

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2017

IVA VENTRUBOVÁ

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav chemie a biochemie



Biopřístupnost rtuti z ryb a rybích výrobků
Diplomová práce

Vedoucí práce:
Ing. Andrea Ridošková, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Iva Ventrubová

ZADÁNÍ

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Biopřístupnost rtuti z ryb a rybích výrobků vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat vedoucí mé diplomové práce Ing. Andrei Ridoškové, Ph.D. za pomoc při vyhodnocování výsledků měření, za odborné vedení, cenné rady a připomínky ke zpracování mé závěrečné práce. Dále chci poděkovat své rodině a Radkovi za jejich podporu při studiu.

ABSTRAKT

Práce je zaměřena na stanovení biopřístupných obsahů rtuti z ryb a rybích výrobků. V teoretické části práce je popisována rtuť, zdravotní rizika, limity rtuti v potravinách, popisy jednotlivých druhů ryb, spotřeba ryb, chemické složení rybí svaloviny a nutriční význam, metoda UBM a metody stanovení rtuti. V praktické části práce byly nejprve zjištěny celkové obsahy rtuti, poté byl proveden UBM test a nakonec analyzovány biopřístupné obsahy rtuti. Analyzované vzorky ryb a rybích výrobků byly zakoupeny v tržní síti ČR. Analýza rtuti byla provedena jednoúčelovým atomovým absorpčním spektrometrem AMA 254. Limit stanovený legislativou (Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ve znění pozdějších předpisů) překročilo celkem 11 vzorků. Nejnižší procento biopřístupnosti rtuti bylo zjištěno u vzorků marlína mraženého, nejvyšší procentuální množství biopřístupné rtuti bylo naměřeno u vzorku tuňáka velkookého uzeného.

KLÍČOVÁ SLOVA

UBM, rybí produkty, rtuť, biopřístupnost

ABSTRACT

The work is aimed at determining bioaccessible mercury content of fish and fish products. In the theoretical part is described mercury, health risk, levels of mercury in food, descriptions of each species, fish consumption, chemical composition and nutritional importance of fish consumption, UBM method and methods for the determination of mercury. Firstly, in the practical part the total mercury contents were measured, then there was carried out the UBM test and finally, bioaccessible levels of mercury were analyzed. Analyzed samples of fish and fish products were purchased in the markets of Czech Republic. The analysis of mercury was performed by atomic absorption spectrometer AMA 254. Limits established by legislation (Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 as amended) were exceeded in 11 samples. The lowest percentage of mercury bioaccessibility has been found in samples of frozen marlin and the highest percentage were measured at a sample of bigeye smoked tuna.

KEY WORDS

UBM, fish products, mercury, bioaccessibility

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	CÍL PRÁCE.....	10
3	TEORETICKÁ ČÁST	11
3.1	Rtuť	11
3.1.1	Historie rtuti.....	11
3.1.2	Základní charakteristika rtuti.....	11
3.1.3	Chemické formy rtuti a jejich toxicita.....	12
3.1.4	Použití rtuti	14
3.1.5	Přeměny chemických forem rtuti.....	14
3.2	Zdravotní rizika z hlediska konzumace rtuti	15
3.3	Limity rtuti v potravinách.....	17
3.4	Spotřeba ryb.....	17
3.5	Chemické složení rybiho masa	18
3.5.1	Voda	18
3.5.2	Tuk	18
3.5.3	Bílkoviny	19
3.5.4	Minerální látky.....	19
3.5.5	Vitamíny	19
3.6	Nutriční aspekty konzumace ryb.....	20
3.7	Popis analyzovaných druhů ryb	21
3.7.1	Tuňák obecný (<i>Thunnus thynnus</i>).....	21
3.7.2	Tuňák žlutoploutvý (<i>Thunnus albacares</i>)	21
3.7.3	Tuňák velkooký (<i>Thunnus obesus</i>)	22
3.7.4	Žralok modrý (<i>Prionace glauca</i>)	22
3.7.5	Marlín indický (<i>Macaira indica</i>)	22

3.7.6	Marlín bílý (<i>Tetrapturus albidus</i>)	23
3.8	Biodostupnost a biopřístupnost.....	24
3.9	Metoda UBM	25
3.10	Stanovení rtuti v potravinách.....	26
3.10.1	Metoda indukčně vázaného plasmatu s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie (ICP-MS).....	26
3.10.2	Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS).....	27
3.10.3	Atomová emisní spektrometrie (AES)	27
3.10.4	Atomová absorpční spektrometrie (AAS).....	27
3.10.5	Speciace chemických forem rtuti.....	28
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
4.1	Materiál a metody	29
4.1.1	Vzorky ryb.....	29
4.1.2	Použité chemikálie	32
4.1.3	Použité přístroje a pomůcky	32
4.1.4	Pracovní postup UBM testu.....	33
4.1.5	Jednouúčelový atomový absorpční spektrometr AMA 254	35
4.2	Statistické zpracování dat	37
4.3	Výsledky a diskuze	38
4.3.1	Stanovení celkových obsahů rtuti	38
4.3.2	Biopřístupnost rtuti.....	40
5	ZÁVĚR	49
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	50
7	SEZNAM OBRÁZKŮ	58
8	SEZNAM TABULEK.....	59
9	SEZNAM ZKRATEK.....	60
10	SEZNAM PŘÍLOH	62

PŘÍLOHA 1	63
PŘÍLOHA 2	65

1 ÚVOD

Ryby mají velký význam pro vyváženou stravu člověka. Obsahují celou řadu prospěšných látek, například polyenové mastné kyseliny, selen, jód, vápník, fosfor a mají příznivé složení bílkovin. Na konzumaci ryb obecně je kladen důraz především z hlediska obsahu esenciálních mastných kyselin. Jedná se o α -linolenovou kyselinu, která je prekurzorem pro dvě semiesenciální kyseliny (jejich tvorba v organismu je omezená) dokosaheptaenovou kyselinu (DHA) a eikosapentaenovou kyselinu (EPA). Tyto látky pomáhají při prevenci před kardiovaskulárními onemocněními.

Vyvážený poměr polynenasycených mastných kyselin řady n-6 a n-3 je důležitý zejména v těhotenství. Působí na správný vývoj mozku a nervového aparátu dítěte. Dále jsou mořské ryby ceněné pro vysoký obsah jódu, který také pomáhá ke správnému vývoji plodu. Často je zmiňován i obsah selenu, který je ceněný zejména pro své antioxidační vlastnosti.

Tato práce je zaměřena na zjištění biopřístupnosti rtuti z ryb a rybích výrobků, které byly zakoupeny v obchodech v České republice. Biopřístupnost je pouze část z celkového obsahu rtuti, která je případně dostupná biologickým dějům. Definice biopřístupnosti nejsou zatím zcela jednotné.

Rtuť se svými vlastnostmi řadí k těžkým kovům a je jedním z hlavních toxických polutantů ve světových mořích a oceánech. Bioakumulace, schopnost hromadit se v organismu, je jednou z hlavních negativních vlastností rtuti. Z toho důvodu lze předpokládat vyšší obsahy rtuti ve věkově starších rybách. Dalším problémem je biomagnifikace, je to vzrůstající koncentrace rtuti, vzhledem k pozici v potravním řetězci. Nejvíce jsou ohroženy organismy na jeho vrcholu (velké dravé ryby, člověk). Je třeba zmínit také transformace rtuti na toxičtější organické formy zejména methylrtuť. Ta je schopna přecházet přes hematoencefalickou bariéru a placentu a ohrožuje tak přímo nervovou soustavu jak matky, tak i plodu. Proto je nutné sledovat obsahy rtuti v rybách, dělat monitoring a informovat populaci.

2 CÍL PRÁCE

1. Vypracování literární rešerše.
2. Odběr a zpracování vzorků ryb a rybích výrobků.
3. Stanovení celkového obsahu rtuti pomocí AAS na přístroji AMA 254.
4. Stanovení biopřístupných obsahů rtuti ze vzorků ryb a rybích výrobků.
5. Vyhodnocení získaných dat a interpretace výsledků.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Rtuť

3.1.1 Historie rtuti

Už ve starověku byla rtuť známa pro svoje jedinečné vlastnosti. Rtuť byla pro alchymisty mystická látka. Staří Římané si byli vědomi toxicity rtuti. Při těžbě rumělky (cinabaritu) posílali do dolů trestance a otroky, protože věděli, že v tomto prostředí nikdo dlouho nepřežije. Používali cinabarit jako barvivo, například k barvení rtů. Sulfid rtuťnatý (rumělka) je samotný málo toxický a málo rozpustný. Rtuť se v minulosti používala při těžbě stříbra a zlata. V některých afrických státech se používá ještě nyní k řemeslné těžbě (Linhart, 2014).

V minulosti došlo k řadě hromadných otrav rtutí. V Japonsku v zálivu Minamata se v 50. letech 20. století otrávil lidé po konzumaci mořských živočichů a ryb. Továrna na acetaldehyd vypouštěla do moře odpady kontaminované rtutí. Došlo ke znečištění vody a velké bioakumulaci v rybách (Velíšek, 1999).

K další rozsáhlé otravě rtutí došlo v Iráku, kde lidé zpracovali obilí, které bylo určeno na setí, a k moření byl použit organortuťnatý fungicid (Velíšek, 1999).

3.1.2 Základní charakteristika rtuti

Latinský název rtuti je hydrargyrum. Rtuť (Hg) má protonové číslo 80, relativní atomovou hmotnost 200,59 a hustotu 13,53 g/cm³ (Bencko a kol., 1995).

Za pokojové teploty je kapalná se stříbřitě kovovým odleskem. Bod tání elementární rtuti je -38,9 °C. Existuje buď elementární v oxidačním stupni 0, nebo v oxidačním stupni +1 a +2. Tvoří velké množství sloučenin, lišících se chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Bod tání elementární rtuti je -38,9 °C (Komínková, 2008; Houserová a kol., 2006).

3.1.3 Chemické formy rtuti a jejich toxicita

Rtuť se vyskytuje v několika formách. Elementární rtuť, anorganické (jednomocná, dvojmocná, rtuťnaté sloučeniny) a organické formy (Desphade, 2002). Rtuť se svým toxickým chováním řadí mezi endokrinní disruptory, je genotoxická, karcinogenní a teratogenní (Kopp, 2015). Toxicita rtuti spočívá především v reakci rtuťnatého iontu a biomolekul s -SH skupinami. Následuje změna propustnosti biomembrán a poškození intracelulárních enzymů (Komínková, 2008). Hlavními příznaky chronické otravy rtutí jsou záněty dásní, vznětlivost, třes v rukou, poruchy spánku a únava (Linhart, 2014).

3.1.3.1 Elementární rtuť a páry rtuti

Rtuť je za normální teploty tekutá a má schopnost uvolňovat svoje páry. Vstřebatelnost par rtuti je přibližně 80 %. Mezi projevy akutní inhalační otravy patří zánět sliznice dutiny ústní, slinění, průjem, kovová pachut' v ústech a zápal plic. Mezi projevy chronické otravy se řadí třes, nechutenství, zánět ledvin a neurologické poruchy. Pokud je kovová rtuť přijata ústy, její resorbovatelnost je jen 0,01% (Prokeš, 2005).

3.1.3.2 Anorganická rtuť

Jednomocná rtuť vytváří iont Hg_2^{+2} . Vyskytuje se často ve formě halogenidů (Hg_2Cl_2 – kalomel). Kalomel je méně rozpustný ve vodě než další sloučeniny a má i nižší toxicitu. Mezi sloučeniny, které je schopna vytvářet dvojmocná rtuť se řadí oxidy, halogenidy, dusičnany, sulfidy, sírany, chloristany a koordinační sloučeniny (Houserová a kol., 2006). Pro člověka je smrtelná dávka anorganických solí rozpuštěných ve vodě asi 1 g. Z toho vyplývá jejich značná toxicita (Prokeš, 2005). Sulfid rtuťnatý je poměrně stabilní sloučenina a je jen málo toxická (Linhart, 2014). Anorganické formy rtuti, jakými jsou chlorid rtuťnatý, kyanid rtuťnatý, dusičnan rtuťnatý, oxykyanid rtuťnatý, se hromadí především v ledvinách a gastrointestinálním traktu (Houserová a kol., 2006, Komínková, 2008). Chlorid a kyanid rtuťnatý má korozivní účinky v trávicím traktu. Akutní otrava se projevuje krvavým zvracením a břišní kolikou s krví ve stolici. Kvůli dehydrataci může dojít k tachykardii, hypotenzi a celkovému kolapsu. Chronická otrava u těchto sloučenin je nepravděpodobná (Komínková, 2008).

3.1.3.3 *Organická rtuť*

Rtuť ve formě organických sloučenin se v gastrointestinálním traktu vstřebává nejlépe (až z 90 %). Obratlovci zvláště intenzivně přeměňují anorganickou rtuť na organické sloučeniny. Až 85 % rtuti v rybách je v organické formě. Některé druhy rtuť koncentrují až 100000krát. Organické sloučeniny rtuti jsou lipofilní, což je nebezpečné zejména v případech hubnutí, kdy se rtuť uvolňuje do organismu se všemi negativními dopady. (Prokeš, 2005).

Carl (2000) ve své práci *Toxicological effects of methylmercury* uvádí, že methylrtuť je vysoce toxická vůči různým orgánům během celého života. Působí nepříznivě na nervovou soustavu, ledviny, imunitní systém, oběhovou soustavu a reprodukční orgány. Prenatální fáze je z hlediska expozice methylrtutí nejcitlivější (Houserová a kol., 2006).

Dimethylrtuť je velmi toxická, z těla se skoro nevyklučuje, snadno se resorbuje přes kůži a do těla se může dostat i přes běžné ochranné rukavice. Spolu s diethylrtutí je její použití velmi omezené, proto je otrava výjimečná (Linhart, 2014).

Fenylrtuť a metoxyethylrtuť při vdechnutí poškozují plíce. Poškozují také kůži a sliznice. Při prenatální expozici zapříčiňuje neurologické poruchy, zejména opožděný vývoj mozečku, který ovládá pohybový aparát (Komínková, 2008).

Thiomersal (sodná sůl ethyl-2-sulfanylbenzoátohydrargyria) se používá ke konzervaci vakcín (Linhart, 2014). Risher a kol. (2002) publikovali ve své práci *Organic mercury compounds: human exposure and its relevance to public health*, že některé vakcíny obsahovaly místo 0,51 mg až 0,51 g thiomersalu, tato dávka způsobila po aplikaci smrt dětí.

Aromatické sloučeniny, které mají arylhydrargyriové kationty jsou součástí pesticidů. Rtuť se z nich pomalu uvolňuje reduktivní eliminací. Jsou méně toxické než methylrtuť a dimethylrtuť (Linhart, 2014).

Jak již bylo zmíněno, organické sloučeniny Hg mají vysokou afinitu k tukům. Z toho důvodu mohou snáze procházet biologickými membránami. Prochází jak hematoencefalickou bariérou, tak i placentou (Houserová a kol., 2006).

3.1.4 Použití rtuti

Cinabarit je nejčastější formou výskytu rtuti v přírodě. Pražením se z této rudy Hg uvolňuje a unikají tak páry elementární rtuti při současné tvorbě oxidu siřičitého. Tyto páry mohou unikat do atmosféry (Velíšek, 1999).

Používá se nejčastěji pro výrobu baterií, měřících přístrojů, elektrod a spínačů. Jako katodu je rtuť možné použít při výrobě chloru a NaOH elektrolyzou roztoku chloridu sodného. Je součástí fungicidů ve formě fenymerkurichloridu, který se používal na moření osiva. Využívá se při produkci katalyzátorů a nátěrových hmot. Je součástí zubních amalgámů. Rtuť je vysoce toxická, a proto je třeba její použití omezit co nejvíce (Velíšek, 1999).

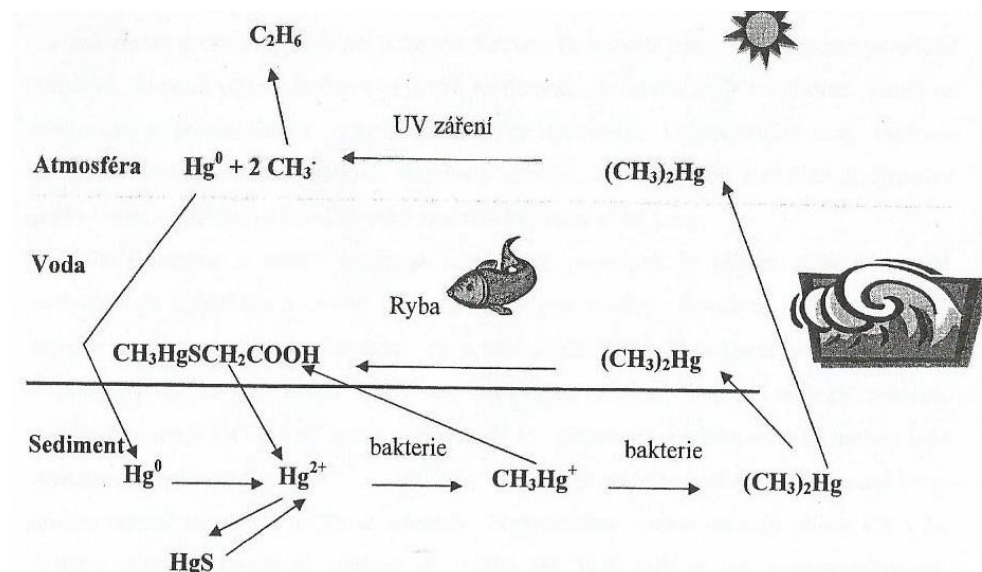
3.1.5 Přeměny chemických forem rtuti

Přeměny rtuti (obrázek 1) se dějí ve všech složkách ekosystému. Mezi nejčastější přeměny patří biotická a abiotická redukce a oxidace. K dalším transformacím dochází mezi formami organickými a anorganickými. Z pohledu toxicity je nejvýznamnější přeměna anorganické formy rtuti na organickou - metylační reakce (Houserová a kol., 2006).

Do vody se rtuť dostává spolu s atmosférickými srážkami a také odpadními vodami odváděnými z průmyslu. Rtuť vniká do organismu ryb především potravou přes trávicí aparát a dále kůží a žábami. V procesu bioakumulace má největší význam příjem a resorpce přes trávicí trakt. Již ve velmi nízkých koncentracích snižuje u ryb vitalitu samčích pohlavních buněk. Také snižuje množení jiker a v neposlední řadě snižuje přežití plůdku (Kopp, 2015).

Methylace rtuti může probíhat za přístupu kyslíku i anaerobně. Ve vodním prostředí k ní dochází za přítomnosti mikroorganismů přítomných v sedimentu (*Methanobacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Bifidobacterium*). Rtuťnaté ionty jsou methylovány, bez přítomnosti enzymů, sloučeninami methylkobalaminu. Rychlost s jakou se MeHg tvoří, závisí na mnoha faktorech. V první řadě závisí na koncentracích jednotlivých látek v reakci, koncentraci O₂, pH, a teplotě vody. Dále závisí na tom, který z mikroorganismů je přítomen a v jaké koncentraci. V prostředí velkého množství huminových kyselin a methylderivátů olova

a cínu může docházet k abiotické metylační reakci. Rtuťnatý kation může v sedimentech reagovat s Cl^- a OH^- ionty za vzniku komplexů (Houserová, 2006).



Obr. 1: Transformace rtuti v ekosystému (Převzato z: Pavlíková, 2008)

3.2 Zdravotní rizika z hlediska konzumace rtuti

V ČR není mnoho lokalit, které by byly významně kontaminovány. Mezi historicky nejvíce kontaminované vodní lokality patří nádrž Skalka u Chebu a řeka Labe. Kontaminace mořských ekosystémů rtutí je mnohem větším rizikem z hlediska konzumace ryb z velmi zatížených oblastí (Kopp, 2015).

WHO určila maximální tolerovanou týdenní dávku rtuti pro člověka na 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a methylrtuti na 1,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Kopp, 2015).

Obsah rtuti v lidském těle je závislý na míře konzumace ryb. Z toho můžeme usoudit, že zamoření vod sloučeninami rtuti je celosvětový problém (Prokeš, 2005).

Za rok 2016 bylo v systému RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) zaznamenáno třicet čtyři hlášení týkajících se nadlimitního množství rtuti v rybách a doplňcích stravy z ryb. Ve 24 případech se jednalo o mečouna s množstvím rtuti pohybujícím se od 1,2 do 2,9 mg/kg , jeden případ doplňku stravy s koncentrací Hg 9 mg/kg , pět případů marlína s koncentrací od 1,4 do 13 mg/kg a 4 případy žraloka s hladinou rtuti od 1,2 do 2,5 mg/kg (Koubová, 2016).

Podle European Environment Bureau, Zero Mercury Working Group – ZMWG, Health and Environment Alliance – HEAL by měl úřad EFSA snížit TWI (tolerovatelný týdenní příjem) rtuti v rybách ze 1,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pod 0,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tělesné hmotnosti. Odkazují se na zprávu instituce ZMWG s názvem „An overview of Epidemiological Evidence on the Effects of Methyl Mercury on Brain Development, and A Rationale for a Lower Definition of Tolerable Exposure“, která obsahuje shrnutí výzkumu o vlivu MeHg na vývoj mozku a poukazuje zejména na negativní případy z Japonska. „A New Global Picture Emerges“ obsahuje rady organizace ZMWG, jak snížit rizika z methylrtuti, různými zásahy vlád a dalších stran. Zmíněné organizace vítají nejaktuálnější stanovisko EFSA na snížení TWI z 1,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (stanoveno v r. 2003) na 1,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ale stále ho nepovažují za uspokojivé. V USA je týdenní dávka stanovena na 0,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Jsou výzkumy, které poukazují na negativní vliv této hladiny Hg. CONTAM (Panel pro kontaminanty v potravinovém řetězci) navrhl hodnotu 1,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Odůvodnil ji tím, že klady jsou převažující nad riziky z konzumace ryb. Je třeba uvážít, že pozitivní a negativní složky rybího masa se mohou projevit zcela individuálně a rozdílně. Není možné říci, že je lepší jíst hodně ryb s nízkou koncentrací methylrtuti než málo ryb. V Evropské unii existují oblasti, kde jsou ryby hlavním zdrojem bílkovin a konzumují vyšší množství ryb než je průměr. Preferují ovšem druhy ryb s přirozeně vyšší koncentrací rtuti a jsou tak vystaveni nadměrnému množství methylrtuti. Nedávno proběhl EU-biomonitoring, jehož výsledkem bylo zjištění, že třetina lidí v sedmnácti členských státech má obsah methylrtuti ve vlasech nad 0,56 $\mu\text{g}/\text{g}$, což je hladina uznávaná vědeckými studiemi jako bezpečná. V EU se ročně narodí 5,4 milionu dětí a z toho 1,8 milionu je ohrožováno vysokou hladinou MeHg od matky. Zmíněné organizace vyzývají Evropskou komisi, aby úřad EFSA vypracoval nové stanovisko a podnikl kroky na podporu konzumace ryb s přirozeným nízkým obsahem methylrtuti (Suková, 2013).

Evropský úřad pro bezpečnost potravin a Světová zdravotnická organizace vydaly doporučení o druzích ryb obsahujících nízkou koncentraci rtuti. Mezi tyto druhy se řadí chovaní pstruzi nebo sumci, garnáti, tresky skvrnité, platýsi ulovení v létě, středoatlantičtí modří krabi a pacifičtí lososi. Naopak rizikovými druhy z hlediska kontaminace rtutí jsou žraloci, mečouni, makrely královské, steaky z tuňáků, mořští okouni, ústřice z golfského pobřeží, platýsi obrovští, štiky (Suková, 2001).

3.3 Limity rtuti v potravinách

Maximální limity rtuti jsou uvedeny v Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ve znění pozdějších předpisů (Příloha 1). Limit rtuti je pro produkty rybolovu stanoven na 0,5 mg/kg a u vybraných druhů je 1 mg/kg. Dále nařízení uvádí limit množství rtuti v doplňcích stravy 0,1 mg/kg.

3.4 Spotřeba ryb

Průměrná spotřeba ryb v České republice se od roku 2007 pohybuje okolo 5,6 kg/osobu/rok. V roce 2015 činila spotřeba ryb 5,5 kg/osobu/rok (Vodičková, 2016). Vývoj spotřeby za posledních devět let je zobrazen na obrázku 2. Dříve se zvlášť zaznamenával údaj pro ryby mořské a zvlášť pro sladkovodní, dnes už se sleduje pouze spotřeba ryb celkem. Obecně platí, že v ČR je spotřeba mořských ryb asi čtyřikrát vyšší než spotřeba ryb sladkovodních. Spotřeba ryb se v ČR pohybuje pod průměrem Evropské unie, který činí okolo 11 kg/osobu/rok. Naproti tomu přímořské státy EU jsou se svou spotřebou ryb dlouhodobě nad průměrem (ČSÚ; Ženíšková, 2016).



Obr. 2: Spotřeba ryb v ČR od roku 2007 (Zdroj: ČSÚ)

3.5 Chemické složení rybího masa

Voda, proteiny a lipidy tvoří základní složku svaloviny ryb. Dalšími látkami, které jsou zastoupeny v menším množství, jsou sacharidy vitamíny a minerální. Skladba rybí svaloviny a celého těla závisí na mnoha činitelích. Nejvíce ovlivňuje složení masa druh ryby, prostředí, ve kterém ryba žije, fáze pohlavního cyklu, pohlaví a věk ryb. Podle obsahu tuku se ryby dělí na ryby libové, středně tučné a tučné (Ingr, 2010).

3.5.1 Voda

Obsah vody se pohybuje mezi 50 až 80 % a je nepřímo závislý na obsahu tuku. Ryby s nízkým podílem tuku obsahují až 80 % vody, tučné ryby cca 70 %. Například úhoř, který se řadí k tučným rybám, obsahuje do 50 % vody. Obsah vody u stejné ryby se liší i v jednotlivých částech svaloviny. Jestliže se blíží doba tření, obvykle množství vody v těle narůstá (Ingr, 2010).

3.5.2 Tuk

Obsah tuku se pohybuje mezi 1 až 35 %. Je závislý na mnoha faktorech, například na věku ryb a pohlavním cyklu. Se zvyšujícím se obsahem tuku v rybím těle klesá hodnota bílkovin a vody. Nejmenší podíl tuku (pod 2 %) obsahují v těle libové ryby a ze sladkovodních k nim patří štika, candát, okoun a většina treskovitých ryb. Ke středně tučným rybám se řadí losos, pstruh, kapr, sumec a ryby platýsovitě s obsahem mezi 2 až 10 % tuku. Tučné ryby jako jsou sledř, makrela, úhoř, šprot a další obsahují nad 10 % tuku. U některých druhů je většina tuku soustředěna v játrech. U tresky obsahují játra 40 až 65 % tuku na rozdíl od svaloviny, která ho obsahuje jen 0,4 %. Opakem je třeba tuňák, jehož játra jsou malá, ale v jiných částech těla je tuk zastoupen až z 23 %. Skladba lipidů rybího těla je velmi specifická a je dána mnoha vlivy. Jedním z nich je cílová funkce tuku, skladba potravy a teplota vody. Tuky obsahují velké množství polyenových mastných kyselin řady n-3, hlavně eikosapentaenovou kyselinu a dokosahexaenovou kyselinu. Nevýhodou je náchylnost rybího tuku ke žluknutí z hlediska vysokého obsahu nenasycených mastných kyselin (Ingr, 2010).

3.5.3 Bílkoviny

Hodnota bílkovin se v rybí svalovině pohybuje okolo 15 – 20 %. Výjimečně může být mimo tyto hodnoty. Rybí maso obsahuje všechny esenciální aminokyseliny ve výhodných poměrech. Rybí maso se snadno tepelně upravuje, protože mezi svalovými vlákny není téměř žádné vazivo a vůbec neobsahuje elastin (Ingr, 2010).

3.5.4 Minerální látky

Obsah minerálních látek se pohybuje mezi 1 – 2 %. Hlavní podíl obsahují kosti, ve kterých je primárně obsažen vápník a fosfor. Při technologickém zpracování některých ryb jsou kosti změkčovány a konzumují se spolu s rybím masem. V zemích Jižní Ameriky a ve Středomoří se malé ryby, zpracované na konzumaci vcelku, stávají hlavním zdrojem vápníku v lidské stravě. Ve sto gramech konzervovaných sardinek je zhruba 450 mg fosforu 330 mg vápníku. Jód je ve velkém množství obsažen v mořských rybách (až 190 mg/100 g). U sladkovodních ryb je obsah jodu jen kolem 4 miligramů. Ryby mají také obecně nízký obsah sodíku a vysoký obsah draslíku (Ingr, 2010).

Selen je dalším významným mikroprvkem obsaženým v těle ryb. Pro člověka je esenciální a v organismu se vyskytuje vázaný na proteiny. Je to významný antioxidant (Sampels, 2014).

3.5.5 Vitamíny

Rybí maso obsahuje především vitamíny rozpustné v tucích, konkrétně vitamín A a D. Z vitamínů rozpustných ve vodě obsahuje vitamín B₁ (thiamin), B₂ (riboflavin), nikotinovou kyselinu, B₆ (pyridoxin), B₁₂ (kobalamin). Úhoř, tuňák a ze sladkovodních ryb kapr a pstruh obsahují hodně vitamínu A. Je obsažen nejvíce v jejich játrech. Obsah vitamínu D je závislý zejména na obsahu tuku a mezidruhově se liší. Nachází se v rybách se ve formě cholekalciferolu (vitamín D₃). Jeho hlavním zdrojem je tuňák, losos, úhoř, sled' a makrela. Kobalamin a riboflavin je obsažen hlavně ve svalovině makrel a sled'ů, stejně tak jako pyridoxin, který se dále vyskytuje v mase tuňáků,

pstruhů a lososů. Vyšší obsah kyseliny nikotinové obsahuje maso tučných ryb. Maso lososů a pstruhů je také bohaté na kyselinu pantotenovou (Ingr, 2010, Sampels, 2014).

3.6 Nutriční aspekty konzumace ryb

Bílkoviny v rybím mase jsou tzv. plnohodnotné. Jsou v nich obsaženy veškeré esenciální aminokyseliny ve vyrovnaném poměru. Aminokyseliny mají vysokou využitelnost, protože limitující AMK se svým obsahem velmi blíží zbývajícím esenciálním aminokyselinám (Ingr, 2010). V článku Fish nutrients decrease expression levels of tumor necrosis factor- alpha in cultured human macrophages uvádí Rudkowska a kol. (2010) možné důvody nutričního a zdravotního významu konzumace bílkovin obsažených v rybím mase. Autoři zmiňují vysoký obsah semiesenciální aminokyseliny argininu, glycinu a taurinu. Glycin působí inhibičně na TNF α (tumor necrosis factor α) a inhibuje i interleukin-6 (IL6), který působí prozánětlivě. Z toho vyplývá, že v rybím mase se nachází látky, které spolu s nenasycenými mastnými kyselinami řady n-3 působí významně proti zánětu (Sampels, 2014).

Další výživově hodnotnou složkou ryb jsou lipidy. Jsou ceněné především pro schopnost snižovat hladinu cholesterolu v krvi. Nejvíce se zde uplatňují polyenové mastné kyseliny (eikosapentaenová kyselina a dokosahexaenová kyselina). Z tohoto pohledu jsou kvalitnější tuky mořských ryb v porovnání s tuky ryb žijících ve sladké vodě (Ingr, 2010).

Jód je přijímán zejména z mořských ryb a je důležitý především v průběhu těhotenství. Při nedostatku jodu během vývoje plodu dochází k poškození mozku a zpomalení vývoje. Samotný stupeň postižení souvisí s tím, jak velký nedostatek jódu měla matka během těhotenství (Kasper, 2015).

Selen je pro člověka biodostupnější z ryb ve srovnání s kvasnicemi (Fox a kol., 2004). Nedostatek selenu je dáván do souvislosti se srdečním infarktem a úmrtími na srdečně-cévní onemocnění. Selen, pokud je v dostatečné koncentraci, snižuje toxické působení methyrtuti na organismus (Ralston a Raymond, 2010 cit. podle Sampels, 2014).

3.7 Popis analyzovaných druhů ryb

V kapitole jsou uvedeny charakteristiky jednotlivých druhů analyzovaných ryb.

3.7.1 Tuňák obecný (*Thunnus thynnus*)

Tuňák obecný se dožívá zhruba 15 let při hmotnosti až 600 kg a délce větší než čtyři metry. Má vysoké vřetenovité tělo s dlouhou hlavou. Ocasní ploutev má tvar půlměsíce. Pohlavně dospěje v délce 1 metru ve věku 3 až 4 let. Obývá oblast mezi obratníky Raka a Kozoroha, žije ve všech teplých mořích i oceánech. Tuňáci žijí v hejnech a živí se dravě především sardinkami, makrelami, sardelemi a sledi. Má tučné červené maso a většinou se zpracovává do konzerv, ale také na výrobu filé, sushi a sašimi. Je to nejdražší obchodovaná ryba, cena za kus se může vyšplhat až k několika milionům (Frank, 1997; Hanel, 2013).

3.7.2 Tuňák žlutoploutvý (*Thunnus albacares*)

Jeho tělo je asi 2,5 metru dlouhé, typického tvaru. Váží až kolem 200 kilogramů. Paprskovitá hřbetní ploutev je nejprve vyšší a postupně se zkracuje. Řitní a druhá hřbetní ploutev má nízkou bázi a je do špičky. U Evropy se může objevit v jihozápadní části, ale obvykle obývá tropické a subtropické vody, ve Středozezemním moři se nevyskytuje. Nežije v hloubkách nad 250 metrů. Živí se tažnými rybami – sardinkami, makrelami; koryši a hlavonožci (Hanel, 2013).

Jejich maso je ceněné do konzerv, ale i za syrova na carpaccio či k pečení, grilování a vaření. Je to nejvíce obchodovaný druh na českém trhu. Pochází nejčastěji z Malediv, Srí Lanky a Filipín (Sampels 2014).

3.7.3 Tuňák velkooký (*Thunnus obesus*)

Tuňák velkooký dorůstá délky 2,5 metru o maximální váze 210 kg. Může se dožít i jedenácti let. Mladí tuňáci se zdržují v hejnech u hladiny a živí se rybami, hlavonožci a korýši (Hanel, 2013).

Syrová svalovina má temně rudou barvu. Obsah bílkovin je vyšší mezi 20 – 23 % a obsah lipidů kolísá mezi 1 – 10 %. Je také ceněn pro obsah fosforu a draslíku (Sampels, 2014).

3.7.4 Žralok modrý (*Prionace glauca*)

Žralok dostal své jméno podle tmavě modrého zabarvení jeho hřbetu. Břicho má bílé a boky modré. Má dlouhou tlamu do špice, velké oči a srpovité ploutve. Jeho zuby mají trojúhelníkový tvar a po obou stranách pilkovitý okraj. Dorůstá délky až 4 metry a váhy až 200 kg. Průměrně se ale vyskytují jedinci vážící okolo 30 kg. Žralok modrý je rozšířen od pobřeží Středozeří podél Pyrenejského poloostrova přes západní pobřeží Velké Británie a Irsko, až k pobřeží Norska na jihovýchodě. Objevuje se i v Severním moři avšak pouze v teplém letním období. Většinou žije na otevřeném moři, ale může se vyskytovat ve větších skupinkách i okolo pobřeží. Nejčastěji žije v hloubkách až 150 metrů, za kořistí dokáže překonat obrovské vzdálenosti. Živí se nejčastěji rybami žijícími v hejnech jako jsou makrely, sledi, ale i chobotnicemi (Janitzki, 2008).

3.7.5 Marlín indický (*Macaira indica*)

Marlín indický má na svém těle silné, podlouhlé a zkostnatělé šupiny s ostrým hrotem. V jeho zbarvení převládá tmavě modrá, avšak břicho má stříbrně bílé. Dospělí jedinci na těle nenesou žádné tmavé pruhy ani skvrny. Charakteristický je mečovitý výběžek, který má délku skoro jedné třetiny těla. Marlín indický žije ve vodách v tropického a subtropického Pacifiku a Indického oceánu v hloubce až 800 m. Málokdy se vyskytuje v klidných vodách. Jedná se o tažnou rybu, která v létě vyhledává chladné vody a na podzim se vrací zpět do vod teplých. Je to dravec a také je dobrým a rychlým plavcem. Když loví, dokáže plavat rychlostí až sto kilometrů v hodině. Živí se především různými druhy tuňáků (žlutoploutvým, pruhovaným) a makrel. Dorůstá

délky až 4 metry a váží až 700 kg. Pohlavní dospělost se u něj projevuje kolem 5. až 6. roku. Na prodej se loví marlíni většinou ve dvou lokalitách. V Indickém oceánu se chytají kusy o rozměrech 1,7 až 2,1 metru (do 3,1 metru) a v Korálovém moři nejčastěji mezi 1,8 až 2,4 metry (Anonym 1).

3.7.6 Marlín bílý (*Tetrapturus albidus*)

Tělo marlína je torpédovité se dvěma podélnými kýly po stranách ocasu. Charakteristická je protažená horní čelist v dlouhý, špičatý výrůstek. Spodní čelist je kratší. Dorůstá délky až 2,5 metru a hmotnosti až 75 kg (Frank, 1997; Terofal, 1996).

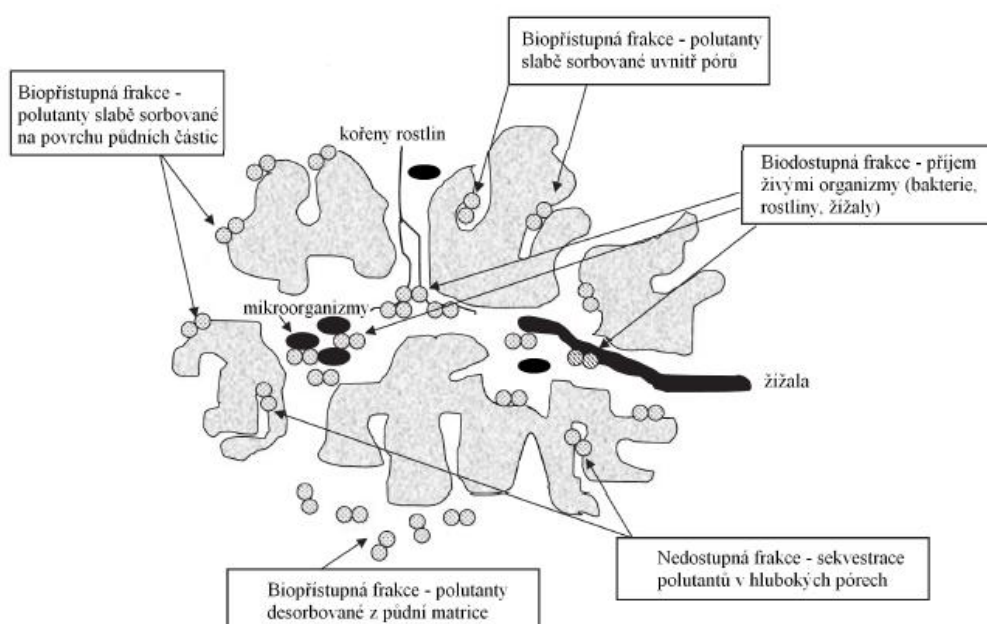
Obývá Atlantik od Kapského města po Biskajský záliv a od Brazílie po mys Cod. Má dlouhé útlé prsní ploutve a přední část jeho první hřbetní ploutve je zakulacena. Na širém moři marlíni loví ryby žijící v hejnech, často makrely a tuňáky. Jsou to rychlí a silní plavci, ale o jejich rozmnožování není příliš známo (Terofal, 1996).

3.8 Biodostupnost a biopřístupnost

Definice pojmů biodostupnosti a biopřístupnosti nejsou ještě zcela sjednocené. Různí autoři definují tyto pojmy v odlišných souvislostech a z jiných pohledů.

Čvančarová a kol. (2015) ve své práci *Metody stanovení biopřístupné a biodostupné frakce hydrofobních organických polutantů* definuje pojem biopřístupnost (bioaccessibility) jako: „určitou část z celkového množství kontaminantu, která je potenciálně dostupná pro biologické děje“.

Na obrázku 3 jsou schematicky znázorněny rozdíly mezi nedostupnou, biopřístupnou a biodostupnou frakcí na modelu půdy.



Obr. 3: Schématické znázornění biopřístupné, biodostupné a nedostupné frakce organických polutantů v půdách (Převzato z: Čvančarová, 2015)

Semple (2004) ve své práci *Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment* is complicated napsal, že pokud organismus přijde do kontaktu s biopřístupnými kontaminanty, mohlo by dojít k jejich přestupu přes biomembrány. Biopřístupná frakce obsahuje nejen kontaminanty volně rozpuštěné, ale i ty vázané slabými vazbami na povrch půdních částic. Na rozdíl od biodostupné frakce, kterou definuje jako pouhou součást složky biopřístupné. Biodostupná frakce je množství kontaminantu aktuálně dostupné pro organismy. Biodostupná část má schopnost se bioakumulovat, a tak působit toxicky. Může být v buňkách biotransformována nebo biodegradována.

Biodostupnost (bioavailability) zahrnuje vstřebatelnost škodliviny, její stálost v prostředí, kde ke vstřebávání dochází (pH, přítomnost enzymů), stupeň disperze, ztráty, způsobené prostupem tkáněmi na vstupu, přeměnou v játrech a vyloučením v ledvinách. Jen to, co se vstřebalo a bylo dopraveno k cílové tkáni, může mít na organismus účinek (Prokeš, 2005).

3.9 Metoda UBM

UBM metoda (Unified BARGE method) je „*in vitro*“ metoda, která napodobuje lidský trávicí trakt pomocí tří samostatných částí: úst, žaludku a tenkého střeva. Slouží k analýze pevných matric, ve kterých se zjišťuje biopřístupnost anorganických kontaminantů. Za splnění podmínky podobného chování testovaného vzorku, jako v matricích vzorků použitých ve validační studii může být metoda aplikována i na sediment, popel, zeleninu, prach a jiné matrice. Použitými roztoky je třeba co nejvíce napodobit tekutiny v trávicím traktu, to znamená sliny, žaludeční a střevní šťávy a žluč. Veškeré vzorky jsou inkubovány při teplotě 37 °C (lidská tělesná teplota) a všechny části postupu musí být časově separovány (Wragg a kol., 2009; Roussel a kol., 2010; Juhasz a kol., 2011; Wragg a kol., 2011; Pelfréne a kol., 2011; Foucault, 2013).

BARGE (Bioaccessibility Research Group of Europe) sdružuje výzkumné týmy a mezinárodní ústavy, které studují lidskou biopřístupnost významných polutantů v půdě prostřednictvím trávicího traktu. Mezi nejvýznamnější znečišťující látky se řadí - kadmium, arsen, olovo, které jsou pro člověka potenciálním nebezpečím. Van de Wiele a kol., 2007; Poggio a kol., 2009; Wragg a kol., 2011; Pelfréne a kol., 2012 se touto problematikou zabývají ve svých odborných pracích.

Studie biologické dostupnosti „*in vivo*“ z živých organismů je velmi složitá, časově, náročná, nákladná a problematická z hlediska etického. Jsou proto prováděny v menší míře (Stanek a kol., 2010, Juhasz a kol., 2009a, 2009b; Juhasz a kol., 2011; Pelfréne a kol., 2011). V roce 2005 se evropská síť BARGE rozhodla vyvinout a standardizovat UBM „*in vitro*“ test. Základem pro tuto metodu se stala dříve popsaná RIVM metoda (Oomen, 2000; Oomen a kol, 2002, 2003). Metoda byla vybrána z důvodů vytvoření reprezentativních podmínek vzhledem k fyziologickým podmínkám trávicího aparátu malého dítěte (Oomen a kol, 2002; Caboche 2009; Wragg a kol., 2009; Wragg a kol., 2011).

Ke sjednocení metody bylo použito mezinárodní mezi-laboratorní srovnávací cvičení za účasti: Nizozemského institutu veřejného zdraví (RIVM), DHI soil and water (z Dánska), INERIS (z Francie), University of Ghent (z Belgie), Ohio State University (z USA), Royal Military College of Canada (RMC) a britské geologické služby (BGS), která zaujala roli při hodnocení.

3.10 Stanovení rtuti v potravinách

Mezi nejběžnější metodu, kterou se stanovuje množství celkové rtuti je atomová absorpční spektrometrie (AAS). Existují i jiné metody, například metoda indukčně vázaného plasmatu s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie (ICP-MS), atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) nebo atomová emisní spektrometrie (AES), které jsou stručně popsány níže. Existují i další metody analýzy rtuti, jako například neutronová aktivační analýza (NAA) nebo anodická rozpouštěcí volumetrie (ASV), ale nejsou běžně používané (Houserová a kol., 2006).

3.10.1 Metoda indukčně vázaného plasmatu s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie (ICP-MS)

Principem této metody je ionizace významné frakce molekul nebo atomů v plasmatu. Indukčně vázané plasma je použito jako zdroj ionizace za atmosférického tlaku. Kapalný vzorek je převeden na plynnou fázi a unášen proudem argonu do hořáku, kde je plasma vytvořeno pomocí střídavého vysokofrekvenčního magnetického pole. Zde se odpaří rozpouštědlo a volné atomy ve formě kladně nabitých iontů jdou do přechodové komory, kde je nízký tlak. Následuje kvadrupólový detektor, kam se ionty dostávají pomocí soustavy elektromagnetických čoček. Na povrch zesilovače tak dopadají v daném čase pouze ionty, které mají dopředu zvolenou hmotnost. Vzniká tak elektrický proud, který je slabý, proto je zesílen zesilovačem a měří se jeho intenzita. Program převede data na koncentraci měřených prvků v měřeném vzorku (Nollet, 2004).

3.10.2 Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)

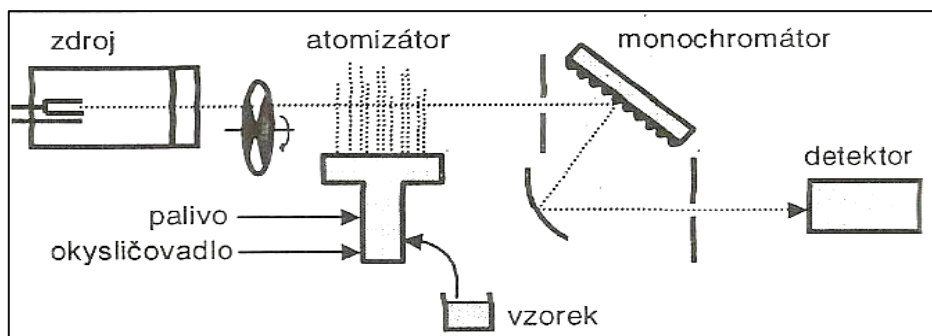
AFS měří emitované záření atomů v plynném stavu. Tyto atomy jsou excitovány na základě absorpce elektromagnetického záření (Klouda, 2003).

3.10.3 Atomová emisní spektrometrie (AES)

Atomová emisní spektrometrie sleduje emisi elektromagnetického záření volných atomů v plynném vzorku. Součástí instrumentace je budící zdroj (jiskrový, plasmový nebo obloukový výboj), optický spektrometr a počítač. Vyhodnocují se analytické čáry, jejichž vlnové délky pro každý prvek, jsou tabelovány. Využívá se jak ke kvalitativní, tak ke kvantitativní analýze (Klouda, 2003).

3.10.4 Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

Principem metody je schopnost atomů (v plynném stavu) absorbovat záření o vhodné vlnové délce. Měříme absorbanci, která je přímo úměrná koncentraci prvku, který chceme stanovit (Lambert-Beerův zákon). Metoda je použitelná až pro šedesát prvků periodické soustavy. Zdrojem záření je výbojka s dutou katodou. Jako anoda je použit drátek z molybdenu nebo wolframu a anoda musí být stejná jako kov, který chceme stanovit. Následuje atomizátor, kde je vzorek převeden na volné atomy. Existují dva druhy atomizátorů - plamenový a elektrotermický. Při atomizaci mohou negativně působit různé interference (aniontové vlivy, spektrální a ionizační interference nebo aniontové vlivy stálých oxidů). Další součástí je monochromátor, který tvoří mřížka a jako detektor je připojen fotonásobič, který je nakonec napojen na počítač. Atomové absorpční spektrometry se dále rozdělují na jednopaprskové (obrázek 4) a dvoupaprskové (Komárek, 2000; Klouda, 2003).



Obr. 4: Schéma atomového absorpčního spektrometru (Převzato z: Klouda, 2003)

Pro stanovení celkového obsahu rtuti se nejčastěji používá Advanced Mercury Analyser AMA 254, který bude dále popsán v experimentální části.

3.10.5 Speciace chemických forem rtuti

Pro speciální analýzu chemických forem rtuti se nejčastěji používají metody využívající plynovou chromatografii, vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii nebo kapilární elektroforézu. Dříve se využívalo selektivní jednobodové nebo dvoubodové extrakce a následné analýze na atomovém absorpčním (AAS) nebo fluorescenčním (AFS) spektrofotometru. Častou metodou, která se využívá nyní, je plynová chromatografie, jejímž principem je převedení všech analytických složek na těkavé formy. Ty však musí být teplotně stabilní. Následuje separace jednotlivých forem a detekce pomocí ECD (detektor elektronového záchytu), ICP-MS a dalších. Předností použití kapalinové chromatografie je snadnější úprava vzorku před analýzou a průběh za laboratorní teploty. Separace probíhá na reverzní fázi, někdy se před tím používá zkoncentrování vzorku pomocí extrakce na tuhé fázi (SPE). Jako detektor slouží již zmíněný AAS nebo AFS a ICP-MS (Houserová a kol., 2006).

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Materiál a metody

Vzorky ryb a rybích výrobků byly zakoupeny v obchodních řetězcích v ČR v letech 2014 až 2016. Jednotlivé vzorky byly naporcované a vakuově balené. V laboratoři byly po analýze vzorky dále uchovávány při -20 °C. Nejprve bylo ve vzorcích stanoveno celkové množství rtuti na přístroji AMA 254. Dále byl proveden UBM test pro zjištění biopřístupnosti rtuti z jednotlivých vzorků ryb.

4.1.1 Vzorky ryb

Každý vzorek byl zakoupen třikrát. Analýza biopřístupných a celkových obsahů rtuti byla provedena vždy ve třech opakováních. V laboratoři probíhal v letech 2014 až 2016 monitoring měření obsahů rtuti v rybách a rybích výrobcích běžně dostupných v obchodech v České republice. Na základě těchto výsledků byly vybrány vzorky pro analýzu biopřístupnosti rtuti. U vzorku marlína mraženého bylo zakoupeno pět šarží, u vzorku uzeného marlína značky Principesca byly zakoupeny čtyři šarže, vzorek uzeného tuňáka Principesca byl koupen ve dvou šaržích. Ostatní vzorky byly zakoupeny po jedné šarži od každého.

Název: Marlín mražený

Vzorek č.: 1-5

Druh: Marlín bílý

Latinsky: *Tetrapturus albidus*

Prodávající: Kimbex, s.r.o.

Země původu: Španělsko

Oblast odlovu: FAO 87



Název: Marlín uzený Principesca

Vzorek č.: 6-9

Druh: Marlín indický

Latinsky: *Macaira indica*

Prodávající: Losica s.r.o.

Země původu: Itálie

Oblast odlovu: FAO 57



Název: Tuňák steak mražený

Vzorek č.: 10

Druh: Tuňák žlutoploutvý

Latinsky: *Thunnus albacares*

Výrobce: Kimbex s.r.o.

Země původu: Španělsko

Oblast odlovu: FAO 51,57



Název: Tuňák uzený Principesca

Vzorek č.: 11-12

Druh: Tuňák žlutoploutvý

Latinsky: *Thunnus albacares*

Prodávající: Losica s.r.o.

Země původu: Itálie

Oblast odlovu: FAO 71



Název: Tuňák uzený Varmuža

Vzorek č.: 13

Druh: Tuňák obecný

Latinsky: *Thunnus thynnus*

Výrobce: Delimax a.s.

Země původu: Česká republika

Oblast odlovu: FAO 71



Název: Tuňák velkooký uzený

Vzorek č.: 14

Druh: Tuňák velkooký

Latinsky: *Thunnus obesus*

Výrobce: Líšno a.s.

Země původu: Česká republika

Oblast odlovu: FAO 51



Název: Žralok uzený Klatovy

Vzorek č.: 15

Druh: Žralok modravý

Latinsky: *Prionace glauca*

Výrobce: Zpracovna ryb Klatovy a.s.

Země původu: Česká republika

Oblast odlovu: FAO 27



Název: Žralok steak mražený

Vzorek č.: 16

Druh: Žralok modravý

Latinsky: *Prionace glauca*

Výrobce: Kimbex s.r.o.

Země původu: Španělsko

Oblast odlovu: FAO 34



4.1.2 Použité chemikálie

Pro přípravu trávicích roztoků byly použity chemikálie: kyselina dusičná (PENTA, 65% p. a.), deionizovaná voda (Merck, Millipore), dihydrogenfosforečnan sodný (Merck), chlorid sodný (Prolabo), thiokyanatan draselný (Sigma), síran sodný (VWR), chlorid draselný (Merck), chlorid vápenatý dihydrát (VWR), chlorid amonný (Prolabo), hydrogenuhličitan sodný (Prolabo), dihydrogenfosforečnan draselný (Prolabo), chlorid hořečnatý hexahydrát (Sigma), hydroxid sodný (Prolabo), kyselina chlorovodíková (Analytika Ltd.), močovina (Merck), D-glukóza (VWR), D-glukuronová kyselina (Sigma), D-glukosamin hydrochlorid (Sigma), pepsin (Merck), albumin (Merck), mucin *porcina* (Sigma), močová kyselina (Sigma), pankreatin (Merck), α -amyláza *bacillus* (Sigma), lipáza (Sigma) a žluč (Sigma).

4.1.3 Použité přístroje a pomůcky

Pro experiment byly použity tyto přístroje a pomůcky: zařízení na výrobu deionizované vody MilliQ (Merck Millipore, Německo), analytické váhy (Denver Instrument, Německo), orbitální třepačka OS-10 (Biosan, Lotyšsko), sterilizátor ECOCELL (BMT Medical Technology s. r. o., Česká republika), pH-metr WTW (InoLab, Německo), centrifuga EBA 21 (Hettich Zentrifugen, Německo), mikropipety Eppendorf, plastové lžičky, lodičky a nádobky (50 ml), jednoúčelový atomový absorpční spektrometr AMA 254, polykarbonátové zkumavky (Nalgene) a odměrné baňky (50, 100, 250 a 500 ml).

4.1.4 Pracovní postup UBM testu

4.1.4.1 Příprava trávicích roztoků

Tab. 1: Složení roztoků trávicích šťáv použitých pro UBM test (Foucault, 2013).

	Sliny	Roztok žaludečních šťáv	Roztok střevních šťáv	Žluč
Hodnota pH	6,5 ± 0,5	1,0 ± 0,2	7,4 ± 0,2	8,0 ± 0,2
Anorganická část	KCl Na ₂ H ₂ PO ₄ KSCN NaSO ₄ NaCl HCl (37 %)	NaCl Na ₂ PO ₄ KCl CaCl ₂ NH ₄ Cl HCl (37 %)	NaCl NaHCO ₃ KH ₂ PO ₄ KCl MgCl ₂ HCl (37 %)	NaCl NaHCO ₃ KCl HCl (37 %)
Organická část	močovina	močovina glukóza glukuronová kyselina glukosamin hydrochlorid	močovina	močovina
Přídavné látky	α -amyláza mucin kyselina močová	albumin mucin pepsin	CaCl ₂ albumin pankreatin lipáza	CaCl ₂ albumin žluč

Před začátkem *in vitro* testu bylo nutné připravit roztoky předem. V tabulce 1 je uvedeno složení všech potřebných roztoků. Roztoky se skládaly z anorganické části a organické části. Výsledný objem byl upraven Milli-Q vodou. Enzymy a další přídavné látky byly přidány až po úplném rozpuštění základních komponent. Následně byly roztoky přes noc uloženy při laboratorní teplotě. Další den byly roztoky vytemperovány na 37 °C, což je teplota přirozená pro lidský organizmus. Ještě bylo třeba upravit pH na výše uvedené hodnoty u jednotlivých roztoků pomocí NaOH případně HCl (Caboche, 2009; Juhasz a kol., 2011; Pelfrene a kol., 2011; Foucault, 2013).

4.1.4.2 Příprava vzorku

Do polykarbonátové Nalgene zkumavky bylo vždy ve třech opakováních naváženo $0,6 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ od každého vzorku ryb a rybích výrobků. První serie vzorků reprezentovala gastrickou fázi GT a druhá gastro-intestinální fázi GIT (Foucault, 2013).

4.1.4.3 Postup testu

Nejméně dvě hodiny před začátkem pokusu byla v sušárně nastavena teplota $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Potřebné trávicí roztoky byly v sušárně hodinu temperovány na teplotu lidského těla. Zkontrolovali jsme pH všech roztoků, abychom se ujistili, že odpovídá požadovanému rozmezí. Po úpravě pH byl ke všem vzorkům přidán roztok slin. Všechny vzorky byly ručně promíchány po dobu 2 minut a následně byl přidán gastrický roztok. pH bylo upraveno na hodnotu $1,2 \pm 0,05$. Při teplotě $37 \text{ }^\circ\text{C}$ byla reagující směs míchána pomocí třepačky jednu hodinu. Po vytřepání byla směs vzorků gastrické fáze (GT) odstředěna při 3000 otáčkách podobu pěti až osmi minut na odstředivce. Aby se zabránilo nechtěným reakcím ve vzorku, byla k němu přidána koncentrovaná 65% HNO_3 . Druhá část pro gastrointestinální fázi (GIT), byla po hodině třepání vzata k proměření pH. Následně k ní byl přidán roztok intestinální a žlučový. Hodnota pH se po přidání roztoků musela pohybovat v rozmezí $6,3 \pm 0,05$, případně byla upravena hydroxidem sodným nebo kyselinou chlorovodíkovou. Výsledná směs byla vrácena zpět na třepačku a promíchávána při $37 \text{ }^\circ\text{C}$ čtyři hodiny. Nakonec byly vzorky odstředěny při 3000 otáčkách po dobu pěti až osmi minut na odstředivce a přidána koncentrovaná 65% HNO_3 pro konzervaci vzorku. Reprezentativní vzorky gastrické fáze (GT) a gastrointestinální fáze (GIT) byly skladovány v chladničce při teplotě $4 \text{ }^\circ\text{C}$ a další den analyzovány pomocí atomového absorpčního spektrometru AMA 254 (Caboche, 2009; Wragg a kol., 2009; Roussel a kol., 2010; Juhasz a kol., 2011; Pelfrene a kol., 2011; Wragg a kol., 2011; Foucault, 2013).

4.1.5 Jednouúčelový atomový absorpční spektrometr AMA 254

4.1.5.1 Popis spektrometru AMA 254

AMA (Advanced Mercury Analyser) 254, je jednouúčelový atomový absorpční spektrometr pro stanovení celkových obsahů rtuti (obr. 5). Principem je generování par kovové rtuti, které se zachycují a obohacují na zlatém amalgamátoru. Vzorek o známém objemu nebo navážce se umístí na dávkovací lodičku a pokynem počítače se zavede do spalovací trubice.

Ve spalovací peci je proveden termický rozklad vzorku, vzorek se nejdříve vysuší a poté spálí. Druhou část spalovací trubice vyplňuje katalyzátor, který je katalytickou pecí vyhříván na konstantní teplotu cca 550 °C.

Na zlatém amalgamátoru se zachytí a obohatí kovové páry rtuti. Spektrometr umožňuje stanovení celkového obsahu rtuti v kapalných a pevných vzorcích bez nutnosti chemické úpravy. Amalgamátor slouží pro zachycení par rtuti z proudu plynných produktů rozkladu vzorku. Zachycená rtuť se uvolňuje ohřevem pomocí vypuzovací pece. Blok měřících kyvet obsahuje dvě sériově uspořádané kyvety a současně je vyhříván topným elementem na teplotu 120 °C. Délka první a druhé kyvety je v poměru 10:1. Mezi ně je zapojena zpoždovací nádobka umístěná mimo optickou osu přístroje. Objem zpoždovací nádobky musí být delší než měřící kyveta. Zdrojem záření je nízkotlaká rtuťová výbojka, která může být zastíněna clonou. Součástí detektoru je interferenční filtr, který izoluje spektrální čáru rtuti na 253,6 nm (ALTEC, 2002).



Obr. 5: Spektrometr AMA 254 (foto vlastní)

4.1.5.2 Měření na přístroji AMA 254

Ještě než je možné začít s měřením, je potřeba vyčistit spalovací lodičky a přístroj od rtuti, která zbyla po předchozích měřeních. K tomu slouží program CLEAN. Přístroj je vyčištěn, pokud je hodnota absorbance menší či rovna 0,0030. Parametry měření jsou uvedeny v tabulce 2.

Tab. 2: Parametry měření

Kalibrace	Kontrolní standard o koncentraci 0,2 mg/l (Připraven ze standardního roztoku Hg 1 mg/ml, Astasol® - Hg, Analytika Praha, ČR.)
Časový program (sušení – rozklad – čekání)	60s - 150s - 45s
Vlnová délka	253,6 nm
Zdroj záření	Nízkotlaká rtuťová výbojka
Uložení dat	v databázi MSDE (Microsoft Data Engine)
LOD (Limit detekce)	0,01 ng Hg

Měření přístrojem AMA 254 probíhalo podle následujícího postupu:

Pro analýzu celkových obsahů rtuti bylo naváženo 0,05 - 0,1 g vzorku na spalovací lodičku. V případě analýzy biopřístupných obsahů rtuti bylo na spalovací lodičku nadávkováno 100 µl. Potom byl řízeným ohřevem spalovací pece vzorek vysušen a spálen v proudu kyslíku při teplotě 850 - 900 °C. Při průchodu přes katalyzátor byla dokončena oxidace produktů rozkladu a také zde byly zachyceny látky kyselé povahy (halogeny, oxidy síry atd.). Na amalgamátoru se zachytila rtuť. Nejprve se rtuťové páry unášené nosným plynem dostaly na delší měřicí kyvetu, kde bylo určeno jejich množství po dokončení rozkladu vzorku a ustálení teploty. Veškerá rtuť se shromáždila ve zpoždovací nádobce, aby mohla přejít do kratší měřicí kyvety k dalšímu přeměření množství rtuti. Naměřená data byla uložena v řídicím počítači a převedena ovládacím programem do přístupné formy (ALTEC, 2002).

4.2 Statistické zpracování dat

Všechna data byla vyhodnocena pomocí programu MS Excel 2007. Statistické zpracování dat bylo provedeno v programu STATISTICA verze 12. Nejprve bylo otestováno, zda mají data normální rozdělení. Pro výpočet byl použit Shapiro-Wilkův W test. Pro prokázání statisticky významného rozdílu mezi gastrickou a gastrointestinální fází byl použit Wilcoxonův párový test (hladina významnosti $\alpha=0,05$). Nulová hypotéza zněla: Biopřítupnost rtuti v gastrické fázi se významně neliší od biopřítupnosti rtuti ve fázi gastrointestinální. Pro vyhodnocení výsledků biopřítupnosti byla použita neparametrická statistika Kruskal-Wallisova ANOVA. Tato analýza měla za úkol rozdělit jednotlivé vzorky do významně se lišících skupin.

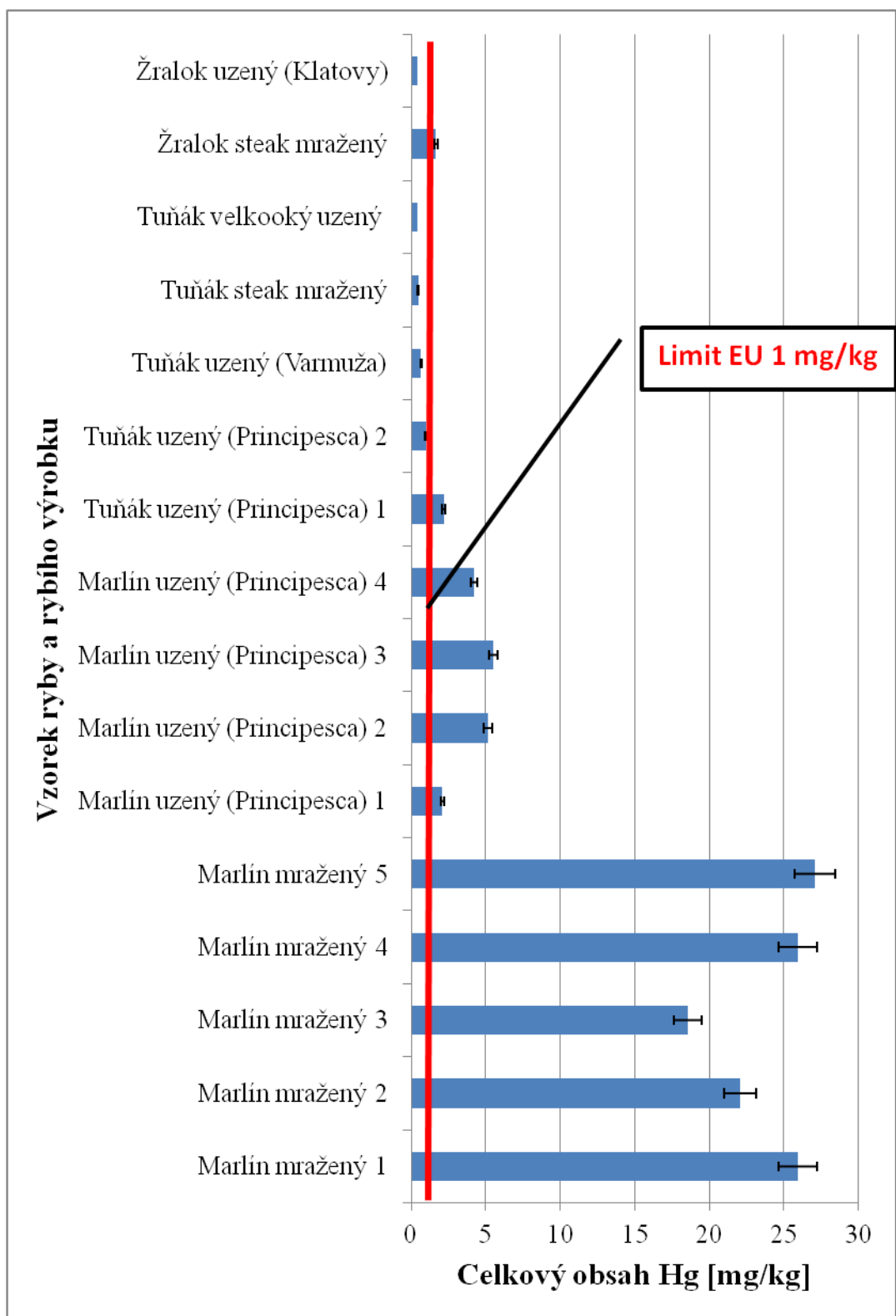
4.3 Výsledky a diskuze

4.3.1 Stanovení celkových obsahů rtuti

Nejprve byly stanoveny celkové obsahy rtuti v mořských rybách a rybích výrobcích. Celkový počet vzorků byl šestnáct. Z obrázku 6 vyplývá, že celkem 11 vzorků překročilo hranici 1 mg/kg, která je stanovena legislativou. Limit překročilo všech devět vzorků marlína firem Losica a Kimbex, u kterého se naměřené hodnoty pohybovaly v rozmezí od 2,0725 do 27,0902 mg/kg. Tyto vzorky byly na základě podnětu pro SZPI v letech 2015 a 2016 staženy z trhu ČR a EU. Dále limit překročil jeden vzorek uzeného tuňáka firmy Losica (naměřená hodnota 2,2 mg/kg rtuti). Posledním vzorkem, který nevyhověl legislativě, byl vzorek Žralok steak mražený firmy Kimbex. U něho se hodnota celkové rtuti pohybovala v průměru kolem 1,7 mg/kg. Zbývajících pět vzorků limit nepřekročilo a hodnoty celkové rtuti se pohybovaly v rozmezí 0,40 až 0,97 mg/kg. Číselná označení u vzorků značí, že byly zakoupeny v několika různých šaržích.

Vzorky pocházely z různých oblastí odlovu. Tento údaj je snadno zjistitelný na obalu výrobku a značí se zkratkou FAO (Food and agriculture organization) a číselným kódem daným pro každou oblast. Vzorky marlína pocházely z Jihovýchodního Pacifiku (FAO 87) a Východního Indického oceánu (FAO 57). Tuňáci pocházeli ze třech oblastí: Západního Indického oceánu (FAO 51), Východního Indického oceánu (FAO 57) a Západního centrálního Pacifiku (FAO 71). Analyzované vzorky žraloka pocházely z Východního centrálního Atlantiku (FAO 34) a Severovýchodního Atlantiku (FAO 27).

V článku Mercury accumulation in Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) with regards to muscle type, muscle position and fish size, Bosch A. C. a kol (2016) stanovili průměrnou koncentraci celkové rtuti ve svalovině u tuňáka žlutoploutvého, která činila 0,77 mg/kg čerstvé hmotnosti. Ve srovnání s námi získanými daty je tato hodnota nižší (průměrná koncentrace ve vzorcích tuňáka žlutoploutvého byla 1,58 mg/kg).



Obr. 6: Výsledky měření celkových obsahů rtuti ve vybraných mořských rybách a rybích výrobcích

4.3.2 Biopřístupnost rtuti

Nejprve bylo třeba zjistit, zda mají data normální rozdělení. Pro analýzu byl použit Shapirův-Wilkův test. Z analýzy vyplynulo, že data nemají normální rozložení. P-hodnota pro gastrickou fázi byla 0,000006 a pro gastrointestinální fázi 0,00004.

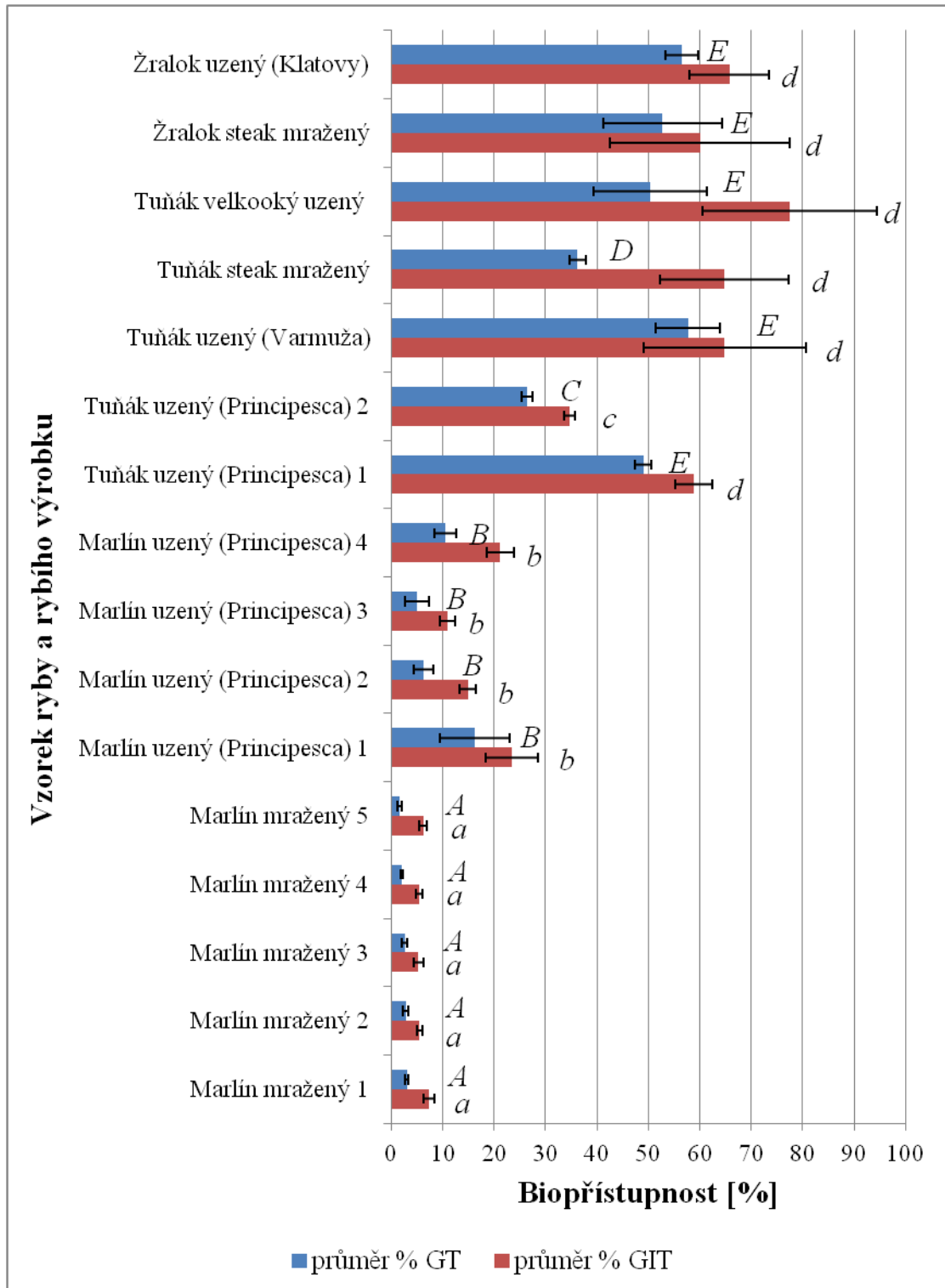
Při porovnání gastrické (GT) a gastrointestinální fáze (GIT) je biopřístupnost při simulaci průchodu celým trávicím traktem (GIT) statisticky významně vyšší. Významnost byla prokázána Wilcoxonovým párovým testem na hladině $\alpha \geq 0,05$, kdy se p-hodnota rovnala číslu 0,0000000016.

V článku Bioaccessibility and bioavailability of methylmercury from seafood commonly consumed in North America: In vitro and epidemiological studies Siedlikowski M. a kol. (2016) stanovili v různých vzorcích ryb a mořských plodů přímo koncentraci methylrtuti a následně její biopřístupnost a biodostupnost. Shrnutí jejich výsledků je uvedeno v tabulce 3. Biopřístupnost methylrtuti se pohybovala od 50,1 % u vzorku tuňáka pruhovaného, do 100 % u hřebenatky a garnáta.

Tab. 3: *Biopřístupné obsahy methylrtuti v rybách a mořských plodech (Siedlikowski M. a kol., 2016)*

Analyzovaný druh	Celkový obsah MeHg mg/ kg	Biopřístupný obsah MeHg v GIT [μg ve 100 g výrobku]
Treska	0,1398	9,14
Krab	0,0193	1,12
Halibut	0,0815	7,01
Losos	0,0143	1,02
Hřebenatka	0,0007	0,07
Garnát	0,0038	0,38
Tilápie	0,0164	1,08
Tuňák -čerstvý	0,4927	36,70
Tuňák pruhovaný - z konzervy	0,0832	4,48
Tuňák žlutoploutvý - z konzervy	0,5274	25,53

Ve srovnání s našimi naměřenými hodnotami jsou hodnoty biopřístupnosti u tuňáka čerstvého a tuňáka žlutoploutvého velmi podobné. Pro potvrzení by ale bylo třeba udělat speciální analýzu u našich vzorků.



Obr. 7: Zobrazení výsledků stanovení biopřístupnosti Hg u vzorků ryb a rybích výrobků (A, B, C, D, E – gastrická fáze GT; a, b, c, d – gastrointestinální fáze GIT)

Na obrázku 7 je znázorněno rozdělení jednotlivých výsledků testování pomocí Kruskal-Wallisovy ANOVY do navzájem se významně lišících skupin. Velkými písmeny je označena gastrická fáze a gastrointestinální fáze je označena písmeny malými. Můžeme říci, že v případě všech pěti vzorků marlínů mražených se vzorky mezi jednotlivými šaržemi (vzorek Marlín mražený 1 až 5) významně neliší. Stejná situace je u vzorků marlína uzeného. Mezi šaržemi (Marlín uzený Principesca 1 až 4) není statisticky významný rozdíl. Vzorky tuňáka uzeného firmy Principesca se mezi šaržemi významně liší. Biopřístupnost rtuti ze vzorků marlína mraženého (A, a) se významně liší od biopřístupnosti u vzorků marlína uzeného (B, b). Samostatně se vyčleňuje vzorek Tuňáka uzeného (2) značky Principesca (C, c). Liší se v obou fázích od všech zbývajících vzorků. Vzorek tuňáka mraženého měl v gastrické fázi (D) statisticky významně nižší hladinu biopřístupné rtuti. Lišil se nejen od vzorků marlínů a žraloků, ale i do ostatních vzorků tuňáků (E, d).

Mezi vzorky žraloka uzeného a mraženého nebyl nalezen statisticky významný rozdíl (E, d).

Cano-Sancho G. a kol. (2015) ve svém článku *Oral bioaccessibility of arsenic, mercury and methylmercury in marine species commercialized in Catalonia (Spain) and health risks for the consumers*, publikovali výsledky studie biopřístupnosti arsenu, rtuti a methylrtuti u vzorků mečouna obecného, tuňáka obecného, makrely obecné, sardinky obecné, pražmy královské, d'asa mořského, jazyka obecného, slávky středomořské, krevety a sépie. Vzorky byly před samotným stanovením tepelně opracovány grilováním a mušle byly uvařeny. Nejdříve byl analyzován celkový obsah rtuti, který ani u jednoho ze vzorků nepřekročil limit stanovený legislativou. Nejvyšší hodnota byla nalezena u mečouna, a to 0,866 mg/kg rtuti. Nejvyšší procento biopřístupnosti bylo nalezeno u vzorku d'asa obecného a sépie obecné (77 a 61 %). Vařené mušle a grilované sardinky měly nejnižší procento biopřístupné rtuti, které činilo 17 %. Vzorek tuňáka obsahoval 6,4 µg biopřístupné rtuti na 100 g. V porovnání s našimi naměřenými hodnotami je tato hodnota 5 až 25krát nižší. Biopřístupnost vyjádřená v procentech z celkového obsahu byla 35 %.

Tab. 4: Přepočet biopřístupného obsahu rtuti v gastrické a gastrointestinální fázi na 100 g výrobku

Číslo vzorku	Výrobek	Celkový obsah Hg [mg/kg] ± SD	Biopřístupnost Hg v GIT [%]	Biopřístupný obsah rtuti v GIT [μg na 100 g výrobku]	Biopřístupnost Hg v GIT [%]	Biopřístupný obsah rtuti v GIT [μg na 100 g výrobku]
1	Marlín mražený 1	25,9593 ± 1,2980	3,0012	77,9087	7,3355	190,4233
2	Marlín mražený 2	22,0686 ± 1,1034	2,8217	62,2720	5,4801	120,9385
3	Marlín mražený 3	18,5544 ± 0,9277	2,5829	47,9242	5,2688	97,7600
4	Marlín mražený 4	25,9543 ± 1,2977	2,0339	52,7892	5,4487	141,4172
5	Marlín mražený 5	27,0902 ± 1,3545	1,6195	43,8734	6,2080	168,1768
6	Marlín uzený (Principesca) 1	2,0725 ± 0,1036	16,2270	33,6306	23,4965	48,6965
7	Marlín uzený (Principesca) 2	5,1450 ± 0,2573	6,2985	32,4060	14,8672	76,4917
8	Marlín uzený (Principesca) 3	5,5145 ± 0,2757	4,9281	27,1763	10,9435	60,3478
9	Marlín uzený (Principesca) 4	4,2075 ± 0,2104	10,5040	44,1957	21,2018	89,2068
10	Tuňák steak mražený	0,4535 ± 0,0227	36,2461	16,4376	64,8010	29,3872
11	Tuňák uzený (Principesca) 1	2,1869 ± 0,1093	48,9862	107,1279	58,8161	128,6250

12	Tuňák uzený (Principesca)	0,9767 ± 0,0488	26,3700	25,7556	34,7020	33,8934
	2					
13	Tuňák uzený (Varmuža)	0,6411 ± 0,0321	57,6844	36,9815	64,8341	41,5651
14	Tuňák velkooký uzený	0,4019 ± 0,0201	50,3099	20,2195	77,4137	31,1126
15	Žralok steak mražený	1,6627 ± 0,0831	52,7374	87,6885	60,0004	99,7651
16	Žralok uzený (Klatovy)	0,4058 ± 0,0203	56,4310	22,9022	65,7573	26,6872

Při hodnotě TWI 1,3 µg/kg a tělesné hmotnosti 70 kg by tolerovaný týdenní příjem methylrtuti činil $1,3 \times 70 = 91$ µg za týden. Pokud bychom uvažovali, že většina biopřístupné rtuti je ve formě methylrtuti, tak by u 7 vzorků stačilo sníst jednu 100g porci ryby za týden pro naplnění limitu (přepočet v µg na 100g porce je uveden v tabulce 4).

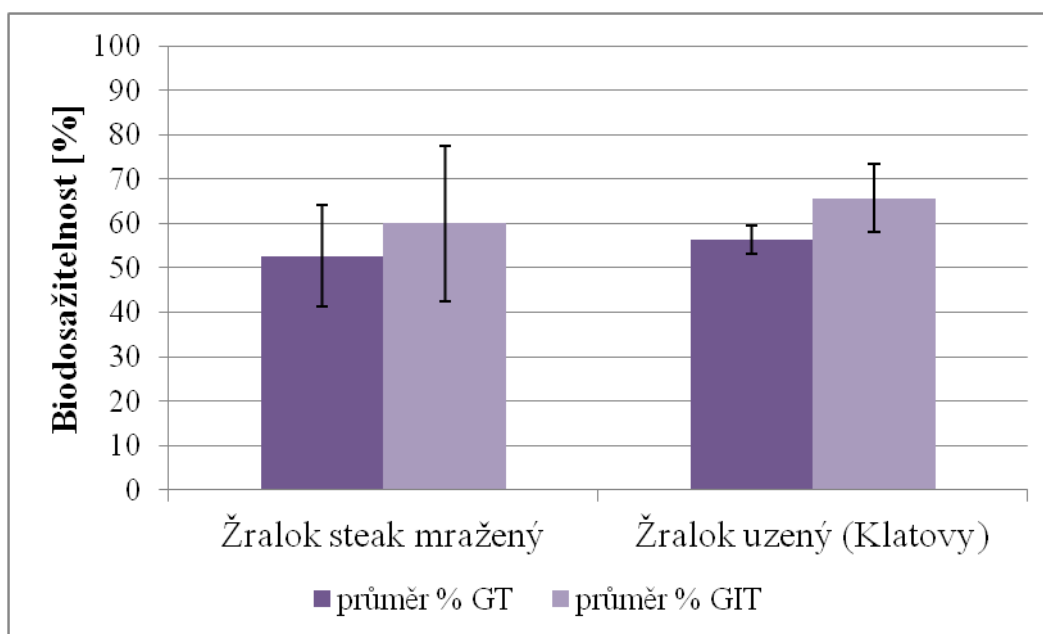
Pokud bychom vzali v úvahu limit TWI, který platí v USA, 0,7 µg/kg tělesné hmotnosti potom pro jeho naplnění by stačilo sníst $0,7 \times 70 = 49$ µg rtuti u člověka s tělesnou hmotností 70 kg. Z tabulky 4 je patrné, že 10 vzorků by tento limit překročilo při příjmu jedné 100 g porce a jeden vzorek by byl těsně pod tímto číslem. Pokud se zaměříme na celkové obsahy rtuti, tak všech zmíněných 10 vzorků a jeden, který je těsně pod vypočítanou hranicí (49 µg rtuti/ 70 kg váhy člověka) překročilo legislativní limit 1mg/kg pro celkovou rtuť. Pro zpřesnění výpočtů by bylo možné do budoucna po stanovení celkové biopřístupnosti rtuti stanovit také obsah biopřístupné methylrtuti.

Ouédraogo, O. a Amyot, M. v roce 2011 publikovali článek názvem Effects of various cooking methods and food components on bioaccessibility of mercury from fish, ve kterém sledovali vliv vaření a smažení na množství celkové a biopřístupné rtuti a srovnávali se vzorky v syrovém stavu. U vzorků tuňáka, žraloka i makrely bylo množství celkové rtuti nejvyšší při přípravě vařením > smažením > v syrovém stavu. Mezi obsahy biopřístupné rtuti u syrových, vařených a smažených vzorků byl nalezen

statisticky významný rozdíl. U syrových vzorků byla biopřístupnost rtuti asi 80 % a postupně se snižovala u vařených vzorků na 40 % a u smažených na 20 %.

4.3.2.1 Žraloci

Na obrázku č. 8 bylo provedeno porovnání vzorků žraloka modrého. Hodnoty biopřístupnosti v gastrické fázi byly 52,7 % u tepelně neopracovaného výrobku a 56,4 % u opracovaného výrobku. U gastrointestinální fáze byly hodnoty 60,0 % a 65,7 %.



Obr. 8: Srovnání vzorků žraloka z hlediska biopřístupnosti Hg

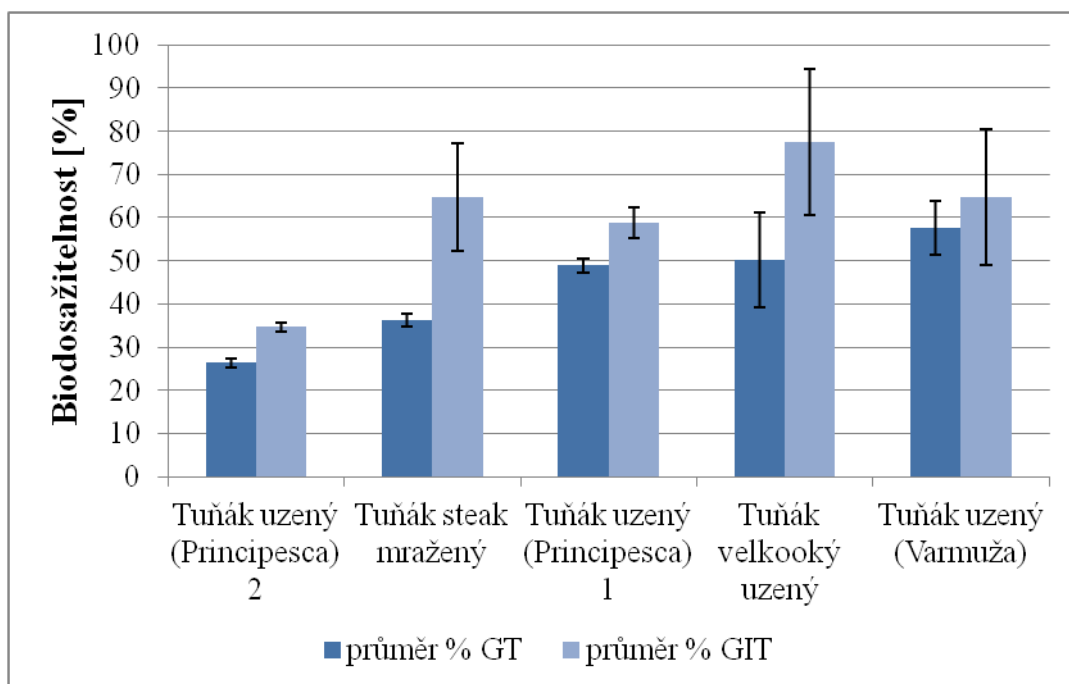
Matos a kol. (2015) ve své práci Influence of bioaccessibility of total mercury, methyl-mercury and selenium on the risk/benefit associated to the consumption of raw and cooked blue shark (*Prionace glauca*) zjistili, že vlivem samotné úpravy stoupá koncentrace jak celkové rtuti (z 2,25 mg/kg u syrového žraloka, 3,12 mg/kg u žraloka připravovaného v páře, až po žraloka připraveného na grilu, kdy koncentrace rtuti byla 3,57 mg/kg), tak i koncentrace methylrtuti (syrový/ v páře/ grilovaný 1,86/ 2,51/ 3,05 mg/kg). Biopřístupnost byla u syrového žraloka Hg/MeHg 94/ 98 %, u žraloka vařeného v páře 55/ 59 % a u grilovaného 52/ 53 %. Jejich pokus nebyl rozdělen na sledování gastrické a gastrointestinální fáze, zaměřili se pouze na druhou zmíněnou.

4.3.2.2 Tuňáci

Srovnání vzorků tuňáků je zobrazeno na obrázku č. 9. Hodnoty biopřístupnosti rtuti se pro tepelně opracované vzorky pohybovaly v rozmezí od 26,9 % do 57,7 % v gastrické fázi a mezi 35,2 % a 77,4 % pro fázi GIT. U vzorku tepelně neopracovaného tuňáka byly hodnoty u GT fáze 36,2 % a u gastrointestinální fáze 65,1 %.

V článku *Benefits and risks associated with consumption of raw, cooked and canned tuna (Thunnus spp.) based on the bioaccessibility of selenium and methylmercury* Afonso a kol. (2015) uvádí naměřená data biopřístupnosti rtuti a methylrtuti u různých vzorků tuňáků. Autoři stanovovali pouze množství biopřístupné rtuti z gastrointestinální fáze nikoliv z gastrické fáze jako v případě našich stanovení. U syrového tuňáka byl obsah biopřístupné frakce rtuti i methylrtuti 78 %. V porovnání s našimi výsledky (65 %) byl tento údaj vyšší. Dále analyzovali vzorek tuňáka po uvaření a grilování. Hodnoty biopřístupné rtuti u grilovaného tuňáka byly 39 % pro rtuť a 44 % pro methylrtuť. U vařeného tuňáka byly hodnoty u rtuti 48 % a 57% u MeHg. S našimi výsledky lze porovnávat pouze hodnoty biopřístupnosti pro celkovou rtuť. U našich vzorků tepelně opracovaných tuňáků se vzorky pohybovali přibližně ve stejném rozmezí, jako zjistil Afonso a kol. Poslední skupinou vzorků, kterou analyzovali, byly vzorky konzervovaných tuňáků. Tuňák v olivovém oleji měl hodnoty biopřístupnosti Hg i MeHg 18 %. Pokud jde o tuňáka konzervovaného ve vlastní šťávě, byly u něj zjištěny hodnoty 20 % pro Hg a 29 % pro MeHg.

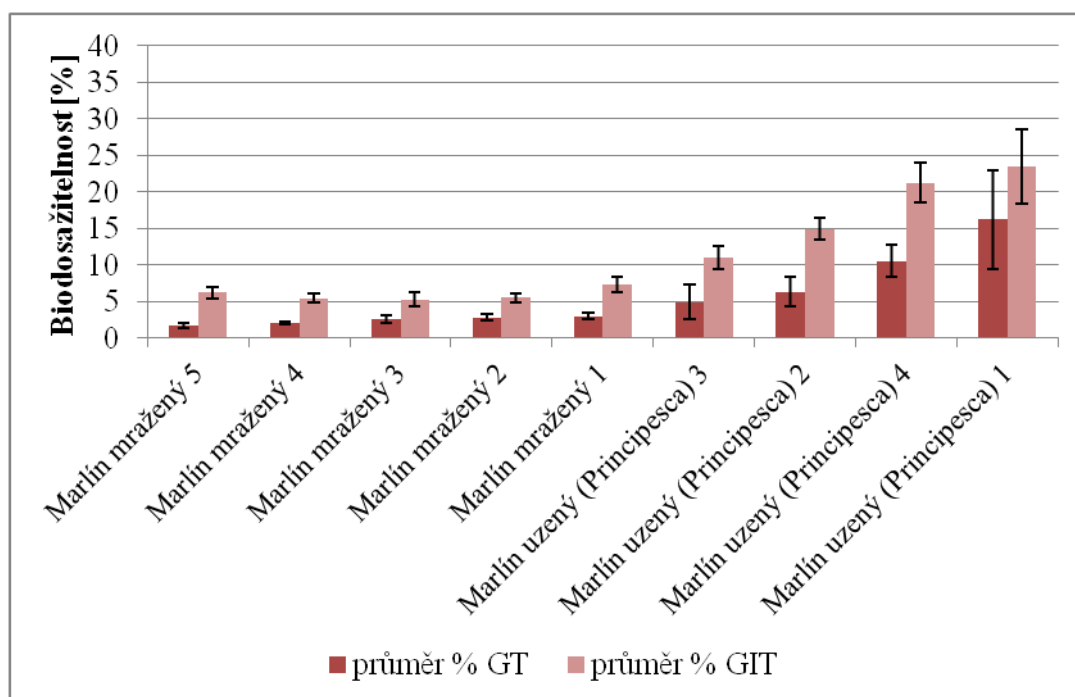
Podle naměřených dat ve výše zmíněném článku lze usoudit, že s tepelným opracováním se množství rtuti zvyšuje, ale biopřístupnost se snižuje. Protože v našem případě se jednalo o jiné vzorky, nelze toto tvrzení potvrdit ani vyvrátit.



Obr. 9: Srovnání vzorků různých druhů tuňáků a jejich biopřístupnosti Hg

4.3.2.3 Marlíni

Vzorky marlínů měly nejnižší biopřístupnost rtuti. Pohybovala se pro gastrickou fázi mezi 1,7 až 3,4 % u tepelně neopracovaného výrobku a mezi 5,8 až 15,0 % u opracovaného výrobku. U gastrointestinální fáze byly hodnoty 4,2 - 7,3 % (tepelně neopracovaný výrobek) a 10,8 - 23,4 % (tepelně opracovaný výrobek). Graficky jsou tyto hodnoty znázorněny na obrázku 10.



Obr. 10: Porovnání různých vzorků marlínů z hlediska biopřístupnosti rtuti

V případě marlínů nebyla nalezena práce, která by se zabývala stanovením biopřístupných obsahů rtuti v jejich mase. Tento živočišný rod není z hlediska biologie zcela prozkoumaný. Pokud porovnáme výsledky celkových obsahů rtuti, kdy všechny vzorky překročily legislativní limit (některé až více jak dvacetkrát) a biopřístupné obsahy, které byly nejnižší ze všech měřených vzorků a pohybovaly se v gastrointestinální fázi do 23,5 %, je tento fakt velmi zajímavý a mohl by být podnětem pro další analýzy.

Zlámalová (2016) ve své práci Stanovení rtuti a jejích forem v rybích výrobcích zkoumala zastoupení jednotlivých forem rtuti u rybích výrobků. U vzorků tuňáka obecného, tuňáka žlutoploutvého a žraloka modrého se obsahy methylrtuti pohybovaly od 91,5 % až do 98,8 %. Naproti tomu u vzorků marlína indického zjistila převažující množství anorganické rtuti, které činilo 65,3 - 73,1 %. Tyto výsledky by mohly vysvětlit nízké hodnoty biopřístupnosti u vzorků marlínů z hlediska nižší mobility anorganické formy rtuti.

Aktuální, užitečné a ověřené informace, nejen o kontaminaci ryb rtutí, poskytují webové stránky ministerstva zemědělství www.eagri.cz, stránky SZPI www.bezpecnostpotravin.cz a www.potravinynaprynyri.cz. Tyto stránky jsou užitečné, nejen co se týká výskytu rtuti v potravinách, ale i dalších nebezpečných kontaminantů a mikroorganismů způsobujících závažná alimentární onemocnění.

V příloze 2 je uveden konkrétní odkaz na webové stránky potravinynaprynyri.cz, kde se objevily námi analyzované vzorky marlína mraženého od firmy Kimbex, marlína uzeného od firmy Losica a tuňáka uzeného také od firmy Losica.

5 ZÁVĚR

Cílem mé diplomové práce bylo nejprve vytvořit literární přehled o rtuti, zdravotních rizicích konzumace ryb, limitech rtuti v potravinách, jednotlivých druzích ryb, spotřebě ryb, chemickém složení rybí svaloviny a nutričním významu, metodě UBM a metodách stanovení rtuti. Následně bylo cílem stanovit celkové obsahy rtuti a biopřístupné množství rtuti z ryb a rybích výrobků. Pro stanovení biopřístupnosti byl použit „*in vitro*“ UBM test a množství biopřístupné rtuti bylo analyzováno pomocí atomového absorpčního spektrometru AMA 254, stejně tak jako celkové obsahy rtuti. Naměřené hodnoty biopřístupnosti byly zpracovány v programu STATISTIKA 12.

Bylo analyzováno celkem šestnáct vzorků. Všechny vzorky byly zakoupeny v obchodních řetězcích v ČR. Šlo o vzorky tří druhů ryb. Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ve znění pozdějších předpisů stanovuje limit 1 mg/kg pro tyto vybrané druhy ryb, který překročilo celkem jedenáct vzorků – všech 9 vzorků marlína firem Kimbex a Losica, 1 vzorek tuňáka (firma Losica) a 1 vzorek žraloka (firma Kimbex). Nejvyšší koncentrace celkové rtuti byla u vzorku mraženého marlína firmy Kimbex a činila 27,0902 mg/kg.

Nejnižší procento biopřístupnosti rtuti bylo naměřeno u vzorku mraženého marlína 1,6 % v gastrické fázi a 4,2 % v gastrointestinální fázi. Mezi jednotlivými šaržemi mražených marlínů nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Nízká biopřístupnost rtuti může být způsobena rozdílným obsahem methylrtuti od ostatních vzorků.

Nejvyšší hodnoty biopřístupné rtuti byly zjištěny u vzorků uzených tuňáků. Biopřístupná rtuť v gastrické fázi činila 57,6 % (Tuňák uzený firmy Varmuža) a v gastrointestinální fázi 77,4 % (Tuňák velkooký uzený firmy Líšno).

Vzorky žraloka obsahovaly v gastrické fázi 52,7 a 56,4 % biopřístupné rtuti a ve fázi gastrointestinální 60 a 65,7 %.

Nelze jednoznačně říci, že prospěšnost konzumace ryb z nutričního hlediska převažuje nad jejími riziky. Zejména těhotné ženy, ženy plánující početí dítěte a děti by se měly vyvarovat konzumace dravých ryb (marlínů, mečounů, tuňáků a žraloků). Je třeba také nadále sledovat doporučení, která vydává Světová zdravotnická organizace (WHO) a Evropský úřad pro kontrolu potravin.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AFONSO, C., S. COSTA, C. CARDOSO, et al., 2015: *Benefits and risks associated with consumption of raw, cooked, and canned tuna (Thunnus spp.) based on the bioaccessibility of selenium and methylmercury. Environmental Research [online].*, 143, 130-137 [cit. 2017-02-11].

Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013935115001425>

ALTEC s.r.o., 2002: *Pracovní návod pro obsluhu AMA 254*, Praha, 125 s.

ANONYM 1. *Macaira indica*. In: fao.org [online]. [cit. 2017-01-05]. Dostupné z: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/ac480e/AC480E06.pdf>

BENCKO, Vladimír, Jaroslav LENER a Miroslav CIKRT., 1995: *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka*. 2. přepracované a doplněné vyd., v Grada Publishing 1. vyd. Praha: Grada. ISBN 80-7169-150-X.

BOSCH A. C. a kol., 2016: *Mercury accumulation in Yellowfin tuna (Thunnus albacares) with regards to muscle type, muscle position and fish size*. Food Chemistry, 190: 351-356s.

CANO-SANCHO, G. A KOL., 2015: Oral bioaccessibility of arsenic, mercury and methylmercury in marine species commercialized in Catalonia (Spain) and health risks for the consumers. Food and Chemical Toxicology, 86: 34-40s.

CARL, W., 2000: *Toxicological effects of methylmercury*. USA: National Academy Press. 344 s.

ČVANČAROVÁ, M., CAJTHAML, T., 2015: Metody stanovení biopřístupné a biodostupné frakce hydrofobních organických polutantů. *Chemické listy*. sv. 109, s. 254- 268.

CABOCHE, J., 2009: Validation d'un test de mesure de bioaccessibilité : Application à 4 éléments traces métalliques dans les sols : As, Cd, Pb et Sb; PhD thesis, INP Lorraine, Nancy, France.

CABOCHE, J., 2009: Validation d'un test de mesure de bioaccessibilité. Application à quatre éléments traces métallique dans les sols: As, Cd, Pb et Sb. Science Agronomique. PhD. L'Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, pp. 348.

DESHPANDE, S. S., c2002: *Handbook of food toxicology*. Boca Raton: Marcel Dekker. Food science and technology.

FOUCAULT, Y., 2013: Réhabilitation écologique et gestion durable d'un site industriel urbain: cas d'une pollution historique en éléments inorganiques potentiellement toxiques (Pb, Cd, Zn, Cu, Sb et As); Institut National Polytechnique de Toulouse.

FOX, T. E. a kol., 2004: Bioavailability of selenium from fish, yeast and selenate: a comparative study in humans using stable isotopes. *European journal of clinical nutrition* 58 (2): 343-349s.

FRANK, S., 1997: *Mořské ryby*. Praha: Aventinum.

HANEL, L. a ANDRESKA, J., 2013: *Ryby evropských vod v ilustracích Květoslava Hiska*. Ilustroval Květoslav HÍSEK. Praha: Aventinum.

HOUSEROVÁ, P., JANÁK, K., KUBÁŇ, P., PAVLÍČKOVÁ, J., KUBÁŇ, V., 2006: Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech -- vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení. *Chemické listy*. sv. 100, č. 10, s. 862 - 876.

INGR, I., 2010: *Jakost a zpracování ryb*. 2. vyd. /. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 102 s.

JANITZKI, A., 2008: *Velký atlas ryb: nejoblíbenější lovené ryby od A do Z*. 2. české vyd. Praha: Svojtka & Co., 128 s.

JUHASZ, A., L., SMITH, E., WEBER, J., REES, M., ROFE, A., KUCHEL, T., 2007: Comparison of in vivo and in vitro methodologies for the assessment of arsenic bioavailability in contaminated soils. *Chemosphere*; 69: 961-966s.

JUHASZ, A., L., WEBER, J., SMITH, E., NAIDU, R., MARSCHNER, B., REES, M., 2009a: Evaluation of sbrcgastric and SBRC-intestinal methods for the prediction of in vivo relative lead bioavailability in contaminated soils. *Environ Sci Technol*; 43: 4503-4509s.

JUHASZ, A., L., WEBER, J., SMITH, E., NAIDU, R., REES, M., ROFE, A., 2009b: Assessment of four commonly employed in vitro arsenic bioaccessibility assays for predicting in vivo relative arsenic bioavailability in contaminated soils. *Environ Sci Technol*; 43: 9487-9494s.

JUHASZ, A., WEBER, J., SMITH, E., 2011: Influence of saliva, gastric and intestinal phases on prediction of As relative bioavailability using the Unified Bioaccessibility Research Group of Europe Method. *Journal of Hazardous Materials*; (197): 161 – 168s.

KASPER, H., 2015: *Výživa v medicíně a dietetika. Překlad 11. vydání*, Praha: Grada. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=fETdCQAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=cs#v=onepage&q&f=false>

KLOUDA, P., 2003: *Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd.* Ostrava: Pavel Klouda.

KOMÁREK, J., 2000: *Atomová absorpční spektrometrie. 1. vyd.* Brno: Masarykova univerzita, 85 s.

KOMÍNKOVÁ, D., 2008: *Ekotoxikologie. Vyd. 1.* V Praze: České vysoké učení technické, 156 s.

KOPP, R., HILSCHEROVÁ K., POŠTULKOVÁ E., 2015: *Základy vodní ekotoxikologie.* Brno: Mendelova univerzita v Brně.

KOUBOVÁ, D., 2016: *Hlášení v systému RASFF*. In: [bezpecnostpotravin.cz](http://www.bezpecnostpotravin.cz) [online]. [cit. 2017-02-05]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/hlaseni-v-systemu-rasff.aspx>

LINHART, I., 2014: *Toxikologie: interakce škodlivých látek s živými organismy, jejich mechanismy, projevy a důsledky*. 2., upr. a rozš. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

MATOS, J., H. M. LOURENÇO, P. BRITO, A. L. MAULVAULT, L. L. MARTINS a C. AFONSO., 2015: *Influence of bioaccessibility of total mercury, methyl-mercury and selenium on the risk/benefit associated to the consumption of raw and cooked blue shark (*Prionace glauca*)*. *Environmental Research* [online]. 143, 123-129 [cit. 2017-02-11]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013935115300864>

NAŘÍZENÍ ES 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, [online]. 20. 12. 2006, [cit. 2017-02-20]. Dostupné z: WWW: <<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:CS:PDF>>.

NOLLET, Leo M. L., ed., c2004: *Handbook of food analysis. Volume 3., Methods and instruments in applied food analysis*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker.

OOMEN, A., G., 2000: Determination of oral bioavailability of soil-borne contaminants. PhD thesis; University of Utrecht, Utrecht, Netherlands.

OOMEN, A., G., HACK, A., MINEKUS, M., ZEIJDNER, E., CORNELIS, C., ET AL., 2002: Comparative of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants in an in vitro digestion model. *Archives of Environmental Contamination & Toxicology*; 46, 183–188s.

OOMEN, A., G., ROMPELBERG, C., J., M., BRUIL, M., A., DOBBE, C., J., G., PEREBOOM, D., K., P., H., SIPS, A., J., A., M., 2003: Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Archives of Environmental Contamination & Toxicology*; 44, 281–287s.

OUÉDRAOGO, O.; AMYOT, M., 2011: Effects of various cooking methods and food components on bioaccessibility of mercury from fish. *Environ. Res.*, 111, 1064–1069.

PAVLÍKOVÁ, D., 2008: *Ekotoxikologie. 2., dopl. a přeprac. vyd.* V Praze: Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, 171 s.

PELFRÉNE, A., WATERLOT, C., MAZZUCA, M., NISSE, C., CUNY, D., RICHARD., 2012: Bioaccessibility of trace elements as affected by soil parameters in smelter-contaminated agricultural soils: A statistical modeling approach. *Environmental Pollution*; (160): 130 – 138s.

PELFRÉNE, A., WATERLOT, C., MAZZUCA, M., NISSE, C., BIDAR, G., FRANCIS, D. 2011a: Assessing Cd, Pb, Zn human bioaccessibility in smeltercontaminated agricultural topsoils (Northern France). *Environ Geochem Health*.

PELFRÉNE, A., WATERLET, CH., DOUAY, F., 2011b: Investigation of DGT as metal speciation tool in artificial human gastro-intestinal fluids. *Analytica Chimica Acta*; (699): 177 – 186s.

POGGIO, L., VRSCAJ, B., SCHULIN, R., HEPPELLE, E., MARSAN, F., A., 2009: Metals pollution and human bioaccessibility of topsoils in Grugliasco (Italy). *Environ Pollut*; 157: 680 – 689s.

PROKEŠ, J., c2005: *Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie. 1. vyd.* Praha: Galén, 248 s.

RALSTON, N. V. C., RAYMOND, L. J., 2010: *Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity.* *Toxicology* 278, 112-123s.

RISHER, J. F., H. E. MURRAY a G. R. PRINCE., 2002: *Organic mercury compounds: human exposure and its relevance to public health*. Toxicology and Industrial Health [online], 18(3), 109-160 [cit. 2017-03-16].

Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1191/0748233702th-138oa>

ROUSSEL, H, WATERLOT, C., PELFRENE, A., PRUVOT, C., MAZZUCA, M., DOUAY, F. 2010: *Cd, Pb and Zn oral bioaccessibility of urban soils contaminated in the past by atmospheric emissions from two lead and zinc smelters*. Arch Environ Contam Toxicol; 58: 945-54s.

RUDKOWSKA, I., B. MARCOTTE, G. PILON, C. LAVIGNE, A. MARETTE a M.-C. VOHL., 2010: *Fish nutrients decrease expression levels of tumor necrosis factor-alpha in cultured human macrophages*. Physiological Genomics [online]., 40(3), 189-194 [cit. 2017-03-22]. Dostupné z: <http://physiolgenomics.physiology.org/cgi/doi/10.1152/physiolgenomics.00120.2009>

SAMPELS, S., 2014: *Kvalita a gastronomie ryb a rybích výrobků*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, ISBN 978-80-87437-85-8.,

SEMPLE, K., T., DOICK, K., J., JONES, K., C., BURAUDEL, P., CRAVEN, A., HARMS, H., 2004: *Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment is complicated*. Environmental Science & Technology; 38(12): 228 - 231 s.

SIEDLIKOWSKI, M. a kol., 2016: *Bioaccessibility and bioavailability of methylmercury from seafood commonly consumed in North America: In vitro and epidemiological studies*. Environmental Research, 149. 266-273s.

STANEK, E., J., CALABRESE, E., J., BARNES, R., M., DANKU, J., M., C., ZHOU, Y., KOSTECKI, P., T. 2010: *Bioavailability of arsenic in soil: Pilot study results and design considerations*. Human & Experimental Toxicology,; 29: 945-960s.

SUKOVÁ, I., *Výzva k většímu snížení limitu metylrtuti v rybách* In: agronavigator.cz [online]. 6. 5. 2013 [cit. 2017-01-20].

Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/service.asp?act=print&val=126259>

SUKOVÁ, I., *Rozlišení ryb podle obsahu rtuti*. In: agronavigator.cz [online]. 22. 7. 2001 [cit. 2017-01-20].

Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=149&ch=13&typ=1&val=2149>

TEROFAL, F. a MILITZ, C., 1996: *Mořské ryby v evropských vodách*. Vyd. 1. Praha: Ikar, 287 s.

VAN DE WIELE, T., R., OOMEN, A., G., WRAGG, J., CAVE, M., MINEKUS, M., HACK, A., 2007: Comparison of five in vitro digestion models to in vivo experimental results: Lead bioaccessibility in the human gastro-intestinal tract. *J Environ Sci Health, Part A*; 42: 1203 – 1211s.

VELÍŠEK, J., 1999: *Chemie potravin*. 2. Tábor: OSSIS. ISBN 80-902391-4-5.

VODIČKOVÁ R., 2016: *Spotřeba potravin 2015*, Český statistický úřad. [online], [cit. 2017-02-21]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/csu/czso/spotreba-potravin-2015>

WHO 1990. In Environmental Health Criteria. World Health Organization, Geneva.

WRAGG, J., CAVE, M., BASTA, N., BRANDON, E., CASTEEL, S., DENYS, S., GRON, C., OOMEN, A., REIMER, K., TACK, K., VAN DE WIELE, T., 2011: An Inter-laboratory Trial of the Unified BARGE Bioaccessibility Method for Arsenic, Cadmium and Lead in Soil. *Sci Total Environ*; British Geological Survey, Nottingham, UK, 1-41s.

WRAGG, J., CAVE, M., TAYLOR, H., BASTA, N., BRANDON, E., CASTEEL, S., GRON, C., OOMEN, A., VAN DE WIELE, T., 2009: Inter-laboratory Trial od a Unified Bioaccessibility Produre. NERC, Keyworth Nottingham, British Geological Survey, UK, Licence No: 100017897/2009.

ZLÁMALOVÁ, L., 2016: *Stanovení rtuti a jejích forem v rybích výrobcích*. Bakalářská práce (in MS), Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav chemie a biochemie. Vedoucí práce: Ing. Andrea Ridošková, Ph.D.

ŽENÍŠKOVÁ, H., CHALUPA P., ed., 2016: *Situační a výhledová zpráva: Ryby* [online]. 1. Praha: Ministerstvo zemědělství, [cit. 2017-03-22]. ISBN 978-80-7434-332-2. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/507825/SVZ_Ryby_2016.pdf

7 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: <i>Transformace rtuti v ekosystému</i>	15
Obr. 2: <i>Spotřeba ryb v ČR od roku 2007</i>	17
Obr. 3: <i>Schématické znázornění biopřístupné, biodostupné a nedostupné frakce organických polutantů v půdách</i>	24
Obr. 4: <i>Schéma atomového absorpčního spektrometru</i>	28
Obr. 5: <i>Spektrometr AMA 254</i>	35
Obr. 6: <i>Výsledky měření celkových obsahů rtuti ve vybraných mořských rybách a rybích výrobcích</i>	39
Obr. 7: <i>Zobrazení výsledků stanovení biopřístupnosti Hg u vzorků ryb a rybích výrobků</i>	41
Obr. 8: <i>Srovnání vzorků žraloka z hlediska biopřístupnosti Hg</i>	45
Obr. 9: <i>Srovnání vzorků různých druhů tuňáků a jejich biopřístupnosti Hg</i>	47
Obr. 10: <i>Porovnání různých vzorků marlínů z hlediska biopřístupnosti rtuti</i>	47

8 SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Složení roztoků trávicích šťáv použitých pro UBM test.....	33
Tab. 2: Parametry měření.....	36
Tab. 3: Biopřístupné obsahy methylrtuti v rybách a mořských plodech	40
Tab. 4: Přepočet biopřístupného obsahu rtuti v gastrické a gastrointestinální fázi na 100 g výrobku.....	43

9 SEZNAM ZKRATEK

AAS	atomová absorpční spektrometrie
AES	atomová emisní spektrometrie
AFS	atomová fluorescenční spektrometrie
AMA	Advanced Mercury Analyser
AMK	aminokyseliny
ASV	anodická rozpouštěcí volumetrie
CONTAM	Panel pro kontaminanty v potravinovém řetězci
ČR	Česká republika
ČSÚ	Český statistický úřad
DHA	dokosahexaenová kyselina
ECD	detektor elektronového záhytu
EFSA	European Food Safety Authority-Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EPA	eikosapentaenová kyselina
ES	Evropské společenství
EU	Evropská unie
FAO	Food and agriculture organization of United Nations
GIT	gastrointestinální fáze
GT	gastrická fáze
HEAL	Health and Environment Alliance
Hg	rtuť
ICP – MS	indukčně vázané plasma s detekcí pomocí hmotnostní spektrometrie
IL6	interleukin-6
LOD	limit detekce
MeHg	methyrtuť
MSDE	Microsoft Data Engine
NAA	neutronová aktivační analýza
RASFF	Rapid Alert System for Food and Feed – Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva
SD	Standardní odchylka
SPE	Extrakce na tuhé fázi
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce

TNFα	tumor necrosis factor α
TWI	tolerable weekly intake – tolerovatelný týdenní příjem
UBM	Unified Barge Method
USA	Spojené státy americké
WHO	World health organization – Světová zdravotnická organizace
ZMWG	Zero Mercury Working Group

10 SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA 1.....	63
Tab. 1: Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ve znění pozdějších předpisů	
PŘÍLOHA 2.....	65
Obr. 1: Upozornění na nebezpečné ryby a rybí výrobky na webu potraviny.napranari.cz	

PŘÍLOHA 1

Tab. 1: Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ve znění pozdějších předpisů.

3.3	Rtuť	
3.3.1	Produkty rybolovu ⁽³¹⁾ a svalovina ryb ⁽²⁹⁾ ⁽³⁰⁾ kromě druhů uvedených v 3.3.2. V případě koryšů se maximální limit vztahuje na svalovinu z koncových částí a břicha ⁽⁴⁷⁾ . V případě krabů a krabům příbuzných koryšů (<i>Brachyura</i> a <i>Anomura</i>) se limit vztahuje na svalovinu z koncových částí.	0,50
3.3.2	Svalovina těchto ryb ⁽²⁹⁾ ⁽³⁰⁾ : ďasi (<i>Lophius</i> spp.) vlkouš obecný (<i>Anarhichas lupus</i>) pelamida obecná (<i>Sarda sarda</i>) úhoři (<i>Anguilla</i> spp.) ryby druhu <i>Hoplostethus</i> hlavoun tuponosý (<i>Coryphaenoides rupestris</i>) platýz obecný (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>) hruj kapská (<i>Genypterus capensis</i>) marlíni (<i>Makaira</i> spp.) pakambala (<i>Lepidorhombus</i> spp.) parmice (<i>Mullus</i> spp.) hruj černá (<i>Genypterus blacodes</i>) štika obecná (<i>Esox lucius</i>) palometa jednobarevná (<i>Orcynopsis unicolor</i>) treska (<i>Trisopterus minutus</i>) světloun bělooký (<i>Centroscymnes coelolepis</i>) rejnoci (<i>Raja</i> spp.) okouníci (<i>Sebastes marinus</i> , <i>S. mentella</i> , <i>S. viviparus</i>) plachetník širokoploutvý (<i>Istiophorus platypterus</i>) tkaničnice (<i>Lepidopus caudatus</i> , <i>Aphanopus carbo</i>) růžichy (<i>Pagellus</i> spp.) žralok (všechny druhy) makrelovité (<i>Lepidocybium flavobrunneum</i> , <i>Ruvettus</i>)	1,0

	<i>pretiosus, Gempylus serpens</i> jeseteři (<i>Acipenser</i> spp.) mečoun obecný (<i>Xiphias gladius</i>) tuňák (rodu <i>Thunnus, Euthynnus, Katsuwonus pelamis</i>)	
3.3.3	Doplňky stravy (⁴²)	0,1

PŘÍLOHA 2

The screenshot shows the website interface for 'potravinynapranyri.cz'. At the top, there are navigation tabs: 'Potraviny', 'Provozovny', 'Tematické kontroly', and the website URL 'www.szpi.gov.cz'. Logos for 'SZPI STÁTNÍ ZEMĚDĚLSKÁ A POTRAVINÁŘSKÁ INSPEKCE', 'Státní veterinární správa', and 'MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ' are visible. A search bar contains the text 'Hledání potravin: Např. název výrobku, výrobce, prodejce...'. Below the search bar, there are filters for 'Nalezeno v archivu (6)' with checkboxes for 'nejakostní', 'falšované', and 'nebezpečné'. The search results are displayed in a grid of six items, each with a product image, name, manufacturer, and a warning message. The warnings indicate that the products exceed the maximum limit for cadmium content or contain cadmium and mercury in quantities that exceed the permitted limit.

Product Name	Manufacturer	Warning
BLACK MARLIN STEAK SVÍČKOVÁ SVÍČKOVÁ	AHOLD Czech Republic, a.s.	Ve výrobku byl překročen maximální limit pro obsah rtuti a pro obsah kadmia.
Black Marlin Steak svíčková	Tesco Stores ČR a.s.	Ve výrobku byl překročen maximální povolený limit pro obsah rtuti.
Black Marlin Steak svíčková	Tesco Stores ČR a.s.	Ve výrobku byl překročen maximální povolený limit pro obsah rtuti.
Uzený Marlín- filety Principesca 100g	Tesco Stores ČR a.s.	Ve výrobku byla zjištěna přítomnost rtuti v množství, které téměř čtyřikrát překračovalo
Uzený Tuňák- filety Principesca 100g	Tesco Stores ČR a.s.	Ve výrobku byla zjištěna přítomnost rtuti v množství, které osmkrát překračovalo povolený limit
Uzený Marlín- filety Principesca 100g	Tesco Stores ČR a.s.	Ve výrobku byla zjištěna přítomnost těžkých kovů - kadmia a rtuti v množství, které překračovalo

Obr. 1: Upozornění na nebezpečné ryby a rybí výrobky na webu [potravinynapranyri.cz](http://www.potravinynapranyri.cz)

(Dostupné z:

<http://www.potravinynapranyri.cz/Search.aspx?ext=y&sanalytsign=rtu%C5%A5&scustlocradius=2&lang=cs&design=default&archive=archive&listtype=tiles>)