/kg. Literatura udává obvyklý obsah vápníku v jahodách mezi 180 až 260 mg na kg čerstvých jahod. Po přepočtu naměřených hodnot na čerstvou hmotnost, viz tab. 8, analyzované vzorky obsahovaly spíše nižší hranice tohoto rozpětí. Při konzumaci běžné porce (cca 0,25 kg) čerstvých jahod je přínos tohoto drobného ovoce z hlediska obsahu vápníku zanedbatelný. Hlavním zdrojem vápníku z potravy by měla být bílkovinná strava, která zároveň zvyšuje jeho vstřebávání.

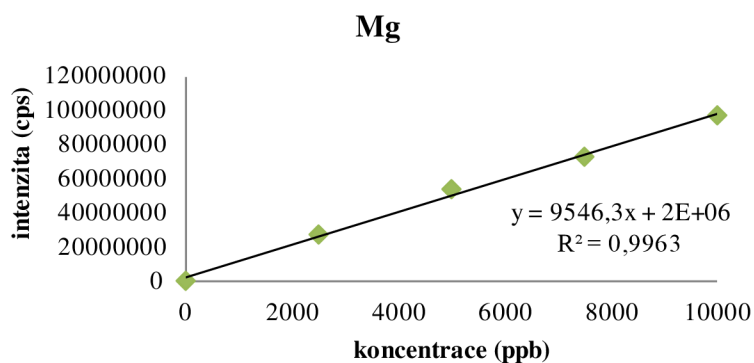
3.6.1.4 Hořčík

Nejvyšší naměřené množství hořčíku, tj. 101,96 mg/kg, obsahoval vzorek ze Španělska, naopak nejmenší, tj. 28,25 mg/kg, obsahovaly jahody konzervované v plechovce původem z Číny, viz tab. 9 a graf 7.

Graf 7: Naměřený obsah hořčíku v čerstvých plodech



Graf 8: Kalibrační křivka hořčiku

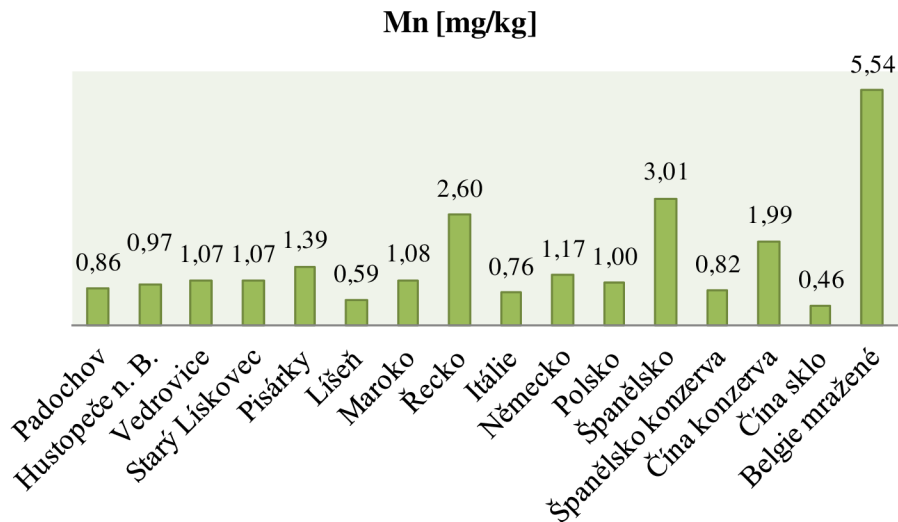


Kalibrační křivka pro hořčík je uvedena v grafu 8. Hodnota pro mez detekce je 2,475 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Obsah hořčiku v domácích jahodách (z ČR) a zahraničních byl průměrně stejný, ale mezi zahraničními jahodami jsou větší rozdíly. Skupinu domácích jahod lze rozdělit na dvě podskupiny, jahody pěstované na vesnici (Padochov, Hustopeče n. B., Vedrovice a Starý Lískovec) a jahody pěstované ve městě (Pisárky a Líšeň). Oblast Brno- Starý Lískovec byla zařazena do podskupiny vesnice proto, že je okrajovou částí Brna a svým životem spíše připomíná vesnici než město. Při hodnocení těchto dvou podskupin, je na grafu 7 možno vidět menší rozdíl a to, že „vesnické“ jahody obsahují hořčíku více než jahody „městské“. I při hodnocení obsahu hořčiku v konzervovaných jahodách se objevuje tendence poměrně rozdílného, menšího, obsahu tohoto prvku v porovnání s jahodami čerstvými. Podobně tomu je i u draslíku. Porovnáním naměřených a následně přepočítaných hodnot na čerstvou hmotnost s hodnotami z literatury či některých studií, tab. 8, zjistíme, že námi zjištěné hodnoty jsou cca o polovinu nižší. Příloha 1 obsahuje tabulku s doporučeným denním příjmem hořčiku, který se liší pohlavím, věkem a stavem. Z tab. 8 je zřejmé, že toto doporučené množství samotné jahody nepokryjí, ale mohou přispívat k optimálnímu příjmu hořčiku prostřednictvím pestré stravy v letním období.

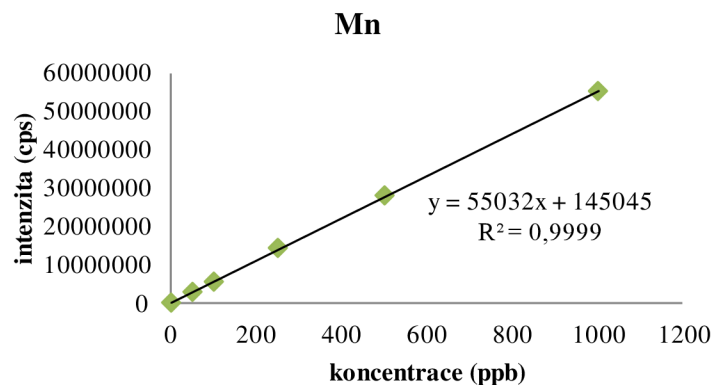
3.6.1.5 Mangan

Mangan, který má u člověka vliv na metabolismu sacharidů, byl ve vzorcích nejvíce zastoupeným prvkem ze stanovovaných stopových prvků. Největší množství obsahovaly belgické jahody, 5,54 mg/kg viz graf 9. Nejmenší množství tohoto prvku obsahovaly jahody z Číny konzervované ve skle, 0,46 mg/kg, viz tab. 8 a graf 9.

Graf 9: Naměřený obsah manganu v čerstvých plodech



Graf 10: Kalibrační křivka manganu



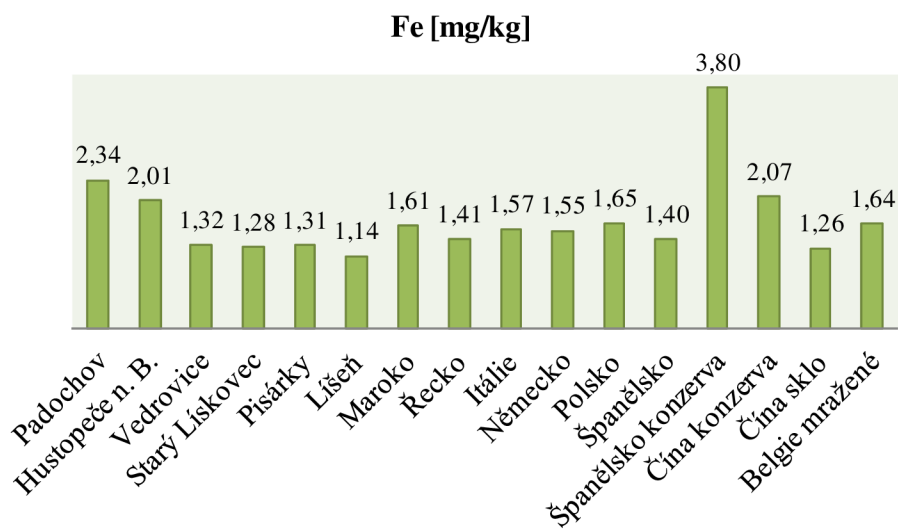
Kalibrační křivka manganu je uvedena v grafu 10. Byl stanoven limit detekce, jeho hodnota je 0,15 µg/kg. Graf 9 lze pomyslně rozdělit na tři části. První část, která zahrnuje vzorky z ČR, druhá, ve které se nacházejí zahraniční jahody, a třetí část tvoří jahody konzervované. Skupina jahod z dovozu (zahraničních) vyniká poměrně vysokým množstvím manganu, průměrně 2,17 mg/kg čerstvé hmotnosti, což je dvakrát více v porovnání s jahodami pěstovanými na zahrádce, v ČR, kde průměr činí 0,99 mg/kg čerstvé hmotnosti. Tři vzorky, které reprezentují skupinu konzervovaných jahod, se svými obsahy manganu značně liší, nelze tedy jasně říci, zda proces konzervace má vliv např. na ztrátu tohoto prvku. Z porovnání hodnot uvedených v tabulce 8 vyplývá, že naměřená a následně přepočítaná data, tj. množství manganu v jednotlivých

vzorcích, jsou ve většině případů (krom čtyř vzorků s největším obsahem tohoto prvku) menší než udává literatura (Velíšek- rozmezí 1,4 až 7,5 mg/kg) či studie uvedené v již zmiňované tabulce. Doporučená denní dávka manganu pro dospělého je 2 - 5 mg, viz tab. 11 v příloze 1. V případě vzorků, které obsahovaly množství manganu nejvíce (belgické, španělské, řecké a konzervované z Číny) viz tab. 8, by porce 500 g během dne pokryla 50% doporučené dávky.

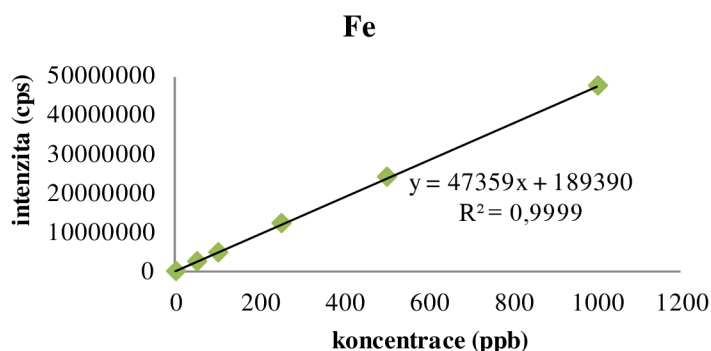
3.6.1.6 Železo

Z grafu 11, viz níže, je možné zjistit, že obsah železa v analyzovaných vzorcích se pohyboval v rozmezí 1,14 (Líšeň) až 3,80 mg/kg (španělská konzerva). Tento graf také přehledně znázorňuje, že většina vzorků obsahovala podobné množství železa, množství nijak zásadně nekolísalo, s výjimkou konzervovaných jahod ze Španělska, kde bylo stanoveno největší množství. Z hodnot pro konzervované plody plyne, že volba obalu ovlivňuje obsah železa v plodech. Jahody ve skle obsahují v porovnání s jahodami v plechovkách menší množství tohoto prvku. Pravděpodobně tedy dochází k uvolňování železa z plechovek během procesu konzervace a skladování.

Graf 11: Naměřený obsah železa v čerstvých plodech



Graf 12: Kalibrační křivka železa

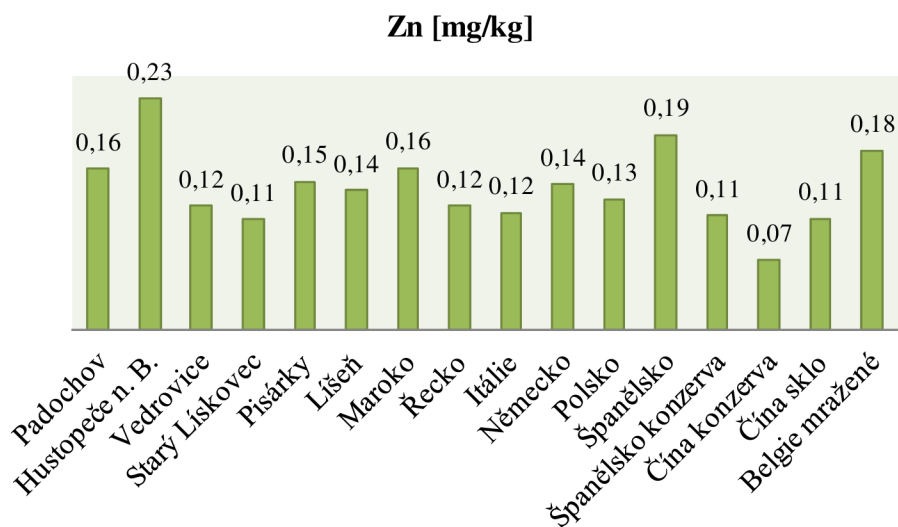


Kalibrační křivka pro železo je uvedena v grafu 12. Mez detekce je 0,975 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Před vstupem do EU byla problematika obsahu železa sledována legislativou – Vyhláška 53/2002 Sb. stanovovala PM (přípustné množství) pro potraviny obecně, kde byly zahrnuty konzervované výrobky. Tato hodnota byla 80 mg/kg . Dnes legislativní předpisy obsah železa upravují pouze u některých typů potravin, jako jsou tuky a oleje, viz příloha 2 a např. konzervované výrobky opomíjí. Sice dříve stanovená hodnota byla benevolentní a námi analyzované vzorky by normu splňovaly, přesto by obsah železa potravin, převážně těch konzervovaných, měl být sledován a kontrolován. I zde se setkáváme se skutečností, že námi stanovené množství prvku (zde železa) dosahuje hodnot menších, než udává literatura či studie, viz tab. 8. Mezi českými jahodami se vyskytují větší rozdíly, než je tomu u jahod zahraničních. Z českých jahod podstatně vyšší množství železa obsahovaly jahody z Padochova a Hustopečí nad Bečvou, důvodem může být zvýšený obsah železa v půdě či způsob hnojení. Jak je uvedeno v teoretické části, faktorů, které ovlivňují zastoupení prvků v plodech, je několik. Doporučený denní příjem se pohybuje v rozmezí 6 - 30 mg , záleží na pohlaví, věku a stavu, viz tab. 11 v příloze 1. Pro dospělého člověka je doporučena dávka 10 - 15 mg . Přestože je železo důležitou složkou hemoglobinu, samotné ovoce je na jeho obsah chudé, což dokazují i hodnoty v tab. 8, ze které se dá usuzovat, že porce 250 g jahod denně by představovala méně jak 10% doporučeného denního příjmu.

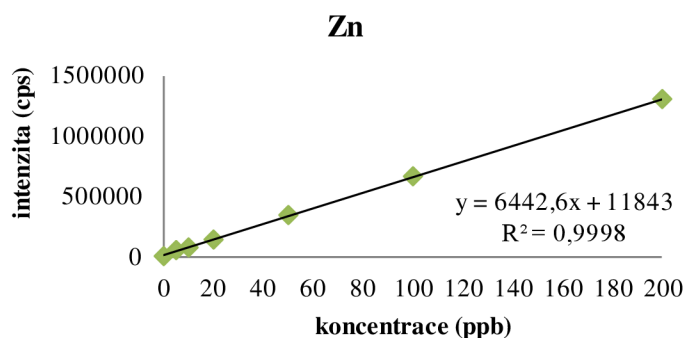
3.6.1.7 Zinek

Zinek patří mezi esenciální prvky, je tedy nezbytný pro zdraví člověka, především pro syntézu proteinů. Nejmenší množství zinku, tj. 0,07 mg/kg , obsahovaly konzervované jahody v plechovce původem z Číny. Největší množství tohoto prvku, tj. 0,23 mg/kg , bylo obsaženo v jahodách z Hustopečí nad Bečvou. Z grafu 13 je patrné, že výsledky analyzovaných vzorků nijak významně nekolísají. Druhý největší obsah byl zaznamenán u španělských jahod.

Graf 13: Naměřený obsah zinku v čerstvých plodech



Graf 14: kalibrační křivka zinku

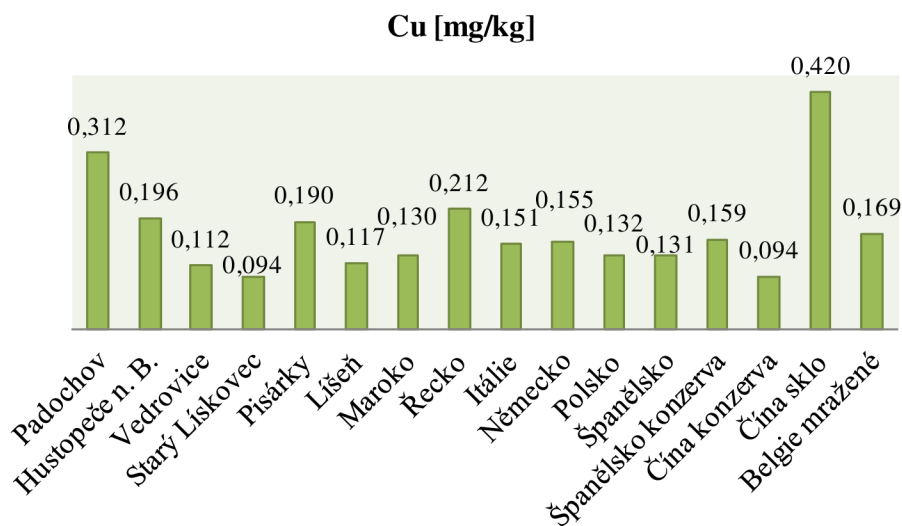


Kalibrační přímka pro zinek je uvedena v grafu 14. Mez detekce pro zinek je $3,25 \mu\text{g/kg}$. V příloze 1 v tabulce 11 jsou uvedeny doporučené denní dávky pro člověka v závislosti na věku a pohlaví. Pro dospělého člověka se doporučené množství pohybuje v rozmezí 10 - 15 mg/den. Tabulka 8 uvádí přepočítané hodnoty získané analýzou na přístroji ICP-MS, které v porovnání s hodnotami, jež uvádí Velíšek v *Chemii potravin I.*, jsou opět významně nižší, cca 10 krát. Nejvíce se námi stanovená množství blíží obsahu zinku udávaného Oregonskou Komisí pro jahody [44], $0,33 \text{ mg/kg}$. Z těchto údajů je tedy možno konstatovat, že jahody, jakožto zdroj zinku, jsou zanedbatelné, 2 porce denně (cca 500 g) by pokryly pouhé 0,5% doporučeného denního příjmu. Ve vyšších dávkách je zinek pro člověka toxický, proto jeho hodnoty upravuje legislativní předpis, konkrétně Vyhláška 305/2004 Sb, která ale udává hodnotu NPM pouze pro ovocné šťávy. V minulých letech byla tato problematika více kontrolována, obsah zinku v potravinách upravovala Vyhláška 53/2002 Sb., která stanovila PM (přípustné množství) pro ovoce (10 mg/kg) a pro kompotované ovoce (80 mg/kg). Také zde se tedy setkáváme, že dřívější legislativa byla v porovnání s dnešní, která vzniká v kombinaci s evropskými předpisy, přísnější. I tak lze konstatovat, že námi analyzované vzorky by normu z roku 2002 splňovaly.

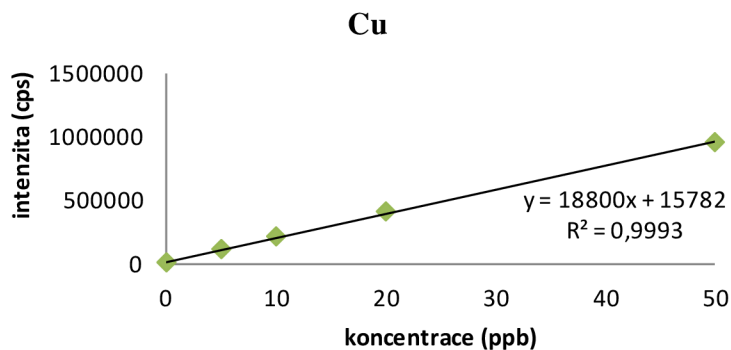
3.6.1.8 Měď

Z grafu 15 je možné konstatovat, že množství mědi v analyzovaných vzorcích se pohybovalo v rozpětí 0,094 až 0,420 mg/kg. Nejčastěji se však měď ve vzorcích vyskytovala v množství 0,1 – 0,2 mg mědi/kg čerstvé hmotnosti. Výjimkou byly vzorky jahod z Číny konzervovaných ve skle, 0,420 mg/kg čerstvé hmotnosti, a jahody z Padochova, 0,312 mg/kg čerstvé hmotnosti.

Graf 15: Naměřený obsah mědi ve vzorcích přepočítaný na čerstvou hmotnost



Graf 16: Kalibrační křivka mědi



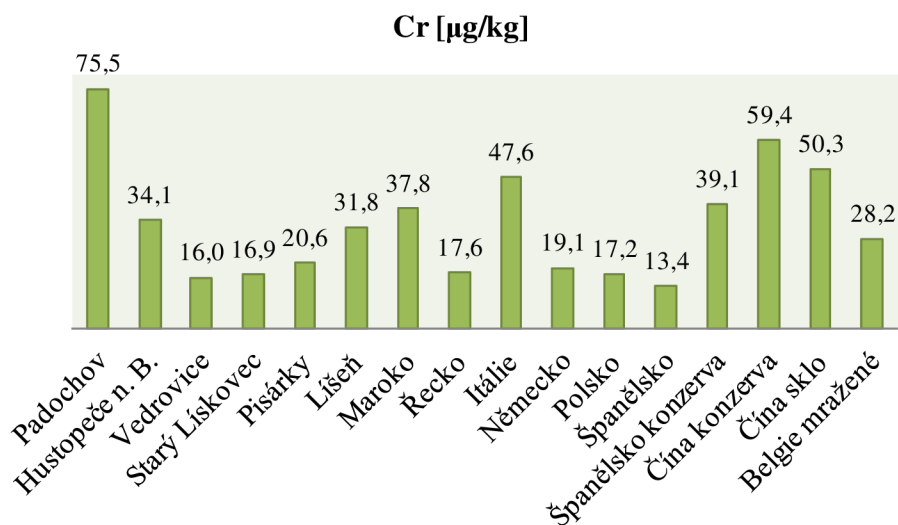
Kalibrační křivka mědi je uvedena v grafu 16. Byl stanoven mez detekce, 0,175 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Měď patří mezi esenciální stopové prvky a je součástí aktivních center řady enzymů, proto je také stanovena její doporučená denní dávka, která se u člověka liší podle věku. Tab. 11 v příloze 1 udává, že pro dospělého jedince by denní příjem mědi měl být 1,5 – 3 mg. Ve většině potravin se vyskytuje v množství menším než 10 mg/kg. Nejvyšší koncentrace mědi se nacházejí v játrech, luštěninách některých houbách. Konkrétně pro jahody je udávána koncentrace 0,54 – 0,74 mg/kg v literatuře či 0,48 mg/kg, resp. 0,816 mg/kg ve studiích, viz tab. 8. Obsah mědi stanovený v rámci této práce je v porovnání s údaji získanými z literatury či studií nižší. V některých případech může být obsah mědi zvýšen kontaminací, nejčastěji u plodin ošetřených některými pesticidy na bázi

měďnatých sloučenin. [5] Proto existuje Vyhláška 305/2004 Sb., která stanovuje NPM, konkrétně pouze pro jedlé tuky a oleje, viz příloha 2. Do této doby ale existovala norma, Vyhláška 53/2002, která neopomíjela žádnou potravinu, např. stanovovala NPM pro ovoce (5,0 mg/kg) a pro kompoty PM = 5,0 mg/kg.

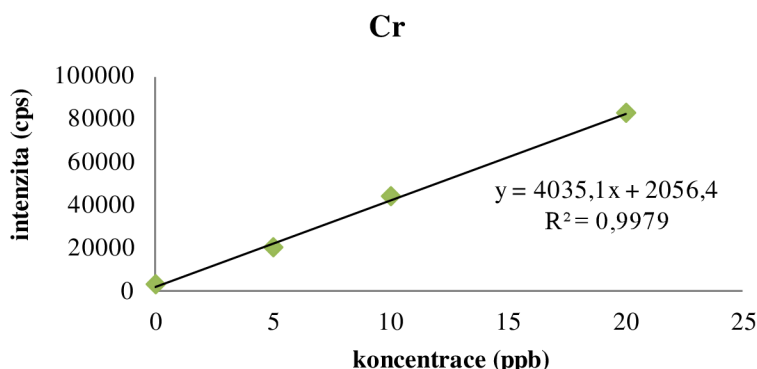
3.6.1.9 Chrom

Nejmenší obsah tohoto esenciálního prvku obsahovaly jahody ze Španělska, 13,4 $\mu\text{g/kg}$, naopak nejvyšší obsah byl zaznamenán u vzorku z Padochova, 75,5 $\mu\text{g/kg}$. Z grafu 17 je zřejmé, že svým obsahem chromu vynikaly jahody z Padochova a to jak mezi všemi vzorky, tak i mezi vzorky z domácího pěstování. Nejmenší množství tohoto esenciálního prvku mezi vzorky pěstovanými na území ČR bylo naměřeno v jahodách z Vedrovic a Starého Lískovce, jak již bylo zmiňováno dříve, tyto oblasti lze považovat za „vesnické“ formy pěstování s menším dopravním provozem či žádnou průmyslovou výrobou. Konzervované plody lze zařadit mezi vzorky s vyšším obsahem chromu ve skupině námi analyzovaných plodů, s největší pravděpodobností se na této skutečnosti podílí kontaminace pocházející ze styku potravin s kovovými materiály.

Graf 17: Naměřený obsah chromu ve vzorcích vztahovaný na čerstvou hmotnost



Graf 18: Kalibrační křivka chromu



Kalibrační křivka pro chrom je znázorněna v grafu 18. Mez detekce je 2,75 µg/kg. Při přepočtu naměřených dat na čerstvou hmotnost, viz tab. 8, lze zjistit, že většina proměřených vzorků obsahovala chromu více než je jeho pravděpodobný obsah v jahodách, udávaný v *Chemii potravin I.* od p. Veliška, tj. více než 0,002 – 0,02 mg/kg. Jak již bylo zde několikrát zmiňováno, chrom v oxidačním čísle III patří mezi významné esenciální prvky. Významně se podílí na metabolismu sacharidů. Za průměrný denní příjem chromu se považuje množství 50 – 200 µg [5]. Při mimořádně vysokých dávkách chromitých sloučenin, což z potravin je velmi málo pravděpodobné, se mohou objevit jejich toxické účinky. Vyhláška 53/2002 Sb., dnes neplatná, přece jen normovala pro určité druhy potravin, kam bylo zařazeno ovoce a ovocné kompoty, přípustné množství, které bylo 4,0 mg/kg. Dnes je obsah chromu v potravinách opomíjen.

Závěr: V porovnání čerstvých a konzervovaných jahod jsou pro člověka samozřejmě lepší volbou jahody čerstvé, které si zachovávají svoji nutriční hodnotu. Konzervované plody obsahovaly více sodíku, železa, chromu a toxických prvků. V rámci čerstvých jahod bylo možné porovnat jahody z ČR a ze zahraničí. České jahody obsahovaly více vápníku a méně draslíku, dvakrát méně manganu než zahraniční, tedy lze říci, že z výživového hlediska se jako lepší jeví jahody ze zahraničí. Ze vzorků původem z ČR by se jako nejlepší daly označit jahody z Vedrovic či Starého Lískovce z hlediska obsahu esenciálních prvků (větší množství Mg, Ca, K). Stanovené koncentrace vybraných esenciálních prvků ve vzorcích jahod byly ve větší míře nižší v porovnání s literaturou a nízké v souvislosti s DDD (doporučenými denními dávkami) vzhledem ke konzumaci během roku, literatura udává 2 kg/osoba/rok [47] (práce prováděná v rámci NAZV Q0179 a Výzkumného záměru Mze 0002702201) až 2,8 kg/osoba/rok [48]. Z tohoto důvodu se dá konstatovat, že všechny analyzované vzorky jahod či jahody samotné, jsou oceňovány pro obsah jiných nutričně významných složek (např. vitaminů, polyfenolů a dalších), jejichž stanovení nebylo předmětem této práce.

3.6.2 Koncentrace toxických a možných toxických prvků v analyzovaných jahodách

Záměrem studie bylo stanovit obsah toxických prvků a prvků podezřelých z toxicity, které mají potenciálně negativní vliv na zdraví konzumenta, pokud jsou konzumovány pravidelně. Tyto nepříznivé účinky byly podrobněji rozebrány v teoretické části této práce. Konkrétní koncentrace toxických a potenciálně toxických prvků vztažených na suchou hmotnost, které byly stanovovány ve všech 16 vzorcích jahod, jsou uvedeny v tab. 10. Následující hodnocení byla prováděna na čerstvou váhu jahod.

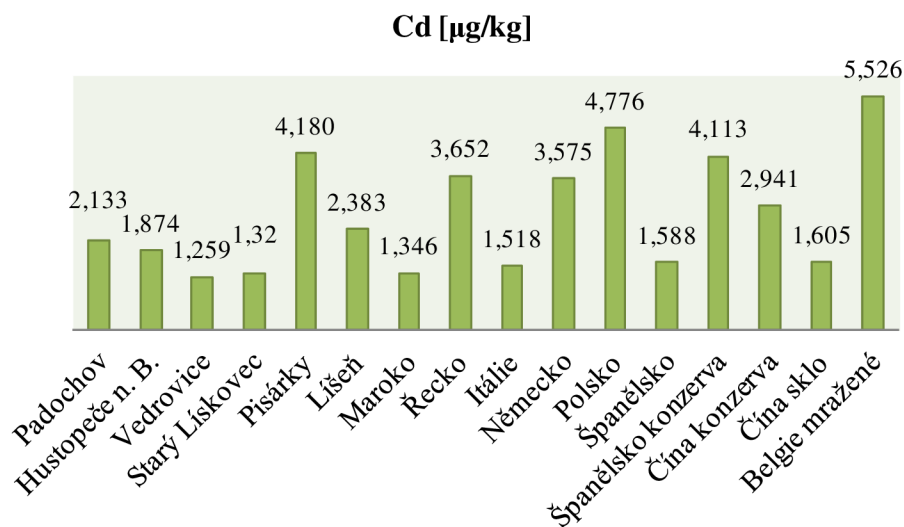
Tab. 10: Naměřený obsah toxických a potenciálně toxických prvků ve vzorcích jahod

Místo/ země původu	prvek		
	Cd [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	Pb [mg/kg]	Ni [mg/kg]
Padochov	22,2 \pm 1,4	0,52 \pm 0,02	2,6 \pm 0,1
Hustopeče n. Bečvou	19,5 \pm 0,9	0,394 \pm 0,018	2,13 \pm 0,05
Španělsko	16,52 \pm 0,09	0,1115 \pm 0,0014	0,733 \pm 0,015
Vedrovice	13,1 \pm 0,6	0,117 \pm 0,003	0,58 \pm 0,02
Maroko	14,01 \pm 0,10	0,258 \pm 0,005	1,52 \pm 0,02
Řecko	38,0 \pm 0,5	0,840 \pm 0,018	1,77 \pm 0,03
Itálie	15,8 \pm 0,2	0,224 \pm 0,004	1,257 \pm 0,018
Starý Lískovec	13,7 \pm 0,2	0,212 \pm 0,007	0,83 \pm 0,03
Belgie- mražené	57,5 \pm 0,9	0,373 \pm 0,003	2,26 \pm 0,03
Konzerva Španělsko	42,8 \pm 0,9	0,488 \pm 0,002	49,40 \pm 0,11
Konzerva Čína	30,6 \pm 0,7	0,549 \pm 0,005	2,47 \pm 0,02
Sklo Čína	16,7 \pm 0,5	0,386 \pm 0,002	1,263 \pm 0,018
Německo	37,2 \pm 0,6	0,219 \pm 0,007	1,23342 \pm 0,00008
Polsko	49,7 \pm 1,2	0,185 \pm 0,004	0,620 \pm 0,018
Pisárky	43,5 \pm 1,3	0,411 \pm 0,012	2,85 \pm 0,09
Líšeň	24,8 \pm 0,5	0,273 \pm 0,002	0,418 \pm 0,002

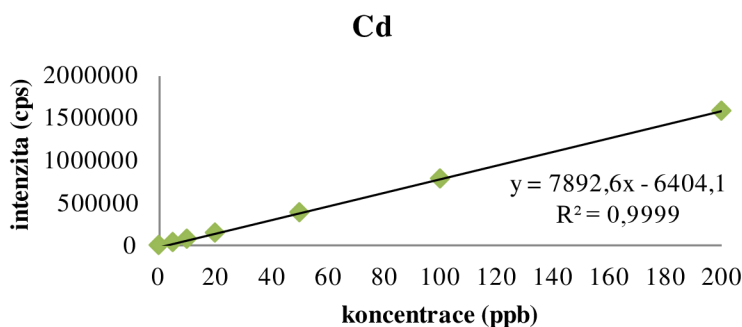
3.6.2.1 Kadmium

Zjištěné množství kadmia se pohybovalo v rozmezí 1,259 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Vedrovice, a 5,265 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Belgie. Z grafu 19 a tab. 10 je patrné, že nejnižší obsah kadmia mezi konzervovanými vzorky byl zjištěn u jahod ve skle. Z jahod pěstovaných v ČR měly nejnižší obsah olova plody z Vedrovice a Starého Lískovce. Při hodnocení všech analyzovaných vzorků nelze vypožarovat jistou tendenci, či faktor, který by ovlivňoval obsah tohoto kovu v plodech. Jednou z možností by mohl být způsob hnojení, užívání superfosfátových hnojiv u plodů, kde je naměřen vyšší obsah kadmia než u ostatních vzorků (např. Belgie, Polsko, Řecko, Německo či ČR- Brno- Pisárky), ale aby toto bylo možné konstatovat, bylo by třeba provést zároveň i analýzu půdy, na které plody rostly.

Graf 19: Naměřený obsah kadmia ve vzorcích vztažený na čerstvou hmotnost



Graf 20: Kalibrační křivka kadmia



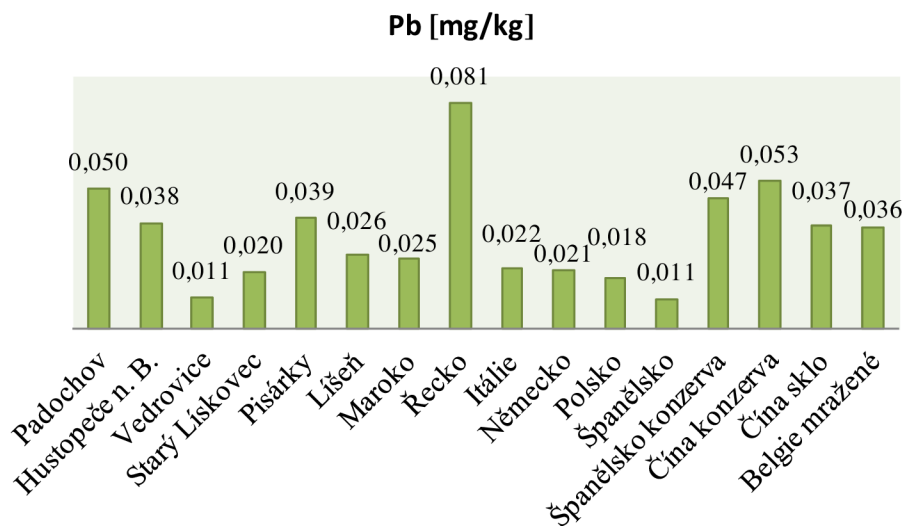
Kalibrační křivka kadmia je uvedena v grafu 20. Pro kadmium byla stanovena mez detekce 0,25 µg/kg. V porovnání s hodnotami kadmia, které udává literatura, viz tab. 8, jež mohou plody jahod obsahovat, lze konstatovat, že všechny proměřené vzorky obsahovaly poměrně malé množství tohoto toxického kovu. Legislativní předpis (Nařízení Komise 1881/2006) uvádí jako nejvyšší přípustné množství kadmia pro ovoce hodnotu 0,05 mg/kg čerstvé hmotnosti. Z tabulky 8 je zřejmé, že norma nebyla překročena.

3.6.2.2 Olovo

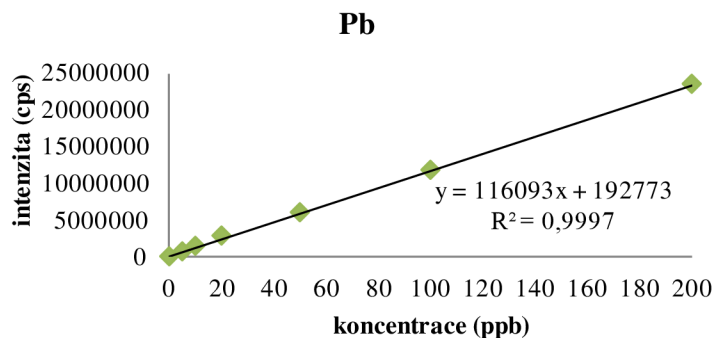
Z proměřených vzorků nejmenší obsah olova byl zjištěn u jahod ze Španělska (0,011 mg/kg) a největší měly řecké jahody (0,081 mg/kg), viz graf 21. Při porovnání vzorků pouze z ČR zjistíme, že nejmenší množství bylo naměřeno v jahodách z Vedrovic, což je vesnice na jižní Moravě, kde je v porovnání s např. Brnem (oblast Pisárky) menší dopravní provoz. Pokud bychom tedy hodnotily obsah olova podle hlediska dopravy, tak i další vzorek z jižní Moravy, z Padochova, by měl mít podobnou tendenci, ale je tomu naopak, obsah olova je zde nejvyšší z českých vzorků. Kromě dopravy, zde může hrát roli i způsob hnojení, o čemž by více

napověděl např. rozbor půdy, na které plody vyrostly. Zahraniční jahody, kromě řeckých, nijak z hlediska obsahu tohoto toxického prvku nevykázaly.

Graf 21: Naměřený obsah olova ve vzorcích



Graf 22: Kalibrační křivka olova



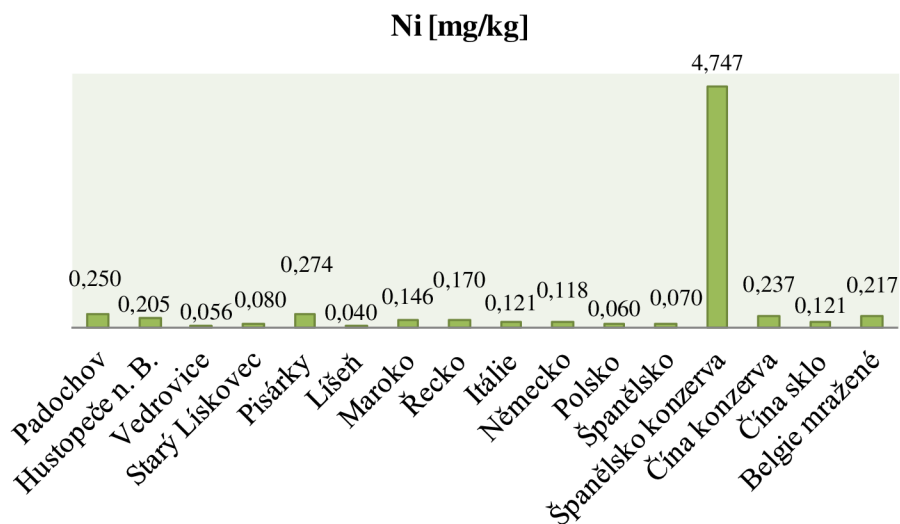
Kalibrační křivka pro olovo je uvedena v grafu 22. Hodnota pro mez detekce byla stanovena na 0,05 µg/kg. Protože je olovo toxickým prvkem, udává legislativa jeho NPM v potravinách. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 305/2004 Sb. stanovuje pro potraviny v plechových obalech s výjimkou nápojů a kojenecké a dětské výživy NPM olova 1,0 mg/kg. V porovnání s výsledky z naší analýzy, lze konstatovat, že ani jeden vzorek z trojice konzervovaných (konzerva ze Španělska, Číny a čínské jahody ve skle) nepřekračují stanovenou hodnotu. I když v porovnání s čerstvými je možno u konzervovaných pozorovat větší množství tohoto prvku, což je zřejmé především u plodů konzervovaných v plechovkách než ve sklenicích, viz graf 21. To může být dáno kontaminací obsahu plechovky olovem obsaženým ve slitině cínu, kterou je zataven šev plechovky. Pro čerstvé jahody je hodnota NPM stanovena Nařízením Komise (ES) č. 1881/2006 na 0,20 mg/kg, která též nebyla překročena ani vzorkem řeckých jahod, kde bylo stanoveno nejvyšší množství olova 0,081 mg/kg čerstvé hmotnosti. Lze tedy konstatovat, že

všechny analyzované plody byly zdravotně nezávadné, což by nemělo být překvapující, ale běžné.

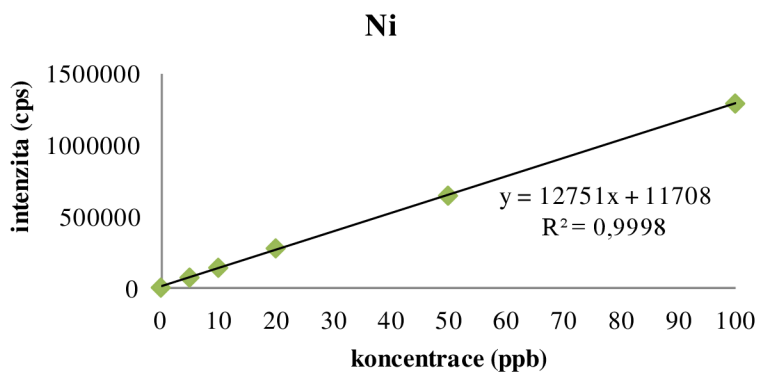
3.6.2.3 Nikl

Nejmenší obsah niklu byl naměřen v jahodách z Líšně (0,040 mg/kg), naopak největší množství obsahovaly konzervované jahody ze Španělska (4,747 mg/kg), viz graf 23. Z porovnání analyzovaných vzorků s literaturou, která udává běžný obsah niklu v jahodách v rozmezí 0,02 – 0,13 mg/kg, je možné konstatovat, že tyto hodnoty překračuje cca polovina vzorků (Řecko, Maroko, Pisárky, Padochov, Hustopeče, Čína konzerva, Španělsko konzerva a Belgie) v zastoupení jak jahod původem ze zahraničí, tak i některých oblastí ČR. Zvýšené množství bylo nalezeno i v konzervovaných plodech, což není překvapující, protože právě konzervace a skladování v kovovém obalu, plechovce, může vést ke zvyšování množství niklu v kompotové šťávě a následnému distribuci do plodu, což je patrné právě u španělských konzervovaných jahod.

Graf 23: Naměřený obsah niklu ve vzorcích



Graf 24: Kalibrační křivka niklu



Kalibrační křivka pro prvek nikl je uvedena v grafu 24. Mez detekce tohoto prvku je 0,325 µg/kg. Žádný legislativní předpis v dnešní době nestanovuje nejvyšší přípustnou hodnotu pro nikl v potravinách. Jinak tomu bylo před vstupem České Republiky do EU. Existovala vyhláška č. 53/2002, která nikl řadila mezi kontaminanty a pro ovoce stanovovala NPM 0,5 mg/kg a pro kompotované ovoce PM (přípustné množství) 6,0 mg/kg. Pokud bychom tuto normu, dnes neplatnou, porovnali s výsledky v tab. 8, zjistíme, že všechny vzorky normě vyhovují a jsou tedy zdravotně nezávadné. Přesto je třeba konstatovat, že evropské předpisy jsou v této oblasti benevolentnější než české, které byly dříve platné. Přece jen nikl může působit při dlouhodobé konzumaci konzervovaných výrobků s vyšším obsahem niklu karcinogenně.

Závěr: Hodnocením koncentrace toxických a potenciálně toxických prvků, které by mohly být přítomny v jahodách, negativně vynikaly konzervované plody, které měly v porovnání s čerstvými vyšší obsah těchto prvků. V rámci této práce byly do analýzy zahrnuty dva typy konzervačních obalů - klasická plechovka a sklenice. Jahody konzervované ve sklenicích obsahovaly méně kadmia, niklu a olova než jahody v plechovkách, proto by se dalo konstatovat, že tato varianta (konzervace ve sklenicích) je nejvhodnější v případě, že člověk dává přednost konzumaci konzervovaných plodů před konzumací čerstvých, např. v zimním období, kdy jsou čerstvé jahody hůře dostupné. Ze vzorků pocházejících z České republiky vynikaly jahody z Vedrovic či Starého Lískovce z hlediska nízkého obsahu toxických prvků (Ni, Pb, Cd, Cr, Cu). Pravděpodobnou příčinou bude poloha těchto oblastí, jižní Morava, která se dá považovat za velmi dobré místo pro pěstování, málo zatěžované dopravou či průmyslovou výrobou.

Většina výsledků splňovala danou normu, tedy byly zdravotně nezávadné. Problematika těžkých kovů a některých potenciálně toxických prvků je řízena těmito předpisy: Vyhláška 305/2004 Sb. a Nařízení Komise (ES) 1881/2006, které stanovují nejvyšší přípustná množství některých prvků (arsenu, rtuti, kadmia, olova, mědi, zinku, železa a anorganického cínu), ale pouze pro některé skupiny potravin v porovnání s dříve platnými předpisy. Takovým legislativním předpisem byla Vyhláška 53/2002 Sb., která shrnovala nejvyšší přípustná množství či přípustná množství výše zmiňovaných prvků a navíc hliníku a niklu s rozdílem, že tyto normy byly stanoveny pro většinu potravin, včetně ovoce a ovocných kompotů. Z tohoto zjištění lze konstatovat, že dnešní legislativní předpisy, které vznikají v rámci Evropské unie, jsou benevolentnější.

4 ZÁVĚR

Teoretická část

- Diplomová práce je zaměřena na zastoupení některých mikronutrientů a těžkých kovů v ovoci, konkrétně v jahodách. Proto byla rozebrána problematika těžkých kovů, zahrnující jejich definici, výskyt ve vodě, ovzduší, půdě a rostlinách, a možnosti odstranění z životního prostředí.
- Jednotlivě byly popsány biologické funkce minerálních látek a jejich výskyt v potravinách, zahrnuty byly esenciální a toxické prvky, jejichž obsah v jahodách byl stanovován v rámci experimentální části.
- Jedna z kapitol je věnována samotným jahodám, především jejich pozitivním účinkům na zdraví člověka, které byly v dosud prováděných studiích potvrzeny či vyvráceny, a podmínkám skladování, které se podílejí na jejich kvalitě a nutriční hodnotě.
- Závěr teoretické části se věnoval metodikám pro stanovení prvků v různých typech matric, podrobněji byla popsána metoda ICP- MS, jež byla používána v experimentální části této práce.

Experimentální část

- Ve všech 16 vzorcích byly stanoveny koncentrace prvků: sodík, draslík, vápník, hořčík, mangan, železo, zinek, měď, chrom, kadmium, olovo, nikl.
- Veškerá hodnocení byla prováděna po přepočtu naměřených koncentrací na čerstvou hmotnost.
- Nejvyššími naměřenými koncentracemi ve vzorcích byly koncentrace draslíku, následované vápníkem.
- Většina naměřených koncentrací prvků u analyzovaných vzorků byla v porovnání s údaji z literatury nižší.
- Nejvyšší koncentrace stanovovaných toxických či potenciálně toxických prvků, konkrétně olova, kadmia a niklu, u analyzovaných vzorců byly naměřeny u konzervovaných plodů. Zřejmě je tato skutečnost dána migrací těchto kovů z obalu do roztoku a dále do plodu. Plody konzervované v plechovce obsahovaly větší množství těchto prvků než plody konzervované ve skle.
- Z pohledu životního prostředí, kde byly některé vzorky jahod pěstovány, lze konstatovat, že nejvhodnější oblastí pro sadbu tohoto drobného ovoce je životní prostředí nezatížené průmyslovými aglomeracemi či dopravou, z této studie tak vyplynuly jahody z Vedrovic a Starého Lískovce, které obsahovaly vyšší koncentrace draslíku, vápníku a hořčíku a nižší koncentrace potenciálně nebezpečných prvků, jako niklu, mědi, chromu, kadmia a olova.
- Veškeré koncentrace stanovovaných prvků byly z pohledu legislativy v normě. V dnešní době je hlavní legislativou ta evropská (Nařízení Komise (ES) 1881/2006), která změkčuje naše dřívější legislativní předpisy (Vyhláška 53/2002 Sb.). V kombinaci s Nařízením Komise, viz výše, funguje v této problematice také Vyhláška 305/2004 Sb.

5 POUŽITÁ LITERATURA

1. VOPRŠALOVÁ, Marie; ŽÁČKOVÁ, Pavla. *Základy toxikologie pro farmaceuty*. Univerzita Karlova v Praze. Praha: Karolinum, 2000. 231 s. ISBN 80-7184-282-6
2. BENCKO, Vladimír; CIKRT, Miroslav; LENER, Jaroslav. *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka*. Praha: Grada publishing, spol. s. r. o., 1995. 288 s. ISBN 80-7169-150-X
3. CIBULKA, Jiří, et al. *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. Praha: Academia, 1991. 427 s. ISBN 80-200-0401-7
4. PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. Praha: VŠCHT, 1999. 568 s. ISBN 80-7080-340-1
5. VELÍŠEK, Jan; HAJŠLOVÁ, Jana. *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS, 2009. 602 s. ISBN 978-80-86659-15-2.
6. ODSTRČIL, Jaroslav; ODSTRČILOVÁ, Milada. *Chemie potravin*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2006. 164 s. ISBN 80-7013-435-6
7. BARANOWSKA, Irena; BARCHAŇSKA, Hanna; PYRSZ, Anna. Distribution of pesticides and heavy metals in trophic chain. *Chemosphere*. 2005, 60, s. 1590-1599
8. BARANOWSKA, Irena; BARCHAŇSKA, Hanna; PACAK, Ewa. Procedures of trophic chain samples preparation for determination of triazines by HPLC and metals by ICP-MS methods. *Environmental Pollution*. 2006, 143, s. 206-211
9. SCOTTI, I. Anguissola; CARINI, F. Heavy metal effect on uptake and translocation of ^{134}Cs and ^{85}Sr in aubergine plants. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2000, 48, s. 183-190
10. BHAT, U. Gopalakrishna; VAMSEE, K. Toxicity of heavy metals Cu, Cd and Hg to the gammarid amphipod *Parhalella natalensis* (Stebbing). *The Science of the Total Environment*. 1993, s. 887-897
11. HAMURCU, Mehmet, et al. Mineral and heavy metal levels of some fruits grown at the roadsides. *Food and Chemical Toxicology*. 18.3.2010, 48, s. 1767-1770
12. RADWAN, Mohamed A.; SALAMA, Ahmed K. Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. *Food and Chemical Toxicology*. 17.2.2006, 44, s. 1273-1278

13. ČURDOVÁ, Eva, et al. ICP-MS determination of heavy metals in submerged cultures of wood-rotting fungi. *Talanta*. 2004, 62, s. 483-487
14. KHAN, S., et al. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental Pollution*. 2008, 152, s. 686-692
15. YIZONG, Huang; YING, Hu; YUNXIA, Liu. Heavy metal accumulation in iron plaque and growth of rice plants upon exposure to single and combined contamination by copper, cadmium and lead. *Acta Ecologica Sinica*. 2009, 29, s. 320-326
16. CHEN, Jian-qun, et al. Source and hazard identification of heavy metals in soil of Changsha based on TIN model and direct exposure method. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 2011, 21, s. 642-651
17. SAHAN, Yasemin; BASOGLU, Fikri; GÜÇER, Seref. ICP-MS analysis of series of metals (Namely: Mg, Cr, Co, Ni, Fe, Cu, Zn, Sn, Cd and Pb) in black and green olive samples from Bursa, Turkey. *Food Chemistry*. 2007, 105, s. 395-399
18. AGUILERA, Inmaculada, et al. Urinary levels of arsenic and heavy metals in children and adolescents living in the industrialised area of Ria of Huelva (SW Spain). *Environment International*. 2010, 36, s. 563-569
19. BARAKATA, M.A. New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry* (2010), doi: 10.1016/j.arabjc.2010.07.019
20. ANGELOVA, V., et al. Bio-accumulation and distribution of heavy metals in fibre crops (flax, cotton and hemp). *Industrial Crops and Products*. 2004, 19, s. 197-205
21. DENG, H.; YE, Z.H.; WONG, M.H. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution*. 2004, 132, s. 29-40
22. DENG, H.; YE, Z.H.; WONG, M.H. Lead and zinc accumulation and tolerance in populations of six wetland plants. *Environmental Pollution*. 2006, 141, s. 69-80
23. TÜRKDOĞAN, M. Kürsad, et al. Heavy metals in soil, vegetables and fruits in the endemic upper gastrointestinal cancer region of Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2002, 13, s. 175-179
24. GIAMPIERI D.SC., Francesca; TULIPANI Ph.D., Sara; ALVAREZ-SUAREZ Ph.D., José M.; QUILES Ph.D., José L.; MEZZETTI Ph.D., Bruno; BATTINO Ph.D., D.SC.,

- M.D., Maurizio The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*. 2012, 28, s. 9-19.
25. GRAEME, Kimberlie A.; POLLACK, Charles V. Heavy metal toxicity, part II: Lead and Metal fume fever. *The Journal of Emergency Medicine*. 1998, 16, 2, s. 171-177
26. da Silva PINTO, Marcia; LAJOLO, Franco Maria; GENOVESE, Maria Inés. Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry*. 2008, 107, s. 1629-1635
27. HAKALA, Mari, et al. Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2003, 16, s. 67-80
28. LOPES DA SILVA, Fátima, et al. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT*. 2007(40), 374-382
29. AABY, Kjersti; MAZUR, Sebastian; NES, Arnfinn; SKREDE, Grete. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*. 2012, 132, s. 86-97
30. BASU, Arpita, et al. Strawberries decrease atherosclerotic markers in subjects with metabolic syndrome. *Nutrition Research*. 2010, 30, s. 462-469
31. TULIPANI, Sara, et al. Strawberry consumption improves plasma antioxidant status and erythrocyte resistance to oxidative haemolysis in humans. *Food Chemistry*. 2011, 128, s. 180-186
32. SHINA, Youngjae; LIU, Rui Hai; NOCK, Jacqueline F.; HOLLIDAY, Darryl; WATKINS, Christopher W. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid and flavonoid concentrations and antioxidant activity of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*. 2007, 45, s. 349-357
33. Ing. M. ČAKRT, Csc.; Ing. J. KRUPČÍK, Csc.; Ing. J. MOCÁK, Csc.; Ing. J. POLONSKÝ, Csc.; Ing. B. SÍLEŠ, Csc. *Analytická Chémia Praktikum I*. Bratislava: Chemickotechnologická fakulta, Slovenská vysoká škola technická v Bratislavě, 1981, s. 327, kap. 3.1.7
34. ZBÍRAL, Jirí. *Analýza rostlinného materiálu*. Brno: Státní kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, 1994, kap. 2
35. doc. Dr. Ing. KOPLÍK, Richard. *Stanovení minerálních látek (metody: atomová absorpční spektrometrie, spektrofotometrie, titrace)*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav chemie a analýzy potravin.

- Praha, 2011. [online]. [cit. 13.2.2012] Dostupné z: http://web.vscht.cz/kohoutkj/n%C3%A1vody%202011/MI2011_verze7.pdf
36. MIHALJEVIČ, Martin; STRNAD, Ladislav; ŠEBEK, Ondřej. Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii. *Chemické Listy*. 2004, č. 98, s. 123-130. [online]. [cit. 15.2.2012] Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_03_02.pdf
37. KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 1996. ISBN 80-902155-0-5
38. Prof. RNDr. SOMMER Dr.Sc., Lumír a kol. *Základy analytické chemie II*. Brno: Vutium, 2000. ISBN 80-214-1742-0
39. ICP-MS: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. In: *Agilent Technologies* [online]. [cit. 20.2.2012]. Dostupné z: http://www.chem.agilent.com/Library/primers/Public/ICP-MS_Primer-Web.pdf
40. THOMAS, Robert. *Practical guide to ICP-MS*. USA: Marcel Dekker, 2004. S. 309. ISBN 0-8247-5319-4. [online]. [cit. 20.2.2012]. Dostupné z: http://books.google.com/books?id=CmiDuCNoYB0C&printsec=frontcover&dq=icp+ms&hl=en&ei=aU6gTo62D4f2sgbt4tCEAw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CDEQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false
41. MESTEK, Oto. *Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem: pracovní text pro Podzemní výukové středisko JOSEF. VŠCHT v Praze*, 2010. [online]. [cit. 23.2.2012]. Dostupné z: http://users.prf.jcu.cz/sima/analyticka_chemie/spektraa.htm
42. BEDNAREK, W.; TKACZYK, P.; DRESLER, S. Content of heavy metals as a criterium of the quality of strawberry fruit and soil properties. *Polish Journal of Soil Science*. 2006, vol. XXXIX/2, s. 165-174
43. KREJPCIO, Z.; SIONKOWSKI, S.; BARTELA, J. Safety of Fresh Fruits and Juice Available on the Polish Market as Determined by Heavy Metal Residues. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2005, Vol. 14, No 6, s. 877-881
44. Berry Health Benefits Network. *Oregon Strawberry Commission*. . [online]. [cit. 19.3.2012]. Dostupné z: http://berryhealth.fst.oregonstate.edu/health_healing/fact_sheets/strawberries_facts.htm
45. [online]. [cit. 19.3.2012]. Dostupné z: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR21/reports/sr21fg09.pdf>

46. REGANOLD, John P. Fruit and Soil Quality of Organic and Conventional Strawberry Agroecosystems. *PLOS one*. 2010, vol. 5, Is. 9, s. 1-13. [online] [cit. 21.3.2012] Dostupné z: http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kvasnickova3/PLoS_jahody.pdf
47. PIKOVÁ, Helena. Třetí úspěšné setkání pěstitelů jahod. *Zahradaweb*, 30.3.2012 [online]. [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/ovocnarska-vyroba/Treti-uspesne-setkani-pestitelu-jahod_s513x59518.html
48. FRIEDLEROVÁ, V. a H. HOLASOVÁ. Jahody jako zdroj folátů. *Vúpp* [online]. [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: <http://www.vupp.cz/czvupp/publik/05poster/05fiedlerova1.pdf>

Seznam použitých obrázků:

49. Hmotnostní spektrometrie. [online]. [cit. 20.2.2012]. Dostupné z: http://ime.fme.vutbr.cz/files/Studijni%20opory/im/_private/6_ICPMS.htm
50. Doc. Dr. Ing. KOPLÍK, Richard. *Přednášky z předmětu Speciální analýza potravin: Atomová spektrometrie*. VŠCHT v Praze. [online]. [cit. 15.2.2012] Dostupné z: <http://web.vscht.cz/koplikr/Atomov%C3%A1%20%20spektrometrie.pdf>
51. Analytická chemie I. *Vysoká škola chemicko - technologická* [online]. [cit. 20.2.2012]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/anl/matejka/ACH1-6-optika-a.pdf>
52. Spektrometrické analytické metody. [online]. [cit. 23.2.2012]. Dostupné z: http://users.prf.jcu.cz/sima/analyticka_chemie/spektraa.htm

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

GIT – gastrointestinální trakt

GI - gastrointestinální

CNS – centrální nervová soustava

HSAB - hard – soft – acid – base

KVO – kardiovaskulární onemocnění

WHO – angl. World Health Organization – Světová zdravotnická organizace

FAO – angl. Food and Agriculture Organization – Organizace OSN pro výživu a zemědělství

RH - angl. relative humidity – relativní vlhkost

AAS – atomová absorpční spektrometrie

AES – atomová emisní spektrometrie

ICP- MS – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

DEMI voda – ultra čistá voda

NPM – nejvyšší přípustné množství

DDD – doporučená denní dávka

7 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Doporučené denní dávky esenciálních prvků

Příloha 2: Legislativa

PŘÍLOHY

Příloha 1

Doporučené denní dávky esenciálních prvků

Tab. 11: Doporučené denní dávky esenciálních prvků [5]

Esenciální prvek	Potřebná denní dávka v mg							
	Dospělí			Těhotné a kojící		Děti do 1 roku	Děti 1 až 9 let	
Sodík	500			-		120- 200	225- 400	
Draslík	2000			-		500- 700	1000 - 1600	
Chlor	75			-		180- 300	350- 600	
Hořčík	muži	ženy		450		50- 70	150- 200 (do 6 let)	
	300	350						
Vápník	800			1200		400- 500	800- 1200 (starší děti a adolescenti)	
Fosfor	1200			-		300- 500	800 (do 10 let)	
Železo	muži	ženy nad 50 let	ženy a dívky 11 až 50 let	těhotné	kojící	Děti do 6 měsíců	Děti 6 měsíců až 10 let	Chlapci 11 až 18 let
Zinek	Chlapci a muži	Dívky a ženy	Nad 50 let	těhotné	kojící	5	10	
Měď	1,5 – 3,0			-		0,4- 0,7	0,7 - 2,0	
Mangan	2,0- 5,0			-		0,3 – 1,0	1,0 – 3,0	

Příloha 2
Legislativa

Hlavní platné předpisy, které upravují přítomnost kontaminujících látek v potravinách, jsou:

- Vyhláška 305/ 2004 Sb. účinná od 20. května 2004
- Nařízení Komise (ES) 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006

Vyhláška 305 ze dne 6. května 2004, kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách Ministerstvo zdravotnictví stanoví podle § 19 odst. 1 písm. a) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 306/2000 Sb. a zákona č. 146/2002 Sb. Tato vyhláška v souladu s právem Evropských společenství stanoví přípustná množství a druhy kontaminujících látek, toxikologicky významných látek a látek vznikajících činností mikroorganismů, které smějí potraviny a suroviny obsahovat. Nejvyšší přípustné úrovně radioaktivní kontaminace potravin stanoví zvláštní právní předpisy.

Obsah - 305/2004 Sb. (Aktuální znění)

- § 1 Tato vyhláška v souladu s právem Evropských společenství)
- § 2 (1) Pro hodnocení výskytu jednotlivých kontaminujících látek v potravinách se používá:
- § 3 Přejídné ustanovení
- § 4 Účinnost
- Příl Oddíl A

Příloha - Oddíl A

Část 1
ARSEN

Potravina	NPM mg.kgE-1
čokoláda a kakaové máslo	0,5
výrobky z kakaá	1,0
dětská a kojenecká výživa	0,1
ocet	1,0
ovoce a ovocné šťávy	0,2

Část 2
KADMIUM

Potraviny	NPM mg.kgE-1
mléko	0,01

vejce	0,02
luštěniny	0,2
chléb, pečivo	0,1
dětská a kojenecká výživa	0,1
nealkoholické nápoje	0,05
pivo	0,05
víno	0,05

Část 3 MĚĎ

Potravina	NPM mg.kgE-1
jedlé tuky a oleje	0,1
živočišné tuky	0,4
oleje panenské a lisované za studena	0,4
margariny, minariny	0,1

Část 4 OLOVO

Potravina	NPM mg.kgE-1
potraviny v plechových obalech s výjimkou nápojů a kojenecké a dětské výživy	1,0
brambory a výrobky z brambor*	0,2

* U brambor se hodnota vztahuje na loupané brambory.

Část 5 RTUŤ

Potravina	NPM mg.kgE-1
drůbež	0,05
obiloviny	0,05
mouka	0,03
rýže	0,03

zelenina	0,03
brambory	0,02
ovoce	0,03
ovoce	0,03
dětská a kojenecká výživa	0,02

Část 6 ZINEK

Potravina	NPM mg.kgE-1
ovocné šťávy	5,0

Část 7 ŽELEZO

Potravina	NPM mg.kgE-1
jedlé tuky, oleje	2,5
jedlé oleje panenské a lisované za studena	5,0
margariny, minariny	1,5

Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách (Úřední věstník L 364 ze dne 20.12.2006). Toto nařízení pro řadu potravin stanoví maximální přípustný obsah dusičnanů, mykotoxinů, kovů, dioxinů a polycyklických aromatických uhlovodíků.

PŘÍLOHA

Oddíl 3: Kovy

Potraviny [1] | Maximální limity (mg/kg čerstvé hmotnosti) |

3.1 | Olovo | |

3.1.1 | Syrové mléko [6], tepelně ošetřené mléko a mléko pro výrobu mléčných výrobků | 0,020 |

3.1.2 | Počáteční a pokračovací kojenecká výživa [4], [8] | 0,020 |

3.1.3 | Maso (s výjimkou drobů) skotu, ovcí, prasat a drůbeže [6] | 0,10 |

3.1.4 | Droby ze skotu, ovcí, prasat a drůbeže [6] | 0,50 |

3.1.5 | Svalovina ryb [24] [25] | 0,30 |

3.1.6 | Koryši, kromě hnědého krabího masa a kromě masa z hlavy a hrudi humra a podobných velkých koryšů (Nephropidae a Palinuridae) [26] | 0,50 |

3.1.7 | Mlži [26] | 1,5 |

3.1.8 | Hlavožci (bez vnitřností) [26] | 1,0 |

3.1.9 | Obiloviny, luskoviny a luštěniny | 0,20 |

3.1.10 | Zelenina kromě košťálové zeleniny, listové zeleniny, čerstvých bylinek a hub [27]. V případě brambor se maximální limit vztahuje na loupané brambory. | 0,10 |

3.1.11 | Košťálová zelenina, listová zelenina a pěstované houby [27] | 0,30 |

3.1.12 | Ovoce kromě bobulovin a drobného ovoce [27] | 0,10 |

3.1.13 | Bobuloviny a drobné ovoce [27] | 0,20 |

3.1.14 | Tuky a oleje, včetně mléčného tuku | 0,10 |

3.1.15 | Ovocné šťávy, rekonstituované koncentrované ovocné šťávy a ovocné nektary [14] | 0,050 |

3.1.16 | Víno (včetně šumivého vína, s výjimkou likérového vína), jablečné, hruškové a ovocné víno [11] | 0,20 [28] |

3.1.17 | Aromatizovaná vína, aromatizované vinné nápoje a aromatizované vinné koktejly [13] | 0,20 [28] |

3.2 | Kadmium | |

3.2.1 | Maso (s výjimkou drobů) skotu, ovcí, prasat a drůbeže [6] | 0,050 |

3.2.2 | Koňské maso kromě drobů [6] | 0,20 |

3.2.3 | Játra skotu, ovcí, prasat a drůbeže a koňů [6] | 0,50 |

3.2.4 | Ledviny skotu, ovcí, prasat a drůbeže a koňů [6] | 1,0 |

3.2.5 | Svalovina ryb [24], [25] kromě druhů uvedených v 3.2.6 a 3.2.7 | 0,050 |

3.2.6 | Svalovina těchto ryb [24], [25]: sardele (*Engraulis* spp.)pelamida obecná (*Sarda sarda*)mořan obecný (*Diplodus vulgaris*)úhoř říční (*Anguilla anguilla*)cípál šedý (*Mugil labrosus labrosus*)kranasi (*Trachurus* spp.)ryby druhu *Luvarus imperialis*sardinka obecná (*Sardina pilchardus*)sardinky (*Sardinops* spp.)tuňák (rodu *Thunnus*, *Euthynnus*, *Katsuwonus pelamis*)ryby druhu *Dicologlossa cuneata* | 0,10 |

3.2.7 | Svalovina mečouna obecného (*Xiphias gladius*) [24], [25] | 0,30 |

3.2.8 | Korýši, kromě hnědého krabího masa a kromě masa z hlavy a hrudi humra a podobných velkých korýšů (*Nephropidae* a *Palinuridae*) [26] | 0,50 |

3.2.9 | Mlži [26] | 1,0 |

3.2.10 | Hlavožci (bez vnitřností [26] | 1,0 |

3.2.11 | Obiloviny kromě otrub, klíčků, pšenice a rýže | 0,10 |

3.2.12 | Otruby, klíčky, pšenice a rýže | 0,20 |

3.2.13 | Sójové boby | 0,20 |

3.2.14 | Zelenina a ovoce kromě listové zeleniny, čerstvých bylinek, hub, řapíkaté a stonkové zeleniny, piniových oříšků, kořenové zeleniny a brambor [27] | 0,050 |

3.2.15 | Listová zelenina, čerstvé bylinky, pěstované houby a celer bulvový [27] | 0,20 |

3.2.16 | Řapíkatá a stonková zelenina, kořenová zelenina a brambory kromě celeru bulvového [27]. V případě brambor se maximální limit vztahuje na loupané brambory. | 0,10 |

3.3 | Rtuť | |

3.3.1 | Produkty rybolovu [26] a svalovina ryb [24], [25] kromě druhů uvedených v 3.3.2. Maximální limit se vztahuje na koryše kromě hnědého krabího masa a kromě masa z hlavy a hrudi humra a podobných velkých korýšů (*Nephropidae* a *Palinuridae*). | 0,50 |

3.3.2 | Svalovina těchto ryb [24], [25]: d'asi (*Lophius* spp.)vlkouš obecný (*Anarhichas lupus*)pelamida obecná (*Sarda sarda*)úhoři (*Anguilla* spp.)ryby druhu *Hoplostethus*hlavoun tuponosý (*Coryphaenoides rupestris*)platýz obecný (*Hippoglossus hippoglossus*)marlíni (*Makaira* spp.)pakambala (*Lepidorhombus* spp.)parmice (*Mullus* spp.)štika obecná (*Esox lucius*)palometa jednobarevná (*Orcynopsis unicolor*)treska (*Trisopterus minutus*)světoun bělooký (*Centroscymnus coelolepis*)rejnoci (*Raja* spp.)okouníci (*Sebastes marinus*, *S. mentella*, *S. viviparus*)plachetník širokoploutvý (*Istiophorus platypterus*)tkaničnice (*Lepidopus caudatus*, *Aphanopus carbo*)růžichy (*Pagellus* spp.)žraloci (všechny druhy)makrelovité (*Lepidocybium flavobrunneum*, *Ruvettus pretiosus*, *Gempylus serpens*)jeseteři (*Acipenser* spp.)mečoun obecný (*Xiphias gladius*)tuňáci (rody *Thunnus*, *Euthynnus*, *Katsuwonus pelamis*) | 1,0 |

3.4 | Cín (anorganický) | |

3.4.1 | Konzervované potraviny jiné než nápoje | 200 |

3.4.2 | Konzervované nápoje včetně ovocné a zeleninové šťávy | 100 |

3.4.3 | Konzervované příkrmy a obilné příkrmy pro kojence a malé děti kromě sušených výrobků a výrobků v prášku [3], [29] | 50 |

3.4.4 | Konzervovaná počáteční a pokračovací kojenecká výživa (včetně počátečního a pokračovacího mléka pro kojence) kromě sušených výrobků a výrobků v prášku [8], [29] | 50 |

3.4.5 | Konzervované dietní potraviny pro zvláštní léčebné účely [9], [29] určené speciálně pro kojence, s výjimkou sušených a práškových výrobků | 50 |

[1] Pokud jde o ovoce, zeleninu a obiloviny, odkazuje se na potraviny uvedené v příslušné kategorii podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005 ze dne 23. února 2005 o maximálních limitech reziduí pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu a o změně směrnice Rady 91/414/EHS (Úř. věst. L 70, 16.3.2005, s. 1), naposledy pozměněné nařízením (ES) č. 178/2006 (Úř. věst. L 29, 2.2.2006, s. 3). To mimo jiné znamená, že pohanka (*Fagopyrum* spp.) je zahrnuta do "obilovin" a výrobky z pohanky jsou zahrnuty do "výrobků z obilovin".

[3] Potraviny uvedené v této kategorii podle směrnice Komise 96/5/ES ze dne 16. února 1996 o obilných a ostatních příkrmech pro kojence a malé děti (Úř. věst. L 49, 28.2.1996, s. 17), naposledy pozměněné směrnicí 2003/13/ES (Úř. věst. L 41, 14.2.2003, s. 33).

[4] Maximální limity se vztahují na výrobky připravené k použití (prodávané jako takové nebo rekonstituované podle pokynů výrobce).

[6] Potraviny uvedené v této kategorii podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu (Úř. věst. L 226, 25.6.2004, s. 22).

[8] Potraviny uvedené v této kategorii podle směrnice Komise 91/321/ES ze dne 14. května 1991 o obilných a ostatních příkrmech pro kojence a malé děti (Úř. věst. L 175, 4.7.1991, s. 35), naposledy pozměněné směrnicí 2003/14/ES (Úř. věst. L 41, 14.2.2003, s. 37).

[9] Potraviny uvedené v této kategorii podle směrnice Komise 1999/21/ES ze dne 25. března 1999 o dietních potravinách pro zvláštní léčebné účely (Úř. věst. L 91, 7.4.1999, s. 29).

[13] Potraviny uvedené v této kategorii podle nařízení Rady (EHS) č. 1601/91 ze dne 10. června 1991, kterým se stanoví obecná pravidla pro definici, označování a obchodní úpravu aromatizovaných vín, aromatizovaných, vinných nápojů a aromatizovaných vinných koktejlů (Úř. věst. L 149, 14.6.1991, s. 1), naposledy pozměněného Protokolem o podmínkách a

pravidlech přijetí Bulharské republiky a Rumunska do Evropské unie. Maximální limit OTA pro tyto nápoje závisí na podílu vína a/nebo hroznového moštu v hotovém výrobku.

[24] Ryby uvedené v této kategorii jsou definovány podle kategorie a) s výjimkou rybích jater kódu KN 03027000 ze seznamu v článku 1 nařízení Rady (ES) č. 104/2000 (Úř. věst. L 17, 21.1.2000, s. 22), naposledy pozměněné Aktem o podmínkách přistoupení České republiky, Estonské republiky, Kyprské republiky, Lotyšské republiky, Litevské republiky, Maďarské republiky, Republiky Malta, Polské republiky, Republiky Slovinsko a Slovenské republiky a o úpravách smluv, na nichž je založena Evropská unie a úpravami smluv, na nichž je založena Evropská unie (Úř. věst. L 236, 23.9.2003, s. 33). V případě sušených, naředěných, zpracovaných a/nebo vícesložkových potravin se použije čl. 2 odst. 1 a čl. 2 odst. 2.

[25] Je-li určena ke konzumaci celá ryba, vztahuje se maximální limit na celou rybu.

[26] Potraviny spadající do kategorie c) a f) ze seznamu v článku 1 nařízení (ES) č. 104/2000, v příslušných případech (druhy podle příslušného záznamu). V případě sušených, naředěných, zpracovaných a/nebo vícesložkových potravin se použije čl. 2 odst. 1 a čl. 2 odst. 2.

[27] Maximální limit se vztahuje na ovoce nebo zeleninu po umytí a po oddělení jedlé části.

[28] Maximální limit se vztahuje na produkty vyprodukované po sklizni ovoce z roku 2001.

[29] Maximální limit se vztahuje na produkt při jeho prodeji.

[34] Potraviny uvedené v této kategorii podle a), b), c), e) a f) ze seznamu v článku 1 nařízení (ES) č. 104/2000, s výjimkou rybích jater kódu KN 03027000.

[35] Benzo[a]pyren, jehož maximální limity jsou uvedeny v seznamu, se používá jako indikátor výskytu a účinku karcinogenních polycyklických aromatických uhlovodíků. Tato opatření proto plně harmonizují předpisy, které se týkají polycyklických aromatických uhlovodíků v uvedených potravinách, ve všech členských státech.

[36] Potraviny uvedené v této kategorii podle b), c) a f) ze seznamu v článku 1 nařízení (ES) č. 104/2000.