

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Toxické kovy v potravinách

Bakalářská práce

Radka Jand'ourková

Výživa a potraviny

Ing. Matyáš Orsák, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Toxické kovy v potravinách" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D. za cenné rady, odbornou pomoc, ochotu a věnovaný čas.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu, která mi při vzniku této práce velmi pomohla.

Toxické kovy v potravinách

Souhrn

Kovy jsou jedněmi z přirozeně se vyskytujících prvků v potravinách. Jejich zvýšené množství může být způsobeno kontaminací, která obvykle pochází z půdy, ale kovy se mohou do potravin dostat také z obalových materiálů. Některé kovy mohou být toxické a po dosažení určitého množství v těle mají negativní účinky na lidské zdraví.

Kontaminace potravin kovy z obalových materiálů je způsobena především uvolňováním kovů z plechovek, hliníkových fólií a z plastů (polymerů). Vstup kovů z obalových materiálů je způsoben například porušením obalu (u plechovky), uvolněním nano částic z polymeru, působením tepla a kyselého pH na polymer.

Toxické účinky kovů mohou mít různý dopad na lidský organismus. Nejméně závažnými účinky jsou nevolnost, zvracení a průjem po zvýšené koncentraci kovů v těle. Nejčastějším negativním vlivem kovů na organismus je vznik kyslíkových radikálů a indukce oxidativního stresu. Ovšem v některých případech mohou být následky vážné, dokonce i smrtelné.

Klíčová slova: kontaminace, kovy, migrace, obalové materiály, rizikové prvky

Toxic metals in food

Summary

Metals are one of the naturally occurring elements in foods. Their increased amount can be caused by contamination, which usually comes from the soil, but metals can also get into the food from packaging materials. Some metals may be toxic and have a negative effects on human health after reaching a certain amount in the body.

Food contamination by metals from packaging materials is caused mainly by a metal released from cans, aluminum foils and plastics (polymers). The contamination by metals from the packaging materials is caused, for example, by a can packaging failure, release of the nano particles from the polymer or by the exposure to heat and the acidic pH on the polymer.

The toxic effects of metals can have different impact on the human body. The least severe effects are nausea, vomiting and diarrhea after increased concentration of metal in the body. The most frequent negative effects of metals on the organism are the formation of oxygen radicals and the induction of oxidative stress. However, in some cases, the consequences may be serious, even fatal.

Keywords: contamination, metals, migration, packaging materials, risk elements

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce	2
3 Kovy.....	3
3.1 Toxické a těžké kovy	3
3.1.1 Průnik kovů do organismu.....	4
3.1.2 Působení toxických kovů.....	5
4 Obalové materiály používané v potravinářství	6
4.1 Atmosféra v balení	7
4.2 Toxické látky v obalech potravin.....	8
4.2.1 Cín.....	8
4.2.2 Hliník	9
4.2.3 Měď.....	10
4.2.4 Železo.....	11
4.2.5 Antimon	11
4.2.6 Titan	12
4.2.7 Stříbro	13
5 Zdravotní rizika spojená s toxickými kovy.....	14
5.1 Železo.....	14
5.2 Měď	15
5.3 Cín.....	16
5.4 Nanočástice stříbra.....	17
5.5 Hliník.....	20
5.6 Antimon.....	21
5.7 Titan	22
6 Alternativní obalové materiály	23
6.1 Sklo	23
6.2 Papír	24
6.3 Hydrogel.....	24
6.4 Přírodní materiály.....	25
7 Možnosti stanovení toxických prvků.....	25
7.1 HPLC-ICP-MS	26
7.2 ESI-MS-MS.....	27
7.3 FAAS	27
7.4 HG-AFS.....	28

8 Závěr.....	29
9 Literatura.....	31
10 Seznam použitých zkratek a symbolů	34

1 Úvod

Kovy jsou prvky s vysokou elektrickou vodivostí, které dobrovolně ztrácejí elektrony, a tak vznikají ionty. Kovy se přirozeně vyskytují v zemské kůře i v potravinách. Některé kovy patří mezi makroelementy, a jsou tedy pro lidský organismus nepostradatelné, jiné patří mezi mikroelementy, a i větší množství může být škodlivé. Kovy mohou do organismu vstupovat přes dýchací ústrojí, trávicí ústrojí nebo kůži. Některé kovy mohou po kratší či delší době způsobovat toxický účinek, například volné ionty kovů mohou poškozovat některé biochemické i fyziologické procesy a narušovat cílová místa.

V potravinářství se používá k balení potravin mnoho materiálů. Kovy jsou v potravinových obalech přítomny například ve formě slitin, ochranného povrchu plechu, jako pigment v plastu nebo je součástí polymerů. Určité druhy kovů se mohou z obalů uvolňovat, a tak může dojít ke kontaminaci potravin, což je nežádoucí. Tyto uvolněné kovy mohou způsobovat různé reakce organismu, jako jsou například bolesti břicha, nevolnost, zvracení, průjem, oxidativní stres, a v krajních případech zvýšená koncentrace kovu v organismu může vést až ke smrti.

Vstup kovů z potravinových obalů bývá obvykle způsoben porušením obalu, například u plechovky, kde pak dochází ke korozi. Uvolňování kovu z obalu může být také způsobeno působením vyšší teploty (například u PET lahve). Velký vliv na migraci kovů z potravinového obalu má vlastnost samotné potraviny, a to především kyselost potravin, která podporuje uvolňování kovu z obalu.

Hlavní cíl mé práce je zjistit kontaminaci potravin z obalových materiálů a jejich dopad na lidské zdraví.

2 Cíl práce

Cílem mé práce je vyhledat a sestavit literární přehled dostupných informací z relevantních zdrojů, které se týkají toxických kovů v potravinách, jejich působení a možnosti vstupu do potravin, a tím i do organismu. V práci se zaměřit na toxické kovy s výjimkou Hg, As, Cd a Pb. Dále se věnovat možné kontaminaci potravin z obalových materiálů a jejich dopadu na lidské zdraví.

3 Kovy

Kovy jsou látky s vysokou elektrickou vodivostí, tvárné a lesklé. Dobrovolně ztrácejí své elektrony za vzniku kationtů. Kovy se přirozeně nacházejí v zemské kůře a jejich složení se liší mezi různými lokalitami, což je důsledkem prostorových změn okolních koncentrací (Jaishankar et al. 2014).

Kafka a Punčochářová (2002) uvádějí, že mezi kovy patří 80 prvků z periodické soustavy prvků a z nich je 30 považováno za toxické. V přírodě je můžeme najít ryzí nebo ve formě solí. Sloučeniny kovů se vyskytují ve všech skupenstvích, najdeme mezi nimi tuhé látky, kapaliny i plyny a mohou tvořit aerosoly. Na rozdíl od organických látek u kovů se nesnižuje jejich obsah, ale naopak časem v ekosystému narůstá. Mobilita kovů souvisí s rozpustností jejich sloučenin ve vodě, čím je sloučenina rozpustnější, tím je její mobilita vyšší. Sloučeniny kovů jsou rozpustné také v kyselinách, a to především v kyselině sírové a dusičné. Při nadměrné kyselosti vodních srážek se tak jejich sloučeniny mohou vymývat z půdy a případně se dostat do rostlin, stromů a zdrojů pitné vody (Kafka & Punčochářová 2002; Babička et al. 2017).

3.1 Toxické a těžké kovy

Rozdílem mezi těžkými a toxickými kovy je, že těžké kovy jsou kovy, které mají hustotu větší než 5 g/cm^3 . Toxické kovy mají nepříznivé účinky na životní prostředí a živé organismy a také mají tendenci akumulovat se v potravním řetězci (Jaishankar et al. 2014). Není ale pravdou, že všechny těžké kovy jsou toxické, některé jsou nezbytné pro normální lidské fyziologické funkce, jako například molybden (Mamtani et al. 2011).

Jako typický těžký kov je označován arsen, beryllium, bór, selen a další kovy a také metaloidy, jako je tellur, antimon a arzen. Nejčastěji se vyskytují v odpadních vodách (arsen, kadmium, chrom, měď, olovo, nikl a zinek) a všechny tyto kovy jsou rizikové pro lidské zdraví a pro životní prostředí (Kafka & Punčochářová 2002).

Toxické kovy mají při dosažení určité koncentrace škodlivé účinky na člověka a ostatní živé složky ekosystému. Tyto kovy jsou klíčové pro zachování různých biochemických a fyziologických funkcí v živých organismech, pokud se vyskytují v organismu v malých koncentracích. Naopak, pokud překročí určité prahové koncentrace, jsou škodlivé (Jaishankar et al. 2014). Nejnebezpečnějšími kovy, se kterými se můžeme setkat, které již při nízkých

koncentrací způsobují závažné toxické příznaky a nemají žádné známé prospěšné funkce, jsou beryllium, olovo, kadmium a rtuť (Guardia & Garrigues 2015).

Toxický účinek plyne ze vzájemného působení mezi toxickou látkou a živým organismem. Toto působení v krátkodobém nebo v dlouhodobém časovém období organismus ničí nebo pozměňuje. Toxický účinek můžeme rozdělit podle délky působení. Akutní účinek je bezprostřední reakce organismu po jedné dávce toxické látky a může končit i smrtí. Chronický účinek vzniká při reakci organismu po dlouhodobém působení toxické látky, mohou to být měsíce až roky (Babička et al. 2017).

Mezi různé zdroje kontaminace výše zmíněnými kovy patří eroze půdy, přirozené zvětrávání zemské kůry, těžba, průmyslové odtoky, městské odtoky, vypouštění odpadních vod, prostředky proti hmyzu a jiným chorobám aplikované na plodiny a mnoho dalších (Jaishankar et al. 2014). Kovy, jako olovo, arsen, selen, měď, zinek, kadmium, rtuť, chrom a nikl, se do životního prostředí dostávají z podobných antropogenních činností. Může se tak stát prostřednictvím některých výrobních procesů, kde je riziko intoxikace těmito kovy. Příkladem takového zpracování je mletí nebo drcení rud, při kterém vzniká prach. Také při tavení nebo pražení kovů vznikají páry a dýmy, které ohrožují dýchací ústrojí a mohou vyvolat horečku z kovů. Dalším zdrojem kontaminace těmito kovy může být zemědělská výroba, kde se používají průmyslová hnojiva, zejména fosfátová, díky nimž se do půdy dostává především kadmium nebo olovo, a dále pesticidy (herbicidy, insekticidy a fungicidy), které jsou nezbytné pro zamezení poklesu zemědělské produkce, ale obsahují velké množství olova, arsenu, mědi, kadmia a rtuti. Kontaminace ostatními kovy pochází z jiných zdrojů, například chrom je uvolňován z přípravků pro konzervaci a ochranu dřeva nebo z činidel pro zpracování kůže. Rtuť se využívá v elektrotechnických procesech nebo v lékařství. Pro kadmium a nikl je častým zdrojem tabákový kouř (Kafka & Punčochářová 2002).

3.1.1 Průnik kovů do organismu

Hlavními průniky kovů do organismu je dýchací ústrojí, trávicí ústrojí a kůže, u teratogenních a embryotoxických látek i placenta. Vstřebávané ionty se postupně dostávají do krve a tou jsou transportovány do různých míst po celém těle. Někdy je kov obsažen v červených krvinkách, ale nejčastěji ve specifických bílkovinách krevní plazmy (například v α -2-makroglobulinu nebo v β -2-mikroglobulinu). Množství toxického kovu se měří v krvi, moči a ve vlasech, u vlasů je možné sledování po segmentech, a je tedy vidět, jak tělo toxikant vstřebává v různých časových úsecích. Stravovací návyky mohou pomoci s odstraňová-

ním kovu z těla, ale také ho mohou zhoršit. Například vitamin C snižuje absorpci kadmia a olova, jelikož zvyšuje absorpci železa, které je jejich antagonistou. Naopak mléko absorpci některých kovů zvyšuje. Chelatační činidlo může toxický účinek snížit nebo mu zamezit, a to vazbou kovu do iontového komplexu (Kafka & Punčochářová 2002; Babička et al. 2017).

3.1.2 Působení toxických kovů

Toxický účinek kovů vychází z interakce mezi toxickým kovem a živým organismem, který v krátkodobém nebo dlouhodobém časovém období organismus pozměňuje nebo ničí (Babička et al. 2017). Toxické účinky kovů jsou různorodé. Mohou způsobovat zažívací problémy, dermatitidy různého typu, negativní změny v krevním obrazu, poškození orgánů (jako jsou ledviny, játra a mozek), rakovinné procesy a mnoho dalších. Ionty kovů způsobují porušení především uvnitř buněk, přesněji negativně ovlivňují specifické biochemické procesy a cílová místa (především orgány a buněčné membrány). Reakce mezi volným iontem kovu a cílovým místem způsobuje toxický efekt kovu (Kafka & Punčochářová 2002; Babička et al. 2017).

Organokovové sloučeniny jsou nejtoxičtějšími látkami, jelikož jsou lipofilní, a proto snadno vnikají přes buněčné membrány nezměněné. Jejich přeměna dealkylací na anorganické soli probíhá velmi pomalu (Kafka & Punčochářová 2002).

S působením kovů souvisí také jejich akumulace v živém organismu. Toxické kovy se v závislosti na svých vlastnostech kumulují v určitých částech těla, zejména v důležitých orgánech, jako jsou játra, kosti a mozek. Tato akumulace se může projevit jako výsledek vazby toxických kovů specificky v určité oblasti nebo se z místa podání resorbuje, transportuje a distribuje v krvi a orgánech. Pro toxický efekt musí toxický kov dosáhnout určitého místa, kde je kumulován. Následnými metabolickými přeměnami a přechodem přes stěny membrán dochází k interakci toxického kovu s receptorem. Míra interakce závisí na množství koncentrace kovu, reakčních schopnostech objektu a jeho protiregulačních mechanismech. Interakce enzymů nacházejících se v organismu následně vyvolá celou řadu biochemických pochodů. (Babička et al. 2017).

Absorbované toxické kovy nebo jejich metabolity se vyměšují z lidského organismu různými cestami, které záleží na jejich fyzikálních vlastnostech. Nejdůležitějším orgánem pro vyměšování jsou: ledviny, kterými jsou vylučovány tekuté toxické látky; plíce, kterými jsou vylučovány plynné látky; játra, kdy žlučičky jsou vylučovány lipofilní látky; sekreční žlázy,

které vylučují pot, (mateřské) mléko; další mechanismy, kterými dochází k vylučování do vlasů a nehtů (Babička et al. 2017).

4 Obalové materiály používané v potravinářství

V potravinářství se používá mnoho variant obalových materiálů. Využívají se kovy, sklo, papír, polymery (jako polyethylen (PE), polypropylen (PP), polystyren (PS), polyethylentereftalát (PET), saran, kopolymery ethylenu a vinylalkoholu a celofán). Některá obalová média se skládají z kombinace dvou nebo více výše jmenovaných materiálů (Berk 2009).

Výhodou kovových obalů je to, že jsou nepropustné pro hmotu a světlo, mechanicky pevné, mají dobrou tepelnou vodivost a jsou odolné vůči relativně vysoké teplotě (Berk 2009).

Skleněné obaly jsou průhledné, inertní, nepropustné, tuhé a tepelně odolné. Dají se využít opakovaně a nebo je lze recyklovat. Jejich nevýhodou je, že jsou křehké a mohou být těžké (Berk 2009).

Papír je jedním z prvních obalových materiálů. Používá se v několika formách. Hlavní výhodou papírových obalů jsou nízké náklady, široká dostupnost, nízká hmotnost, možnost potištění a mechanická pevnost. Papír je důležitou složkou laminovaných obalových materiálů (Berk 2009).

Polymery jsou nejdůležitější třídou obalů. Jsou docela různorodé a univerzální. Mohou být pružné nebo tuhé, průhledné nebo neprůhledné, termosetové nebo termoplastické, krystalické nebo prakticky amorfni. Mohou být vyráběny jako vrstvy nebo jako nádoby mnoha tvarů a velikostí. Obvykle jsou mnohem levnější než kov nebo sklo. Jsou významně vhodné pro použití při pokročilých obalových technologiích, jako je například modifikovaná atmosféra, aktivní a inteligentní balení. Na rozdíl od kovů nebo skla jsou polymery propustné pro malé molekuly v menším nebo větším rozsahu (Berk 2009).

Tabulka 1 Materiály a předměty z plastů nesmí uvolňovat tyto látky v množství přesahujících dané migrační limity (Nařízení komise EU č.10/2011)

Kov	Migrační limity mg/kg potravin/ simulantu potravin
Barium	1
Kobalt	0,05
Měď	5
Železo	48
Lithium	0,6
Mangan	0,6
Zinek	25

4.1 Atmosféra v balení

Vakuové balení je starou a rozšířenou metodou, která je používána na různé druhy potravin. Jeho hlavním účelem je zabránit oxidačním reakcím, jako je například oxidace lipidů, ztráta některých vitaminů, oxidační hnědnutí, ztráta pigmentů a další. Také zabraňuje poškození aerobními mikroorganismy, a to zejména plísněmi. Vytvoření vakua v obalu před uzavřením je možné provést pro plechovky, sklenice, misky (Berk 2009).

Jednou z možností vakuového balení je technika řízené atmosféry balení (CAP). Ta je tvořena směsí plynů, jejichž složení je přesně stanoveno. Tento obalový materiál je pro plyny nepropustný. Pravou řízenou atmosféru je možné použít, pokud jsou produkty bez dýchací a mikrobiální aktivity, poté je inertní vůči plynům v prostředí uvnitř balení a nedochází zde k výměně plynů přes obalový materiál (Berk 2009).

Druhou možností vytvoření vakua v balení je tzv. modifikovaná obalová atmosféra (MAP). Ta je typická tím, že atmosféra v potravinovém balení je průběžně měněna podle požadovaného profilu. Produkt je nejdříve zabalen ve směsi plynů, jejichž složení závisí na výrobku, obalovém materiálu a předpokládané době skladovatelnosti. Poté je modifikace atmosféry v obalu výsledkem dýchání zabalených potravin, selektivní propustnosti obalového materiálu a přítomnosti atmosférických modifikátorů. Modifikovaná atmosféra se aplikuje na potraviny, které rychle podléhají zkáze, a na výrobky náchylné k chemickým změnám,

jako je například káva. Jako obalové materiály se používají pružné vrstvy. Pro zajištění počáteční atmosféry jsou využívány plyny, jako je například oxid uhličitý, dusík a kyslík. Mezi produkty uváděné na trh s modifikovanou atmosférou patří pečivo, maso, ryby, čerstvé ovoce a zelenina. Výhody MAP jsou ve většině případů připisovány tvorbě a udržení atmosféry chudé na kyslík. To však představuje potenciální nebezpečí, jelikož může dojít k vývoji anaerobních patogenů. V takových případech by měla být určitá koncentrace kyslíku úmyslně ponechána v obalu, anebo je propustnost vrstvy ke kyslíku výsledkem kompromisu mezi poklesem oxidačních reakcí a zabránění extrémní anaerobióze (Berk 2009).

Další možnost vytvoření určité atmosféry v obalu je tzv. aktivní obal, kde jsou aktivní složky obsaženy v balení nebo začleněny v obalových materiálech. Některé z těchto zásad jsou atmosférické modifikátory, jako absorbéry kyslíku, absorbéry nebo generátory oxidu uhličitého, absorbéry ethylenu a regulátory vlhkosti. Ty jsou obvykle v obalu zahrnuty jako samostatná fáze. Alternativně může být jako aktivní látka použito konzervační činidlo, antioxidant a jiné. Tyto látky jsou součástí vrstvy obalu a pomalu se uvolňují do atmosféry produktu během skladování (Berk 2009).

4.2 Toxické látky v obalech potravin

4.2.1 Cín

Cínový plátek, první používaný materiál k výrobě kovových konzerv a plechovek, se skládá z tenkého plechu oceli potaženého cínem. V některých případech není cín dostatečný k ochraně před vnitřní nebo vnější korozi (Berk 2009).

Pocínovaný plech obsahuje tři vrstvy, a to ocelovou základnu, vrstvu potahovanou cínem a mezi oběma vrstvami nalezneme také slitinu železa a cínu. Povlak cínu ovšem není dokonalý, a tak škrábance a póry odhalují malé plochy ze slitiny nebo oceli. Většinou obsah nádob má téměř vždy nějaký elektrický náboj, a tak celý systém tvoří galvanický článek. V přítomnosti odvdzdušněné kyselé kapaliny železo působí jako anoda a rozpouští se. Nicméně polarita plechovky je brzy obrácena a cín se stane anodou vzhledem k oceli. V tomto případě se rozpouští cín a chrání železo. Na plechu probíhá odcínování. V obou fázích rozpouštění kovů se vytváří vodík, což vede k polarizaci článku, a zabraňuje tak dalšímu rozpouštění. Pokud je přítomen kyslík nebo jiné depolarizační činidlo, tak se článek brzy depolarizuje a rozpouštění pokračuje. Více cínu se rozpouští, více oceli se odkrývá a rozvíjí se více vodíku. Nadměrný vývoj vodíkového plynu může způsobit nabobtnání plechovky. Odcínování ple-

chovky je nežádoucí, protože způsobuje špatnou chuť potravin a vnitřní povrch plechovky může zežednout a být neatraktivní (Berk 2009).

Tento typ koroze je závažný v případě potravin s vysokou kyselostí (grapefruit, citrón, ananas, rajčatové šťávy a koncentráty), cínového plechu s nedostatečným nebo porézním cínovým nátěrem, potravin obsahujících depolarizační činidlo, jako jsou například antokyanové pigmenty (červené plody), a plechovek, které nebyly dostatečně odvzdušněny nebo s nadměrným prostorem (Berk 2009).

Mírné odcínování je často žádoucí kvůli redukujícímu efektu vodíku na potraviny. Reakce hnědnutí, zahrnující oxidaci askorbové kyseliny (například v citrusových produktech), jsou méně závažné u produktů balených v cínových plechovkách oproti balení ve sklu nebo smaltovaném povrchu plechu. K dalšímu typu náhodné, ale závažné koroze dochází v důsledku napadení oceli oxidem siřičitým. Oxid siřičitý může být obsažen například v cukru. V plechovce se redukuje na sulfan, který reaguje se železem a vzniká černý sulfid železnatý. Vnitřní koroze plechu může být efektivně minimalizována nátěrem plechu smaltem (Berk 2009).

V některých zemích Evropské unie je povolený limit 200 mg cínu na 1 kg (Berk 2009).

4.2.2 Hliník

Hliník se v potravinách vyskytuje přirozeně. Může se ale do nich dostávat i z potravinových aditiv nebo z výluhů materiálů, které přišly s potravinami do kontaktu (například hliníkové fólie, misky, konzervy, hliníkové nádoby, kuchyňské potřeby a potravinové obaly). Hliníkové slitiny mohou obsahovat také další prvky jako je křemík, železo, měď, mangan, hořčík, chrom, nikl, zinek, titan a zirkonium (Sander et al. 2018).

Hlavními faktory, které podporují uvolňování hliníku, jsou teplota, doba kontaktu s potravinami, pH a koncentrace soli. Sander et al. (2018) provedli studii, kde zjišťovali mechanismus uvolňování hliníku pomocí simulantu potravin kyseliny citrónové. Zkoumali hliníkovou misku, grilovací talíř a fólii. Dále zjišťovali uvolňování ve složitějších časových a teplotních podmínkách. V této studii kombinovali horké plnění, dobu chlazení, skladování při nízkých teplotách a opětovné zahřátí na teplotu 72°C. Jako srovnávací potraviny použili šťávu z kysaného zelí, jablečnou omáčku a rajčatové pyré.

Výsledkem výše zmíněné studie je to, že uvolňování hliníku je determinováno dvěma různými procesy. Lineární nárůst rozpuštění prostého kovu byl dosažen po pomalém počátečním rozpuštění oxidované vrstvy. Dále bylo zjištěno, že se uvolňuje i thalium, jehož krystaly se tvořily při zahřátí, a je možné, že bylo obsaženo v hliníku jako nečistota. Po dvouhodinovém skladování všechny potraviny dosáhly limitu pro uvolňování, nebo ho dokonce až šestkrát překročily. Autoři zjistili, že výluh hliníku způsobený kyselými podmínkami a vysokými teplotami je pro hliníkovou fólii až 16mg hliníku/kg. Při použití kyseliny citrónové jako simulantu potravin překročilo uvolnění až šestinásobek množství.

Sander et al. (2018) v této studii zjistili, že procesy uvolňování hliníku do simulantu kyseliny citrónové mohou být přičítány počátečnímu rozpuštění oxidové vrstvy a následně rychlejšímu rozpuštění čistého kovu. Thallium pochází z povrchu hliníkových předmětů a to může způsobovat nečistotu v hliníku, která se přenáší na povrch během mechanického zpracování hliníkové fólie nebo kontaminací rolovacím olejem. Skladování nelepených hliníkových misek při vyšší teplotě způsobuje uvolnění vysokého množství hliníku v potravinách a potravinových stimulátorech (Sander et al. 2018). Ertl a Goessler (2018) objevili, že při kontaktu hliníkové fólie a jiného kovu s vyšším elektrickým potenciálem (ocel nebo stříbro) může docházet k obrovské koncentraci potravinového hliníku (do 66mg/kg) (Ertl & Goessler 2018).

4.2.3 Měď

V obalovém průmyslu potravin je nejrozšířenějším materiálem polyethylen s nízkou hustotou (LDPE). To je způsobeno především díky přijatelné flexibilitě, průhlednosti, snadné zpracovatelnosti, tepelné stabilitě, recyklovatelnosti, levnými náklady, a navíc je dostupný ve velkém množství za nízkou cenu. Avšak LDPE není dost multifunkční, aby mohl poskytnout vynikající mechanické, bariérové a antimikrobiální vlastnosti. Proto se k němu začaly přidávat nanomateriály (nano měď). Nano měď může být zabudována do polymerní matrice, aby tvořila aktivní obalový materiál potravin díky svým širokospektrým antimikrobiálním vlastnostem (Liu et al. 2016).

Liu et al. (2016) prováděli migrační testy podle nařízení Evropské unie pro plasty a předměty určené pro kontakt s potravinami. Jako potravinové simulanty použili kyselinu octovou (3%) a ethanol (10%). Jako vzorky potravin použili rýžový ocet, čínský likér a balenou vodu (Liu et al. 2016).

Migrace mědi z nanokompozitních fólií je ovlivněna počáteční koncentrací nanokomponentu ve fólii, teplotou a časem a stejně tak záleží na kontaktním médiu. Vyšší koncentrace

nanokomponentů v nanokompozitní fólii, vyšší teplota a kyselá vlastnost kontaktního média podporuje uvolňování mědi z fólie. Přidání aditiva KH550 bylo příznivé pro rozptýlení mědi v LDPE matrici, a tak se mezi nanočásticemi mědi a LDPE nevytvořily chemické vazby, což poté podporovalo migraci mědi. Povrch fólie se ztenčil po přidání nanomědi a hrubší povrch umožnil vznik větší plochy pro kontakt s potravinami, což může vést k větší tendenci migrace (Liu et al. 2016).

4.2.4 Železo

Jak je zmíněno výše, pocínované plechovky se používají na skladování nealkoholických nápojů. Pokud dojde k částečnému odcínování, tak lokalizovaná anoda může rozvíjet odhalování ocelové vrstvy, a to vede k rozpuštění železa. Důlek vzniká vzácně a umožňuje, že se železo stává anodou vzhledem k cínu. Koroze je ovlivněna hned několika faktory. Patří mezi ně vnitřní obal plechovky (cínový nátěr povrchu, hmota a pasivace zpracování) a dále závisí na obsahu (typ nápoje, pH a přítomnost urychlovačů koroze). Uvolnění železa záleží také na přítomnosti kyslíku v horní části plechovky, oxidačních činidel (jako jsou nitráty a siřičitany), době skladování a teplotě. K měření obsahu železa ve vzorcích může být použita metoda plamenová atomová absorpční spektrometrie (FAAS) s vzduchoacetylonovým plamenem, což bylo aplikováno například ve studii autorů Veríssimo et al. (2016).

Zvýšený obsah železa ve zkoumaných vzorcích byl nalezen u plechovek, které byly mírně poškozené, a to jak při skladování při pokojové teplotě, tak i při 4°C. U vizuálních prohlídek těchto plechovek byly vevnitř spatřeny známky koroze charakteristické nažloutlými místy. Nízká teplota sice korozi zpomaluje, ale nezabrání jí. Studie ukázala, že skladování plechovky před poškozením je nepodstatné, k významné korozi došlo až po poškození plechovky (Veríssimo et al. 2016).

4.2.5 Antimon

Polyethylentereftalát (PET) je termoplastický materiál, který je vyroben pro nejrůznější aplikace balení potravin a nápojů včetně balení lahví s pitnou vodou. První průmyslový krok při syntéze PET je prepolymerační reakce, při které se vytváří nízkohmotnostní oligomery a bis-hydroxyethyl-tereftalát (BHET) jako meziprodukt. Při druhé polykondenzační reakci se používají různé katalyzátory. Jako katalyzátor se hojně aplikuje oxid antimonitý (Sb_2O_3), protože je účinný, minimálně vytváří vedlejší účinky a neobarvuje daný polymer. Také se antimon přidává jako glykolát. Na konci výrobního procesu zůstává antimon v poly-

merním řetězci vázán jako komplex glykolátu antimonu, ale je možné, že nějaké množství Sb_2O_3 zůstalo nezměněno. Antimon se nachází jak v organických, tak anorganických sloučeninách ve dvou oxidačních stavech ($\text{Sb}^{\text{III}+}$ a $\text{Sb}^{\text{V}+}$) (Carneado et al. 2015).

Ve studii Carneado et al. (2015) byla pro celkovou analýzu použita technika HG-AFS (atomová fluorescenční spektrometrie generující hydridy) a pro speciaci HPLC-ICP-MS (vysokoúčinná kapalinová chromatografie s indukčně vázanou plazmovou hmotnostní spektrometrií). Tmavě modré vzorky začaly přesahovat limit ($5\mu\text{g/l}$) po 15 dnech, po 30 dnech překročily limit všechny vzorky. Uvolňování antimonu je teda závislé na tom, zda je PET lahev barvena, či nikoliv, ale nezávisí na intenzitě barvy. Studie Carneada et al. (2015) také ukázala, že teplota skladování 40° a 60°C v průběhu času urychluje migraci antimonu z PET do pitné vody. Autoři měřili absorpci antimonu do pitné vody pomocí rentgenu po 45 dnech při 40°C a zjistili, že uvolňování antimonu je způsobeno především degradací PET. Migrační chování je také závislé na typu vody, záleží na tom, zda je voda sycená oxidem uhličitým, nebo ne. Koncentrace byla 2x vyšší u vody sycené oxidem uhličitým než u vody nesycené. Ozařování vzorků slunečním zářením (přírozeným nebo simulovaným) také způsobilo malé, ale významné zvýšení vyluhování antimonu. $\text{Sb}^{\text{V}+}$ byl dominantní druh u měřených extraktů. Vzorky ale také obsahovaly nejvíce toxický typ $\text{Sb}^{\text{III}+}$ při teplotě 40° a 60°C , což ukazuje na oxidaci $\text{Sb}^{\text{III}+}$ na $\text{Sb}^{\text{V}+}$ (Carneado et al. 2015).

4.2.6 Titan

Nanokompozitní obaly pro potraviny se vyrábějí včleněním nanočástic (z anglického "nanoparticles", NP) z kovu, oxidu kovu, polokovu nebo jílu do polymerních vrstev. Mezi polymery používané pro zhotovení nanokompozitů patří především: polyamidy, polyethylen, polypropylen, polystyren, polyuretan, PET a epoxidová pryskyřice. Jako nanokompozity jsou využívány tyto kovy a oxidy kovů: stříbro, zlato, oxid zinečnatý, oxid titaničitý (TiO_2), oxid hořečnatý, oxid vápenatý, oxid hlinitý, oxid železnatoželezitý a oxid železitý; polokovy a jíly obsahující: oxid křemičitý, uhlík, kaolín a montmorillonit. Nano TiO_2 se často uplatňuje jako pigment, adsorbent nebo katalyzátor, protože je vysoce fotosenzitivní, má nízkou toxicitu, je snadno dostupný a silný oxidant, také je stabilní (Lin et al. 2014).

Jako potravinové simulanty Lin et al. (2014) použili 3% roztok kyseliny octové a 50% ethanol. Výsledky testů ukázaly, že se zvyšujícím časem se zvětšuje množství uvolněného titanu a rovnováhy bylo dosaženo po 6 hodinách. Se zvyšující se teplotou rostlo množství titanu, který se uvolnil. Množství titanu, které migrovalo do roztoku kyseliny octové, bylo

větší než do ethanolu, toto chování odpovídá zkouškám, kde bylo snadnější rozpustit Ti nebo TiO_2 v kyselém roztoku než v organickém roztoku. Kyselina také může proniknout do PET a uvnitř rozpustit titan, který může migrovat ve formě iontů. Se vzrůstajícím množstvím aditiv ve vrstvě se více podněcuje migrace nanočástic. K migraci nanočástic může dojít přes rozpuštěný povrch a řezané hrany z pevné fáze (fólie) do tekuté fáze (potravinový simulant). Velikost nanočástic není důležitá, ale koncentrace nanočástic ve fólii ano (Lin et al. 2014).

4.2.7 Stříbro

Jak jsem už zmínila v předešlé kapitole o titanu, do nanokompozitů se také přidává nanostříbro kvůli širokému spektru antimikrobiálních vlastností a jeho nízké toxicitě vůči eukaryotickým buňkám. Do polymerů se zabudovávají antimikrobiální činidla na bázi stříbra, jako je stříbrný prášek, stříbrný zeolit a nanočástice stříbra. Studium migrace stříbrných iontů je důležité kvůli možné cytotoxicitě nanočástic. Stříbrné ionty jsou generovány pouze na povrchu nanočástic stříbra. Stříbrné ionty jsou více toxické k bakteriím než k tělním buňkám. Jako simulanty Jokar a Abdul Rahman (2014) použili vodu, 3% roztok kyseliny octové, 10% ethanol a jablečnou šťávu. Koncentraci stříbrných iontů měřili atomovým absorpčním spektrometrem. Uvolňování stříbrných iontů stanovovali až do 30 dnů při 4° a 40°C. Jejich výsledky ukazují, že výroba nanokompozitu nemá vliv na velikost nanočástic stříbra v nanokompozitní fólii (Jokar & Abdul Rahman 2014).

Na druhé straně výsledky studie Jokara a Abdula Rahmana (2014) ukázaly, že stříbrné ionty, které migrovaly do potravinových simulantů a jablečné šťávy, se uvolnily v menším množství, než je úroveň hladiny cytotoxicity (10mg/kg) stříbrných iontů pro lidské buňky. Další výsledky ukázaly, že migrace stříbrných iontů z polymerů je podpořena kyselými podmínkami, což je způsobené dobře známým rozpuštěním částí stříbra v kyselém médiu. Studie také naznačuje, že difúze vody do komponentu je nezbytnou fází pro migraci stříbrných iontů z částic stříbra. Metoda výroby nanokompozitů také ovlivňuje uvolňování stříbra. Existují dvě metody výroby: vrstva na vrstvě (LBL) a směs taveniny. Vyšší koncentrace stříbra byla zjištěna u LBL Jokarem a Abdulem Rahmanem (2014). Zvolená metoda zpracování nanokompozitů nejvíce ovlivňuje migraci stříbrných iontů. Například tekutá kontaktní média migraci ovlivňují nejméně oproti ostatním proměnným. Mechanismus migrace stříbra z nanokompozitu zahrnuje difúzi vody, to znamená, že voda reaguje s nanočásticemi stříbra, které se následně uvolňují. Také dokázali, že zvyšující se koncentrace stříbra v nanokompozitu, vysoká tep-

lota a zvýšený čas kontaktu vede k většímu uvolňování stříbrných iontů z nanokompozitu (Jokar & Abdul Rahman 2014).

Uvolňování stříbrných iontů z nanočástic stříbra zahrnuje tři kroky: difúzi vody do polymeru, oxidaci nanočástic stříbra k produkci stříbrných iontů a difúzi stříbrných iontů z polymeru do kontaktního média. Studie ukázala, že uvolňování stříbrných iontů ze stříbrných nanokompozitů se děje pouze přes oxidaci elementárních částic stříbra a v přítomnosti vody. A tak kyselé prostředí podporuje oxidaci stříbrných nanočástic. Rozpustnost stříbrných iontů je vyšší v kyselé kapalině než ve vodě a 10% ethanolu (Jokar & Abdul Rahman 2014).

5 Zdravotní rizika spojená s toxickými kovy

Neesenciální prvky, jako je arsen, bariem, nikl, kadmium, antimon, olovo, rtuť a hliník, jsou potravinové kontaminanty s kumulativními vlastnostmi, a proto jsou považovány za potenciálně nebezpečné (toxické) pro spotřebitele. Kontaminace těmito prvky musí být udržována na minimu, v ideálním případě by neměly být tyto prvky přítomny vůbec, zejména pokud je jídlo určeno ke spotřebě zranitelnými skupinami lidí, jako jsou kojenci a malé děti, těhotné ženy nebo starší lidé (Guardia & Garrigues 2015).

5.1 Železo

Železo je nezbytným prvkem pro přepravu kyslíku a generování buněčné energie u lidí a je funkčním kofaktorem ve více než 200 metaloenzymech. Má metabolické a enzymatické funkce, jako je například syntéza hemoglobinu nebo myoglobinu a enzymů obsahující železo, které se podílejí na přenosu elektronů a redoxních reakcích. Kyselina fytoová, polyfenoly s galloylovou skupinou a vápník jsou inhibitory absorpce železa (Guardia & Garrigues 2015).

Nadbytek železa je toxický kvůli možnosti tvorby volných radikálů, proto je homeostáza železa vysoce regulována (Guardia & Garrigues 2015). Systémová homeostáza železa je řízena hepcidinem, což je jaterní peptidový hormon (Daher et al. 2017). Náhodné předávkování železem, zvláště u dětí, může přemoci regulační systém a vést ke smrti (Guardia & Garrigues 2015). Existuje mnoho různých onemocnění hromadného předávkování železa v těle, kde nadměrný příjem, akumulace a uložení mohou vést k přílišnému zatížení těla železem. To způsobuje toxicitu a poškození různých tkání a orgánů. Nejběžnějšími a obecnými metodami pro odhad stavu železa v těle jsou sérové feritiny, sérové železo, saturace transferinu a hladina hemoglobinu. Koncentrace železa v játrech se zjišťuje biopsií, netoxická concen-

trace je maximálně 7 mg Fe na 1 gram sušiny. Nadměrné množství železa může vést ke vzniku volných radikálů, jak jsem již zmínila výše. Železo se účastní elektronového přenosu ve Fentonově reakci, kde reaguje s peroxidem vodíku a vytváří hydroxylové zbytky ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{\text{II}+} \rightarrow \text{OH}^- + \text{OH}\cdot + \text{Fe}^{\text{III}+}$). Tyto extrémně reaktivní produkty Fentonovy reakce poškozují lipidové membrány, proteiny a nukleové kyseliny uvnitř buňky (Daher et al. 2017).

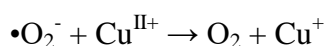
Mezi obvyklé příznaky otravy železem patří bolesti břicha, nevolnost a zvracení. Postupně se začne hromadit v orgánech a ve velmi extrémních případech může způsobit smrtelné poškození mozku a jater. Toxicita železa může vést k řadě stavů ohrožujících život, jako je například cukrovka, onemocnění srdce, k potížím se štítnou žlázou, Alzheimerově chorobě a k rakovině. Fentonova reakce přispívá k celosystémovému zánětu a oxidativnímu stresu, poté si můžeme všimnout bolesti kloubů, únavy, bolesti střev, výpadků paměti nebo nepravidelného srdečního tepu. Předávkování železem může u citlivých lidí vyvolat zvýšenou náchylnost k infekčním onemocněním, jelikož podporuje růst bakterií a virů (Vilímovský 2018).

5.2 Měď

Měď je nezbytným stopovým prvkem, který je obsažen ve všech tkáních. Patří mezi důležité složky četných enzymů včetně oxidázy cytochromu C a superoxidu dismutázy. Enzymy s mědí se podílejí na syntéze několika neuroaktivních aminů a peptidů (katecholaminy a enkefaliny). Pomáhá při vzniku buněk červených krvinek, udržuje nervové buňky a imunitní systém zdravý, pomáhá tvořit kolagen, absorbovat železo a je potřebná k výrobě energie (Guardia & Garrigues 2015). Železo, zinek, molybden, vápník, fosfor a vitamin C zhoršují absorpci mědi (Gaetke 2003).

Chronická toxicita mědi primárně ohrožuje játra, protože je to první místo, kde se měď ukládá potom, co vstoupí do krve. Také se hromadí v kostní dřeni. Poškození se typicky projevuje vývojem jaterní cirhózy s případy hemolýzy, narušení funkce ledvinových tubulů, mozku a ostatních orgánů. Symptomy mohou postupovat až ke kómatu, jaterní nekróze, cévnímu kolapsu a smrti. Otravy mědí mohou mít za následek slabost, letargii a anorexii v počátečním stádiu, také narušení epiteliální výstelky gastrointestinálního traktu, hepatocelulární nekrózu v játrech a akutní tubulární nekrózu v ledvinách. Odhadovaná letální dávka mědi u neléčených dospělých je asi 10 až 20 g. Souhrn zdravotních problémů, které souvisí s chronickou akumulací mědi v játrech, mozku, ledvinách a v oční rohovce, se označuje jako Wilsonova nemoc (Gaetke 2003; Babička et al. 2017).

Bylo navrženo několik mechanismů k vysvětlení buněčné toxicity indukované mědí. Základem teorií je náchylnost volných Cu iontů k účasti na vzniku reaktivních kyslíkových radikálů. Měďnatý a měďný iont se může podílet na oxidačních a redukčních reakcích. V přítomnosti superoxidu nebo redukčního činidla, jako je kyselina askorbová nebo glutathion, může být $\text{Cu}^{\text{II}+}$ redukován na $\text{Cu}^{\text{I}+}$, který je schopný katalyzovat hydroxilový radikál ($\text{OH}\cdot$) z peroxidu vodíku (H_2O_2) přes Haberovu-Weissovu reakci (Gaetke 2003).



Hydroxylový radikál je nejsilnější oxidační radikál, který vzniká v biologickém systému a je schopen reagovat prakticky s každou biologickou molekulou. To může vyvolat oxidační poškození odstraněním vodíku z amino-nesoucího uhlíku za vzniku radikálu s uhlíkatým centrem a z nenasycené mastné kyseliny za vzniku lipidového radikálu. Podobně jako železo je i měď schopná vytvořit reaktivní kyslíkové radikály a způsobit přerušování DNA řetězce a oxidace bází. Přidáním $\text{Cu}^{\text{II}+}$, $\text{Cu}^{\text{I}+}$, $\text{Fe}^{\text{III}+}$ nebo $\text{Fe}^{\text{II}+}$ iontů posiluje DNA rozpad způsobený genotoxickým benzenovým metabolitem benzen-1,2,4-triolem. DNA poškození, vyvolané benzen-1,2,4-triolem, se vyskytuje hlavně podle specifického umístění a mechanismu typu Fentonové reakci zahrnuje synergismus mezi několika reaktivními meziprodukty. Poškození DNA jeho obalem jako nukleosomu je pravděpodobně způsobeno buď zvýšením koncentrace $\text{Cu}^{\text{II}+}$ v blízkosti nukleosomální DNA v důsledku vazby mědi na histonový protein, nebo zvýšenou reaktivitou nebo dostupností nukleobází způsobenou konformační změnou DNA spojenou se strukturou nukleosomů. Cytotoxicita způsobená mědí může být výsledkem mitochondriálních reaktivních kyslíkových radikálů a je nezávislá na cytosolových reaktivních kyslíkových radikálech vzhledem k redoxnímu cyklu. Měď je silný katalyzátor LDL (nízkodenzitní lipoprotein) oxidace a může souviset s oxidační modifikací LDL na aterogenní formu. Studie také naznačují, že zvýšená koncentrace mědi nebo homocysteinu u starších lidí by mohla podpořit oxidační poškození neuronů, a tak způsobit Alzheimerovu chorobu nebo příbuzné neurogenerativní stavy (Gaetke 2003).

5.3 Cín

Cín není nutričně důležitým prvkem pro člověka. Hlavními zdroji cínu v potravě pro dospělé a děti jsou kompoty a vařené potraviny. Dalším zdrojem cínu v minulosti byl i staniol, jehož jméno je odvozeno z latinského názvu pro cín - *stannum*. Je to fólie, která je

vyrobená z tence vyváleného cínu, která se v dnešní době již nepoužívá. Světová zdravotní organizace stanovila denní limit pro příjem cínu na 140 mg (Guardia & Garrigues 2015).

Mezi hlavní příznaky intoxikace cínem z potravin pocházejících z konzerv patří nevolnost, zvracení, průjem, horečka a bolest hlavy (Omori et al. 1973). Potraviny balené v plechovkách, které jsou zcela potaženy lakem, obvykle obsahují méně než 10 mg cínu/kg potravin. U plechovek nepotažených lakem se obsah cínu pohyboval mezi 24 a 156 mg cínu/kg potravin (Biégo et al. 1999).

Intravenózní podání chloridu cínu psovi způsobilo svalovou slabost, ztrátu pocitu bolesti, deprese, nehybnost a úmrtí během 12 hodin (Kimbrough 1976).

Vdechování kovových výparů (i výparů oxidů cínu) může způsobit horečku z kovových dýmů, zimnici, zvracení, myalgii (bolest svalstva), tracheobronchitidu a často fatální pneumonii. Vdechnutí cínu ve formě prachu nebo výparů vede k benigní pneumokonióze. Tyto změny byly zjištěny například u pracovníků ve slévárnách cínu. Pacienti s tímto stavem mohou mít zkrácený dech a mírný kašel (Kimbrough 1976).

Dichlorid diethylcínu je dráždivý, se schopností vyvolat podráždění nosní dutiny, bolesti hlavy a také má dávicí účinek (Kimbrough 1976).

Nejvíce konstantními příznaky toxicity triethylcínu jsou: těžká přetrvávající bolest hlavy, zvracení, zadržování moči, závrať, bolesti břicha, zrakové poruchy, mimořádně fotofobie a rychlá ztráta hmotnosti. Pozorovány byly také příznaky meningismu, hypertermie, přechodné a někdy trvalé paralýzy, papilodémy a způsobuje spongiózu bílé hmoty centrálního nervového systému (vznikají v ní místa naplněná tekutinou). Triethylcín inhibuje adenosintrifosfát aktivovaný hořčíkem a 2,4 dinitrofenolem. (Kimbrough 1976).

Arylcínové sloučeniny jsou méně rozpustné a méně toxické než alkylcínové sloučeniny (Kimbrough 1976).

5.4 Nanočástice stříbra

Nanočástice (NP) stříbra jsou v současné době široce používané nanočástice ve spotřebních výrobcích, jako jsou potravinové obaly, oděvy, zubní pasty a kosmetika. Mají antibakteriální a protizánětlivé vlastnosti. Jsou považovány za prospěšné pro regeneraci tkání a opravu poranění a jsou zkoumány pro léčbu onemocnění, jako je leukémie a HIV (Leynen et al. 2019).

NP stříbra způsobují oxidační stres a zastavují proliferaci *in vitro* buněk v embryonálním nervovém kmeni, což naznačuje jeho nepříznivé účinky na vývoj nervového systému. Také bylo zjištěno, že nanočástice o velikosti 80 nm vedou ke zhoršení osteogenní diferenciace lidských mezenchymálních kmenových buněk. Zdá se, že zlomek nanočástic se akumuluje ve střevě. Expozice NP snižuje motilitu regenerujících organismů a mění typ chování motility v závislosti na koncentraci (Leynen et al. 2019).

Nanočástice stříbra jsou bakteriocidní povahy vzhledem k multimodálním cestám. Různé studie ukazují, že NP stříbra mohou způsobit rozpad buněk zastavením různých procesů, jako například syntézy buněčné stěny, zastavením mitochondriálního systému, inhibicí ribosomů nebo poškození nukleových materiálů. Také mohou zesilovat účinky mnohých antibiotik. Předpokládá se, že NP poškozují savčí buňky stejně jako bakteriální a houbové buňky. Toxicita NP stříbra je způsobena především únikem stříbrných iontů (Umair et al. 2016). Stříbrné NP mohou aktivovat krevní destičky, což nakonec přispívá k přibývání trombóz. Vysoká koncentrace ($\geq 250 \mu\text{g/ml}$) nanočástic může vyvolat hemolýzu. Nanočástice v červených krvinkách vedou ke vzniku reaktivních kyslíkových radikálů a zvýšení intracelulárního vápníku. V souladu se vznikem reaktivních kyslíkových radikálů je snížen obsah intracelulárního antioxidantu glutathionu a ATP po expozici NP stříbra. Expozice NP stříbra vede ke zvýšené expozici fosfatidylserinu (Bian et al. 2019). Ag-NP vykazují také značné množství negativních účinků na neurogenesi (Akter et al. 2018).

Příjem Ag-NP do buněk se může lišit od buňky k buňce. Potencionální cesty vstupu mohou být například difuze, fagocytóza a endocytóza. V lidských makrofázích mohou Ag-NP vstupovat do buněk fagocytovými a nefagocytovými cestami. V médiu se některé Ag-NP agregují a vstupují do buněk prostřednictvím fagocytózy, ale jiné částice, které nejsou v agregované formě, vstupují střídavými způsoby. U savčích buněk záleží pohlcování Ag-NP na velikosti a druhu částic buňky. Další možnou cestou absorpce Ag-NP je mechanismus membránového flip-flopu nebo přímá penetrace přes iontový kanál a v tomto případě to může probíhat jak aktivním transportem, tak také pasivním transportem (Akter et al. 2018).

Menší nanočástice jsou více toxické, protože mohou lépe vstupovat do buněk. Velikost je proto důležitým faktorem při zkoumání biodistribuce (Umair et al. 2016).

Dalším důležitým faktorem toxicity je i koncentrace NP. V buněčné linii jater potkanů (BRL 3A), byla zjištěna jako nejvíce toxická koncentrace Ag-NP o hodnotě 25 ppm, ale jinak byla pozorována v rozmezí koncentrací od 1 do 25 ppm. V závislosti na druhu buňky se cytotoxicita Ag-NP výrazně liší, což je třeba vzít v úvahu při jejich aplikaci ve spotřebních výrob-

cích a při zkoumání environmentálních účinků. Rozsah koncentrací NP, který může vyvolat toxicitu, závisí na velikosti částic, druhu média, teplotě, povrchové funkčnosti, stupni strukturního uspořádání pevných částic atd. Obecně jsou při zkouškách *in vitro* u Ag-NP vysoce toxické koncentrace v rozmezí od 5 do 10 µg/ml a s velikostí částic od 10 do 100 nm a narušují funkci mitochondrií. Na druhou stranu, málo studií *in vivo* ukázalo, že Ag-NP má nežádoucí účinky na reprodukci, různé malformace a morfologické deformace v jiných než savcích zvířecích modelech, výše uvedené *in vitro* účinky (Akter et al. 2018).

Povrchová vrstva na Ag-NP může ovlivnit tvar, agregaci a poměr rozpouštění. Nicméně metoda a rozsah toxicity Ag-NP se mění podle materiálu povrchů. Například polystyrenem potažené Ag-NP způsobily méně změn v genetické indukci a represi ve srovnání s Ag-NP a AgCO₃ v buněčné linii karcinomu jater. Citrátové povlaky mohou zlepšit stabilitu koloidních Ag-NP a snížit jejich toxicitu. Naopak Ag-NP pokryté polysacharidy vedly k většímu poškození DNA než nepokryté Ag-NP, protože se zvýšila pravděpodobnost vstupu do mitochondrií a jader. Nanočástice Ag 20 nm pokryté citrátovým povlakem vykazovaly větší cytotoxicitu než NP stříbra o velikosti 100 nm a dále vyvolaly akutní neutrofilní zánět v plicích myši ve srovnání s většími nanočásticemi. Obojí NP-Ag i AgNO₃ působí negativněji, mají menší průměr (průměrně 10 nm) a jsou cytotoxické v lidských plicních buňkách. Rozpustnost NP-Ag je dalším faktorem kritické toxicity v plicním epitelu buněk. Neurotoxická způsobená NP stříbrem byla potvrzena několika *in vivo* a *in vitro* studiemi, kde dospělí samci myši vykazovali neurotoxicitu vyvolanou oxidativním stresem ve třech oblastech mozku včetně *caudatus nucleus* (ocasaté jádro bazálních ganglií), frontálního kortexu a hippokampu. Dále byly zjištěny synaptické degenerace, neuronální denegerace a otok astrocytů v mozku potkanů po expozici nízké dávky NP-Ag podávané perorálně a intragastricky. Cytotoxicita byla také potvrzena v buňkách granulocytů v mozečku. Například alveolární epiteliální buňky exponované různým Ag-NP a Ag⁺ vykazovaly hromadění v cytoplasmě (Akter et al. 2018).

NP mají vysoký potenciál k agregaci nebo aglomeraci v roztoku a ve vnějším ovzduší. Interakce potenciálu NP s buňkami je závislá na difúzních, gravitačních a konvekčních silách. Aglomerační proces může být ovlivněn pH, obsahem elektrolytu nebo soli a složením bílkovin v kultivačním médiu. Několik studií ukázalo, že vazebná kapacita NP s proteinem je odlišná na základě složení jak NP, tak proteinu. Vzhledem k tomu, že aglomerace a agregace jsou překážkami měření cytotoxicity, obvykle se na povrchu NP používá jiný povrchový povlak, jako jsou například organické (citráty, PVP) a anorganické povlaky (sulfid, chlorid). Z několika studií je zřejmé, že aglomerované Ag-NP snadno penetrují do mezenchymálních

kmenových buněk a jader. Navíc, agregace částic a povrchová oxidace tvoří oxid stříbra a oxidace oxidu stříbrného uvolňuje Ag^+ a Ag^0 do média, což nakonec vede k akumulaci iontového stříbra v životním prostředí, biologickém médiu a uvnitř buňky prostřednictvím difuze nebo endocytózy, což způsobuje mitochondriální dysfunkci. Ag-NP pak interagují s buněčnou membránou proteinů a aktivují signalizační cesty, které vedou k vytváření reaktivních radikálů kyslíku (ROS). Vznik ROS způsobuje poškození proteinů a nukleových kyselin (to je zapříčiněné výsledkem silné afinity stříbra k síře) a konečně může vést k apoptóze (buněčná smrt) a inhibici buněčné proliferace (Akter et al. 2018).

5.5 Hliník

Hliník a jeho slitiny mají velké uplatnění v elektrotechnickém, stavebním, automobilovém, strojírenském, farmaceutickém a potravinářském průmyslu (Babička et al. 2017). Také se vyskytuje v potravinách, v pitné vodě následkem kyselého srážení a vznikem při antropogenních činnostech, především průmyslovými procesy (Krewski et al. 2007).

Zvýšená vstřebatelnost hliníku v ústní dutině byla zjištěna u onemocnění, jako je Alzheimerova choroba a u Downův syndrom. Předpokládá se, že normální plazmatická koncentrace hliníku je 1 až 2 $\mu\text{g/l}$. Normální koncentrace hliníku v tkáních bývá větší v plicích kvůli zachycení částic z prostředí než například v kostech a měkkých tkáních. Více než 95% hliníku je vyloučeno ledvinami, asi 2 % jsou vyloučena žlučí. Při předávkování hliníkem se většinou doporučuje podání až 5 mg/kg desferrioxaminu jednou nebo dvakrát týdně a bylo prokázáno, že toto dávkování je dlouhodobě bezpečné a účinné. Výsledkem neúmyslné otravy lidského organismu nadměrným množstvím hliníku může být poškození kostí a centrálního nervového systému jako cílových orgánů (Krewski et al. 2007). Dlouhodobě zvýšený příjem hliníku vyvolává tzv. Parkinsonovu chorobu. EFSA stanovil tolerovatelný týdenní příjem na 1 mg/kg tělesné hmotnosti (Babička et al. 2017).

Perorální biologická dostupnost hliníku může být zvýšena citrátem, kyselým pH a uremií a naopak může být snížena obsahem sloučenin křemíku. Perorální biologická dostupnost hliníku je také nepřímo spojena se stavem železa (Krewski et al. 2007).

Akutní toxicita hliníku bývá nízká. Hliník ($\text{Al}^{\text{III}+}$) vykazuje vysokou afinitu k bílkovinám, které je schopen propojit. Navíc vede k indukci oxidativního stresu a vazbě na negativně nabitě membránové struktury v neuronech. Hliník je také schopen pozměnit vápníkové signální dráhy v hippokampu, které jsou rozhodující pro neuronovou plasticitu, a tedy i paměť.

Cholinergní neurony jsou obzvláště citlivé na hliníkovou neurotoxicitu, ovlivňují totiž syntézu neurotransmiteru acetylcholinu. Tyto dva neurobiologické účinky jsou relevantní s předpokládaným spojením mezi účinkem hliníku a Alzheimerovou chorobou. Karcinogenní účinek hliníku zatím nebyl prokázán (Klotz et al. 2017). Hliníková toxicita pravděpodobně vyplývá z interakce mezi hliníkovou a plazmatickou membránou, apoplastickým a symplastickým cílem. U lidí jsou Mg^{II+} a Fe^{III+} nahrazeny Al^{III+} , což způsobuje mnoho poruch v rámci intercelulární komunikace, buněčného růstu a sekrečních funkcí (Jaishankar et al. 2014).

Hliníkem jsou také inhibovány enzymy, jako je hexokináza, fosfodiesteráza, alkalická fosfatáza a fosfooxidáza, a to z důvodu, že má větší afinitu k DNA a RNA. Hliník navíc ovlivňuje metabolické cesty v živém organismu zahrnující metabolismus vápníku, fosforu, fluoru a železa. Bylo zjištěno, že hliník může být velmi škodlivý pro nervové, kostní a hemopoetické buňky. Hliník narušuje většinu fyzikálních a buněčných procesů. Změny vyvolané hliníkem v neuronech jsou podobné jako u degenerativních lézí pozorovaných u pacientů s Alzheimerovou chorobou. Největšími komplikacemi toxicity hliníku jsou jeho neurotoxické účinky, jako je neuronální atrofie v *locus coeruleus*, což je protáhlá skupina buněk ve stěně horní části 4. mozkové komory namodralého vzhledu, v černé substanci (*substantia nigra*) středního mozku a ve *striatu*, což je hluboká oblast šedé hmoty uvnitř hemisfér koncového mozku (Jaishankar et al. 2014).

5.6 Antimon

Antimon je stříbřitě bílý kov, který můžeme nalézt v zemské kůře. Jeho hlavní použití je v průmyslu (jako polovodič), také se přimíchává do slitin a mnohá další, jako je například již zmíněné přidávání antimonu do PET jako glykolátu. Sloučeniny antimonu se používají od dob jejich představení alchymistou John Rupescissa ve 14. století také jako léčiva, zejména při léčbě dvou parazitických onemocnění, a to leishmaniózy a schistosomózy (Sundar & Chakravarty 2010).

Klinickými příznaky toxicitu antimonu je hematurie, dermatitida, nevolnost, zvracení, průjem, zánět hltanu a nefrotoxicita. O Sb^{III+} je známo, že má desetkrát větší toxicitu než Sb^{V+} (Ogra 2009).

Stejně jako arsen patří antimon mezi klastagen, což je mutagen, který způsobuje chromozomální zlomy. Arsen ani antimon ale nemají mutagenní vlastnosti a jejich biologické poločasy rozpadu jsou u savců relativně krátké (Gebel 1997).

Je zřejmé, že toxicita antimonu závisí na expoziční dávce, délce trvání expozice, cestě vstupu (vdechnutí, požití nebo stykem s pokožkou), jiné chemické expozici, věku, pohlaví, stavu výživy, rodinných rysech, životním stylu a na celkovém zdravotním stavu.

Existuje případ, kdy muž, který se léčil ze závislosti na alkoholu, požil lék užívaný při léčbě závislosti na alkohol. Požil 10ml "Soluto Vital", který obsahoval 50mg/ml tartaro emetica (obsahující antimon a vinan draselný). Po hodině od požití se objevilo těžké zvracení, křeče břicha, průjem, slabost a ortostáza. V počátečním laboratorním hodnocení bylo pozoruhodné u kreatininu 25 mg/l, draslíku 6,1 mEq/l a 60% hematokrit. Dostal aktivní uhlí, i.v. fyziologický roztok a antiemetika. Během následujících 48 hodin se jeho kreatinin normalizoval na 11 mg/l a hematokrit se vrátil na 53 %; moč měla koncentraci antimonu 1200 µg/l (normální = <10 µg/l) (Cooper & Harrison 2009).

5.7 Titan

Jak jsem již zmínila ve své práci, tak nanočástice oxidu titaničitého (TiO_2) se využívají jako pigment, adsorbant nebo jako katalyzátor a dále se včleňují do polymerní vrstvy nanokompozitových obalů potravin. Nanočástice TiO_2 se také uplatňují pro biologické a lékařské aplikace a jako antibakteriální činidla (Fardanesh et al. 2019).

Oxid titaničitý se vyskytuje ve třech modifikacích, a to je anatas, rutil a brookit. Jsou to tři krystalické struktury nanočástic TiO_2 . Nejvíce antibakteriální aktivity má anatas. Při teplotách 600°C až 700°C anatasové struktury produkují hydroxylové radikály ($\text{OH}\cdot$) při fotokatalytické reakci. Poté $\text{OH}\cdot$ pronikají bakteriální stěnou a zabíjí bakterie. Zvýšení teploty mění strukturu anatas na rutil (Vimbela et al. 2017).

Dudefoi et al. (2017) zkoumali vliv nanočástic TiO_2 , používaných jako barvivo v potravinářství na střevní mikroflóru. Výsledky ukázaly, že nanočástice TiO_2 potravinářské kvality nemají vliv na změnu hladiny lidské střevní mikroflóry (Dudefoi et al. 2017).

Podle některých studií nanočástice TiO_2 se hromadí a způsobují toxické účinky v játrech, ledvinách, slezině, plicích a srdcích zvířat. Nanočástice vyvolaly vážné jaterní, ledvinové a zánětlivé poškození myokardu u myši. Ukázalo se, že to bylo navozeno změnami ve funkčních biomarkerech těchto orgánů v séru a znepokojující hladinou cukru a lipidů v krvi. Nanočástice TiO_2 zapříčiňují buněčnou genotoxicitu prostřednictvím vytváření reaktivních kyslíkových radikálů a indukci oxidativního stresu. Nanočástice TiO_2 potenciálně indukují zánětlivé poruchy iniciací cytokinů typu Th-2 v kultivovaných buňkách BEAS-2B

(Fadda et al. 2018). Nanočástice TiO_2 jsou toxické pro mnoho vodních organismů, jako jsou ryby, cyanobakterie a řasy. Mechanismus toxicity pochází z oxidativních účinků nebo z peroxidace lipidů, která je vyvolána generovanými $\text{OH}\cdot$ (Vimbela et al. 2017).

Janović et al. (2018) provedli studii na *Drosophila melanogaster* o efektech aditiva potravin E 171, což je barvivo s obsahem TiO_2 . *Drosophila melanogaster* je běžný modelový organismus, který se používá ve výzkumu lidského zdraví s mnoha konzervativními biologickými, fyziologickými, toxikologickými nebo neurologickými procesy a reakcemi na podněty. Navíc mají zakonzervované cesty onemocnění, homologní genetiku, mají krátkou generační dobu a nízké srovnávací náklady. Ve studii autoři zkoumali 20 po sobě jdoucích generací *D. melanogaster*. Odhad denní dávky člověka E 171 vede k významným změnám v normální vývojové a reprodukční dynamice, ke snížené plodnosti po opakovaném chovu, ke zvýšené genotoxicitě, k výskytu aberantních fenotypů a ke změnám v morfologii. Tyto efekty jsou považovány za klasickou adaptaci populace na stresor. Hlavním vzorcem, který byl pozorován v průběhu dvaceti generací much a vykazuje znaky adaptativní evoluce a přímé selekce, je například kratší doba vývoje společně s vyšší plodností, životaschopnost od vajíčka po dospělého jedince panenských samic, ale také snížená plodnost u všech následných samic. Navíc larvální stadia měla vyšší riziko poškození z E 171, neboť měla pomalejší eliminační rychlost a nahromadila 10 x více TiO_2 ve srovnání s dospělými. Aberantní fenotypy byly pravděpodobně způsobeny vývojovými vadami indukovanými E 171, protože fenotypové rysy nebyly přeneseny potomkům dokonce i po 5 generacích po sobě jdoucích křížení. Tudíž expozice E171 během časného vývoje nese vyšší riziko toxicity, a proto budou v lidské populaci nejohroženější kohortou lidské plody a malé děti (Jovanović et al. 2018).

6 Alternativní obalové materiály

V této kapitole bych se ráda věnovala obalovým materiálům, které jsou "zdravotně" nezávadné, neboli těm, z kterých nehrozí riziko kontaminace nějakými toxickými kovy.

6.1 Sklo

Ze všech obalových materiálů můžeme pouze sklo považovat za inertní. To znamená, že jen sklo se svým obsahem nereaguje, takže nevytváří žádné sloučeniny, které by potraviny mohly kontaminovat (Berk 2009). Proto bych tento typ obalu označila jako zdravotně nezávadný. A nebála bych se ho hojně používat.

6.2 Papír

Domnívám se, že papír je také druh obalového materiálu, který je zdravotně nezávadný. Ovšem pokud mluvíme o čistém papírovém obalu. S potiskem nebo nějakým barvivem by papír mohl obsahovat např. toxické kovy, které by se potencionálně mohly uvolňovat do potravin.

6.3 Hydrogel

V nedávné době se začaly používat jako potravinářské obaly biologické hydrogely. Použití hydrogelů také začalo díky zájmu o inovační technologie, které by snížily používání fosilních paliv (Batista et al. 2019).

Hydrogely jsou polymerní matrice se schopností absorbovat vodu nebo jakoukoliv kompatibilní tekutinu do 100% jejich hmotnosti (Batista et al. 2019).

Hlavní rolí těchto materiálů v balení potravin je řízení vlhkosti uvnitř obalu. Jejich potenciální využití v oblasti ochrany potravin zahrnuje odstranění vlhkosti nebo exudátů (vylučovaných látek) uvnitř balení. Vznik vlhkosti nebo exudátů je dán např. transpirací zeleniny a ztrátou vody, která je způsobená fyzikálně-chemickými změnami v zabalených potravinách nebo průnikem vodní páry díky podmínkám prostředí. Tato jejich vlastnost je důležitá obzvláště v případě čerstvých potravin. Použití hydrogelu může tedy snížit aktivitu vody, zpomalit růst plísní, kvasinek a bakterií na potravinách, jako jsou hotová jídla (např. čerstvě nakrájená zelenina) a hygroskopické potraviny (např. práškové potraviny), nebo se může používat ke snížení změkčení suchých křupavých produktů (například smažené brambory, sušenky) (Batista et al. 2019).

Jiné potenciální aplikace v potravinářském průmyslu zahrnují použití hydrogelu jako součásti inteligentního obalového systému nebo jako nosiče, což je systém zabudovaný přímo do potravinových matric. Používají-li se jako součást inteligentního obalového systému, tak jejich hlavním účelem je poskytnout informace o čerstvosti obsažených potravinářských výrobků nebo jako součást jednoduché detekční metody k určení přítomnosti kontaminantů, jako je například aflatoxin. Další nové aplikace hydrogelů zahrnují jejich použití jako nosiče chuti nebo bioaktivních sloučenin, jako jsou β -karoteny, které jsou obvykle začleněny do nanoemulzí (Batista et al. 2019).

6.4 Přírodní materiály

Dále mohou být vytvořeny obalové materiály, založené na biologickém původu, na bázi přímo extrahovaných polymerů nebo odstraněných z přírodních materiálů, jako jsou polysacharidy nebo bílkoviny. Příkladem polysacharidů může být škrob, celulóza, chitin. Proteinem, z kterého je možné vyrobit obaly, může být kasein, syrovátka, kolagen a sójový protein. Všechny tyto polymery jsou přírodně hydrofilní, což způsobuje problémy se zpracováním a provedením, hlavně ve vztahu k balení vlhkých výrobků. Na druhou stranu tyto polymery vyrobí materiál s vynikajícími plynovými bariérami. Dnes je nejdůležitějším komerčním materiálem celulózová deska a papír. Materiály na bázi škrobu se používají hlavně pro obaly na těstoviny a jako kelímky na jogurty (Weber et al. 2002).

Firma Skipping Rocks Lab přišla s inovací, která by mohla nahradit PET lahve. Jejich první produkt Ooho je vyrobený z přírodních materiálů extrahovaných z rostlin a mořských řas. Tato společnost chce vytvořit obal, který má nízký dopad na životní prostředí. Sférické obaly, jako je Ooho, lze použít i pro jiné tekutiny, než je voda, jako jsou například nealkoholické nápoje, lihoviny, a dokonce i pro kosmetiku. Tento materiál je levnější než plast. Ooho je biologicky odbouratelný během 4 až 6 týdnů jako například ovoce. Je to jedlý obal, který může být ochucen nebo obarven a má trvanlivost několik dnů (“Ooho! the edible water bottle” n.d.).



Obrázek 1 Ooho (dostupné z : <https://bgr.com/2017/04/13/ooho-water-balls/>)

7 Možnosti stanovení toxických prvků

Technika speciace je definována jako analýza, která se používá k identifikaci a měření množství jednoho nebo více jednotlivých chemických druhů ve vzorku. Metallomy se skládají

z kovů nebo metaloidů v různých chemických formách v biologickém systému. Proto je nutné, aby se kovové nebo metaloidní prvky oddělily různými separačními procesy a byly detekovatelné pomocí specifického detektoru pro identifikaci a kvantifikaci (Ogra 2009).

Analyzační metody, které se používají pro speciaci, se skládají z dvou nezávislých analytických technik. První používanou je oddělovací technika, která je založená na fyzikálních a chemických vlastnostech biomolekul, které obsahují kov nebo metaloid. Druhou metodou je specifická detekce kovu nebo metaloidu (Ogra 2009).

7.1 HPLC-ICP-MS

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) je jednou z nejoblíbenějších separačních technik. Má mnoho výhod oproti ostatním separačním technikám, jako je například plynová chromatografie (GS), gelová elektroforéza a kapilární elektroforéza. První výhodou je, že jsou k dispozici různé její druhy, např. gelová filtrace, iontová výměna, afinita a reverzní proměna. Druhou výhodou jsou podmínky separace, které jsou podobné fyziologickým podmínkám, a to zejména ve velikosti vyloučení nebo sloupci gelové filtrace (Ogra 2009). HPLC se provádí při pokojové teplotě (Cornelis 2003).

Indukčně vázaná plazmová hmotnostní spektrometrie (ICP-MS) umožňuje jak rozlišení izotopů, tak multielementární detekci s velmi vysokou citlivostí. Velmi dobře rozděljuje matrice v biologických vzorcích (Ogra 2009). Hmotnostní spektrometrie je technika vyvinutá pro identifikaci chemických struktur (Cornelis 2003).

HPLC-ICP-MS nabízí bezkonkurenční výkon pro detekci a stanovení netěkavých kovových prvků. Díky různým separačním strategiím, které lze použít, např. normální fázové a reverzní fázové dělení, iontová výměna, vyloučení podle velikosti, afinita a adsorpční chromatografie, je HPLC extrémně univerzální. Interakce pohyblivé fáze se složkami vzorku má přímý efekt na distribuční koeficienty, až na případ s chromatografie s vylučováním podle velikosti. A to přispívá k všestrannosti této metody (Cornelis 2003).

Navíc produkt z HPLC může být přímo použit v ICP-MS, jelikož průtoková hodnota běžného průměru HPLC je úměrná tomu, co je použito pro ICP-MS. Proto je HPLC spojená s ICP-MS nejvíce používanou technikou pro speciaci (Ogra 2009).

Avšak existuje důležitá nevýhoda HPLC-ICP-MS při identifikaci neznámých metabolitů obsažených v metaloidech. Ačkoliv ICP-MS je citlivá na cílové prvky a je robustní metodou pro matrice, neposkytuje žádné molekulární informace o metaloidech v metabolitech.

Identifikace neznámých metabolitů pomocí HPLC-ICP-MS je tedy omezena na situace, kdy jsou k dispozici i skutečné druhy metaloidů. I když je k dispozici standardní sloučenina, identifikace metodou HPLC-ICP-MS je stále nepřímou metodou. Tato metoda je totiž založena na srovnání retenčních časů standardní sloučeniny a neznámého metabolitu (Ogra 2009).

7.2 ESI-MS-MS

Elektrosprejová ionizace (ESI) a tandemová hmotnostní spektrometrie (MS-MS) je alternativou k HPLC-ICP-MS k identifikaci neznámého kovu nebo metaloidu obsaženého v metabolitu. ESI je jemnější metoda než ICP a může poskytnout molekulární informace. Navíc MS-MS umožňuje objasnění ohledně struktury (Ogra 2009).

Ve srovnání s ICP-MS má ESI-MS-MS řadu slabých míst. Za prvé, ESI-MS-MS má obecně nižší detekční limit než ICP-MS. Za druhé, ESI je vážně ovlivněná druhem matrice. A pro řešení tohoto problému se často ESI-MS-MS spojuje s HPLC. Komplementární použití HPLC-ICP-MS a HPLC-ESI-MS-MS je proto účinným nástrojem pro speciaci a identifikaci metabolitů obsahující metaloidy (Ogra 2009).

7.3 FAAS

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je metoda vyvinutá pro určení cílových prvků při úplném rozpuštění matrice za účelem optimalizace atomizace a kvantifikace. Principem této metody je měření absorpce elektromagnetického záření volnými atomy prvku. Nicméně lze získat málo informací o chemických formách a strukturách sloučenin, ve kterých je prvek přítomen. Plamenová atomová absorpční spektrometrie (FAAS) je jedním z nejjednodušších, levných a spolehlivých detektorů, které byly propojeny s chromatografickou a jinou separační technikou pro určení prvků. Hlavním problémem je nedostatečná detekce prvků. To může být způsobeno neefektivním transportem vzorku z pneumatického nebulizéru pro zavedení vzorku do plamene atomizačního systému. FAAS nebulizér má menší než 5% účinnost při zavedení vzorku. Použitím předkoncentrační techniky zlepšuje detekční limit, např. absorpční sloupec a atomové zachytávání, které mají dobré rozhraní s FAAS pro elementární speciaci. Ke zlepšení transportu analytu byla upravena aerosolová komora pro rozhraní nebulizéru. To vedlo k téměř stoprocentnímu účinku transportu analytu díky zlepšení průtokové charakteristiky a účinné desolvaci. Dalším způsobem, který může zvýšit citlivost FAAS, je použití termospreje. Udržování konstantní teploty je nezbytné pro minimalizaci rozdílů v nebulizérových podmínkách se změnami průtoku vzorku nebo složení (Cornelis 2003).

FAAS s použitím extrakce bodu zákalu (CPE) může být považována za alternativu k drahé analytické technice, jako je ICP-MS. Atomová absorpční spektrometrie je relativně nenáročná, robustní a snadno ovladatelná analytická technika. Je charakterizována vysokou selektivitou a specifikací s nízkou náchylností k matricovým interferencím. Metoda má nejnížší rozpoznávací limit. Touto metodou můžeme zjistit například stopovou hladinu cínu (Ulusoy et al. 2012). Extrakce bodu zákalu je založena na vodném roztoku některých povrchově aktivních látek, který se stává zakaleným a rozdělí se na dvě izotropní fáze. Aby se izotropní fáze rozdělily, musí být splněny určité podmínky, jako je například změna teploty či tlaku anebo se do roztoku přidá vhodná látka (Bezerra et al. 2005).

7.4 HG-AFS

Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) je analytická technika, která byla široce používána pro stanovení arsenu a dalších těžkých prvků. Spojení tvorby hydridu (HG) a AFS umožňuje stanovení s nízkým limitem kvantifikace, přičemž jeho vybavení je levnější než jiné běžné analytické techniky. Navíc kombinace odběru suspenze a HG AFS umožnila vývoj přímých metod pro analýzu vzorků potravin, biologických vzorků atd. (dos Santos et al. 2013).

Metoda generace hydridů (HG) se používá ke stanovení celkového množství prvku. Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) je analytická metoda, která má schopnost jedno a vícesložkových stanovení prvků s širokou paletou zdrojů světla, rozprašovačů, optické konstrukce (optical design) a elektronikou. Použití bez rozptylového HG-AFS nabízí jasné výhody spojené s emisemi CO_2 v ultrafialové sféře (pod 250 nm) a velmi málo ve vyzářované UV oblasti zahříváním, které je potřebné k přeměně hydridu kovu na atomové páry (Sayago et al. 2000). Vybavení HG-AFS je levnější než u jiných analytických metod (dos Santos et al. 2013). Navíc oddělení analytu od matrice prostřednictvím generací hydridů snižuje komplexitu spektra díky nepřítomnosti druhů matric. Rozdíl mezi detekčními limity je charakteristický pro AFS, a to v závislosti na vybraném atomizéru i zdroji světla. Citlivost je výraznější, pokud se jako zdroj záření použije například dutá katoda zesíleného výboje (z anglického boosted-discharge hollow-cathode lamps, BDHCL) (Sayago et al. 2000).

8 Závěr

Studium potencionálních kontaminantů z obalových materiálů je velmi důležité pro lidské zdraví. Většina potravin, s kterými se dostáváme do styku, je zabalena v nějakém obalu, a proto není divu, že se z nich mohou uvolňovat potencionálně škodlivé látky, kterými mohou být právě kovy.

Prvním obalovým materiálem, ze kterého může docházet ke kontaminaci potravin, je obyčejná plechovka. Plechovka je obvykle tvořena z ocelové vrstvy a vrstvy slitiny, které jsou potaženy vrstvou cínu. Tím se dostáváme k prvnímu kontaminantu, a to je cín. Cín se uvolňuje porušením ochranné vrstvy cínu, kde dochází ke korozi, a cín se uvolňuje do potravin. Intoxikace cínem z plechovek vyvolává například bolest hlavy, nevolnost, zvracení, průjem a horečku. Rozpuštěním ocelové vrstvy se do potraviny dostává i železo, což je druhý kontaminant. Toxický účinek železa při jeho nadbytku spočívá v tvorbě kyslíkových radikálů, které poškozují lipidové membrány, proteiny a nukleové kyseliny uvnitř buněk. Toxicita železa může přivodit také různá onemocnění, jako je například cukrovka, onemocnění srdce a potíže se štítnou žlázou. Železo se hromadí v orgánech a může navodit smrtelné poškození jater a mozku.

Druhým obalovým materiálem je hliníková fólie. Z hliníkové fólie se po rozpuštění oxidované vrstvy uvolňuje hliník. Uvolňování hliníku je vyvoláno vysokou teplotou a kyselostí potravin. Hliník je schopen pozměnit signální vápníkové dráhy v hippokampu. Hliník také poškozuje intercelulární komunikaci, buněčný růst, sekreční funkci a neurony.

Dalším obalovým materiálem, který způsobuje kontaminaci potravin, je plast (polyethylen), tedy i PET lahve. Působením tepla a kyselým pH potravin se z plastu uvolňuje měď, která tam byla přidána jako nanočástice pro své specifické vlastnosti. Předávkování mědi primárně ohrožuje játra, což může vést až k cirhóze jater. Dále měď navozuje narušení výstelky trávicího traktu a akutní nekrózu v ledvinách. Poškozením neuronů mědi může vést ke vzniku Alzheimerovy choroby. Z obarvených PET lahví se působením vysokých teplot uvolňuje antimon. K tomu může dojít například při zanechání PET lahve v autě během letních měsíců. Uvolňování antimonu je také více podporováno u vody sycené oxidem uhličitým. Toxicita antimonu není úplně dokázána, ale existuje případ, kdy měl muž nevolnosti, zvracel a měl průjem a bylo mu nalezeno vysoké množství antimonu v moči. Do polymerů se také začleňuje nanočástice oxidu titaničitého, které jsou dalším kontaminantem potravin. Kontaminace titanem je vyvolána vyšší teplotou, kyselým pH potravin a také je podpořena porušením hrany

polymeru. Nanočástice oxidu titaničitého sice nemají negativní vliv na složení lidské střevní mikroflóry. Ale při pokusech na zvířatech byly zjištěny toxické účinky titanu na játra, plíce, ledviny, slezinu a srdce. Nanočástice oxidu titaničitého zapříčiňují genotoxicitu prostřednictvím vytváření kyslíkových radikálů. Dalším příkladem kontaminantu může být stříbro, které se uvolňuje z různých polymerů. To je podníceno především opakovanými kyselými podmínkami a vyšší teplotou. Dalším faktorem, který podporuje uvolňování stříbra, je difúze vody do polymeru, oxidace nanočástic stříbra a poté uvolnění stříbrných iontů, které se rozpouští v kyselém prostředí. Nanočástice stříbra vyvolávají oxidativní stres, mohou zastavit různé procesy (například syntézu buněčných stěn), děje probíhající v mitochondriích a vedou k poškození nukleových materiálů.

Dalším studiem potravinových obalů a jejich uvolňování kovů do potravin je důležité vzhledem k tomu, že mohou být pro organismus toxické a jejich účinky na lidský organismus velmi závažné. V budoucnu by bylo dobré soustředit se na výrobu potravinových obalů, které by byly zdravotně nezávadné, a to se netýká pouze kovů, ale i jiných potencionálně toxických látek.

9 Literatura

- Akter M, Sikder MT, Rahman MM, Ullah AKMA, Hossain KFB, Banik S, Hosokawa T, Saito T, Kurasaki M. 2018. A systematic review on silver nanoparticles-induced cytotoxicity: Physicochemical properties and perspectives. *Journal of Advanced Research* **9**:1–16.
- Babička L, Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny. 2017. Toxicky významné látky v potravinách.
- Batista RA, Espitia PJP, Quintans J de SS, Freitas MM, Cerqueira MÁ, Teixeira JA, Cardoso JC. 2019. Hydrogel as an alternative structure for food packaging systems. *Carbohydrate Polymers* **205**:106–116.
- Berk Z. 2009. *Food process engineering and technology* 1. ed. Elsevier [u.a.], Amsterdam.
- Bezerra M de A, Arruda MAZ, Ferreira SLC. 2005. Cloud Point Extraction as a Procedure of Separation and Pre-Concentration for Metal Determination Using Spectroanalytical Techniques: A Review. *Applied Spectroscopy Reviews* **40**:269–299.
- Bian Y, Kim K, Ngo T, Kim I, Bae O-N, Lim K-M, Chung J-H. 2019. Silver nanoparticles promote procoagulant activity of red blood cells: a potential risk of thrombosis in susceptible population. *Particle and Fibre Toxicology* **16**. Available from <https://particleandfibretoxicology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12989-019-0292-6> (accessed February 18, 2019).
- Biégo GH, Joyeux M, Hartemann P, Debry G. 1999. Determination of Dietary Tin Intake in an Adult French Citizen. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **36**:227–232.
- Carneado S, Hernández-Nataren E, López-Sánchez JF, Sahuquillo A. 2015. Migration of antimony from polyethylene terephthalate used in mineral water bottles. *Food Chemistry* **166**:544–550.
- Cooper RG, Harrison AP. 2009. The exposure to and health effects of antimony. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine* **13**:3–10.
- Cornelis R, editor. 2003. *Handbook of elemental speciation: techniques and methodology*. Wiley, Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, NJ.
- Daher R, Manceau H, Karim Z. 2017. Iron metabolism and the role of the iron-regulating hormone hepcidin in health and disease. *La Presse Médicale* **46**:e272–e278.
- dos Santos WNL, Cavalcante DD, Macedo SM, Nogueira JS, da Silva EGP. 2013. Slurry Sampling and HG AFS for the Determination of Total Arsenic in Rice Samples. *Food Analytical Methods* **6**:1128–1132.
- Dudefoi W, Moniz K, Allen-Vercoe E, Ropers M-H, Walker VK. 2017. Impact of food grade and nano-TiO₂ particles on a human intestinal community. *Food and Chemical Toxicology* **106**:242–249.
- Ertl K, Goessler W. 2018. Aluminium in foodstuff and the influence of aluminium foil used for food preparation or short time storage. *Food Additives & Contaminants: Part B* **11**:153–159.

- Fadda LM, Hagar H, Mohamed AM, Ali HM. 2018. Quercetin and Idebenone Ameliorate Oxidative Stress, Inflammation, DNA damage, and Apoptosis Induced by Titanium Dioxide Nanoparticles in Rat Liver. *Dose-Response* **16**:155932581881218.
- Fardanesh A, Zibaie S, Shariati B, Attar F, Rouhollah F, Akhtari K, Shahpasand K, Saboury AA, Falahati M. 2019. Amorphous aggregation of tau in the presence of titanium dioxide nanoparticles: biophysical, computational, and cellular studies. *International Journal of Nanomedicine* **Volume 14**:901–911.
- Gaetke L. 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* **189**:147–163.
- Gebel T. 1997. Arsenic and antimony: comparative approach on mechanistic toxicology. *Chemico-Biological Interactions* **107**:131–144.
- Guardia M de la, Garrigues S, editors. 2015. *Handbook of mineral elements in food*. Wiley Blackwell, Chichester, West Sussex, UK ; Hoboken, NJ.
- Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. 2014. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology* **7**:60–72.
- Jokar M, Abdul Rahman R. 2014. Study of silver ion migration from melt-blended and layered-deposited silver polyethylene nanocomposite into food simulants and apple juice. *Food Additives & Contaminants: Part A* **31**:734–742.
- Jovanović B, Jovanović N, Cvetković VJ, Matić S, Stanić S, Whitley EM, Mitrović TL. 2018. The effects of a human food additive, titanium dioxide nanoparticles E171, on *Drosophila melanogaster* - a 20 generation dietary exposure experiment. *Scientific Reports* **8**. Available from <http://www.nature.com/articles/s41598-018-36174-w> (accessed February 23, 2019).
- Kafka Z, Punčochářová J. 2002. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy* **96**:611–617.
- Kimbrough RD. 1976. Toxicity and Health Effects of Selected Organotin Compounds: A Review. *Environmental Health Perspectives*:6.
- Klotz K, Weistenhöfer W, Neff F, Hartwig A, van Thriel C, Drexler H. 2017. The Health Effects of Aluminum Exposure. *Deutsches Aerzteblatt Online*. Available from <https://www.aerzteblatt.de/10.3238/arztebl.2017.0653> (accessed February 21, 2019).
- Krewski D, Yokel RA, Nieboer E, Borchelt D, Cohen J, Harry J, Kacew S, Lindsay J, Mahfouz AM, Rondeau V. 2007. Human Health Risk Assessment for Aluminium, Aluminium Oxide, and Aluminium Hydroxide. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* **10**:1–269.
- Leynen N et al. 2019. In vivo Toxicity Assessment of Silver Nanoparticles in Homeostatic versus Regenerating Planarians. *Nanotoxicology*:1–16.
- Lin Q-B, Li H, Zhong H-N, Zhao Q, Xiao D-H, Wang Z-W. 2014. Migration of Ti from nano-TiO₂-polyethylene composite packaging into food simulants. *Food Additives & Contaminants: Part A*:1–7.
- Liu F, Hu C-Y, Zhao Q, Shi Y-J, Zhong H-N. 2016. Migration of copper from nanocopper/LDPE composite films. *Food Additives & Contaminants: Part A* **33**:1741–1749.
- Mamtani R, Stern P, Dawood I, Cheema S. 2011. Metals and Disease: A Global Primary Health Care Perspective. *Journal of Toxicology* **2011**:1–11.

- Nariadení Komise (EU) č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami. 2011. Page 89.
- Ogra Y. 2009. Toxicometallomics for Research on the Toxicology of Exotic Metalloids Based on Speciation Studies. *Analytical Sciences* **25**:1189–1195.
- Omori Y, Takanaka A, Tanaka S, Ikeda Y, Furuya T. 1973. Experimental Studies on Toxicity of Tin in Canned Orange Juice. *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)* **14**:69–74.
- Ooho! the edible water bottle. (n.d.). Available from http://www.skippingrockslab.com/phone/index.html?fbclid=IwAR0kv109n32_Y9gX75TWIKeTpZAUEKYvMKQR2nrFVvBPPIY11RUQ7B89mUg (accessed February 26, 2019).
- Sander S, Kappenstein O, Ebner I, Fritsch K-A, Schmidt R, Pfaff K, Luch A. 2018. Release of aluminium and thallium ions from uncoated food contact materials made of aluminium alloys into food and food simulant. *PLOS ONE* **13**:e0200778.
- Sayago A, Beltrán R, Gómez-Ariza JL. 2000. Hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) as a sensitive detector for Sb(III) and Sb(V) speciation in water. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **15**:423–428.
- Sundar S, Chakravarty J. 2010. Antimony Toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **7**:4267–4277.
- Ulusoy S, Ulusoy Hİ, Akçay M, Gürkan R. 2012. Inexpensive and versatile method for trace Sn(II) and Sn(IV) ions in food samples by CPE/FAAS. *Food Chemistry* **134**:419–426.
- Umair M, Javed I, Rehman M, Madni A, Javeed A, Ghafoor A, Ashraf M. 2016. Nanotoxicity of Inert Materials: The Case of Gold, Silver and Iron. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* **19**:161.
- Veríssimo MI, Silva RP, Gomes MTS. 2016. Iron migration from undamaged and dented juice tinplate cans: Iron migration from undamaged and dented juice tinplate cans. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **96**:3042–3046.
- Vilímovský M. 2018, 6. Nadbytek železa v těle poškozuje zdraví a způsobuje rakovinu! Available from <https://cs.medlicker.com/1239-nadbytek-zeleza> (accessed February 12, 2019).
- Vimbela G, Ngo SM, Frazee C, Yang L, Stout DA. 2017. Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine* **Volume 12**:3941–3965.
- Weber CJ, Haugeard V, Festersen R, Bertelsen G. 2002. Production and applications of bio-based packaging materials for the food industry. *Food Additives & Contaminants* **19**:172–177.

10 Seznam použitých zkratek a symbolů

Ag-NP	nanočástice stříbra
DNA	deoxyribonukleová kyselina
E 171	aditivo potravin, barvivo obsahující oxid titaničitý
LBL	vrstva na vrstvě (z anglického "layer by layer")
LDL	nízkodenzitní lipoprotein
LDPE	polyethylen s nízkou hustotou
MAP	modifikování obalová atmosféra
NP	nanočástice (z anglického "nanoparticles")
OH•	hydroxylový radikál
PET	polyethylentereftalát
RNA	ribonukleová kyselina
ROS	reaktivní radikál kyslíku