



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

## VLASY JAKO BIOINDIKÁTOR KONTAMINACE RIZIKOVÝMI PRVKY

HAIR AS A BIOINDICATOR OF CONTAMINATION OF RISK METALS

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Marie Zmijová

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.

BRNO 2020

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1463/2019 Akademický rok: 2019/20  
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Studentka: **Marie Zmijová**  
Studijní program: Chemie a chemické technologie  
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí  
Vedoucí práce: **doc. MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Vlasy jako bioindikátor kontaminace rizikovými prvky

### Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat literární rešerši týkající se využití bioindikace zatížení těžkými kovy se zaměřením na tělní ochlupení.
2. Na základě studia literatury vybrat vhodnou metodu pro preanalytické zpracování lidských vlasů pro stanovení metodou polarografie.
3. Analýza vzorků lidských vlasů a zhodnocení výsledků.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

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

Marie Zmijová  
student(ka)

doc. MVDr. Helena Zlámalová  
Gargošová, Ph.D.  
vedoucí práce

doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Použití vlasu jako bioindikátoru kontaminace životního prostředí rizikovými prvky se stává stále běžnějším. Předložená bakalářská práce se zabývá použitím této matrice k analýze pomocí voltametrické metody. Zaměřuje se na optimalizaci metody stanovení koncentrace kadmia, mědi, olova a zinku v reálných vzorcích vlasů a sleduje vlivy působící na inkorporaci daných prvků do vlasového vlákna. Přítomnost zinku a mědi byla potvrzena ve všech analyzovaných vzorcích. Kadmium bylo možné kvantifikovat pouze v jednom vzorku. Vliv pohlaví a věku na množství prvků nebyl prokázán. U olova byla pozorována souvislost s kouřením, přičemž u kuřáků byly nalezeny vyšší koncentrace než u nekuřáků.

## **ABSTRACT**

The use of hair as a bioindicator of environmental contamination by risk elements is becoming more and more common. This bachelor thesis deals with the use of this matrix for analysis using the voltammetric method. It focuses on the optimization of the method for determining the concentration of cadmium, copper, lead and zinc in real hair samples and monitors the effects on the incorporation of these elements into the hair fiber. The presence of zinc and copper was confirmed in all samples analyzed. Cadmium could only be quantified in one sample. The effect of gender and age on the concentration of elements has not been demonstrated. Concentration of lead has been linked to smoking, with higher concentrations found in smoker's hair than in non-smoker's.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Voltametrie, těžké kovy, kontaminace, vlasy, bioindikátor, biomonitoring

## **KEYWORDS**

Voltammetry, heavy metals, contamination, hair, bioindicator, biomonitoring

ZMIJOVÁ, Marie. *Vlasy jako bioindikátor kontaminace rizikovými prvky*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/123968>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Helena Zlámalová Gargošová.

## **PROHLÁŠENÍ**

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

.....  
podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce doc. MVDr. Heleně Zlámalové Gargošové, Ph.D. za odborné vedení, poskytnutí literatury, cenné rady a trpělivost. Mé poděkování patří také mým přátelům, kteří mě během tohoto období ubytovávali a psychicky podporovali.

## OBSAH

1. Úvod.....	8
2. Teoretická část .....	9
2.1. Bioindikátory.....	9
2.1.1. Druhy bioindikátorů .....	9
2.2. Biomonitory .....	10
2.3. Vlastnosti bioindikátorů .....	10
3. Vlas jako bioindikátor.....	10
3.1. Fyziologie vlasu.....	11
3.2. Kovy ve vlasech .....	13
3.2.1. Endogenní původ .....	13
3.2.2. Exogenní původ .....	14
3.3. Současné studie využívající vlasy pro biomonitring .....	16
4. Rizikové prvky .....	20
4.1. Arsen.....	20
4.2. Chrom .....	20
4.3. Kadmium.....	21
4.4. Olovo.....	21
4.5. Rtuť.....	22
5. Zpracování vzorku vlasů.....	22
5.1.1. Odběr, transport a uchování vzorku vlasů .....	22
5.1.2. Odstranění vnější kontaminace vlasu .....	23
5.1.3. Rozklad vzorku.....	24
6. Analýza vzorku vlasů .....	25
6.1. Atomová absorpční spektrometrie (AAS).....	25

6.2.	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS).....	25
6.3.	Voltametrie (Polarografie).....	25
6.3.1.	Instrumentace .....	26
6.3.2.	Elektrody .....	27
6.3.3.	Pulzní voltametrie.....	28
7.	Experimentální část .....	30
7.1.	Instrumentace .....	30
7.2.	Chemikálie .....	30
8.	Metodika.....	30
8.1.	Odstranění vnější kontaminace .....	30
8.2.	Zpracování vzorků vlasů .....	31
8.3.	Optimalizace voltametrické metody .....	31
8.3.1.	Velikost rtuťové kapky .....	31
8.3.2.	Doba probublávání .....	31
8.3.3.	Délka depozičního času .....	31
8.3.4.	Kalibrační závislost .....	32
8.4.	Metoda přídatku standardu.....	32
8.4.1.	Mez detekce.....	32
8.4.2.	Mez stanovitelnosti.....	33
9.	Výsledky a diskuze .....	34
9.1.	Optimalizace metody.....	34
9.2.	Vliv velikosti rtuťové kapky .....	34
9.3.	Vliv doby probublávání .....	35
9.4.	Vliv času depozice.....	37
9.5.	Způsob rozkladu.....	38

9.6.	Vliv exogenní kontaminace vlasů .....	39
9.7.	Kalibrační závislost.....	40
10.	Voltametrická analýza vzorků .....	41
11.	Závěr .....	45
12.	Seznam použité literatury .....	46
13.	Seznam zkratk .....	54
14.	Seznam obrázků.....	55
15.	Seznam tabulek.....	56

## 1. ÚVOD

Životní prostředí je neustále zatěžováno různými antropogenními činnostmi produkujícími chemické látky a rizikové prvky, které jsou nebezpečné pro zdraví člověka. Díky provázanosti přírodních systému se tyto polutanty dostávají do všech složek životního prostředí a působí na jeho celkový stav, jeho fungování a také na organismy, které se v něm vyskytují. Některé organismy mají schopnost reagovat na cizorodé látky nebo je kumulovat a poskytovat tak informace nejen o expozici organismu toxickým prvkům, ale také o kvalitě životního prostředí. Člověk přijímá rizikové prvky z různých zdrojů, může se jednat o vdechování prachových částic, konzumaci kontaminovaných potravin či používání nevhodné kosmetiky. Vlasy jsou schopny inkorporovat tyto prvky do vlákna a jako konečný produkt metabolismu jsou proto vhodným indikátorem kontaminace rizikovými prvky. Jejich analýza je v praxi nejčastěji prováděna pomocí metody ICP-MS, jejíž provoz je oproti méně běžným metodám jako AAS nebo elektrochemické techniky finančně náročnější. Pro analýzu vlasů v této bakalářské práci byla zvolena metoda stripovací voltametrie.



## 2. TEORETICKÁ ČÁST

Organismy, populace, společenstva a celé ekosystémy jsou přirozeně ovlivňovány početnými biotickými a abiotickými stresovými faktory, těmi jsou například výkyvy klimatu, měnící se radiace, potrava, nemoci, paraziti, vztahy kořist-predátor a soupeření mezi jednotlivými druhy [1]. Důležitou charakteristikou všech živých organismů, včetně lidí, rostlin a zvířat, je schopnost reagovat na vnější stresory [2]. Reakcí se aktivují procesy, pomáhající organismu přežít. Organismus se změnám prostředí, způsobených například znečištěním, snadno přizpůsobuje. Tyto změny jsme většinou schopni pozorovat, měřit a následně určit jejich příčinu.

Na opakovaném sledování dopadu vnějších vlivů na ekosystémy v určitém časovém horizontu, při kterém se využívají bioindikační organismy a bioindikační metody, je založen biomonitoring. Obecně využívá živých organismů jako indikátorů kvality prostředí, které nám dávají možnost zjišťovat vliv lidské činnosti na fungování a strukturu celé krajiny [3]. Umožňuje monitorování přítomnosti cizorodých látek v prostředí prostřednictvím biologického indikátoru, jako jsou rostliny, živočichové nebo člověk. V tomto případě je biologický monitoring založen na sledování biologického ukazatele (biomonitoru) v tkáních nebo tekutinách lidského organismu (vlasy, nehty, krev, moč, mateřské mléko, podkožní tuk atd.) [4].

### 2.1. Bioindikátory

Existuje několik definicí, které vysvětlují pojem bioindikátor. Obecně se jedná o organismus (nebo část organismu či komunity organismů), který obsahuje informaci o kvalitě životního prostředí (nebo části životního prostředí) [1, 3]. Díky všem složitým vazbám v ekosystémech jsou životní funkce organismů spojeny s prostředím, a proto jejich ovlivnění kontaminantem nebo jeho kumulace v organismu slouží jako ukazatel působení cizorodých látek [5].

#### 2.1.1. Druhy bioindikátorů

Na základě cíle, s jakým je biologické monitorování prováděno, můžeme rozlišit tři hlavní skupiny bioindikátorů [3]:

##### 1) Testovací organismy

Testovací organismy (senzitivní) slouží k bezprostřednímu stanovení účinků chemické látky, popř. ke studiu různých vlivů prostředí na organismus v laboratorních podmínkách. Stanovení probíhá za přesně definovaných podmínek podle standardizovaných a často normovaných metodik. Výhodou tohoto testování je efektivnost, snazší interpretace výsledků oproti monitoringu v přírodních podmínkách a relativně krátká doba pro získání výsledků. Nevýhodou ovšem je fakt, že výsledky těchto testů nejsou zcela relevantní v přírodních podmínkách, které se od laboratorních mohou výrazně lišit [3, 5].

##### 2) Bioindikátory ekologické homeostáze

Populace či společenstva těchto druhů mohou sloužit k indikaci kvality krajiny nebo jejích částí, a dokonce mohou být využity pro prognózu jejího dalšího vývoje [2, 3].

### 3) Organismy sentinely

Jedná se o citlivé organismy pro impaktní monitoring, obvykle se jedná o jeden druh, u kterého sledujeme různé fyziologické ukazatele, patologické odchylky a odchylky vývojových tendencí nebo genetické změny způsobené změnami v terénu [3].

## 2.2. Biomonitoring

Biomonitor je organismus (nebo část organismu či komunity organismů), který obsahuje informaci o kvantitativních aspektech kvality životního prostředí [1]. Jedná se tedy o skupinu akumulčních indikátorů, oplývající schopností akumulovat v sobě cizorodé látky z prostředí bez ovlivnění jejich funkcí a bez letálního účinku. Tyto organismy se používají pro vlastní chemickou analýzu ke sledování expozice [6]. S jejich využíváním navíc souvisí i pojmy biokoncentrace, bioobohacování (biomagnifikace) a bioakumulace [2].

Biokoncentrace je proces, při kterém v organismu dochází k akumulaci toxikantu nepodléhajícímu biotransformačním procesům. Zahrnuje příjem látky z daného prostředí, ale i případné vylučování látky organismem [7]. Bioobohacování udává trofický nárůst koncentrace toxikantu přijatého z kontaminované potravy [7] a bioakumulace vyjadřuje navýšení koncentrace kontaminantu způsobené jak konzumací kontaminované potravy, tak příjmem látky z prostředí.

Biomonitor je vždy zároveň bioindikátor, avšak bioindikátor nemusí nutně splňovat požadavky pro biomonitor [1, 3, 5].

## 2.3. Vlastnosti bioindikátorů

Ne všechny biologické procesy, organismy nebo komunity mohou být využity jako vhodné ukazatele působení toxikantu. Vlivem fyzikálních, chemických a biologických faktorů dochází k tomu, že každé prostředí poskytuje různé podmínky pro vývoj. U vzácných a zároveň citlivějších druhů organismů může docházet k indikaci už při sebemenší změně prostředí. Tento jev je spojen s nižší tolerancí ke změnám a většinou pak neposkytuje dobře měřitelnou informaci ani informaci o kvantitě. Z tohoto důvodu se používají ukazatelé s mírnou tolerancí k proměnlivosti prostředí [8]. Vhodný indikátor by měl mít rovněž vlastnosti, mezi které patří například včasná reakce na stres a poskytnutí měřitelné odpovědi. Reakce by také měla být adekvátní stupni znečištění, specifická a indikátor by měl snášet i dlouhou expozici toxikantem bez poškození nebo usmrcení (akumulovat polutant) vlivem vyšších hladin koncentrací, se kterými přijde do styku [2, 6, 9]. Pro biomonitoring je také významné zeměpisné rozšíření bioindikátoru, hojnost výskytu v daných lokalitách a v neposlední řadě také to, zdali je přisedlý (neměl by se příliš pohybovat), neboť jen tak reflektuje dané místo a prostředí [2, 9]. Z hlediska možnosti dlouhodobého monitoringu a analýzy by organismus měl být dostupný po řadu let.

## 3. VLAS JAKO BIOINDIKÁTOR

Hlavním cílem při monitorování znečišťování životního prostředí je především zjistit vliv polutantů na člověka, tedy jeho expozici polutantům. Díky biologickému monitoringu sledujeme

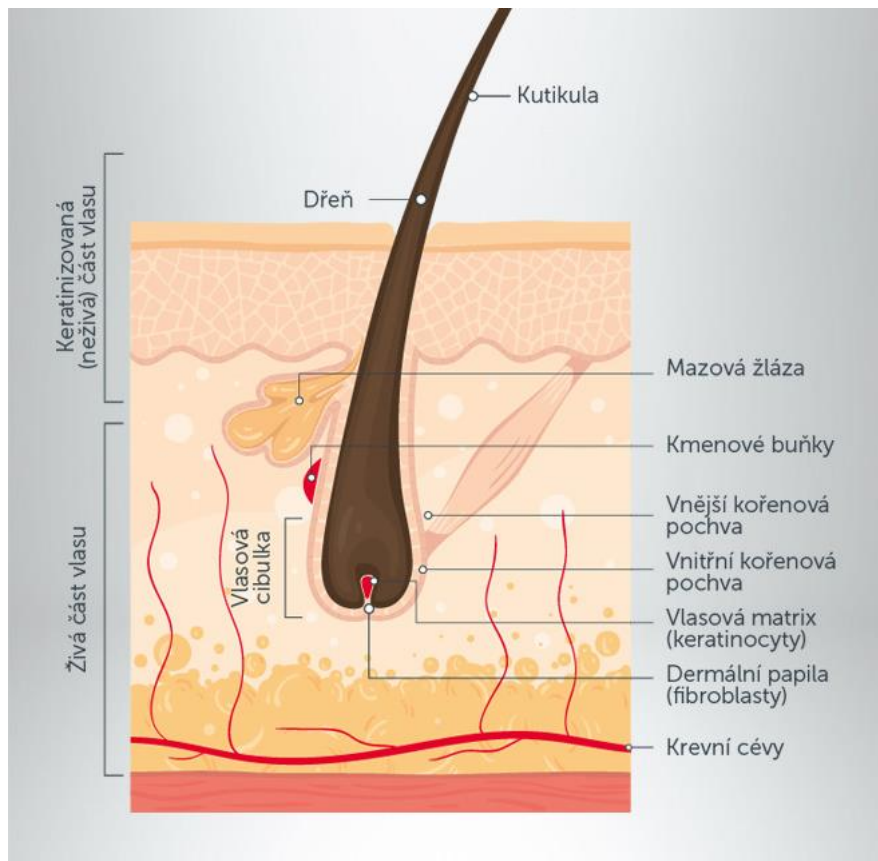
expozici jednotlivců určitým chemikáliím v různých oblastech životního prostředí [1]. Měření tkáňových zátěží napomáhá při posuzování výskytu a (do určité míry) zároveň rozsahu absorpce znečišťujících látek z prostředí [10]. Důležité jsou především výsledky týkající se lidské expozice toxickým kovům a perzistentním organickým polutantům. Jedná se o chemikálie užívané pro různé účely, jako jsou například pesticidy, přídatné látky ve spotřebním zboží a látky pro technické použití [11]. Lidé jsou navíc neúmyslně vystaveni i toxickým látkám, které vznikají jako vedlejší produkty nebo jako meziprodukty či metabolity [11].

Koncentrace polutantů u lidí a jiných savců, se stanovuje především ve snadno dostupných biologických materiálech jako je moč, krev, nehty a vlasy, případně i srst, rohy nebo parohy. V současnosti jsou vlasy jedním z nejpoužívanějších materiálů pro analýzu. Jsou označovány jako konečný produkt metabolismu, a proto jsou vhodným materiálem pro sledování hladin kovů ve stopovém množství [1, 11]. Často se také používají za účelem stanovení návykových látek. Mezi běžně sledované patří například nikotin, dále například metabolity drog ze skupiny opiátů, stimulantů, halucinogenů a dalších. Vlasy nalézají využití i v jiných oblastech, jako je například klinická biochemie nebo forenzní a environmentální analýza [10]. Již v šedesátých letech byla demonstrována použitelnost vlasu jako vzorku pro stanovení arsenu a později také spojitost mezi stupněm kontaminace životního prostředí a obsahem arsenu ve vlasech [11].

Využití vlasu jako biomarkeru při hodnocení kontaminace má mnoho výhod, ale i nevýhod. Jedná se o ideální biotický materiál, který můžeme odebrat téměř každému a navíc bezbolestně, neinvazivně. Díky jeho fyzikální i chemické stabilitě se nepředpokládá ukládání kovů do vlasu v období od odebrání vzorku do analýzy.

### 3.1. Fyziologie vlasu

Vlas je tvořen dvěma základními částmi. Vyčnívající část nad kůží se nazývá vlasové vlákno a druhá část, nacházející se pod kůží, je vlasový kořen (*radix pili*). Vlasový kořen můžeme podél osy rozdělit do tří zón na zónu buněčné proliferace a diferenciaci (vlasová cibulka), zónu keratinizace a dále zónu permanentního vlákna [12]. Nejhlubší část kořene je tzv. vlasová cibulka (*bulbis pili*), která je součástí vlasového folikulu stejně jako pojivá tkáň a žlázy (mazové, potní) [12, 13]. Vlasová cibulka je obalená vlasovou pochvou. S vlasovým folikulem dále spojujeme dermální papilu, vzpřimovač chlupů a melanocyty, tvořící pigment. Dermální papila se označuje jako „generativní zóna“ vlasu a obsahuje krevní cévy (spojené dvěma kapilárními sítěmi), nervy a buňky vytvářející pigment. Vlasová pochva je tvořena třemi vrstvami, přičemž vnitřní a vnější je epitelální a střední vazivová. Buňky folikulu vytváří z keratinizovaných buněk vlasovou kůru (Obr. 1) [12, 14].



Obr. 1: Anatomie vlasu [15]

Vlasové vlákno je systém složený z několika základních složek, kterými jsou: keratin (80 %), voda (15 %), lipidy, pigment a stopové prvky [16, 17]. Charakter vlasů se mění v závislosti na místě výskytu, věku, pohlaví a rase. Povrch vlasového vlákna je tvořen 6–9 vrstvami kutikuly, která tvoří překryv ze zploštělých buněk (šupin) obklopující kůru [16, 18]. Má hladký povrch a odráží světlo, což vytváří lesk, který je spojován se zdravými vlasy (poškozená kutikula má drsný povrch, který minimalizuje lesk a odhaluje vnitřní vrstvy, které se následně rozštěpují) [19]. Kutikula chrání vlas před vnějšími vlivy a reflektuje interakce, k nimž došlo během formování vlasu [14]. Další zónou je zóna keratinizace, tzv. kortex (vlasová kůra), kde se vlas zpevňuje vlivem tvořících se cysteinových sítí [17]. Kromě mechanických vlastností přispívá kortex i k barvě vlasu [12, 16]. Kortex se skládá z těsně seskupených vláken keratinu (mikrofibrilů) a amorfní matrix s proteiny s vysokým obsahem sulfidických skupin. Tvar, stabilita a textura vlasového vlákna je dána disulfidovými vazbami [14, 16] Mikrofibrilů se dále kruhově uskupují do makrofibrilů, které jsou navzájem spojeny proteinovým tmelem a buněčnými membránami tvořícími vrstvu, ve které se shlukují granule pigmentových zrn [20]. Pigment vlasu (melanin) je po chemické stránce polymer, jehož biosyntéza spočívá v enzymatické oxidaci aminokyseliny tyrosinu díky činnosti melanocytů ve vlasové cibulce [12, 21]. Fagocytózou se dostává do kortikálních buněk, kde je obsažen v pigmentovaných granulích a difuzní formě [12]. Převládající formy melaninu u lidí jsou hnědočerný eumelanin a žlutočervený pheomelanin [21]. Pravidelnému uspořádání makrofibrilů se říká orthokortex. Při namáhání vlasů barvením/odbarvováním a tepelným

upravováním dochází k nepravidelnému uspořádání vlasového kortexu a vzniká parakortex, který se liší jak fyzikálními vlastnostmi, tak chemickým složením aminokyselin a také reaktivitou. Ve vnitřní zóně vlasu se nachází dřev, nazývaná medulla, v níž probíhá biologická syntéza. Jedná se o kanálek, jehož průměr se liší podle průměru vlasu. Tato část je ovšem přítomná pouze ve vlasech, vousech, ale ne vždy anebo jen místy [18]. V jemném ochlupení a miniaturních vlasových vláknech se nenachází [14]. Význam má spíše u zvířat (tepelná izolace) [14, 18].

Biosyntéza vlasu začíná v dermální papile vlasového folikulu, kde se tvoří vlasové vlákno, které se pokrývá v keratogenní zóně. Současně se syntetizují proteiny s nízkým i vysokým obsahem síry. Jejich zastoupení se u různých etnických skupin příliš neliší, avšak i nadále je jejich rozložení studováno s ohledem na jiné faktory (stravování, genetická predispozice, zdravotní stav, vliv kosmetických přípravků, znečištění životního prostředí). Obsah vody ve vlasech je ovlivněn vlhkostí okolního prostředí [13, 14, 18].

### **3.2. Kovy ve vlasech**

Začleňování kovů do vlasů nám umožňuje neinvazivní hodnocení expozice kovů u lidí a jiných savců. Přítomné kovy ve vlasech mohou mít exogenní nebo endogenní původ (adsorpce z vnějšího prostředí nebo inkorporace do rostoucího vlasu z krve dodávané vlasovým folikulem) [22]. Analýza vlasu poskytuje nejvíce informací v případě, že kov, který je předmětem zájmu, je xenobiotikum a expozice je alimentární [23]. Na jejich začleňování do vlasu má vliv několik faktorů, které by neměly být při analýze opomíjeny. Těmito faktory jsou například pohlaví a metabolismus jedince, věk, stravování, rasa, barva vlasů, zdravotní stav a hygiena [11, 24, 25, 25]. Vlivem nesouměrného růstu vlasů ve všech částech hlavy se navíc koncentrace zkoumaných prvků mohou lišit [17].

#### **3.2.1. Endogenní původ**

Předpokládá se, že primární zdroje kovů ve vlasech jsou endogenního původu. Jedná se o biologické prostředí tvořícího se vlasu a tím jsou tkáně, které samy přijímají tyto prvky z krve, do níž se dostávají z potravy. Konkrétně jsou to pojivové tkáně papily, mazové žlázy, potní žlázy a epidermis. Společně tvoří základní matici pro každý vlas [13].

Ve vlasovém folikulu se nachází vlasová cibulka, která je tvořena shlukem kmenových buněk – *matrix bulbu*. Zodpovídá za tvorbu a růst vlasu. Spolu s pojivovou tkání papily, extracelulárními tekutinami a cirkulující lymfou v krvi poskytuje metabolické prostředí, které obsahuje také rozpuštěné stopové prvky včetně těžkých kovů [24]. Řada kovů má schopnost reagovat s thiolovými skupinami folikulárních proteinů za vzniku metaloproteinů a merkaptidů. Jakmile se kovy absorbují z krevního oběhu do vlasové cibulky, dochází k tvorbě keratinu z těchto komponentů. To má za následek začlenění kovu do struktury rostoucího vlasu [28, 29]. Jeho koncentrace se podél vlasu mění v závislosti na expozici.

Byla vyzkoušena přítomnost arsenu v kožním mazu produkovaném mazovými žlázami vlasového folikulu [27, 29], z čehož vyplývá pravděpodobnost absorpce prvku do vlasu. Jiný autor uvádí význam mazu z důvodu obsahu směsi lipidů a vosků, které mohou poskytnout chemické i fyzikální prostředí k začlenění stopových prvků do vlasu takovým způsobem, že již

následně nemohou být omyty ani extrahovány [13]. Zcela opačného názoru je Klevay [24] s tvrzením, že tyto mazové sekrece vlas od absorpce chrání.

Přítomnost těžkých kovů byla zaznamenána také v potu. Vzhledem k disulfidové vazbě v keratinu a afinitě Pb, Hg a As k síře v této formě by pot při styku s vlasem mohl být dalším ovlivňujícím faktorem. Výzkumy tuto skutečnost nepotvrdily až na případ, ve kterém byl vzorek vlasů ponořen do simulovaných roztoků potních žláz obsahujících ionty kovů, kdy bylo adsorbováno celkem významné množství iontů  $As^{3+}$  a  $As^{5+}$  [24].

### **Vliv stravování**

Problém nastává i v situaci, kdy je kov, který je předmětem našeho zájmu, zároveň základním prvkem výživy. Vztah mezi stravováním a koncentracemi stopového kovu není zcela jednoduchý. Studie zkoumající tyto vztahy navíc často docházejí k protichůdným závěrům [31]. Při studiu vlivu doplňků stravy obsahujících selen byl zjištěn nárůst koncentrace prvku ve vlasech, i když jeho koncentrace v krvi nestoupala [32]. Naopak při studii zabývající se obsahem zinku a mědi nárůst jejich množství ve vlasech nebyl pozorován. Nebyl zjištěn žádný přímý vztah mezi koncentracemi prvků ve vlasech a v krvi. Nutno podotknout, že koncentrace kovu není závislá výhradně na koncentraci kovu ve stravě, ale na ostatních složkách stravy. Jedná se o látky ovlivňující příjem a absorpci jednotlivých prvků [31].

### **Vliv barvy vlasů**

Melanin vykazuje afinitu ke kovovým iontům a pigmentované tkáně (*in vivo*) obsahují těchto iontů značné množství. Dá se tedy předpokládat, že podporuje kumulaci a zadržování některých stopových prvků ve vlasech díky vzniku vazby s kovem [33]. Po jeho destrukci je tato schopnost vlasu narušena. Je možné, že z tohoto důvodu bývají hladiny těchto prvků u lidí se světlejšími vlasy nižší než u tmavovlasých jedinců. Studie zabývající se rozdíly v barvě nebo depigmentací vlasů však nikdy nebyly přesné v popisu nebo klasifikaci barvy, což značně komplikuje srovnávání získaných poznatků [33].

Mnohé studie [33–35] pojednávají o barvě vlasů jako o proměnné, která je zodpovědná za hladiny stopových prvků ve vlasech, určované množstvím melaninových pigmentů v kůře. Někteří autoři tuto korelaci mezi množstvím melaninu ve vlasech a obsahem kovů, především u zinku, potvrzují [33, 34]. Blond vlasy v těchto výzkumech obsahovaly nejnižší hladiny zinku oproti ostatním barvám. Mnozí autoři s tímto tvrzením nesouhlasí [33]. U jiných prvků (např. Pb, Hg, Cd, Co) vztah s melaninem nebyl zcela potvrzen (nedostatek výzkumů) a zůstává nejasný [34, 35].

### **3.2.2. Exogenní původ**

Nevýhodou, která se na objektivitě bioindikace prostřednictvím vlasů může podstatně projevit, je vnější kontaminace vlasu. Do exogenních zdrojů stopových prvků řadíme prachové částice ve vzduchu, látky přítomné ve vodě, kosmetické přípravky, nástroj použitý k odebrání vzorků, pracovní prostředí a prostředí, ve kterém člověk žije a pohybuje se. Prvky z těchto zdrojů se ukládají na vlasy a považují se za odstranitelné praním [24]. Současné studie ovšem potvrzují schopnosti kovů vázat se na thiolové skupiny proteinů za vzniku pevné vazby (metaloproteinů),

kteřou není snadné narušit. Takto navázané kovy z vnějšího prostředí se mohou stát součástí vlasu a jejich odstranění pomocí intenzivních metod čištění by mohlo vést k odstranění endogenně vázaných kovů, následkem čehož by byly výsledky nepřesné [29, 28].

### **3.2.2.1. Úprava vlasů**

Ačkoli vlasy neplní žádnou životně důležitou funkci, tvoří významnou část našeho vzhledu. Jedná se o jednu z mála lidských charakteristik, kterou můžeme libovolně měnit podle uvážení [16]. Můžeme tak svůj vzhled přizpůsobovat módním trendům či kultuře. Mezi procesy, kterými lidstvo nejčastěji upravuje své vlasy, jednoznačně patří zesvětlování a barvení. Tyto procesy jsou navíc určujícím ukazatelem použitelnosti vzorku vlasů. Výrazné ovlivnění vlasového vlákna je způsobeno také permanentním rovnáním a ondulací.

Pigment, proteiny i lipidy vlasu jsou náchylné k degradaci způsobené viditelným a UV zářením. Lipidy ve vlasové kůře (kortex) jsou pravděpodobně citlivější spíše na světelné záření a jejich degradace může způsobovat lámání vlasového vlákna. To může do budoucna v kombinaci s chemickou úpravou zapříčinit nejenom lámání, ale i třepení a celkové oslabení vlasů. Aminokyseliny v tmavých vlasech jsou pravděpodobně odolnější proti degradaci světelným zářením než aminokyseliny u vlasů světlejších odstínů. Příčinou je eumelanin (hnědočerný polymer), který se ve vlasech vyskytuje a poskytuje jim tak jakousi ochranu. Zajímavý je fakt, že vlasy na melanin chudé (šedé, starších osob) jsou oxidovány pomaleji. To naznačuje, že peroxid reaguje přednostně s melaninem (oxiduje ho) a až následně s lipidy [14].

### **3.2.2.2. Zesvětlování / odbarvování vlasů**

Nejpopulárnější a nejčastější úpravou vlasů je jejich zesvětlování. Jelikož je melanin vůči oxidaci v kyselém prostředí celkem rezistentní, používá se pro jeho degradaci alkalický peroxid vodíku, kdy oxidací dochází k částečnému narušení jeho polymerní struktury, přičemž vznikají karboxylové skupiny, které usnadňují rozpouštění melaninových granulí za alkalických podmínek [14]. Oxidací a následně redukcí je melanin nevratně zničen a výsledkem je odbarvení nebo zesvětlení vlasů, které způsobuje změnu struktury vlasů. Obecně dochází k oxidačnímu štěpení disulfidových vazeb v keratinu a k poškození kutikuly, která je poté více porézní [16]. Při odbarvování hnědých vlasů se rozštěpí až 25 % disulfidových vazeb, pokud se provádí z černé barvy na blond, dochází k rozštěpení až 50 % těchto vazeb, proto se vlasy podrobené této operaci k analýze stopových prvků nepoužívají.

### **3.2.2.3. Barvení vlasů**

K dispozici je velká nabídka přírodních i umělých látek barvících vlasy. Rostlinné a kovové barvy patří mezi přírodní barviva, která jsou v dnešní době nahrazena syntetickými organickými látkami. K zabarvení vlasů do tmavších odstínů se v minulosti používaly kovové barvy využívající soli olova, bismutu nebo stříbra. Předpokládá se, že kovy reagují s cysteinem v kutikule a tvoří v ní sulfidy, a tato depozice se v kutikule postupně akumuluje [14, 16]. Používání těchto kosmetických přípravků bylo limitováno z důvodu možných toxikologických účinků způsobených aplikací. Bylo ovšem dokázáno, že absorpce olova z barvy do vlasů představovala přibližně 0,5 % průměrného denního „příjmu“ olova absorpcí z životního prostředí [14]. V dnešní době se používají jen olovnaté soli.

### 3.3. Současné studie využívající vlasy pro biomonitoring

Vlasy byly jako bioindikátor v uplynulých letech používány pro různé účely; například pro zjišťování hladin rtuti při časté konzumaci ryb [37], pro zjišťování úrovně kontaminace kovy z pracovního prostředí [38, 39]. Dále pro porovnávání zátěže z určitých lokalit před a po sanitaci a pro hodnocení stavu životního prostředí. Studie zabývající se touto problematikou obvykle subjektům poskytujícím své vlasy předloží dotazník, ve kterém je třeba uvést věk, pohlaví, stravovací návyky (především konzumace ryb), zdroj pitné vody, zdravotní stav, užívané léky, zaměstnání a zdali je dotyčný kuřák. Na základě těchto parametrů a získaných výsledků se následně porovnávají určité skupiny populace. Někteří autoři tak nalézají souvislosti mezi některými faktory a množstvím těžkého kovu obsaženého v matrici. Jedná se o velice komplexní soubory vlivů, které se často prolínají, a proto je někdy obtížné tyto souvislosti potvrdit.

Jako jeden z hlavních faktorů ovlivňujících koncentrace kovů ve vlasech se jeví věk, který také úzce souvisí s metabolismem daného jedince. Jelikož je metabolismus člověka velmi individuální, korelace mezi koncentrací a věkem není vždy jednoznačná. Ostatně toto platí i u dalších parametrů. Většina autorů se shoduje s tvrzením, že koncentrace prvků u dětí je oproti dospělým jedincům nižší [25, 39, 41, 42]. To může být zapříčiněno menšímu vystavení kontaminaci (např. ze zaměstnání), požíváním méně kontaminovaných potravin a také absence používání kosmetických přípravků obsahujících toxické prvky [39]. Objevily se také studie, ve kterých autor uvádí, že koncentrace určitých prvků byla u dětí vyšší [41, 43]. Jako příklad lze uvést koncentraci kadmia u dětí ve věku 6 až 11 let z regionu Kima (Egypt), kde byla zjištěna hodnota více než dvojnásobná ( $0,89 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) [41]. V tomto případě autoři předpokládají, že je to důsledek návyku malých dětí označovaného jako tzv. hand-mouth behavior, kdy zejména ve venkovním prostředí děti vkládají různé objekty poznání do úst [44]. U skupin dospělých jedinců se výsledky jednotlivých studií různí, někdy autoři dochází k závěrům, že se koncentrace s přibývajícím věkem zvyšují [35, 46, 45], naopak v jiných případech se snižují nebo zůstávají stejné [39] a někdy zmiňují jen jednu konkrétní věkovou skupinu [25]. V některých případech nebyla nalezena žádná souvislost [47, 48].

Mnoho studií dospělo k závěru, ve kterém udávají jako určující faktor pro kumulaci některých prvků pohlaví (Tab. 1). Ve většině případů se jedná o Zn, Pb a Cd, u kterých byla zjištěna trvale vyšší hodnota u mužů [26, 41, 42, 45]. V některých situacích byly koncentrace Cd a Zn [45, 53] nebo As, Cd, Co, Ni a Pb [49, 50] vyšší u žen a jindy nebyly nalezeny žádné signifikantní rozdíly mezi hodnotami obou pohlaví [39, 51, 52]. Nabízí se také varianta vlivu genderově specifických rozdílů, je ovšem třeba brát v potaz další faktory v konkrétní oblasti zkoumání. Většinou se jedná o lokality, u kterých se znečištění, vlivem nějakého druhu lidské činnosti (průmysl, důlní činnost atp.), předpokládá. V těchto případech tvoří muži většinu zaměstnanců pracujících za zvýšeného rizika výskytu toxických prvků. Na druhou stranu je třeba zvážit množství používaných kosmetických přípravků u žen. Pro ověření skutečnosti vlivu pohlaví na kumulaci konkrétních prvků by výzkum měl být zaměřen na osoby žijící mimo oblasti ovlivněné kontaminací nebo je třeba zvolit vhodnou srovnávací skupinu.



Tab. 1: Koncentrace rizikových prvků ve vlasech mužů a žen

Autor, země	Pohlaví	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]					Metoda	Poznámky
		Hg	Pb	Cd	Cr	As		
Ali, Pákistán [39]	muž	5,25					CVAAS	
	žena	3,52						
Baran, Polsko [53]	muž		3,04	0,09			ICP-OES	
	žena		2,46	0,19				
Massadeh, Jordánsko [45]	muž		8,26	0,31			AAS	průměr všech věkových skupin
	žena		6,07	0,52				
	muž*		15,2	0,33				
Rashed, Egypt [41]	žena*		16,6	0,41			AAS	kontaminovaná lokalita*
	muž		7,61	0,20				
	žena		9,33	0,23				
Sroggi, Polsko [45]	muž		37,8	2,33			DPASV	
	žena		15,6	0,69			FAAS	
Wolfsperger [49]	muž		1,62	0,03	0,68	0,13	ICP-MS	Řím
	žena		2,27	0,08	0,67	0,04		
	muž		1,08	0,03	0,87	0,12		
	žena		2,48	0,06	0,81	0,04		
Massaquoi, Čína [51]	muž*		4,82	0,16		1,08	ICP-OES	znečištěný zdroj zavlažovací vody*
	žena*		6,46	0,13		1,15		
	muž		2,93	0,09		0,94		
Molina-Villalba, Španělsko [54]	žena		3,10	0,07		0,94	AAS	zavlažování čistou vodou
	muž	0,98				0,06		
	žena	1,51				0,08		
Gil, Španělsko [50]	muž		23,78	0,08	3,07		AAS	děti
	žena		36,12	0,02	10,90			

Tab. 2: Koncentrace rizikových prvků ve vlasech u kuřáků a nekuřáků

Autor	Kuřák	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]					Metoda	Poznámky
		Hg	Pb	Cd	Cr	As		
Ali, Pakistán [39]	ano	6,71					CVAAS	
	ne	4,95						
Massadeh, Jordánsko [45]	ano		10,15	0,61			AAS	průměr všech věkových skupin
	ne		7,00	0,32				
Srogi, Polsko [45]	ano		27,00	4,10			DPASV	ženy a muži dohromady
	ne		12,74	0,85			FAAS	
Wolfspurger, Itálie/Rakousko [49]	ano		3,42	0,08	0,84	0,08	ICP-MS	
	ne		1,47	0,04	0,72	0,07		
Gil, Španělsko [50]	ano		17,64	0,70	2,87		AAS	
	ne		30,61	0,80	3,98			

Při výzkumu jedné věkové kategorie nebo jednoho pohlaví byly většinou hledány jiné možné souvislosti kromě stravy. Těmi jsou například užívání kosmetiky, ale také sociodemografické faktory jako dosažené vzdělání, zaměstnání, studium či plat. Při zkoumání skupiny dětí základních škol ve španělské Valencii byla nalezena souvislost naznačující přímou úměru mezi koncentracemi sledovaných prvků a dosaženým vzděláním rodičů a také tím, zdali je alespoň jeden rodič zaměstnán [55] a v jakém odvětví. S tímto faktorem souhlasí také další autoři [39, 54]. Studie zabývající se vlivem konzumace ryb [37], potvrzuje vztah mezi úrovní kontaminace a vzděláním, zaměstnáním a příjmem domácnosti. Dá se předpokládat, že finance jsou v tomto případě stěžejní faktor. Lidé s vyšším dosaženým vzděláním mají obvykle vyšší příjmy a mnohdy konzumují více ryb (které jsou hlavním zdrojem olova), užívají více kosmetických přípravků a více podrobují své vlasy kosmetickým úpravám.

Vliv stravování, a především konzumace ryb má při analýze vlasu nesmírný význam, jelikož ryby obsahují značnou část rtuti přijímané ve formě methylrtuti. Ta se vytváří mikrobiálním působením ze rtuti poté, co se dostává do vodního ekosystému. Tato forma se následně bioakumuluje v potravním řetězci [37, 39]. Významnost vlivu tohoto faktoru je potvrzena mnoha studiemi. Sledovány jsou i jiné potraviny v lokalitě prováděných výzkumů, jedná se především o vypěstované plodiny či živočišné produkty. Nemenší význam má zdroj konzumované pitné vody a její kvalita. Koncentrace obsažených rizikových prvků často přesahují doporučené limity WHO [39].

Nemalý podíl na množství rizikových prvků ve vlasech má také kouření (Tab. 2), a to jak aktivní, tak pasivní. Nárůst koncentrací v této matrici oproti nekuřákům je zřejmý u všech prvků (kromě As), největší rozdíl je nejčastěji možno pozorovat v koncentraci Cd, které je ve velkém množství obsaženo v tabáku (viz. Kapitola 4.3.) [45, 49, 52, 55]. Z jednoho balení cigaret kuřáci absorbují 1-2  $\mu\text{g}$ , což jeho expozici přibližně zdvojnásobuje [50]. Kromě kadmia byl oproti nekuřákům zjištěn signifikantní rozdíl také u olova, přičemž koncentrace těchto prvků je ve vlasech kuřáků 2-2,5násobná [45, 55]. U člověka kouřícího 60 cigaret denně dosahovala koncentrace olova ve vlasech 54,11  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  [55]. Massadeh a kol. [45] udávají, že u kuřáků oproti nekuřákům byly naměřeny výrazně nižší koncentrace Fe a Ca a objevují se i práce, ve kterých byla naměřená koncentrace Cd a Pb u kuřáků menší nežli u nekuřáků [50].

Všechny tyto faktory, popř. i jiné (přirozená barva vlasů, barvení vlasů [36, 45], partnerský stav atd.), se zúčastňují při hodnocení získaných výsledků a stavu životního prostředí. Studie často porovnávají více lokalit, přičemž některé z nich považují za srovnávací neboli kontrolní (nekontaminované). Předmětem zájmu bývají často oblasti v blízkosti průmyslových měst [57], skládek [44, 54, 58], místa těžby a vliv povolání v rizikovém prostředí [41, 59, 60] nebo výsledky studie slouží pro kontrolu sanačních metod [61].

## 4. RIZIKOVÉ PRVKY

### 4.1. Arsen

Arsen je poměrně vzácný prvek, v životním prostředí se vyskytuje ve vodě, půdě i ovzduší, především ve formě sulfidů [11, 62, 63]. Obvykle doprovází kovové rudy mědi, železa, stříbra a olova. Získává se jako vedlejší produkt při zpracování těchto kovů z rud [11, 62]. Důvodem sledování přítomnosti arsenu v životním prostředí jsou jeho toxické vlastnosti spolu se skutečností, že do čtyřicátých let byly jeho sloučeniny využívány jako pesticidy, fungicidy a insekticidy. Arsenové pesticidy využívali nejen zemědělci, ale také vinaři. Z tohoto důvodu se koncentrace arsenu zvyšovaly kromě potravin v půdě, ve vodě (splach ze zemědělské půdy) a také ve víně, a tím se zvyšovalo riziko chronické otravy pro lidi. Kovový arsen byl považován za netoxický, ukázalo se ale, že se metabolizuje na toxické sloučeniny [64]. Většina arsenu v lidském těle je přijímaná potravou v méně toxické organické formě. Běžným zdrojem arsenu pro populaci jsou organoarsenáty, primárně arsenobetain a arsenocholin, které jsou koncentrované v mořských plodech [11, 14].

Jeho anorganické sloučeniny mají kromě toxických vlastností také vysokou schopnost se kumulovat v organismech. V první fázi po expozici dochází k intenzivnímu vylučování, přičemž rozhodující část je vyloučena močí. Při parenterálním podání látky se v několika minutách vstřebávají a dostávají z krevního řečiště, přičemž dochází k jejich ukládání v ledvinách a játrech. Charakteristická je jejich výrazná akumulace v nehtech, kůži a vlasech, způsobená afinitou trojmocného arsenu ke skupině SH. Příčinou hromadění ve vlasech je vazba arsenu keratinem, který je na síru velmi bohatý [11, 14].

Běžnou hladinou koncentrace anorganického arsenu ve vlasech, ochlupení a nehtech je hodnota mezi 10–600  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Jelikož arsen ve vlasech odráží expozici pouze jeho anorganické formě, slouží vlas jako dobrý indikátor krátkodobé expozice nebo otravy [65].

Arsen bývá označován jako kapilární (způsobuje propustnost stěn krevních kapilár) a protoplazmatický jed (proniká buněčnými membránami do protoplazmatického prostoru). Kationty trojmocného arsenu, stejně jako ostatní kationty těžkých kovů, reagují s thiolovými skupinami molekul enzymů a tím negativně zasahují do metabolismu cukrů a tuků. Akutní otrava arsenem a jeho sloučeninami se projevuje závratěmi, bolestmi hlavy a zažívacími problémy, které mohou vést k selhání krevního oběhu a smrti. Chronické otravy jsou příčinou trvalých zažívacích potíží, zánětů kůže (melanóza, keratóza, rakovina) nebo narušení nervového systému [14]. Mezi nejzávažnější důsledky intoxikace se řadí rakovina plic a kůže, spolu s teratogenními a mutagenními účinky [11, 62].

### 4.2. Chrom

V přírodě se chrom vyskytuje výhradně ve sloučeninách v podobě minerálů a nerostů. Díky svým vlastnostem se používá ve všech možných odvětvích průmyslu (metalurgický průmysl, výroba zrcadel, výroba pigmentů, chemický průmysl atp.). Vzhledem k jeho využívání ve všech těchto odvětvích dochází k nemalému znečištění prostředí a také profesionální expozici. Trojmocný chrom je esenciální prvek, který se výrazně podílí na metabolismu cukru (inzulinu).

Toxický šestimocný chrom je silným oxidačním činidlem, zodpovídajícím za některé toxické vlastnosti [11].

### 4.3. Kadmium

Kadmium se často vyskytuje v zinkových rudách, které obsahují sulfidy tohoto kovu [64]. Na rozdíl od zinku se nejedná o esenciální prvek, nýbrž o prvek s toxickým působením. Dobře se vstřebává inhalací, částečně střevem [14]. Nebezpečí spočívá v zapojování kadmia místo zinku v biochemických strukturách organismu, které se uskutečňuje díky podobné velikosti atomového poloměru. Touto výměnou následně může docházet ke změně funkce [11, 14].

V půdě se vyskytuje jako stopový prvek, jehož koncentrace se s kontaminací zvýší až tisíckrát. Tato koncentrace může být ještě mnohonásobně překročena v pletivech některých rostlin (pšenice, sója) fungujících jako hyperakumulátory [61]. Mezi tyto rostliny patří i tabák, proto je přítomnost kadmia nedílnou součástí cigaretového kouře. Kouření je tudíž největším zdrojem expozice kadmiu.

Akutní expozice vede k poškození plic, zatímco chronické působení je nefrotoxické a vede k demineralizaci kostí. Vylučování je primárně renální a částečně pak fekální, ukládá se do vlasů a nehtů a je přítomno i ve slinách [14].

Díky svým nekorozivním se vlastnostem využívá jako ochrana železa určeného k výrobě především automobilových plechů [11].

### 4.4. Olovo

Nejrozšířenějším rizikovým prvkem je olovo, které se rovněž vyskytuje ve všech složkách prostředí. Vlivem stále širšího používání v různých oblastech průmyslu (zvláště tetraethylolova jako aditiva do benzínu) se koncentrace, rozšíření a možnost expozice (během rafinace, tavení) tohoto prvku zvyšuje a jeho přítomnost se předpokládá také v oblastech neznečištěných lidskou činností [11, 14]. Největší spotřeba olova připadá na výrobu baterií, kabelů, slitin, barviv a alkyl sloučenin (antidetonační přísada) [11]. Průměrné expozice s omezením olovnatých paliv v posledních letech naštěstí klesají [14]. Získáváme jej především z minerálů obsahujících soli olova (jako jsou galenit ( $PbS$ ), cerusit ( $PbCO_3$ ) a anglesit ( $PbSO_4$ ) a šrotu.

Většina olova se kumuluje v kostech, kde narušuje syntézu hemoglobinu a ovlivňuje tak krvetvorbu. Při nedostatku vápníku v těle se uvolňuje do krevního řečiště a toxicky ovlivňuje především silněji prokrvené orgány (ledviny, játra) [61]. Olovo je nebezpečné obzvláště pro těhotné ženy, jelikož některé jeho sloučeniny jsou schopny procházet placentou a mohou tak zapříčinit narušení vývoje nervového systému plodu nebo vyvolat potrat. Symptomy vyvolané otravou olovem u dospělých lidí bývají různé a zahrnují například bolest hlavy a břicha, únavy, bolest kloubů a svalů [14].

## 4.5. Rtut'

Rtut' se v životním prostředí vyskytuje v mnoha formách (kovová rtuť, páry, organické a anorganické sloučeniny rtuti), které ovlivňují její toxické působení, přičemž v přírodě se vyskytuje především v horninách, ve formě sulfidů. I přes významné snížení používání zůstává rtuť stále široce rozšířenou znečišťující látkou životního prostředí [14]. Elementární rtuť (zubní amalgám, teploměry), methylrtuť (ryby) a ethylrtuť (thiomerosal ve vakcínách) jsou formy, ve kterých se rtuť vyskytuje při potenciální expozici relevantní pro populaci. Do lidského těla se dostává především prostřednictvím potravy, vody a také inhalací. U většiny lidí je expozice rtuti a variabilita její hladiny v krvi primárně důsledkem konzumace ryb obsahujících methylrtuť [14]. Díky vysoké afinitě k síře se váže na thiolové skupiny bílkovin i enzymů a ovlivňuje tak negativně jejich funkčnost.

Akutní expozice par elementární rtuti může způsobit akutní poškození plic, zatímco u chronické expozice je kritickým orgánem mozek, dochází k neuropatii, a rovněž dochází k renální dysfunkci ledvin [11, 14]. Klinický obraz intoxikace methylrtutí se vyznačuje ataxií, třesem, zúžením zorných polí a mozkovou atrofií. Obecně jsou tyto příznaky spojeny s hladinami ve vlasech vyššími než 50 ppm. Ethylrtuť obsažená v thimerosalu, který byl užíván (do roku 2001) jako konzervant vakcín, má podobné účinky jako methylrtuť, ale je podstatně méně toxická [11, 14, 62].

Absorpce a distribuce v organismu, toxikologické projevy a vylučování jsou ovlivněny typem sloučenin, ve kterých se rtuť v organismu vyskytuje. Všechny tyto formy mají schopnost překračovat hematoencefalickou bariéru. Pro elementární rtuť je typická akumulace v ledvinách, přičemž vylučování ledvinami je důležité pro vyloučení z těla. Methylrtuť oproti ethylrtuti díky své menší velikosti a delšímu poločasu rozpadu proniká až do centrálního nervového systému. Je v krvi široce distribuována a zkoncentrována. Vylučována je primárně fekálně, ale ukládá se také do vlasů, kde se zároveň akumuluje a může dosahovat koncentrací 140 až 360krát větší, než v jaké se vyskytovala v krvi [14].

## 5. ZPRACOVÁNÍ VZORKU VLASŮ

Různé toxické i esenciální prvky spolu mohou interagovat, a tak vzájemně ovlivňovat svou absorpci, retenci, distribuci a biodostupnost v těle [38]. Při odběru matrice je zásadní použití vhodných materiálů, aby nedocházelo ke kontaminaci vzorku pro následující analýzu [38, 66]. K zamezení vlivů ovlivňujících průběh a výsledky analýzy je zapotřebí přizpůsobit zvolené matici způsob přepravy (vzorkovací nádoby) a uchování (udržování potřebných podmínek jako je teplota). Následují operace zbavující matici případné vnější kontaminace, a poté rozklad [14, 38, 66].

### 5.1.1. Odběr, transport a uchování vzorku vlasů

Sběr, transport i uchování vlasů je oproti jiným biologickým vzorkům jako např. moč a krev, mnohem snazší. Výhodou je možnost uschování a archivace materiálu pro případnou kontrolní analýzu [11, 14, 38, 61, 66]. Tato matrice poskytuje užitečné informace o sledovaném prvku, především, jedná-li se o alimentární příjem [14].

Pro zamezení vnější kontaminace vlasu je důležitá volba nástroje pro odeběr vzorků, ze kterého se nemohou uvolňovat kovy. Pro tyto účely jsou vhodné například křemenné a keramické nástroje. Při odebírání vzorků nůžkami z nerezové oceli může docházet ke kontaminaci chromem a niklem [67].

Vlasové vlákno roste průměrnou rychlostí 1 cm za měsíc. Rychlost růstu bývá ovlivněna typem vlasu, místem růstu a hladinou hormonů, tedy fází růstového cyklu, ve které se jedinec nachází. Během života člověka proběhne 10 až 20 růstových cyklů [68]. Každý cyklus zahrnuje tři fáze: anagenní (fáze růstu), katagenní (fáze regrese, kdy se zastaví dělení buněk a dochází k degeneraci folikulu) a telogenní (fáze klidu, ve které se formuje nejspodnější část vlasu s nízkou metabolickou aktivitou) [12, 68, 22]. Délka jednotlivých fází se liší v závislosti na lokaci ochlupení. U vlasů může anagenní fáze probíhat až několik let, katagenní fáze asi dva týdny a telogenní fáze přibližně tři měsíce. Růstové cykly neprobíhají synchronizovaně po celém těle, proto růst ochlupení není stejný a rychlost růstu vlasů se v různých regionech hlavy může lišit [14].

Konce 36 cm dlouhých vlasů jsou tedy asi 3 roky staré. Předpokládá se, že struktura vlasu na konečcích se od struktury nově rostoucích vlasů liší. Vlasy za 3 roky podstoupí kolem 1000 umytí, tepelné úpravy účesu, barvení či odbarvování a mohou také vykazovat znaky zvětrávání. Kromě odlišných chemických vlastností mají i větší pórovitost, která představuje riziko pro objektivní analýzu, neboť se zde absorbují prvky z ovzduší, jež představují hůře odstranitelné vnější znečištění.

Z těchto důvodů je doporučeno odebírat vlasy přímo u kůže z oblasti na zadní straně hlavy (*vortex posterior*), která má v porovnání s ostatními oblastmi menší variabilitu rychlosti růstu vlasů a přibližně konstantní počet vlasů v anagenní fázi [22].

### 5.1.2. Odstranění vnější kontaminace vlasu

Rozlišení kovů interně distribuovaného ve vlasu, a adsorbovaného, na jeho povrch je velmi obtížné, ne-li nemožné [14] a proto již zpětně nelze rozlišit endogenní a exogenní zdroj kontaminace [61]. Z tohoto důvodu je potřeba před analýzou optimalizovat promývací proceduru a všechny vzorky jednotným způsobem zbavit povrchového znečištění a tím minimalizovat možnost zkreslení výsledků stanovení nebo zcela falešně pozitivních výsledků [27]. Jednotlivé postupy a návody pro tuto operaci se liší, ale ze současných znalostí o možnosti přechodu kovových iontů z povrchové kontaminace do čistícího roztoku a jejich následné navázání na sulfidovou skupinu keratinu vlasu je nutné, aby první práci rozpouštědlo bylo mírně polární. Takto současně s tukovými látkami dochází k odstranění zachycených částic na povrchu vlasu, obsahujících kovy v nerozpustné formě [11].

K zajištění srovnatelnosti výsledků, byla Mezinárodní agenturou pro atomovou energii (IAEA) vytvořena standardizovaná procedura čištění vzorků vlasů. Podle této metody by každý analyzovaný vzorek měl být nejdříve ošetřen v mírně polárním rozpouštědle (aceton), následovalo by čištění v polárním rozpouštědle (deionizovaná nebo dvakrát destilovaná voda) provedené dvakrát až třikrát a poslední čištění by bylo provedeno v nepolárním rozpouštědle. Tento postup by pro každý vzorek měl být zopakován ještě jednou, přičemž každá etapa má trvat 10 minut a probíhá za občasných míchání.

Vlasy zbavené vnější kontaminace by se neměly skladovat v plastových sáčcích, pokud je stanovovaným prvkem zinek, neboť se používá při formovacích procesech plastů.

### **5.1.3. Rozklad vzorku**

Metody mineralizace lze rozdělit na tři základní skupiny podle použitého postupu. Těmi jsou mineralizace: suchou cestou, mokrou cestou a jinými metodami (mikrovlákným rozkladem) [20]. Před rozložením vzorků by vlasy měly být zbaveny endogenní kontaminace a vysušeny. Navážka vlasového materiálu by měla činit alespoň 0,2 až 1 g [69]. Aplikování těchto metod se může lišit ve volbě některých chemikálií a jejich poměrech. Volba způsobu rozkladu vzorku se odvíjí od analytické metody, kterou se bude zkoumaný prvek analyzovat.

#### **5.1.3.1. Suchý rozklad**

Mineralizace probíhá na vzduchu v otevřeném systému při atmosférickém tlaku. Základem této metody je postupné zahřívání vzorku za přítomnosti loužicích (minerálních kyselin) a pomocného činidla (látky s oxidačními schopnostmi), přičemž postupně dochází k vysušení, zuhelnatění a zpopelnění. Sušení lze provádět v laboratorní horkovzdušné sušárně nebo natopné desce (vzorky s vysokým poměrem vody) [20]. K zahřívání vzorku na vysokou teplotu dochází v keramickém (nebo platinovém) kelímku v muflové peci. Biologický vzorek pro stanovení stopových prvků je při zuhelnatění vystaven teplotám mezi 450 a 550 °C. Dle Rejneka lze mineralizace rostlinných a vlasových materiálů provádět převrstvením dusičnanem hořečnatým a spalováním v křemenných kelímcích nebo v květáčích za přítomnosti plynů  $O_2$ ,  $O_3$  a  $NO_x$ . Ve všech případech se následně provádí loužení popela ve zředěných minerálních kyselinách ( $HNO_3$  a  $HCl$ ). Účinnost loužení lze snadno zvýšit jemným zahříváním nebo mechanickým mícháním s malým množstvím koncentrované  $HNO_3$ . V některých případech je mineralizát přefiltrován [69]. Tyto postupy spolehlivě nahradí novější varianta, při které se kádinka s popelem a loužicím činidlem pokládá do ultrazvukové lázně.

#### **5.1.3.2. Mokvý rozklad**

Vzorek je mineralizován v roztoku za atmosférického tlaku, zvýšené teploty a přítomnosti minerálních kyselin. Proces se skládá ze dvou kroků. Nejdříve je struktura matrice rozrušena kyselou hydrolyzou a poté dochází k oxidaci meziproductů. Doba trvání procesu přímo ovlivňuje teplota, při které rozklad probíhá a použité katalyzátory. Jako oxidovadlo se nejčastěji používá  $HNO_3$  s přídavkem  $H_2O_2$ . Mokvý rozklad probíhá buď v uzavřeném nebo otevřeném systému, s konvekčním či mikrovlákným ohřevem. Výhody rozkladu v uzavřeném systému jednoznačně spočívají v předcházení ztrát těkavých prvků a zabraňování vzniku vnější kontaminace. Navíc dochází ke snížení spotřeby reakčních činidel. U rozkladu v otevřeném systému se spotřeba činidel snižuje použitím zpětných chladičů. Jednou z variant je přelití vzorku vlasů 5 cm<sup>3</sup>  $H_2SO_4$  a hodinové stání, po kterém se do baňky přidá 10 cm<sup>3</sup>  $HNO_3$  (c = 65 % hm). Obsah se zahřívá pod zpětným chladičem po dobu 5 hod. Po vychladnutí je přidáno 5 cm<sup>3</sup>  $H_2O_2$  a vzorek se zahřívá ještě 2 hodiny. Následně probíhá odkouření na přímotopné desce, doplnění asi 5 cm<sup>3</sup> destilované vody a přefiltrování. Pro oba typy je kromě relativně velké spotřeby chemikálií, časové a energetické náročnosti a většího rizika kontaminace z prostředí nevýhodou také přímé zahřívání, po kterém je třeba nechat aparaturu zchladnout (případně před samotným rozkladem nahřát). Nevýhody způsobené konvekčním



způsobem ohřívání odstraňuje mikrovlnný rozklad. Rozkládaný vzorek s kyselinami absorbuje mikrovlnné záření, a to má za následek růst teploty. Primárně tak dochází k ohřívání objemu směsi, ne však stěn nádobek. Ohřívání je proto rychlejší a rozklad účinnější, zatímco se snižuje časová náročnost a množství spotřebovaných kyselin [20, 60, 70].

### **5.1.3.3. Ostatní typy**

Méně využívanými metodami rozkladu biologických matric jsou například oxidační tavení, oxidace parami, redukční rozklad nebo rozklad zářením. Za zmínku stojí také enzymatický rozklad, jehož výhodou je schopnost rozložit vzorek o velké hmotnosti (až několik kg). Bohužel je tato metoda doprovázená velkou časovou náročností. Další možností jsou pak kombinace dvou metod [20].

## **6. ANALÝZA VZORKU VLASŮ**

### **6.1. Atomová absorpční spektrometrie (AAS)**

Jednou z nejrozšířenějších a nejběžnějších metod anorganické prvkové analýzy je AAS. Patří do skupiny optických metod a její princip spočívá v měření absorpce elektromagnetického záření volnými atomy sledovaného prvku v plynném stavu. Atomy se ze vzorku dostávají do plynné fáze atomizací (plamenová, elektrotermická, generování hydridů), aniž by byly excitovány. Následně jsou využívány rezonanční přechody ze základní energetické hladiny na první excitovanou. Zdrojem záření je nejčastěji výbojka s dutou katodou. Metoda je vhodná pro stanovení až 68 prvků v rozmezí koncentrací od  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  po  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Její výhody spočívají v jednoduchosti, snadné dostupnosti a nízkých nákladech [72, 73, 74].

### **6.2. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)**

ICP-MS je ultrastopová spektrální analytická metoda, kombinující indukčně vázané plazma (ICP) jako zdroj kladně nabitých iontů a hmotnostní spektrometrii (MS). Nejčastěji se používá spolu s kvadrupolovým hmotnostním filtrem. ICP-MS umožňuje analyzovat téměř všechny prvky (75) včetně jejich izotopů s citlivostí od jednotek ppt do stovek ppm. Kromě toho nabízí rychlé měření, možnost multielementární analýzy, možnost spojení s některou ze separačních metod a vysokou kapacitu měření [74].

### **6.3. Voltametrie (Polarografie)**

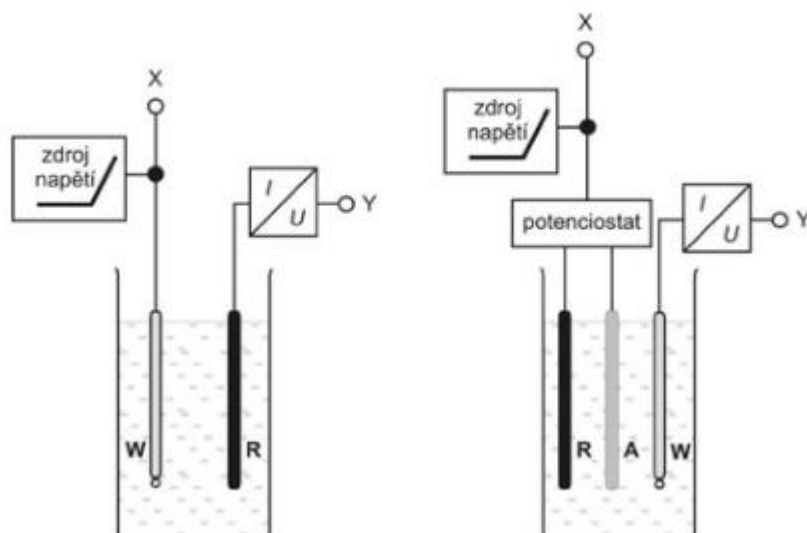
Metodou vhodnou ke stanovení výše zmíněných prvků je voltametrie, která patří mezi elektrochemické metody, využívající elektrochemický článek a oxidačně redukční děje. Sleduje se při ní závislost protékajícího elektrického proudu na změně vkládaného napětí. Získaná závislost je označována jako voltametrická, polarografická nebo polarizační křivka [70, 71, 72]. Napětí je z vnějšího zdroje vkládáno na elektrody, které jsou ponořeny v roztoku vzorku. Jedna elektroda je polarizovatelná a slouží jako pracovní a druhá je nepolarizovatelná [75]. Pracovní elektrodě může dojít ke dvěma situacím, které jsou podmíněny přítomností látky nacházející se v roztoku u pracovní elektrody a tím, zdali vykazuje redoxní vlastnosti (elektroaktivní látky).

Elektrochemická polarizace je vyvolána malou rychlostí elektrodové reakce, která je dána vlastní výměnou elektronů mezi elektrodou a ionty roztoku (redukcí nebo oxidací elektroaktivní látky na elektrodě). U transportní polarizace elektrodový proces zahrnuje děje spojené s transportem elektroaktivní látky k elektrodě, elektrodové děje a vylučováním produktu na elektrodě (případně transportem od elektrody). Transport elektroaktivní látky k elektrodě či transport produktu elektrodové reakce od elektrody je zprostředkován difúzí (řízená koncentračním spádem), migrací (pohyb iontů působením elektrického pole) nebo konvekcí (transport vyvolaný vnější mechanickou silou) [75, 76, 77]. Podmínky měření jsou vesměs zvoleny tak, aby se uplatňovala pouze difúze.

Při měření se mezi polarizovatelnou a nepolarizovatelnou elektrodou vkládá postupně vzrůstající napětí. Pokud se v roztoku nevyskytuje látka, která by se oxidovala či redukovala, zůstává pracovní elektroda polarizovaná a elektrochemickým článkem protéká kapacitní (nabíjecí) proud. V případě, že je v roztoku přítomna látka, která je při určitém potenciálu schopna se oxidovat nebo redukovat (tzv. depolarizátor), dochází při dosažení této hodnoty k depolarizaci pracovní elektrody a článkem začne protékat elektrolytický (faradayický) proud. Jeho velikost se vzrůstajícím napětím narůstá až do dosažení transportní polarizace pracovní elektrody, kdy se nárůst hodnoty proudu zastaví. Příslušná hodnota procházejícího proudu se značuje jako limitní difúzní proud. Hodnota tzv. půlvlnového potenciálu je kvalitativní charakteristikou, velikost limitního difúzního proudu udává koncentraci depolarizátoru, a tedy i analytu.

### 6.3.1. Instrumentace

Při dvouelektrodovém uspořádání se využívá pracovní (polarizovatelné) a nepolarizovatelné elektrody, na které se vkládá napětí ze zdroje, jehož velikost je měřena voltmetrem. Proud protékající článkem je měřen galvanometrem. Při tříelektrodovém uspořádání je napětí ze zdroje opět vkládáno mezi polarizovatelnou pracovní (W, working) a nepolarizovatelnou pomocnou (A, auxiliary) elektrodu, třetí elektroda je referentní a slouží k přesnému nastavení potenciálu pracovní elektrody (Obr. 2).



Obr. 2: Schéma dvouelektrodového a třielektrodového zapojení při voltametrických měřeních; elektrody jsou k měřicímu obvodu připojeny svorkami X a Y; značení elektrod: W – pracovní, A – pomocná, R – referenční [71]

### 6.3.2. Elektrody

Jako materiál pracovní elektrody se nejčastěji používá platina, rtuť nebo skelný uhlík (GCE). Jako referenční se používají elektrody II. typu, konkrétně argentochloridová, merkurosulfátová a kalomelová (stejně elektrody jako u potenciometrie). Pomocné elektrody jsou tvořeny inertním materiálem (skelný uhlík, Pt), mají větší povrch (ve formě drátku, tyčinky nebo plíšku).

V polarografii je pracovní elektrodou rtuťová kapková elektroda (DME, dropping mercury electrode). Součástí polarografu je zásobník rtuti spojený se skleněnou kapilárou, ze které vlivem gravitace odkapávají kapky rtuti [77]. Druhá (nepolarizovatelná elektroda) je tvořena vrstvou rtuti na dně polarografické nádoby (tzv. rtuťové dno). Rtuťová kapka má oproti pevným elektrodám výhodu ve svém homogenním povrchu, který se během analýzy obměňuje, a ve vysoké hodnotě přepětí vodíku, což umožňuje práci v neutrálních roztocích při negativních potenciálech [73, 78]. Oproti tomu u pevných elektrod dochází k elektrolytickému vylučování a povrch elektrody se s časem mění a ovlivňuje tak vzhled voltametrických křivek, které jsou pak méně přesné a hůře reprodukovatelné [78, 79].

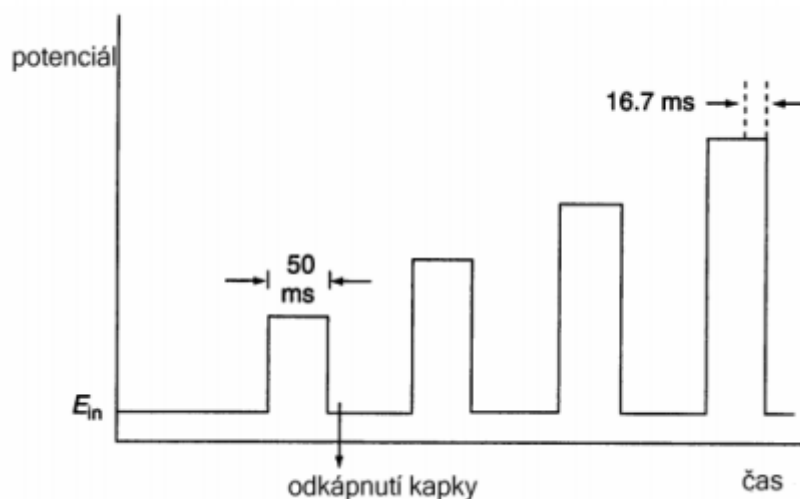
V současnosti je DME nahrazována statickou rtuťovou kapkovou elektrodou (SMDE) s obnovitelným povrchem, vytvářenou v pravidelných časových intervalech visící kapkou v ústí kapiláry. Rtuť protéká ventilem, jehož otvor je ovládán elektrickým signálem a téměř okamžitě po otevření je uzavřen. Kapka setrvává v ústí kapiláry, dokud není uvolněna mechanickým odtrhnutím (klepadlem) [72, 75]. Další variantou elektrody pro voltametrii je visící rtuťová kapková elektroda (HMDE), která umožňuje provést celou analýzu na jedné kapce a zmenšit tak spotřebu rtuti. Rtuťová filmová elektroda (FME) je elektroda z tuhého materiálu (platina, zlato, uhlík), na které se vylučuje malé množství rtuti (ve formě mikroskopických kapek) z roztoku rtuťnaté soli [78, 79].

### 6.3.3. Pulzní voltametrie

Moderní pulzní techniky jsou zaměřeny na snižování detekčních limitů. Pomocí zvýšení poměru faradického a nefaradaického proudu je možné snížit detekci až na  $10^{-8}$  mol/l. Pulzní metody jsou založeny na vzorkování (opakovaném měření) procházejícího proudu v přesně daných časových intervalech. Záznamy příslušné závislosti jsou tvořeny „schůdky“. Hustota schůdků je dána rychlostí vzorkování a změny potenciálu vkládaného na elektrodu [25].

#### 6.3.3.1. Normální pulzní voltametrie

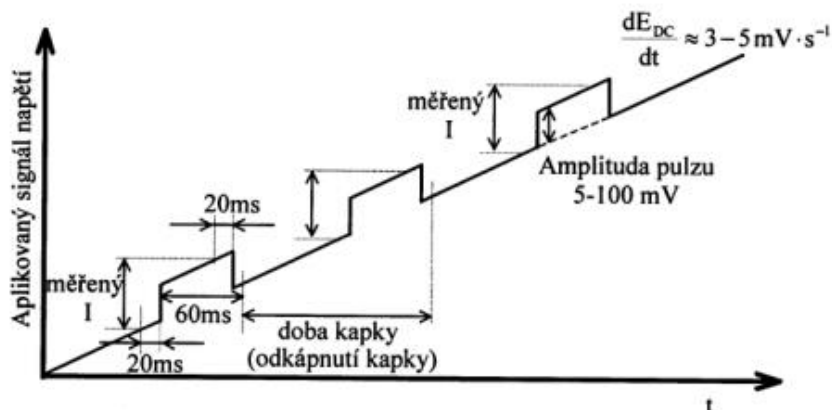
Normální pulzní voltametrie (NPV) je založena na vkládání napěťových pulzů s rostoucí amplitudou na elektrodu (Obr. 3). Pulzy jsou vkládány v přesně předvolený čas před odkápnutím kapky rtuti, tedy jeden pulz na jednu kapku [71, 78, 79]. Hodnota proudu je odečítána před koncem pulzu [71]. Mezi jednotlivými rostoucími pulzy je potenciál elektrody udržován na konstantní hodnotě, tak aby nehrozila žádná reakce analytu [25]. Při správně zvolené hodnotě potenciálu je možné pracovat i s tuhými elektrodami bez vylučování analytu, adsorpce, či tvorby filmu [76, 78, 79].



Obr. 3: Schéma průběhu NPV popisující závislost vkládaného napětí formou pulzů s rostoucí amplitudou na čase [78]

#### 6.3.3.2. Diferenční pulzní voltametrie

Při diferenční pulzní voltametii (DPV) je používán SMDE. Jedná se o metodu citlivější, než je klasická normální pulzní voltametrie, při které se vkládané napětí mění po malých přírůstcích pro každou novou kapku – lineárně se zvyšuje (Obr. 4) [75]. Na konci přírůstku napětí, ke konci životnosti kapky, je na pracovní elektrodu vkládán pulz o pevné velikosti [75, 78]. Proud se měří těsně před začátkem a koncem vloženého pulzu. Diference těchto proudů se zobrazuje vynesáním v závislosti na napětí.



Obr. 4: Schéma průběhu DPV [81]

### 6.3.3.3. Rozpouštěcí voltametrie

Metoda je nazývána také jako stripovací voltametrie. Stanovení elektroaktivních složek vzorku touto metodou není realizováno při jejich vylučování na polarizovatelné elektrodě, jako například u DPV, ale naopak, provádí se při jejich elektrolytickém rozpouštění. Polarizovatelnou elektrodou u rozpouštěcí voltametrie je rtuťová kapková elektroda (HMDE) nebo elektrody z tuhého materiálu [75].

Analýza probíhá ve třech krocích. Nejdříve dochází k vylučování stanovovaných látek na elektrodě, za intenzivního míchání a konstantního potenciálu pracovní elektrody většího než vylučovací potenciály všech stanovovaných složek [75]. Nahromadění látek probíhá po dobu od několika desítek sekund až minut, doba trvání závisí na obsahu stanovované složky v roztoku. Dále dochází k ustálení roztoku po vypnutí míchání a poklesu proudu. V tomto kroku je také možné vyměnit elektrolyt. Následuje elektrolytické rozpouštění způsobené lineárním poklesem potenciálu, při kterém je zaznamenávána rozpouštěcí polarografická vlna [75, 79, 78].

## 7. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 7.1. Instrumentace

Vzorky vlasů byly naváženy na analytické váze Scalitec SPB31. Pro voltametrickou analýzu byl použit přístroj 663 VA Stand spolu s potenciostatem Autolab firmy Metrohm využívající rtuťovou multimodální elektrodu (Multi-mode electrode, MME). Multimodální elektroda nabízí různé módy nastavení, z nichž pro měření byla použita varianta SMDE. Detekce probíhala v elektrochemické cele (článku) za tříelektrodového zapojení. Pomocnou a referenční elektrodou byla elektroda ze skelného uhlíku (GCE) a argentochloridová (Ag | AgCl | KCl).

### 7.2. Chemikálie

- Aceton o koncentraci min 99,5 %, Penta s.r.o
- HNO<sub>3</sub> o koncentraci 65 % p.a., Penta s.r.o
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nestabilizovaný, o obsahu 30 % p.a., Lach-Ner s.r.o.
- CH<sub>3</sub>COOH o koncentraci 99 %, Penta s.r.o
- NH<sub>3</sub> vodný roztok o koncentraci 24 % p.a., Penta s.r.o

K namíchání zásobních roztoků byly použity standardy Zn, Cd, Pb a Cu Astasol značky Analytika spol. s.r.o, jejichž parametry jsou vyčteny v Tab. 3.

Tab. 3: Parametry použitých standardů

Prvek	Koncentrace [g·dm <sup>-3</sup> ]	Matrice	Výrobce
Cd	1 ± 0,002	HNO <sub>3</sub> 2 %	ASTASOL; Analytika spol. s. r. o. Praha
Cu	1 ± 0,002	HCl 2 %	ASTASOL; Analytika spol. s. r. o. Praha
Pb	1 ± 0,002	HNO <sub>3</sub> 2 %	ASTASOL; Analytika spol. s. r. o. Praha
Zn	1 ± 0,002	HNO <sub>3</sub> 2 %	ASTASOL; Analytika spol. s. r. o. Praha

## 8. METODIKA

Stanovení rizikových prvků ve vzorcích vlasů bylo provedeno voltametrickou metodou pro analýzu těžkých kovů, vytvořenou firmou Metrohm. Parametry metody byly následně optimalizovány tak, aby vyhovovaly pro měření stopových prvků ve zvolené matici.

### 8.1. Odstranění vnější kontaminace

Způsob odstranění vnějšího znečištění byl proveden dle doporučení IAEA. Vlasy byly zbaveny organických nečistot v několika etapách pomocí acetonu a destilované vody. Nejdříve byly v kádince za občasného míchání myty v acetonu po dobu 30 minut. Následovalo mytí v destilované vodě, které bylo opakováno třikrát. Na závěr byl vzorek vlasů opět umyt v acetonu. Tuto metodu s drobnými obměnami (pořadí, doba mytí, použité nepolární rozpouštědlo atd.) používá většina autorů studií na obdobnou tematiku [35, 38, 41-47, 56, 57, 58]. Někteří autoři zmiňují použití ultrazvukové lázně namísto míchání

[48, 54, 60] nebo detergentu (šampónu). Vlasy byly zabaleny do papíru a sušeny v sušárně při 70 °C. K rozkladu bylo na analytických vahách naváženo 0,2 g vzorku.

## 8.2. Zpracování vzorků vlasů

Vlasy byly odebírány přibližně 0,2 cm od kůže v zadní části hlavy. K odběru byly použity nerezové nůžky. Vzorky byly uchovány v uzavíratelných PET sáčcích za pokojové teploty a označeny podle pohlaví (M nebo Ž), věku a toho, zdali je dotyčný kuřák či nekuřák (K nebo N). Pro analýzu bylo použito 0,2 g vlasů rozložených v HNO<sub>3</sub> a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> v poměru 2:1. Vzniklý roztok byl odkouřen v kádince nad plynovým kahanem téměř do sucha a převeden kvantitativně do odměrné baňky o objemu 25 ml, která byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Byly připraveny také čtyři slepé vzorky HNO<sub>3</sub> a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> v poměru 2:1 (20:10 ml a 16:8 ml) a 4:1 (20:5 ml a 16:4 ml), které byly připraveny a analyzovány stejným způsobem za účelem zvolení varianty, jejíž složení dávalo méně intenzivní odezvu pozadí (šum). K analýze bylo do voltametrické cely pipetováno 1,5 ml vzorku, objem byl doplněn do 15 ml destilovanou vodou a následně bylo přidáno 5 ml acetátového pufru (směs 2M CH<sub>3</sub>COOH a 1M NH<sub>3</sub>). Každý vzorek byl proměřen celkem třikrát.

## 8.3. Optimalizace voltametrické metody

Experimentální parametry ovlivňující voltametrickou analýzu, jako je velikost rtuťové kapky nebo délka času depozice, byly sledovány na připraveném roztoku směsného standardu. Směsný standard o koncentraci Cd 10 μg·l<sup>-1</sup>, Cu 200 μg·l<sup>-1</sup>, Pb 50 μg·l<sup>-1</sup> a Zn 500 μg·l<sup>-1</sup> byl připraven ze zásobních roztoků Cd a Pb o koncentraci 1 mg·dm<sup>-3</sup>, Cu o koncentraci 10 mg·dm<sup>-3</sup> a Zn o koncentraci 100 mg·dm<sup>-3</sup>. Každé měření bylo opakováno alespoň třikrát. Porovnáním získaných dat a hodnot doporučených výrobcem (pro stanovení těžkých kovů) byla metoda upravena tak, aby pro danou matici byla intenzita odezvy signálu co největší.

### 8.3.1. Velikost rtuťové kapky

Citlivost detekce lze kromě jiného ovlivnit velikostí elektrodového povrchu, tedy rtuťové kapky. Velikost pracovní elektrody je možné nastavit mechanicky přímo na přístroji. Byl sledován vliv velikosti kapky na odezvu.

### 8.3.2. Doba probublávání

Aby bylo zamezeno komplikacím se zbytkovým proudem, je zapotřebí před analýzou z elektrolytu odstranit rozpuštěný kyslík pomocí probublání inertním plynem (dusíkem). Na roztoku 15 ml směsného standardu s 5 ml acetátového pufru a 0,2 ml KCl byl sledován vliv doby, po kterou probublávání probíhalo, na odezvu. Aplikovány byly časy od 50 do 300 sekund s krokem 50 sekund.

### 8.3.3. Délka depozičního času

Čas depozice je doba, po kterou dochází k nárůstu množství sledovaného analytu na povrchu pracovní elektrody, přičemž se zlepšují meze detekce [79]. Během konkrétního stanovení je nadeponovaný analyt elektrochemicky přeměněn a odstraněn z elektrody [72, 83]. Byly

sledovány velikosti píků jednotlivých iontů v elektrolytu směsného standardu při aplikaci různých depozičních časů. Elektrolyt se sestával z 15 ml roztoku směsného standardu, 5 ml acetátového pufru a 0,2 ml KCl. Měření byla opakována s tímž vzorkem pro všechny zvolené depoziční časy (30 s, 60 s, 90 s, 120 s, 150 s). Elektrolyt byl během doby depozice míchán a během měření byl ponechán v klidu. Podle intenzity odezvy byl vybrán čas depozice, který byl následně aplikován při detekci prvků ve vzorcích vlasů.

#### 8.3.4. Kalibrační závislost

Vzhledem ke zvolenému pracovnímu rozsahu detekce analyzovaných prvků byly do odměrných baněk připraveny řady pěti kalibračních roztoků pro každý prvek. Postupným ředěním zásobních roztoků připravených ze standardů byly vytvořeny kalibrační roztoky s rozsahem pro Cd 4-20  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , Pb 20-100  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , Cu 100-500  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  a Zn 200-1000  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Z každého kalibračního roztoku bylo do voltametrické cely odpipetováno 20 ml, ke kterým byl přidán 1 ml acetátového pufru a 0,1 ml roztoku KCl. Stejným postupem byl analyzován také slepý vzorek destilované vody, která byla použita pro přípravu kalibračních roztoků. Všechny vzorky byly analyzovány třikrát a za stejných podmínek. Byla sestrojena grafická závislost průměrné hodnoty výšky píku na koncentraci prvku ve vzorku.

#### 8.4. Metoda přidavku standardu

Metoda přidavku standardu je jednou z metod kvantitativního stanovení analytu, kterou lze použít v případě, že mezi pozorovaným signálem, v tomto případě proudem  $I$  (výškou píku), a koncentrací analytu  $c_x$  platí přímá úměra [79]. Tuto linearitu je pak možné vyjádřit vztahem:

$$I = k \cdot c_x, \quad (1)$$

kde  $k$  je konstanta. Metoda se používá k analýze reálných vzorků obsahujících analyzované prvky o neznámé koncentraci [84]. Principem je přidání standardu analyzovaného prvku o známém objemu a koncentraci. Sledováním změny intenzity v závislosti na přidaném množství standardu, lze po úpravě vztahu [85]:

$$\frac{I_1}{I_0} = \frac{\frac{c_x \cdot V_x + c_s \cdot V_s}{V}}{\frac{c_x \cdot V_x}{V}}, \quad (2)$$

kde  $I_1$  je proud po přidavku,  $I_0$  proud před přidavkem,  $c_x$  neznámá koncentrace analyzovaného prvku ve vzorku,  $V_x$  objem analyzovaného vzorku,  $c_s$  koncentrace standardu,  $V_s$  objem přidaného standardu a  $V$  celkový objem, vypočítat „původní“ neznámou koncentraci prvku.

##### 8.4.1. Mez detekce

Mez detekce (LOD) je nejmenší koncentrace analytu ve vzorku, která ještě vyvolá odezvu měřicího systému, s přijatelnou statistickou odchylkou, která je rozpoznatelná od ostatních vlivů (např. matrice). Je to koncentrace, která vyvolá třikrát větší odezvu, než je úroveň šumu pozadí. Stanovení hodnoty LOD je provedeno opakovaným měřením slepého vzorku a následně dosazením do vztahu:



$$LOD = \frac{3 \cdot s_b}{S}, \quad (3)$$

kde  $s_b$  je směrodatná odchylka naměřených hodnot slepých vzorků a  $S$  je citlivost, jejíž hodnota je shodná se směrnici kalibrační závislosti [72, 85].

#### 8.4.2. Mez stanovitelnosti

Mez stanovitelnosti (LOQ) je nejnižší koncentrace analytu, kterou lze s definovanou přesností kvantitativně stanovit a pro kterou byla metoda validována (přičemž její hodnota odpovídá zpravidla nejnižšímu bodu kalibrační křivky). Je to koncentrace, kdy látka vyvolá odezvu měřicího přístroje rovnou desetinásobku úrovně šumu pozadí. Výpočet je dán vztahem:

$$LOQ = \frac{10 \cdot s_b}{S}, \quad (4)$$

ve kterém  $s_b$  je taktéž směrodatná odchylka naměřených hodnot slepých vzorků a  $S$  je citlivost, jejíž hodnota je shodná se směrnici kalibrační závislosti [72, 85].

## 9. VÝSLEDKY A DISKUZE

Experimentální část bakalářské práce byla věnována optimalizaci již existující metody voltametričkého stanovení vytvořené firmou Metrohm, pro funkční použití k analýze těžkých kovů ve vlasech. Z časových důvodů byly z původně zamýšlených těžkých kovů sledovány pouze Cd a Pb. Spolu s nimi byl navíc sledován také Zn a Cu (tyto prvky byly při voltametričké analýze pozorovány rovněž jinými autory [24, 48, 53], pro které byla metoda upravena v rámci bakalářské práce sledující množství těchto prvků v potravinách [85]).

### 9.1. Optimalizace metody

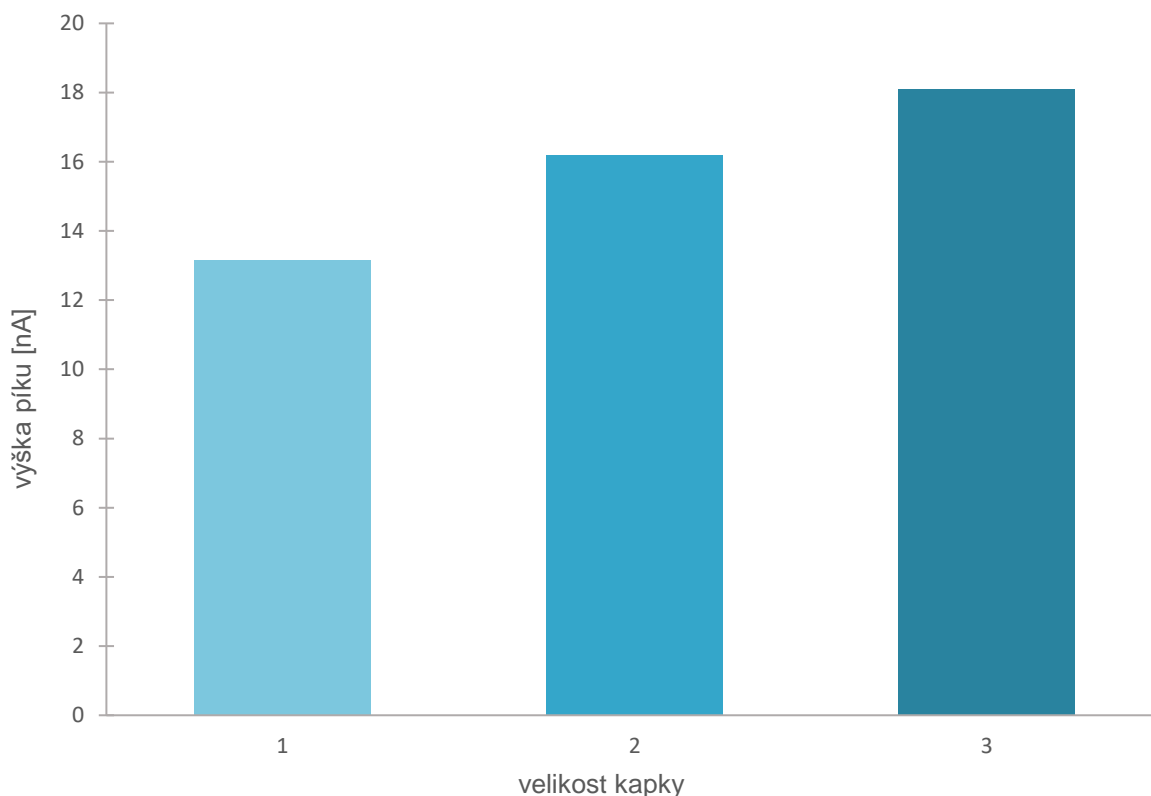
Byly pozorovány vlivy různých parametrů metody na množství analytu nadeponovaného na pracovní elektrodu (SDME), tedy výšky píku, a jejich optimální hodnoty byly následně použity jako standardní podmínky analýzy (Tab. 4). Takto modifikovaná metoda byla použita pro stanovení veškerých vzorků vlasů.

Tab. 4: Výsledné nastavení parametrů metody

<b>Parametr</b>	<b>Hodnota</b>
Pracovní elektroda	SDME
Velikost kapky	3
Doba probublávání [s]	150
Doba depozice [s]	120
Potenciál depozice [V]	-1,15
Počáteční potenciál [V]	-1,15
Hodnota kroku [mV]	5
Konečný potenciál [V]	0,1
Hodnota pulsu [mV]	25
Doba pulsu [ms]	5

### 9.2. Vliv velikosti rtuťové kapky

Byl vyhodnocen vliv velikosti povrchu pracovní elektrody na intenzitu voltametričké odezvy. Pozorováním této souvislosti byl ověřen stoupající trend u všech sledovaných prvků. Na grafu (Obr. 5) jsou uvedena konkrétní data stanovení olovnatých iontů, znázorňující téměř lineární vztah. Analogicky vypadaly i závislosti pro zbylé prvky, jejich hodnoty se pohybovaly o několik řádů mimo zobrazené pole, z důvodu přehlednosti proto nebyly zobrazeny jejich konkrétní hodnoty. Pro optimální citlivost byla tudíž zvolena pro všechna elektrochemická měření velikost 3 (největší).

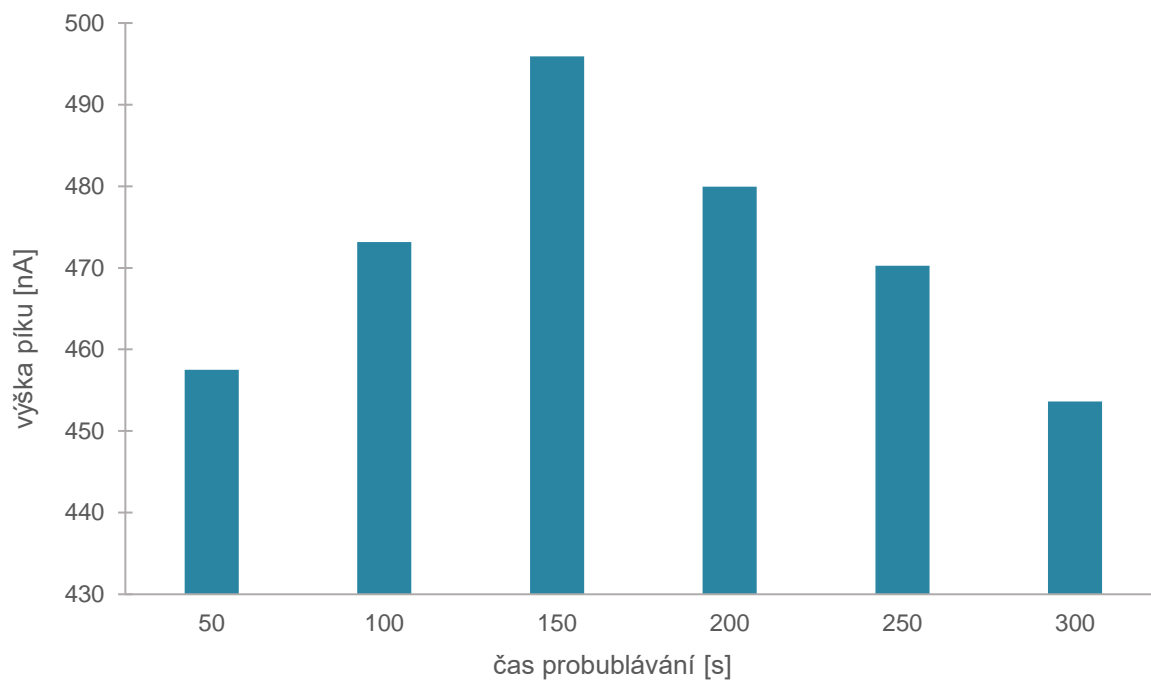


Obr. 5: Graf závislosti výšky píku  $Pb^{+2}$  iontů na velikosti rtuťové kapky, měřeno v roztoku směšného standardu

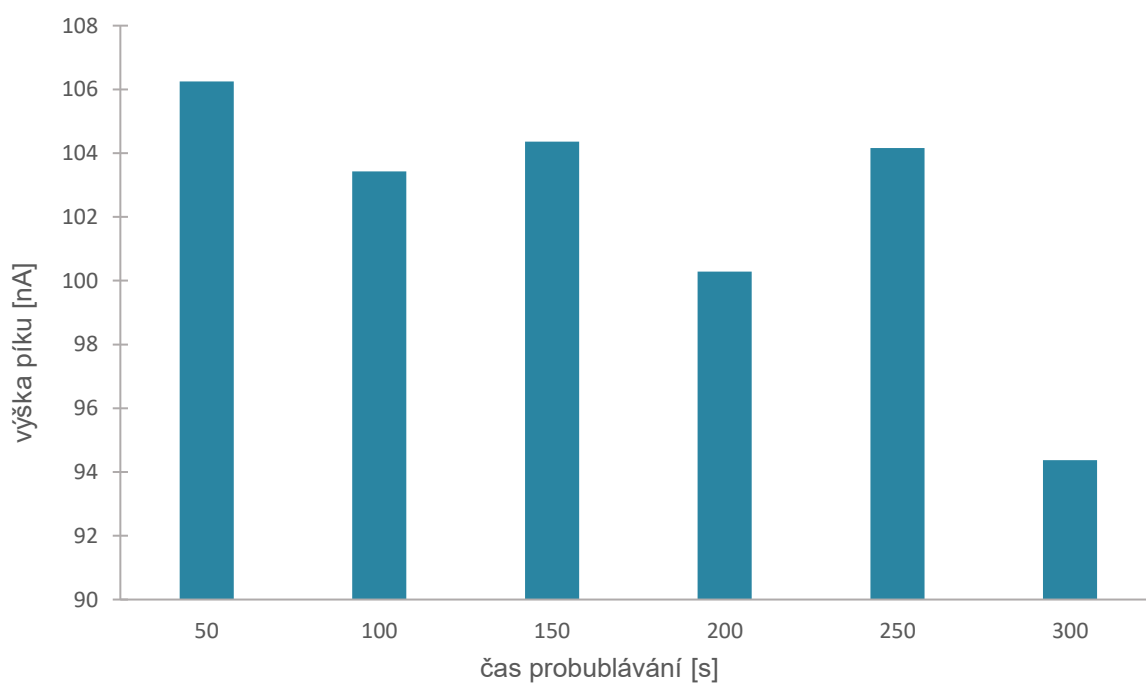
### 9.3. Vliv doby probublávání

Roztok směšného standardu byl analyzován pro různé doby probublávání v rozmezí od 50 do 300 sekund s krokem 50 sekund. Vztah doby probublávání elektrolytu dusíkem ku výšce píku Zn je demonstrován na Obr. 6. Lze konstatovat, že při aplikaci časů do 150 s se intenzita signálu zvyšuje. V čase 150 s dosáhne výška píku maxima a při delším probublávání naopak dochází k poklesu odezvy.

Téměř stejná závislost byla pozorována u olova (k největší odezvě došlo při 150 s). Obdobná závislost byla zaznamenána také u kadmia, kde ovšem průběh nebyl tak razantní a k největší odezvě signálu docházelo mezi 150 a 200 s. Výjimkou byla měď, u které se intenzita signálu s rostoucím časem probublávání snižovala (Obr. 7).



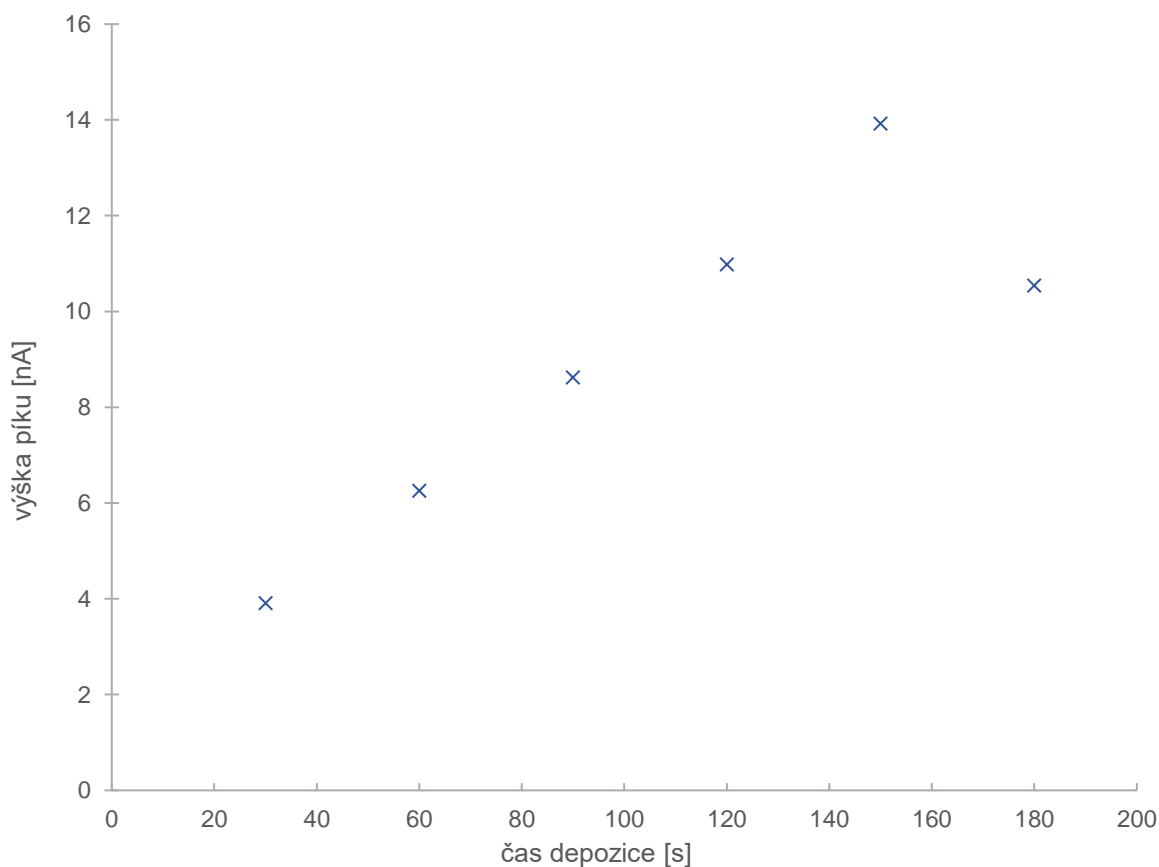
Obr. 6: Graf závislosti výšky píku Zn<sup>2+</sup> iontů na době probublávání dusíkem, měřeno v roztoku směsného standardu



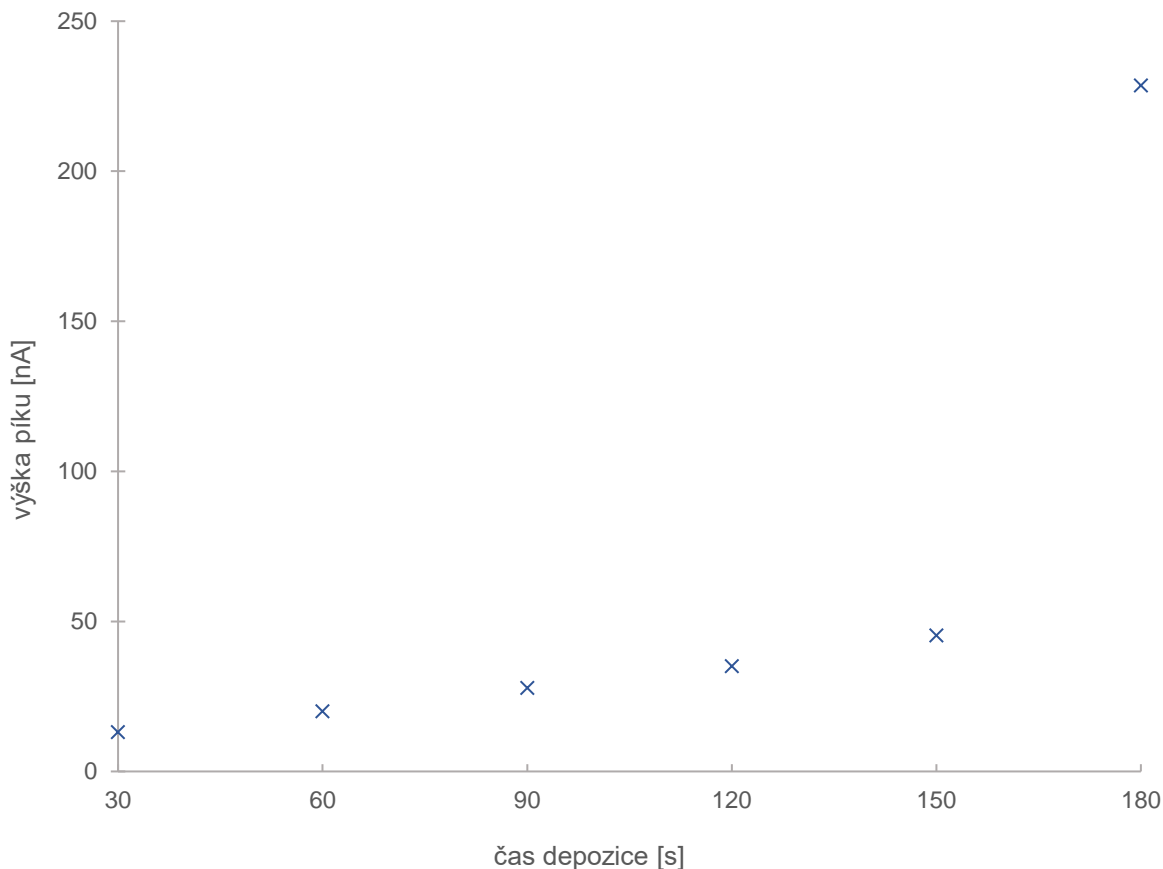
Obr. 7: Graf závislosti výšky píku Cu<sup>2+</sup> iontů na době probublávání dusíkem, měřeno v roztoku směsného standardu

#### 9.4. Vliv času depozice

Výšky píků byly zpracovány do grafů jejich závislosti na aplikovaném času depozice. Z grafu (Obr. 8) lze vyčíst, že množství analytu deponovaného na elektrodě je přímo úměrné času depozice do času 150 s. Při vložení delšího času 180 s již linearita nebyla potvrzena. V případě Cd byla intenzita signálu nižší než při použití depozičního času 150 s, naopak u zbylých prvků, reprezentovaných grafem pro  $\text{Pb}^{2+}$  (Obr. 9), závislost nabírala spíše exponenciální charakter. Porušení lineárního průběhu této závislosti je obvykle znakem nasycení povrchu elektrody, které je způsobeno volbou příliš dlouhého depozičního času nebo vysokými koncentracemi analytů [83]. Pro analýzu prvků ve vlasech byl na základě získaných dat zvolen čas depozice 120 s, který se pro všechny stanovované prvky nacházel v lineární části závislosti, kde se na elektrodu deponovalo větší množství než u předešlých hodnot časů a zajišťovalo tak lepší meze detekce.



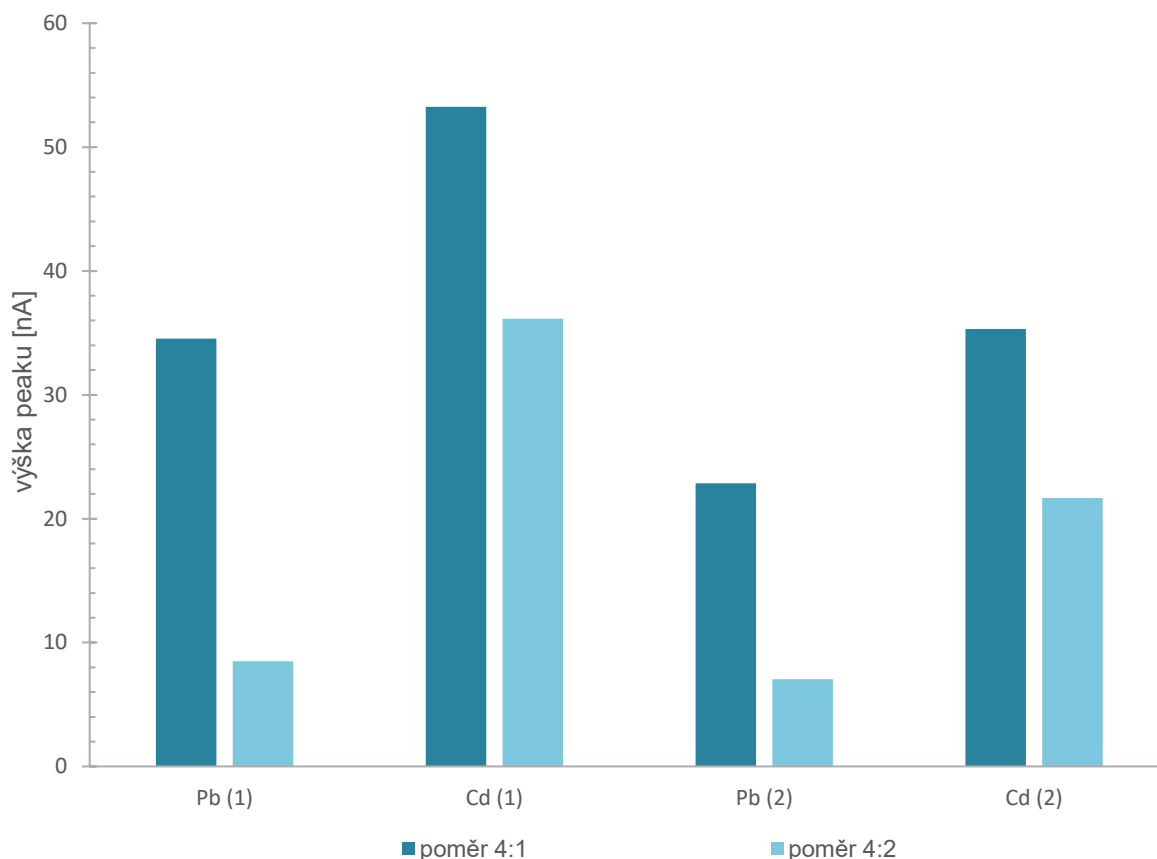
Obr. 8: Graf závislosti výšky píku  $\text{Cd}^{2+}$  iontů na depozičním čase, měřeno v roztoku směsného standardu



Obr. 9: Graf závislosti výšky píku  $Pb^{2+}$  iontů na depozičním čase, měřeno v roztoku směsného standardu

## 9.5. Způsob rozkladu

Z dostupných současných vědeckých článků a prací zabývajících se problematikou stanovení prvků ve vlasech byla vybrána nejčastěji užívaná varianta rozkladu pomocí  $HNO_3$  a  $H_2O_2$ . V již dříve zmiňovaných studiích (viz kapitola 2.3.) byl způsob rozkladu navíc doprovázen použitím mikrovlnného rozkladu či ultrazvukové lázně. Jelikož ovšem měření v rámci této bakalářské práce probíhalo až o den (nebo více) později, než byl proveden rozklad, bylo použití pouze kyseliny a peroxidu zcela dostačující. Vzorek byl kompletně rozložen za vzniku velmi lehce zakaleného roztoku. Poměr 2:1 (16:8 ml)  $HNO_3$  ku  $H_2O_2$  byl zvolen na základě analýzy slepých vzorků, z jejichž výsledných dat vyplývalo, že tato kombinace dává menší odezvy (Obr. 10), a tak přispívá menším podílem k celkové výšce výsledného píku (menší šum v pozadí). Z této analýzy také vyplývá, že zdrojem znečištění v tomto případě je především kyselina dusičná, u níž výrobce uvádí možnost obsahu těžkých kovů, konkrétně Pb maximálně 0,0001 %. Přítomnost Pb ovšem uvádí i výrobce použitého peroxidu vodíku, a to v maximálním množství 0,00005 %. Příspěvek  $H_2O_2$  bude v tomto případě menší, jelikož uvedený procentuální obsah je nižší a zároveň byl k rozkladu použit menší objem než objem  $HNO_3$ .



Obr. 10: Srovnání množství prvků ve slepých vzorcích  $\text{HNO}_3$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$  o různých poměrech

## 9.6. Vliv exogenní kontaminace vlasů

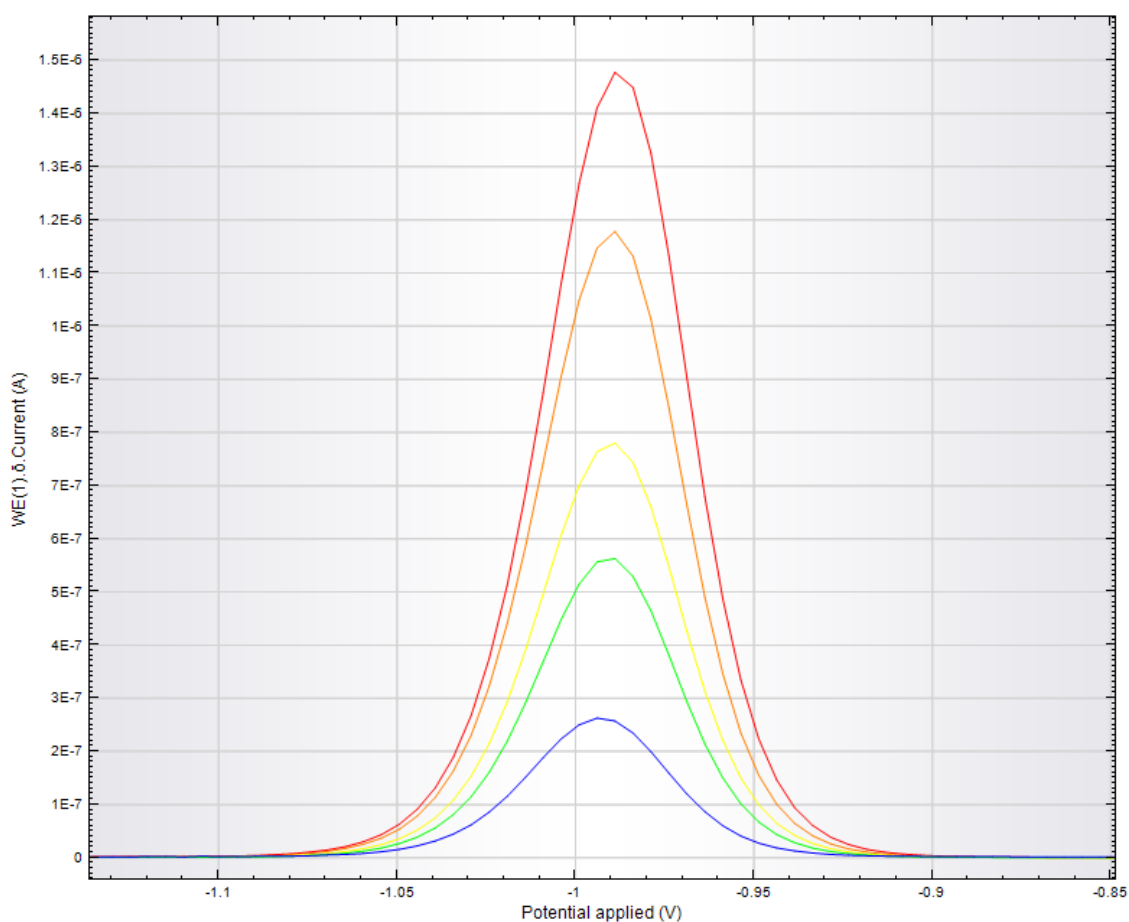
Dva vzorky byly rozloženy a analyzovány bez předchozího zbavení vnějšího znečištění. Stejně vzorky vlasů byly podrobeny mytí za účelem odstranění vnější kontaminace a následně rozloženy a analyzovány. Z výsledků uvedených v Tab. 5 vyplývá, že díky předběžnému očištění došlo ke snížení koncentrace Zn, přičemž v prvním vzorku byl úbytek výrazný, hodnota byla až třikrát menší. V tomto případě se jednalo o směsný vzorek vlasů, a proto nebyla zaručena jeho homogenita. Z tohoto důvodu jako reálnější představu o tomto vlivu dávaly hodnoty druhého vzorku, kde úbytek byl pozorovatelný, ale ne tak extrémní. U dalších prvků nebyla potvrzena souvislost mezi jejich úbytkem a předběžným očištěním. Vzhledem k časovým možnostem a okolnostem praktického měření bohužel nebyl proveden dostatečný počet analýz, které by poskytovaly reprezentativní výsledky, tudíž získané výsledky lze brát pouze jako na možnou souvislost, ne však jako dostatečně podloženou.

Tab. 5: Vliv preanalytického odstranění exogenní kontaminace vzorků na obsah sledovaných prvků

Vzorek	Zbaven kontaminace	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]		
		Cu	Pb	Zn
směsný	ne	9,7	1,8	558,8
směsný	ano	8,7	1,4	173,4
žena 76 let	ne	8,4	0,5	109,2
žena 76 let	ano	11,0	1,7	78,3

## 9.7. Kalibrační závislost

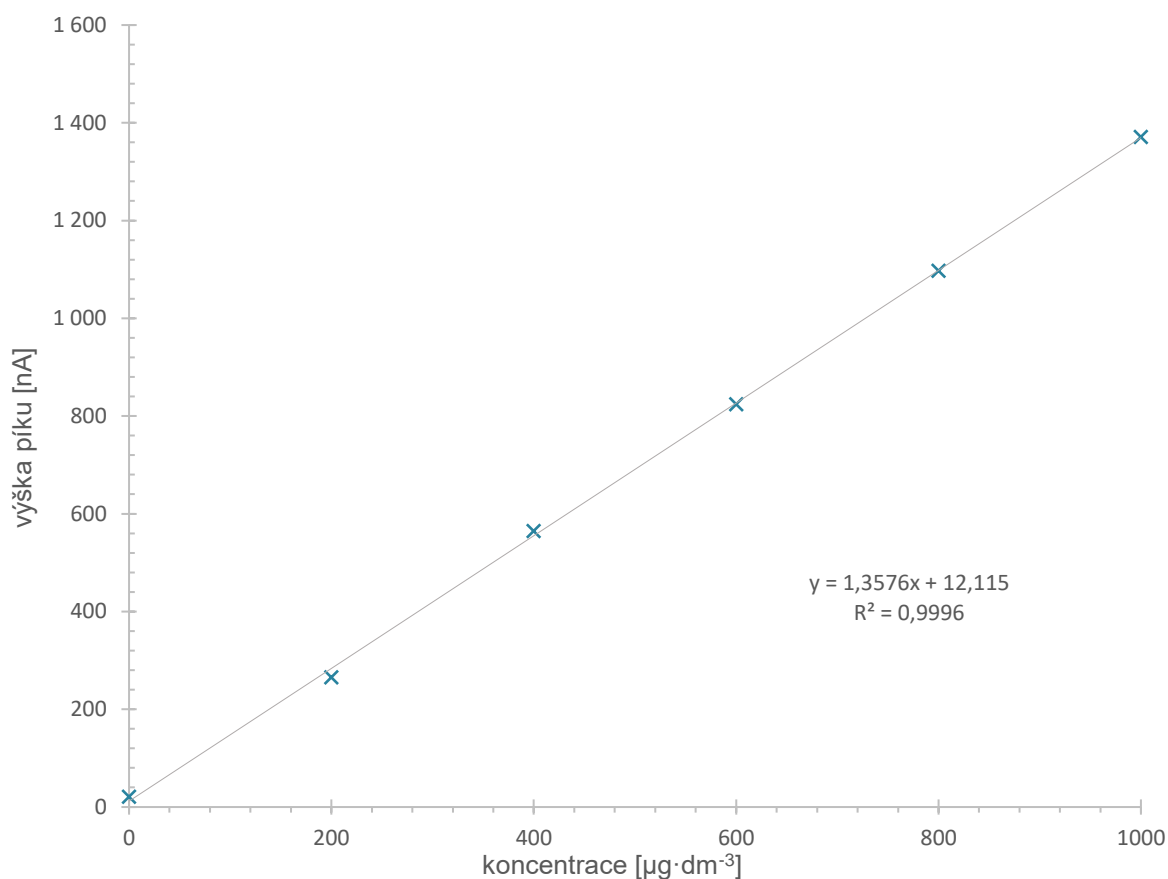
Analýzou připravených kalibračních roztoků o daném pracovním rozsahu byla získána data, která byla následně graficky zpracována do závislostí výšek pík jednotlivých prvků na koncentraci (Obr. 11).



Obr. 11: Datový výstup pro kalibrační závislost zinku



U zvolených koncentračních intervalů byla potvrzena linearita pro všechny pozorované prvky. Jako příklad této závislosti je uveden graf kalibrační závislosti  $Zn^{2+}$  (Obr. 12), jehož stopové množství bylo jako jediné obsaženo ve slepém vzorku destilované vody, tudíž pro něj v rámci statistického vyhodnocení bylo možné spočítat mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ). Výpočtem z rovnice (3) byla získána hodnota LOD, která činila  $1,5 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Z rovnice (4) pro LOQ, byla vypočtena hodnota byla  $4,8 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ .



Obr. 12: Kalibrační křivka  $Zn^{2+}$  s pracovním rozsahem  $0-1000 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$

## 10. VOLTAMETRICKÁ ANALÝZA VZORKŮ

K voltametrické analýze bylo použito 17 vzorků vlasů, z nichž 11 bylo mužských a 6 ženských. Snahou bylo vybrat takové vzorky, u kterých by se dala pozorovat souvislost s věkem, pohlavím a kouřením. Vybrány byly vzorky, které tvořily skupiny osob o podobném věku, za přítomnosti vzorků jak mužských a ženských, tak kuřáků a nekuřáků. Ačkoli zastoupení pohlaví ve všech celkem odebraných vzorcích bylo přibližně stejné (20 ženských ku 23 mužských), ženy byly obvykle méně ochotné darovat potřebnou gramáž, některé vzorky z tohoto důvodu proto nemohly být vůbec použity. Aby bylo zamezeno možnému vlivu na koncentraci analyzovaných prvků, odebírány byly pouze vlasy nebarvené, což dosti omezilo možnost odebrat u žen ve všech věkových kategoriích vlasy jak nekuřáček, tak kuřáček. Ze získaných

dat byly vypočteny koncentrace stanovovaných prvků obsažených ve vzorcích vlasů zobrazené v tabulce níže (Tab. 6). Vzhledem k nedostatku provedených měření vzorků bohužel nelze hovořit o výsledcích reprezentujících jednotlivé skupiny či vlivy, pouze nastínit jejich průběh.

Dle dostupné literatury je přítomnost zinku a mědi ve vlasech běžná a tyto prvky se vyskytují ve větším množství. Zinek je pro lidské tělo esenciální kov podílející se na proteosyntéze či metabolismu nukleových kyselin a je důležitý pro normální růst, vývoj a reprodukci. V určité nízké koncentraci je tedy pro člověka nezbytný [61]. Nedostatek zinku může způsobovat narušení imunitního systému těla [85]. Píky zinku byly zřetelné při analýze všech vzorků. Minimální koncentrace byla  $89,6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ve vzorku vlasů ženy, 55 let, nekuřačky. Maximální množství zinku bylo naměřeno ve vzorku ženy kuřačky, 24 let, a činilo  $687,3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Pravděpodobnost větší akumulace zinku u kuřáků v jiných případech potvrzena nebyla. Stejně tak nebyly patrné žádné souvislosti mezi obsahem zinku ve vlasech a věkem, či kouřením, pouze u žen ve věku kolem 20 let byly pozorovány přibližně pětkrát vyšší hodnoty oproti ženám mladším i starším. Průměrná hodnota obsahu zinku ve vlasech byla  $238 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Oproti jiným studiím je tato hodnota o něco vyšší, což může být způsobeno následkem kontaminace životního prostředí jedinců, jimž byly vlasy odebrány, přičemž valná většina žije na území Moravskoslezského kraje, nebo stravováním.

Tab. 6: Koncentrace prvků ve vzorcích vlasů

Vzorek	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]			
	Cd	Cu	Pb	Zn
Ž4	0,9	8,6	1,8	103,5
M13		6,2		184,7
M19N		13,9		142,5
M20K		19,3		172,9
M21N		14,3	3,7	443,1
M21K		5,4	4,8	156,7
M22K		4,6		106,1
M23N		24,2	2,4	242,6
Ž23N		7,4	2,2	476,9
Ž24K		4,5		687,3
M49K		9,2	3,0	119,9
M52K		7,4		144,4
Ž52K		3,6	45,2	126,4
M53N		3,8	2,2	249,1
M53K		4,9	3,5	493,4
Ž55N		13,1	2,6	89,6
Ž76N		8,4	0,5	109,2

U zinku a mědi někteří autoři zmiňují právě vliv pohlaví na akumulaci prvku do vlasu [46, 35, 88]. V této práci tento vliv pohlaví na množství prvku obsažené ve vlasech pozorován nebyl. V Tab. 7 jsou vypsány průměrné koncentrace Cu a Zn ve vlasech osob žijících v lokalitě, u které se předpokládalo, že bude vlivem antropogenní činnosti kontaminována. Jelikož pro

množství prvků ve vlasech nejsou dány přesné limity, u kterých by překročení znamenalo nebezpečnou koncentraci daného prvku v těle, je možné získané hodnoty pouze porovnat.

Měď, která je stejně jako zinek esenciálním prvkem, byla naměřená u všech vzorků. Je velmi důležitá pro metabolismus železa a její nedostatek může vést ke zhoršení syntézy hemoglobinu. Naopak při jejím nadbytku dochází k akumulaci v játrech, ledvinách, oční rohovce či na mozku, čímž tyto orgány poškozuje [61]. Koncentrace mědi se pohybovaly v rozmezí 4,6-24,2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a průměrná hodnota činila 8,9  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . To v porovnání se současnými studii odpovídá hodnotě spíše nižší, odpovídající méně kontaminovaným oblastem.

Tab. 7: Průměrné koncentrace Cu a Zn v současných studiích

Autor, země	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]	
	Cu	Zn
Baran, Polsko [53]		179,4
Massadeh, Jordánsko [46]	16,0	178,5
Rashed, Egypt [41]	9,4	197,3
Srogi, Polsko [45]	47,6	258,0
Massaquoi, Čína [51]	7,35	184,5
Nowak, Polsko [35]	8,7	106,5
Nowak, Polsko [42]	7,2	128,5
Schroeder, USA [36]	35,5	169,5
Zhang, Belgie [44]	31,5	

Z původně zamýšlených těžkých kovů byly sledovány pouze Pb a Cd, jejichž analýza díky nízkým koncentracím byla obtížnější. Před potenciálovou oblastí Cd (cca -0,63 V, hodnota se pohybuje vzhledem k použitému pufru a výsledné hodnotě pH) se navíc u všech vzorků objevoval pík v pozici -0,7 V, jehož hodnota odpovídá selenu. Jelikož standard selenu nebyl k dispozici, nebylo možné jeho přítomnost potvrdit a kvantifikovat. Mohlo se tedy také jednat o pozůstatek organických sloučenin komplikující analýzu. Cd bylo možné kvantifikovat pouze u jednoho vzorku a paradoxně se vyskytovalo ve vzorku dítěte, kde nebylo zcela očekávané. Jeho koncentrace činila 0,9  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , což je hodnota několikrát vyšší oproti údajům zmíněným v kapitole 3.33.3 (Tab. 1). Jelikož se kadmium vyskytuje ve vyšších koncentracích především u kuřáků a dítě ani jeho rodiče nejsou kuřáci, nabízí se varianta vlivu stravy. Další možností je pochybení při manipulaci se vzorkem nebo kontaminované laboratorní sklo.

Hodnoty Pb jako jediné vykazovaly souvislost s tím, zdali dotyčný kouří či nikoli. Jeho koncentrace byla ve všech případech, pokud byla naměřena, vyšší než u nekuřáka než u nekuřáka. Maximální naměřená koncentrace činila 45,2  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ve vlasech ženy kuřáčky. Množství Pb v tomto vzorku bylo ve srovnání s výše zmíněnými publikacemi až dvacetkrát vyšší. K přítomnosti takto velkého množství olova můžou kromě kouření velkou částí přispívat například prachové částice v blízkosti hutních provozoven. Průměrná hodnota při vynechání maximální naměřené koncentrace, byla 1,7  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a vzhledem k uvedeným odborným článkům se neřadí ke koncentracím z kontaminovaných oblastí.

Analýza byla prováděna za desítnásobného zředění, při kterém byly píky dobře kvantifikovatelné. Při tomto zředění přístroj upozorňoval na přetížení použitého proudového rozpětí. Je tedy možné, že získaná data nebyla zcela objektivní a můžou být zkreslená. Z tohoto důvodu byla analýza prováděna i za padesátinásobného zředění. Díky větším obsahům zinku a mědi ve vzorcích byly z píky dobře detekovatelné a na voltametrickém záznamu zřetelně viditelné. V takto zředěném vzorku však nebylo možné kvantifikovat výšku píku u olova a kadmia automaticky ani manuálně, ačkoli bylo možné jejich píky pozorovat. Důvodem byly příliš nízké koncentrace, ve kterých se tyto prvky vyskytovaly. Nabízí se možnost analyzovat zvláště obsah zinku a mědi při větším zředění či zkrácení času depozice, a zvláště kadmium s olovem, při zředění menším nebo po zakoncentrování.

## 11. ZÁVĚR

Využívání vlasů pro účely biomonitoringu prvků může být velmi užitečné, jelikož vlasy mohou poskytovat informace o životním prostředí v průběhu delšího časového období. Zároveň je možné je snadno uchovávat a analyzovat kdykoliv. Dosud ovšem nebyly zcela objasněny faktory ovlivňující inkorporaci prvků do vlasového vlákna. Ačkoli mnoho odborné literatury a publikací hovoří o různých souvislostech mezi těmito vlivy, shody mezi autory byly nalezeny jen zřídka. Příčinou je zcela individuální metabolismus člověka, proto je obtížné zjistit, z jaké složky životního prostředí byly tyto prvky přijaty. Kromě této skutečnosti nejsou stanoveny žádné koncentrační limity, které by podávaly informace o tom, kdy dané množství již přesahuje přirozené a bezpečné hladiny. Vlasy tedy do určité míry podávají informace o stavu životního prostředí, avšak za podmínky analýzy vzorků referenčních.

Cílem bakalářské práce bylo ověření použitelnosti vlasů jako matrice vhodné pro stanovení pomocí méně běžné metody – stripovací voltametrie. Danou metodu bylo zapotřebí optimalizovat pro zvolenou matici a stanovované prvky. Veškerá optimalizační měření byla prováděna na roztocích standardů a směsných vzorků, které poskytly bližší informace potřebné k analýze reálných vzorků. Vzorky byly odebrány zdravým jedincům žijícím v oblasti Moravskoslezského kraje, u kterých se nepředpokládal příliš vysoký stupeň kontaminace životního prostředí.

Koncentrace zinku a mědi byly nalezeny ve všech vzorcích a jejich průměrné hodnoty byly  $238 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a  $8,9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Ve srovnání s hodnotami z odborných článků byla koncentrace zinku vyšší a koncentrace mědi nižší. Množství olova se u většiny vzorků pohybovalo spíše v nižších hladinách a téměř všechny jeho hodnoty nepřesahovaly koncentraci  $5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Ve vzorku ženy kuřačky ovšem bylo zjištěno množství olova 27krát vyšší ( $45,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), než byla průměrná koncentrace. Tato hodnota se lišila výrazně také od hodnot získaných u jiných kuřáků, zdroj kontaminace tudíž musel být i jiný. Jelikož nejsou stanoveny limity, které by upozorňovaly na nebezpečnou hladinu prvku, nelze říci, zdali akumulující se olovo v tomto množství může již způsobovat zdravotní problémy. Kadmium bylo možné kvantifikovat pouze v jednom případě a jeho koncentrace ve vzorku činila  $0,9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Zvolená metoda se pro analýzu vybraných prvků osvědčila jako dostatečně citlivá. Nízké koncentrace Cd a Pb ale nebylo možné kvantifikovat vzhledem k vysokým koncentracím Zn a Cu. Proto by analýza těchto prvků měla probíhat spíše odděleně a modifikace metody by měly být přizpůsobeny jednotlivým prvkům individuálně.

## 12. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MARKERT, B.A., A.M. BREURE a H.G. ZECHMEISTER, ed., 2003. *Bioindicators and Biomonitoring, Volume 6: Principles, concepts and applications* [online]. Pergamon: Elsevier [cit. 2019-11-16]. ISBN 9780080527970. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=swKWsOY9CJ4C&oi=fnd&pg=PP2&dq=bioindicators&ots=33OVR83x4G&sig=ZdalkYYPqpEx-WEeIDbpW8dw03A&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=swKWsOY9CJ4C&oi=fnd&pg=PP2&dq=bioindicators&ots=33OVR83x4G&sig=ZdalkYYPqpEx-WEeIDbpW8dw03A&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- [2] ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ, Helena, 2017. Význam bioindikace a ekotoxikologie při hodnocení kontaminace životního prostředí. Brno: Vutium. ISBN 9788021455382. ISSN 1213418X.
- [3] BOHÁČ, Jaroslav, *Organismy jako bioindikátory měnícího se prostředí* [online]. 199, 126-129 [cit. 2019-12-24]. Dostupné z: [http://147.213.211.222/sites/default/files/1999\\_3\\_126\\_129\\_bohac.pdf](http://147.213.211.222/sites/default/files/1999_3_126_129_bohac.pdf)
- [4] WEISSOVÁ, Iveta, 2010. *Biologický monitoring – jeho možnosti a omezení*. Univerzita Karlova v Praze. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Ústav obecné hygieny. Vedoucí práce Prof. MUDr. Milena Černá, DrSc.
- [5] ANDĚL, Petr, 2011. *Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitring*. Liberec: Evernia, 265 s. ISBN 978-809-03787-9-7.
- [6] KOLÁČEK, Tomáš, 2016. *Využití rostlinných bioindikátorů při sledování kontaminace životního prostředí* [online]. Brno [cit. 2019-12-29]. Dostupné z: [https://www.vutbr.cz/www\\_base/zav\\_prace\\_soubor\\_verejne.php?file\\_id=125377](https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=125377). Bakalářská. VUT Brno. Vedoucí práce Doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
- [7] MIKEŠ, Ondřej, 2006. *Biokoncentrace organochlorových pesticidů a polychlorovaných bifenylyů v terestrické vegetaci* [online]. Brno [cit. 2019-12-29]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/prbsd/DIPLOMKA.txt>. Bakalářská. Masarykova Univerzita v Brně. Vedoucí práce RNDr. Jana Klánová, Ph.D.
- [8] HOLT, Emily A. a Scott M. MILLER, 2010. Bioindicators: Using Organisms to Measure Environmental Impacts. In: *Nature Education Knowledge* [online]. Department of Watershed Sciences, Utah State University, 2010 [cit. 2019-12-29]. Dostupné z: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/bioindicators-using-organisms-to-measure-environmental-impacts-16821310/>
- [9] VÁVROVÁ, Milada, *Využití bioindikátorů při hodnocení starých zátěží terestrického ekosystému* [online]. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2004, 104 [cit. 2019-12-29]. Dostupné z: <http://www.phytosanitary.org/old/projekty/2004/vvf-12-04.pdf>
- [10] MEHRA, Rita, Amit Singh THAKUR a Seema BHALLA, 2010. Hair As Bioindicator Of Metal Pollution Due To Occupational Exposure To Metals. *International Journal of Life Sciences and Technology*. Environmental and Acoustic Laboratory, Department of Pure and Applied Chemistry, Maharshi Dayanand Saraswati University, Ajmer-305009 Rajasthan, INDIA, 4(3), 14-18. ISSN 0974-5335.
- [11] BENCKO, Vladimír, Miroslav CIKRT a Jaroslav LENER, 1995. *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka*. 2. Praha: Grada Publishing, spol. ISBN 1-013-918.

- [12] JURDA, Mikoláš, 2005. *Vlasy člověka: Využití lidských vlasů ve forenzní antropologii*. Masarykova univerzita v Brně. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta, Katedra antropologie. Vedoucí práce RNDr. Miroslav Králík, Ph.D.
- [13] HOPPS, Howard C., 1977. The biologic bases for using hair and nail for analyses of trace elements. *The science of the total environment*. Amsterdam, Belgium: Elsevier scientific publishing company, **7**(1), 71-89
- [14] TOBIN, Desmond John, 2005. Chemistry and Toxicology of Personal Hair Care Products. Hair Colorant Chemistry. *Hair in Toxicology*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 195-111. DOI: 10.1039/9781847552518-00195. ISBN 978-0-85404-587-7. Dostupné také z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781847552518-00195>
- [15] Revalid: Péče o vlasy: Základní informace o struktuře vlasů a jejich růstovém cyklu. *Revalid: Swiss hair care* [online]. Switzerland [cit. 2020-07-31]. Dostupné z: <https://www.revalid.cz/pece-o-vlasy-zakladni-informace-o-strukture-vlasu-a-jejich-rustovem-cyklu-revalidR/>
- [16] HARRISON, S. a R. SINCLAIR, 2003. Hair colouring, permanent styling and hair structure. *Journal of Cosmetic Dermatology*. **2**(3-4), 180-185.
- [17] WRANOVÁ, Kateřina. *Stanovení anorganicky vázané rtuti a methylrtuti ve vlasech atomovou absorpční spektrometrií*. 2006. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie. Vedoucí práce Spěváčková, Věra.
- [18] HOCH, Dieter a Manfred SCHMOCK, 1994. *Všechno o vlasech*. 1. Praha: Synesthesie. ISBN 2-1004-398.
- [19] DRAELOS, Zoe Kececioglu, 1991. Hair Cosmetics. *Dermatologic Clinics*. **9**(1), 19-27. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0733-8635\(18\)30429-7](https://doi.org/10.1016/S0733-8635(18)30429-7).
- [20] MADER, Pavel; SZÁKOVÁ, Jiřina; ČURDOVÁ, Eva. Combination of classical dry ashing with stripping voltammetry in trace element analysis of biological materials: review of literature published after 1978. *Talanta*, 1996, 43.4: 521-534.
- [21] WATT, Andrew A. R., Jacques P. BOTHMA a Paul MEREDITH, 2009. The supramolecular structure of melanin. *Soft Matter*. **5**(19), 3754-3760. DOI: 10.1039/b902507c. ISSN 1744-683X. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b902507c>
- [22] KINTZ, PASCAL; VILLAIN, MARION. Hair in forensic toxicology with a special focus on drug-facilitated crimes. *Hair in Toxicology: An Important Bio-monitor*, 2005, 1: 89.
- [23] KALES, STEFANOS N.; CHRISTIANI, DAVID C. Hair and metal toxicity. *Hair in toxicology: an important biomonitor*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, MA, 2005, 125-158.
- [24] CHITTLEBOROUGH, Glen, 1980. A chemist's view of the analysis of human hair for trace elements. *Science of The Total Environment*. **14**(1), 53-75. DOI: 10.1016/0048-9697(80)90126-6. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0048969780901266>
- [25] ŽIŽKOVÁ, Věra, 2013. *Problematika, přínosy a omezení stanovení stopových prvků ve vlasech*. Jihočeská univerzita České Budějovice. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta. Vedoucí práce Václav Senft.
- [26] WANG, Thanh, Jianjie FU, Yawei WANG, Chunyang LIAO, Yongqing TAO a Guibin JIANG, 2009. Use of scalp hair as indicator of human exposure to heavy metals in an electronic waste recycling area. *Environmental Pollution*. **157**(8-9), 2445-2451. DOI:

- 10.1016/j.envpol.2009.03.010. ISSN 02697491. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749109001353>
- [27] NOGUCHI, Takako, et al. Applicability of human hair as a bioindicator for trace elements exposure. *Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry-Environmental Pollution and Ecotoxicology/Eds. M. Kawaguchi et al*, 2012, 73-77.
- [28] TATSY, YURIY G. on applicability of human hair as a bioindicator for environmental mercury pollution. *Tyumen State University Herald*, 2013, 12: 131-136.
- [29] ZHANG, Zheng-Qi, et al. Simultaneous determination of copper, nickel, lead, cobalt and cadmium by adsorptive voltammetry. *Analytica chimica acta*, 1993, 272.2: 227-232.
- [30] SHAPIRO, Jerry a Chantal BOLDUC, 2001. Hair care products: waving, straightening, conditioning, and coloring. *Dermatologic Clinics* [online]. 19(4), 431-436 [cit. 2020-07-30]. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0738-081X\(01\)00201-2](https://doi.org/10.1016/S0738-081X(01)00201-2). Dostupné z: [https://www.cidjournal.com/article/S0738-081X\(01\)00201-2/fulltext](https://www.cidjournal.com/article/S0738-081X(01)00201-2/fulltext)
- [31] O'CONNELL, Tamsin, c2005. Hair and nutrient/diet assessment. *Hair in toxicology: an important bio-monitor*. 1. Cambridge: Royal Society of Chemistry. ISBN 978-0-85404-587-7.
- [32] GALLAGHER, Margie Lee, Phyllis WEBB, Robert CROUNSE, John BRAY, Alex WEBB a Evelyn A. SETTLE, 1984. Selenium levels in new growth hair and in whole blood during ingestion of a selenium supplement for six weeks. *Nutrition Research*. East Carolina University, Greenville: Pergamon Press, 4(1), 577-582.
- [33] HONG, Lian a John D. SIMON, 2007. Current Understanding of the Binding Sites, Capacity, Affinity, and Biological Significance of Metals in Melanin. *The Journal of Physical Chemistry B*. 111(28), 7938-7947. DOI: 10.1021/jp071439h. ISSN 1520-6106. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp071439h>
- [34] DOREA, José G. a Sueli Essado PEREIRA, 1983. The Influence of Hair Color on the Concentration of Zinc and Copper in Boys' Hair. *The Journal of Nutrition*. 113(11), 2375-2381. DOI: 10.1093/jn/113.11.2375. ISSN 0022-3166. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/jn/article/113/11/2375-2381/4755720>
- [35] NOWAK, Barbara a Henryk KOZŁOWSKI, 1998. Heavy metals in human hair and teeth. *Biological Trace Element Research*. 62(3), 213-228. DOI: 10.1007/BF02783972. ISSN 0163-4984. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02783972>
- [36] SCHROEDER, Henry A. a Alexis P. NASON, 1969. Trace Metals in Human Hair\*\*From the Department of Physiology, Dartmouth Medical School, Hanover, New Hampshire and the Brattleboro Memorial Hospital, Brattle-boro, Vermont. *Journal of Investigative Dermatology*. 53(1), 71-78. DOI: 10.1038/jid.1969.110. ISSN 0022202X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15477115>
- [37] KNOBELOCH, Lynda, Henry A. ANDERSON, Pamela IMM, Debi PETERS a Andrew SMITH, 2005. Fish consumption, advisory awareness, and hair mercury levels among women of childbearing age. *Environmental Research*. 97(2), 220-227. DOI: 10.1016/j.envres.2004.07.001. ISSN 00139351. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013935104001318>
- [38] MEHRA, Rita, Amit Singh THAKUR a Seema BHALLA, 2010. Hair As Bioindicator Of Metal Pollution Due To Occupational Exposure To Metals. *International Journal of Life Sciences and Technology*. Environmental and Acoustic Laboratory, Department of Pure and Applied



Chemistry, Maharshi Dayanand Saraswati University, Ajmer-305009 Rajasthan, INDIA, 4(3), 14-18. ISSN 0974-5335.

- [39] AFRIDI, Hassan I, Tasneem G KAZI, Mohammad K JAMALI, Gul H KAZI, Mohammad B ARAIN, Nusrat JALBANI, Ghulam Q SHAR a Raja A SARFARAZ, 2016. Evaluation of toxic metals in biological samples (scalp hair, blood and urine) of steel mill workers by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Toxicology and Industrial Health*. **22**(9), 381-393. DOI: 10.1177/0748233706073420. ISSN 0748-2337. Dostupné také z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0748233706073420>
- [40] ALI, Nida, Shaikh MOHIUDDIN, Talat MAHMOOD a Majid MUMTAZ, 2014. Monitoring of Environmental Mercury Exposure Using Hair as Bioindicator and the Study of Potential Factors Affecting on It in Karachi. *American Journal of Analytical Chemistry*. **05**(02), 83-90. DOI: 10.4236/ajac.2014.52013. ISSN 2156-8251. Dostupné také z: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/ajac.2014.52013>
- [41] RASHED, M.N. a F. HOSSAM, 2007. Heavy Metals in Fingernails and Scalp Hair of Children, Adults and Workers from Environmentally Exposed Areas at Aswan, Egypt. *Environmental Bioindicators* [online]. **2**(3), 131-145 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1080/15555270701553972. ISSN 1555-5275. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15555270701553972>
- [42] NOWAK, Barbara a Jadwiga CHMIELNICKA, 2000. Relationship of Lead and Cadmium to Essential Elements in Hair, Teeth, and Nails of Environmentally Exposed People. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **46**(3), 265-274. DOI: 10.1006/eesa.2000.1921. ISSN 01476513. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651300919213>
- [43] LIANG, Gang, Ligang PAN a Xinhui LIU, 2017. Assessment of Typical Heavy Metals in Human Hair of Different Age Groups and Foodstuffs in Beijing, China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **14**(8). DOI: 10.3390/ijerph14080914. ISSN 1660-4601. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1660-4601/14/8/914>
- [44] ZHENG, Jing, Xiao-Jun LUO, Jian-Gang YUAN, et al., 2011. Heavy Metals in Hair of Residents in an E-Waste Recycling Area, South China: Contents and Assessment of Bodily State. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **61**(4), 696-703. DOI: 10.1007/s00244-011-9650-6. ISSN 0090-4341. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00244-011-9650-6>
- [45] SROGI, Krystyna, 2004. Heavy metals in human hair samples from Silesia province: The influence of sex, age and smoking habit. *Problems of Forensic Sciences*. **65**(1), 7-27.
- [46] MASSADEH, Adnan, Abdul-Wahab EL-RJOOB a Hala SMADI, 2010. *Lead, cadmium, copper, zinc, iron, and calcium in human hair as a function of gender, age, smoking, and hair dyeing*. **93**(3), 494-503. DOI: 10.1080/02772248.2010.532797. ISSN 0277-2248. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02772248.2010.532797>
- [47] VEGA, Claudia, Jesem ORELLANA, Marcos OLIVEIRA, Sandra HACON a Paulo BASTA, 2018. Human Mercury Exposure in Yanomami Indigenous Villages from the Brazilian Amazon. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **15**(6). DOI: 10.3390/ijerph15061051. ISSN 1660-4601. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1660-4601/15/6/1051>

- [48] NAKAONA, Lukundo, Kakoma K. MASEKA, Elliott M. HAMILTON a Michael J. WATTS, 2020. Using human hair and nails as biomarkers to assess exposure of potentially harmful elements to populations living near mine waste dumps. *Environmental Geochemistry and Health*. **42**(4), 1197-1209. DOI: 10.1007/s10653-019-00376-6. ISSN 0269-4042. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10653-019-00376-6>
- [49] WOLFSPERGER, Marcus, Gertrud HAUSER, Walter GÖBLER a Claudia SCHLAGENHAUFEN, 1994. Heavy metals in human hair samples from Austria and Italy: influence of sex and smoking habits. *Science of The Total Environment* [online]. **156**(3), 235-242 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1016/0048-9697(94)90190-2. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0048969794901902>
- [50] GIL, Fernando, Antonio F. HERNÁNDEZ, Claudia MÁRQUEZ, Pedro FEMIA, Pablo OLMEDO, Olga LÓPEZ-GUARNIDO a Antonio PLA, 2011. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. *Science of The Total Environment*. **409**(6), 1172-1180. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.11.033. ISSN 00489697. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969710012647>
- [51] MASSAQUOI, Lamin Daddy, Hui MA, Xue Hui LIU, Peng Yu HAN, Shu-Mei ZUO, Zhong-Xian HUA a Dian-Wu LIU, 2015. Heavy metal accumulation in soils, plants, and hair samples: an assessment of heavy metal exposure risks from the consumption of vegetables grown on soils previously irrigated with wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*. **22**(23), 18456-18468. DOI: 10.1007/s11356-015-5131-1. ISSN 0944-1344. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-015-5131-1>
- [52] ZAKRGYNSKA-FONTAINE, Valerie, Jean-Christophe DORÉ, Tiiu OJASOO, Françoise POIRIER-DUCHÊNE a Claude VIEL, 1998. Study of the age and sex dependence of trace elements in hair by correspondence analysis. *Biological Trace Element Research*. **61**(2), 151-168. DOI: 10.1007/BF02784027. ISSN 0163-4984. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02784027>
- [53] BARAN, A., J. WIECZOREK a Nicola PIRRONE, 2013. Concentrations of heavy metals in hair as indicators of environmental pollution. *E3S Web of Conferences* [online]. **1** [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1051/e3sconf/20130121005. ISSN 2267-1242. Dostupné z: <http://www.e3s-conferences.org/10.1051/e3sconf/20130121005>
- [54] MOLINA-VILLALBA, Isabel, Marina LACASAÑA, Miguel RODRÍGUEZ-BARRANCO, Antonio F. HERNÁNDEZ, Beatriz GONZALEZ-ALZAGA, Clemente AGUILAR-GARDUÑO a Fernando GIL, 2015. Biomonitoring of arsenic, cadmium, lead, manganese and mercury in urine and hair of children living near mining and industrial areas. *Chemosphere*. **124**, 83-91. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.11.016. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004565351401279X>
- [55] PÉREZ, Rosa, et al. Biomonitoring of mercury in hair of children living in the Valencian Region (Spain). Exposure and risk assessment. *Chemosphere*, 2019, 217: 558-566. DOI 10.1016/j.chemosphere.2018.11.017 ISS 00456535.
- [56] PEREIRA, R., R. RIBEIRO a F. GONÇALVES, 2004. Scalp hair analysis as a tool in assessing human exposure to heavy metals (S. Domingos mine, Portugal). *Science of The Total*

- Environment* [online]. **327**(1-3), 81-92 [cit. 2020-03-16]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2004.01.017. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969704000580>
- [57] CHOJNACKA, K., H. GÓRECKA, A. CHOJNACKI a H. GÓRECKI, 2005. Inter-element interactions in human hair. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **20**(2), 368-374. DOI: 10.1016/j.etap.2005.03.004. ISSN 13826689. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1382668905000682>
- [58] DROBYSHEV, Evgenii J., Nikolay D. SOLOVYEV, Natalya B. IVANENKO, Maria Yu. KOMBAROVA a Alexander A. GANEEV, 2017. Trace element biomonitoring in hair of school children from a polluted area by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. **39**, 14-20. DOI: 10.1016/j.jtemb.2016.07.004. ISSN 0946672X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0946672X16301481>
- [59] SALIH, Zhian a Farhad AZIZ, 2020. Heavy Metal Accumulation in Dust and Workers' Scalp Hair as a Bioindicator for Air Pollution from a Steel Factory. *Polish Journal of Environmental Studies*. **29**(2), 1805-1813. DOI: 10.15244/pjoes/109724. ISSN 1230-1485. Dostupné také z: <http://www.journalssystem.com/pjoes/Heavy-metals-accumulation-in-dust-and-workers-scalp-hair-as-a-bioindicator-for-air,109724,0,2.html>
- [60] WASIAK, Wiesław, Wanda CISZEWSKA a Aleksander CISZEWSKI, 1996. Hair analysis. Part 1: Differential pulse anodic stripping voltammetric determination of lead, cadmium, zinc and copper in human hair samples of persons in permanent contact with a polluted workplace environment. *Analytica Chimica Acta*. **335**(3), 201-207. DOI: 10.1016/S0003-2670(96)00323-6. ISSN 00032670. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267096003236>
- [61] Flache, L., Becker, N.I., Kierdorf, U. et al. Hair samples as monitoring units for assessing metal exposure of bats: a new tool for risk assessment. *Mamm Biol* 80, 178–181 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2015.01.007>
- [62] KAFKA, Zdeněk a Jana PUNČOCHÁŘOVÁ, 2002. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. In: *Chemické listy*. 96. Praha: VŠCHT. ISBN 59-328. ISSN 0009-2770.
- [63] TREBICHA VSKÝ, Jan. Trendy a perspektivy využití stopových a vzácných prvků v nových materiálech (Materiály 23): prognostická studie. Praha: Ústředí vědeckých, technických a ekonomických informací, 1988. SIVO.
- [64] KRIŠTOFOVÁ, Dana a Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava. *Kovy a životní prostředí: environmentálně nebezpečné složky elektroodpadu*. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita, 2005. s. 43. ISBN 80-248-0740-8. Dostupné také z: <https://kramerius-vs.mzk.cz/uuid/uuid:685bf5a0-2638-11e6-aec6-001018b5eb5c>
- [65] MERIAN, E., M. ANKE, M. IHNAT a M. STOEPLER, 2004. *Elements and their Compounds in the Environment*. 2nd Edition. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. ISBN 3-527-30459-2.
- [66] GRIFFIN, Reginald M., 1986. Biological Monitoring for Heavy Metals: Practical Concerns. In: *Journal of Occupational and Environmental Medicine* [online]. s. 615-618 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1097/00043764-198608000-00017. ISSN 1076-2752. Dostupné z: <http://journals.lww.com/00043764-198608000-00017>
- [67] Informace ze summitu

- [68] WRANOVÁ, Kateřina, 2006. *Stanovení anorganicky vázané rtuti a methylrtuti ve vlasech atomovou absorpční spektrometrií* [online]. Praha [cit. 2020-02-17]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/100395/120309833.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Diplomová. Univerzita Karlova v Praze. Vedoucí práce Doc. RNDr. Petr Rychlovský, CSc.
- [69] REJNEK, Jaroslav, 2002. Mineralizace biologických materiálů pro následné stanovení kovů metodou atomové absorpční spektrometrie. *Chemické listy*. **96**(12), 1010-1014.
- [70] POURNAGHI-AZAR, M.H. a H. DASTANGO, 2000. Differential pulse anodic stripping voltammetry of copper in dichloromethane: application to the analysis of human hair. *Analytica Chimica Acta*. **405**(1-2), 135-144. DOI: 10.1016/S0003-2670(99)00695-9. ISSN 00032670. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267099006959>
- [71] ZÁRUBA, Kamil, 2016. *Analytická chemie*. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [72] VAŠÁTKO, J. Aplikace elektrochemických metod pro stanovení platinových kovů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 43 s. Vedoucí bakalářské práce Mgr. Renata Komendová, Ph.D..
- [73] SAUCHANKA, K. Stanovení zinku v potravinových doplňcích. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2019. 38 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Veronika Řezáčová, Ph.D.
- [74] ZÁRUBA, Kamil, 2016. *Analytická chemie 2. díl*. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7080-951-8.
- [75] KLOUDA, Pavel, 2016. *Moderní analytické metody*. Třetí, upravené vydání. Ostrava: Pavel Klouda - nakladatelství Pavko. ISBN 978-80-86369-22-8.
- [76] ELBEL, Jan, 2014. Voltametrické techniky v anorganické analýze [online]. Brno [cit. 2020-07-30]. Dostupné z: [https://is.muni.cz/th/zcafi/Bakalarska\\_prace\\_-\\_Jan\\_Elbel.pdf](https://is.muni.cz/th/zcafi/Bakalarska_prace_-_Jan_Elbel.pdf). Bakalářská práce. Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav chemie. Vedoucí práce Přemysl Lubal.
- [77] HEYROVSKÝ, Jaroslav a Jaroslav KŮTA. *Základy polarografie*. Praha: Československá akademie věd, 1962. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:e9422160-96d2-11e2-9a08-005056827e52>
- [78] WANG, Joseph, 2000. *Analytical electrochemistry*. 2nd ed. New York: Wiley-VCH. ISBN 04-712-8272-3.
- [79] BARD, Allen J. a Larry R. FAULKNER, c2001. *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. 2nd ed. New York: Wiley. ISBN 04-710-4372-9.
- [80] KLEČKA, Tomáš, 2009. *Polarografická analýza vod* [online]. Brno [cit. 2020-07-30]. Dostupné z: [https://www.vutbr.cz/www\\_base/zav\\_prace\\_soubor\\_verejne.php?file\\_id=18801](https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=18801). Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav radioelektroniky. Vedoucí práce Martin Čížek.
- [81] TRNKOVÁ, L. Stanovení těžkých kovů a) pomocí DPV na HMDE, b) pomocí EVLS na PIGE. Elektroanalytické metody – laboratorní cvičení [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: [http://cheminfo.chemi.muni.cz/ktfch/trnkova/elanalmet/navody/uloha%209/9-Stripping%20DPV\\_navod.pdf](http://cheminfo.chemi.muni.cz/ktfch/trnkova/elanalmet/navody/uloha%209/9-Stripping%20DPV_navod.pdf).

- [82] NAVRÁTILOVÁ, Adriana, 2019. *Možnosti elektrochemické detekce těžkých kovů v potravinách* [online]. Zlín, Univerzita Tomáše Bati [cit. 2020-07-30]. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10563/45496>. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická.
- [83] ROZSYPAL, Jan, 2014. *Modifikované mikroelektrody pro stanovení vybraných kovů pulzními voltametričnými metodami a stripping analýzou*. Olomouc, Univerzita Palackého. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra fyzikální chemie. Vedoucí práce Jan Hrbáč.
- [84] BADER, Morris. A systematic approach to standard addition methods in instrumental analysis. *Journal of Chemical Education*, 1980, 57.10: 703
- [85] SKOOG, Douglas A., Donald M. WEST, F. James HOLLER a Stanley R. CROUCH. Analytická chemie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.
- [86] BRUŠTÍK, David, 2020. *Aplikace voltametrie pro simultánní stanovení vybraných mikroelementů*. Brno. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124487> Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Veronika Řezáčová.
- [87] VOKURKA, Martin. Patofyziologie pro nelékařské směry. 3., upr. vyd. Praha: Karolinum, 2012. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 978-80-246-2032-9. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:dfe8fbd0-a125-11e8-99aa-005056827e51>
- [88] Fang, F., Wang, Y., Zhu, Z. *et al.* Distribution characteristics and influencing factors of heavy metals in scalp hair of Huainan urban residents. *Environ Monit Assess* **191**, 443 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7592-z>

### 13. SEZNAM ZKRATEK

ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
AAS	atomová absorpční spektrometrie
CVAAS	atomová absorpční spektrometrie s generováním studených par
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
DPASV	diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie
FAAS	plamenová atomová absorpční spektrometrie
IAEA	Mezinárodní agentura pro atomovou energii
GCE	elektroda ze skelného uhlíku
DME	rtuťová kapková elektroda
SDME	statická rtuťová kapková elektroda
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda
FME	rtuťová filmová elektroda
NPV	normální pulzní voltametrie
DPV	diferenční pulzní voltametrie
DPP	diferenční pulzní polarografie
MME	multimodální elektroda
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti

## 14. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Anatomie vlasu [15] .....	12
Obr. 2: Schéma dvouelektrodového a tříelektrodového zapojení při voltametrických měřeních; elektrody jsou k měřicímu obvodu připojeny svorkami X a Y; značení elektrod: W – pracovní, A – pomocná, R – referenční [71] .....	27
Obr. 3: Schéma průběhu NPV popisující závislost vkládaného napětí formou pulzů s rostoucí amplitudou na čase .....	28
Obr. 4: Schéma průběhu DPV [81] .....	29
Obr. 5: Graf závislosti výšky píku $Pb^{2+}$ iontů na velikosti rtuťové kapky, měřeno v roztoku směsného standardu .....	35
Obr. 6: Graf závislosti výšky píku $Zn^{2+}$ iontů na době probublávání dusíkem, měřeno v roztoku směsného standardu .....	36
Obr. 7: Graf závislosti výšky píku $Cu^{2+}$ iontů na době probublávání dusíkem, měřeno v roztoku směsného standardu .....	36
Obr. 8: Graf závislosti výšky píku $Cd^{2+}$ iontů na depozičním čase, měřeno v roztoku směsného standardu .....	37
Obr. 9: Graf závislosti výšky píku $Pb^{2+}$ iontů na depozičním čase, měřeno v roztoku směsného standardu .....	38
Obr. 10: Srovnání množství prvků ve slepých vzorcích $HNO_3$ a $H_2O_2$ o různých poměrech ..	39
Obr. 11: Datový výstup pro kalibrační křivku Zn .....	40
Obr. 12: Kalibrační křivka $Zn^{2+}$ s pracovním rozsahem $0-1000 \mu g \cdot dm^{-3}$ .....	41

## 15. SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Koncentrace rizikových prvků ve vlasech mužů a žen .....	17
Tab. 2: Koncentrace rizikových prvků ve vlasech u kuřáků a nekuřáků .....	18
Tab. 3: Parametry použitých standardů .....	30
Tab. 4: Výsledné nastavení parametrů metody .....	34
Tab. 5: Vliv preanalytického odstranění exogenní kontaminace vzorků na obsah sledovaných prvků .....	40
Tab. 6: Koncentrace prvků ve vzorcích vlasů .....	42
Tab. 7: Průměrné koncentrace Cu a Zn v současných studiích .....	43