

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ANALYTICKÉ CHEMIE



**Analýza kávy pomocí atomové absorpční
spektrometrie**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2011

Vypracovala:
Studijní program:
Studijní obor:

Bc. Monika Jarošová
N1407 - Chemie
Analytická chemie

Vedoucí práce:

Ing. David Milde, Ph.D.

Souhrn:

Tato práce je zaměřena na stanovení minerálních a toxických prvků (Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, Cd, Cr, Mn, Ni a Pb) v šesti druzích káv pomocí atomové absorpční spektrometrie (AAS). Rozklad vzorků probíhal v mikrovlnném systému s rozptýleným mikrovlnným zářením za využití rozkladné směsi kyseliny dusičné a peroxidu vodíku. Verifikace metody byla provedena za využití standardního referenčního materiálu (NCS ZC 73014 Tea). Byl stanoven limit detekce, preciznost, pravdivost a nejistota stanovení. Použitá metoda je dobře reprodukovatelná, ekonomická a umožňuje zjistit stopy kovů v kávě s minimální manipulací se vzorkem.

Summary:

This thesis is aimed at the determination of mineral nutrients and toxic elements (Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, Cd, Cr, Mn, Ni and Pb) in six types of coffee by atomic absorption spectrometry. The decomposition of samples took place in a microwave digestion unit with HNO₃ and H₂O₂ reagents. The verification of the method was performed against certified reference material (NCS ZC 73014 Tea). Limit of detection, precision, trueness and uncertainty were determined. The proposed method is reproducible, economical and allowed the evaluation of metal status of coffee with minimum sample manipulation.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracovala samostatně za odborného vedení Ing. Davida Mildeho, Ph.D. na katedře analytické chemie a veškeré materiály jsem čerpala z literatury uvedené na konci této práce.

Souhlasím s tím, aby byla práce prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

.....
podpis

Poděkování

Ráda bych touto cestou vyjádřila svůj dík vedoucímu mé diplomové práce Ing. Davidu Mildemu, Ph.D. za cenné rady a připomínky, odborné vedení a vstřícné jednání. Dále bych chtěla poděkovat Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, kde mi bylo umožněno vypracovat tuto práci.

OBSAH

1.	ÚVOD	1
2.	TEORETICKÁ ČÁST	3
2.1.	Atomová absorpční spektrometrie	3
2.1.1.	Instrumentace v atomové absorpční spektrometrii	4
2.1.1.1.	Zdroje primárního záření	4
2.1.1.1.1.	Výbojka s dutou katodou (HCL - Hollow Cathode Lamp).....	4
2.1.1.1.2.	Bezelektrodová výbojka (EDL – Electrodeless Discharge Lamp)	5
2.1.1.1.3.	Super lampy	6
2.1.1.2.	Optický systém.....	6
2.1.1.2.1.	Pomocné optické prvky.....	7
2.1.1.2.2.	Monochromátor.....	7
2.1.1.2.3.	Optické uspořádání	7
2.1.1.3.	Atomizátor	8
2.1.1.4.	Detektor.....	9
2.1.2.	AAS s plamenovou atomizací.....	10
2.1.2.1.	Plamen.....	10
2.1.2.2.	Hořák.....	11
2.1.2.3.	Zmlžovač.....	11
2.1.2.4.	Základní pochody při atomizaci v plameni.....	12
2.1.3.	AAS s elektrotermickou atomizací (ETA-AAS)	13
2.1.3.1.	Elektrotermický atomizátor	13
2.1.3.2.	Dávkování vzorků do ETA-AAS.....	14
2.1.3.3.	Děje vedoucí k atomizaci v ETA-AAS.....	15
2.1.3.4.	Teplotní program v ETA-AAS	16
2.1.3.5.	Teplota atomizátoru	16
2.1.4.	Korekce pozadí	17
2.1.5.	Interference	18
2.1.5.1.	Interference v FA-AAS.....	18
2.1.5.2.	Interference v ETA-AAS	19
2.1.5.3.	Modifikátory	19
2.2.	Káva	20
2.2.1.	Kávovník.....	20
2.2.2.	Výroba kávy.....	22
2.2.2.1.	Sklizeň kávy.....	22
2.2.2.2.	Zpracování kávy.....	23
2.2.2.3.	Pražení kávy.....	24
2.2.2.4.	Mletí kávy	25
2.2.3.	Chemie kávy	26
2.2.4.	Význam některých prvků.....	27
2.2.5.	Analýza kávy a jiných nápojů a potravin.....	28
2.3.	Rozklad biologických látek.....	33
2.3.1.	Suchý rozklad.....	33
2.3.2.	Mokrý rozklad.....	34
2.3.3.	Rozklad podporovaným mikrovlnným zářením	36
3.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	39
3.1.	Chemikálie, přístroje a pomůcky	39
3.2.	Příprava kávy	41
3.3.	Rozklady	41

3.4.	Použité metody	42
3.5.	Příprava kalibračních roztoků	44
3.6.	Statistické vyhodnocení	44
4.	VÝSLEDKY A DISKUSE	45
4.1.	Stanovení jednotlivých prvků	45
4.2.	Verifikace metody a odhad nejistoty.....	48
4.3.	Vyhodnocení výsledků.....	52
5.	ZÁVĚR	60
6.	LITERATURA.....	61
7.	PŘÍLOHY	64

1. ÚVOD

V posledních desetiletích vedl rostoucí zájem o životní prostředí mimo jiné ke snaze najít vhodné metody ke zjištění obsahu jednotlivých prvků v přírodě. Studují se především těžké kovy a esenciální prvky.

Esenciální prvky jsou takové prvky, které mají nezbytnou úlohu pro růst a vývoj rostlin a živočichů. Podle jejich hmotnostního obsahu v těle se dělí do dvou skupin na makroprvky a mikroprvky (stopové prvky). Mezi makroprvky řadíme vodík, uhlík, kyslík, dusík, draslík, vápník, hořčík, fosfor a síru, které jsou součástí molekulových struktur a tudíž je jejich funkce především stavební. Stopové prvky zahrnují chlór, bór, železo, mangan, zinek, měď, nikl a molybden a jejich funkce je katalytická a regulační^[1].

Těžké kovy jsou charakteristické tím, že jejich hustota je vyšší než $5,0 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ^[2]. Nacházejí se ve složkách atmosféry, tzn. přirozeně se vyskytují v půdách a rostlinách. Ve většině zemských ekosystémů, a to jak v půdních horninách tak v atmosféře, jsou dva hlavní zdroje těžkých kovů. Zatímco v atmosféře je původ těžkých kovů dán činností sopek a kontinentálním prachem, v půdě se nachází převážně v důsledku lidské činnosti^[3]. V současnosti se ale jejich množství zvyšuje díky těžebnímu a hutnickému průmyslu, zpracování kovových rud, spalování fosilních paliv^[4] a zemědělství, kde se využívá hnojiv, agrochemikálií nebo splaškových kalů. Mnohé kovy jsou biologicky důležité, ale všechny mají potenciál stát se toxickými pro floru i faunu pokud překročí určitou prahovou koncentraci. Z těžkých kovů rostliny potřebují mangan, železo, měď, zinek, molybden a případně nikl. Přičemž fytotoxicita těchto relativně těžkých kovů jako je kadmium, měď, rtuť a nikl je podstatně větší než fytotoxicita olova a zinku^[5]. Díky industrializaci je vypouštěno nepřirozeně velké množství kovů jako jsou arsen, kadmium, měď, rtuť, olovo, nikl a zinek, které jsou následně uvolňovány do vodního prostředí dešťovou a odpadní vodou. V důsledku zemědělské činnosti se zvyšuje koncentrace arsenu, kadmia, mědi, rtuti a zinku. Arsen, kadmium a rtuť jsou součástí některých fungicidů. Měď se také používá jako algaecid, což je chemický přípravek pro úpravu kvality bazénových vod, a kadmium se zinkem se objevují jako kontaminanty z fosfátových hnojiv. Vliv těžkých kovů je obecně omezen na místa v blízkosti velkých měst, průmyslových oblastí nebo na oblasti intenzivního zemědělství. Jakmile se těžké kovy dostanou pomocí vodních toků do mořského

prostředí, ovlivňují růst buněk a jejich regeneraci, stejně jako reprodukční cykly a fotosyntetický potenciál mořských živočichů. Ačkoli jsou zinek a měď nezbytné prvky, jejich nadměrná koncentrace v potravinách a krmivech je velmi znepokojující díky jejich toxicitě pro člověka a zvířata. Olovo a kadmium jsou považovány za potenciální karcinogeny a jsou spojeny s příčinou vzniku řady nemocí, zejména onemocnění kardiovaskulárních, ledvinových, krevních, kostních a nervového systému^[4].

Jednotlivé prvky v potravinách a nápojích jsou kvalitativně i kvantitativně studovány především pomocí metod atomové absorpční spektrometrie^[6-15], indukčně vázaného plazmatu s optickými emisními metodami^[8, 14, 16-19] a indukčně vázaného plazmatu s hmotnostní spektrometrií^[20-22]. Mezi další techniky patří fluorescenční spektrometrie^[23-25], kapilární elektroforéza^[26, 27], kapilární izotachofóza^[28], diferenčně pulzní katodická rozpouštěcí voltametrie^[29], anodická rozpouštěcí voltametrie^[30], adsorptivní rozpouštěcí voltametrie^[30-32] nebo potenciometrické rozpouštěcí analýzy^[33].

Potraviny poskytují lidem a dalším živočišným organismům všechny minerální prvky, včetně primárních prvků jako jsou vodík, uhlík, kyslík, dusík, fosfor, sodík, draslík, hořčík, vápník, síra a chlór, které jsou potřebné pro všechny žijící organismy. Také dodává stopové prvky jako např. lithium, bór, fluór, křemík, vanad, chrom, mangan, železo, nikl, kobalt, měď, zinek, hliník, selen, molybden, jód, wolfram a další nepostradatelné prvky pro důležité procesy zajišťující řádné fungování organismu^[27].

Ve své práci jsem studovala koncentraci hořčíku, vápníku, zinku, mědi, železa, kadmia, chrómu, manganu, niklu a olova v kávě za využití atomové absorpční spektrometrie. Mým cílem bylo prozkoumat změnu koncentrace vybraných prvků při výrobě a přípravě kávy a porovnání obsahu prvků u káv z různých oblastí.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je jednou z nejrozšířenějších metod analytické chemie pro analýzu anorganických prvků. Umožňuje stanovení více než 60 prvků periodické tabulky převážně kovů, metaloidů a některých nekovů až po koncentrace nižší jak mg/kg.

Atomy mohou elektromagnetické záření určité energie pohlcovat (absorbovat) nebo naopak vysílat (emitovat). Při absorpci nebo emisi záření dochází k přechodu elektronů mezi energetickými hladinami. Při přechodu mezi jednotlivými stavy atomu může atom absorbovat nebo emitovat foton, jehož energie je rovna úbytku nebo přírůstku energie atomu ΔE podle Planckova vztahu:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot \nu, \quad (1)$$

kde E_2 , E_1 jsou energie atomu ve vyšším a nižším energetickém stavu, h je Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ Js) a ν je frekvence vyzářeného nebo absorbovaného záření. Atomová spektrometrie je založena na platnosti Kirchhoffova zákona, který říká, že rozdíl energie při přechodu mezi dvěma energetickými hladinami při pohlcení a vyzáření fotonu je co do absolutní hodnoty stejný a liší se jen znaménkem.

Principem AAS je absorpce záření volnými atomy v plynném stavu vznikajícími v atomizátorech. Volné atomy v plynném stavu absorbují fotony určité energie (záření o určité vlnové délce). Energetická hodnota fotonů je charakteristická pro určitý druh atomů a počet absorbovaných fotonů je mírou množství stanovovaných atomů^[34].

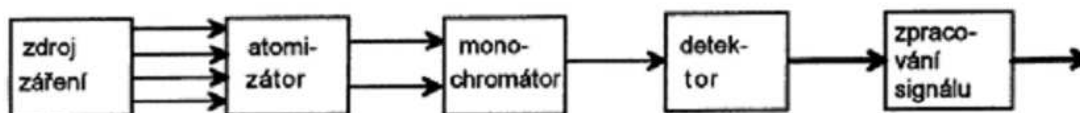
Pro absorpci platí obecně Lambertův – Beerův zákon:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot b \cdot c, \quad (2)$$

kde A je absorbance, která je úměrná koncentraci c , tloušťce absorbující vrstvy b a absorpčnímu koeficientu ε , který je konstantní při dané vlnové délce. I_0 a I jsou intenzity čár před průchodem a po průchodu absorbující vrstvou.

2.1.1. Instrumentace v atomové absorpční spektrometrii

Klasický spektrometr se skládá ze čtyř základních částí: zdroj záření, atomizátor, monochromátor a detektor. Dále je každý přístroj vybaven zařízením, které transportuje kapalnou vzorek do měrné cely, a výpočetním systémem, který řídí běh celé analýzy a vyhodnocuje naměřené signály, které převádí do požadovaných jednotek (např. koncentrace měřeného prvku ve vzorku)^[34].



Obr. 1: Blokové schéma atomového absorpčního spektrometru

2.1.1.1. Zdroje primárního záření

V atomové absorpční spektrometrii se téměř výhradně používají čárové zdroje záření. Zdroje musí být stabilní, snadno ovladatelné, cenově přijatelné s dlouhou životností.

V experimentální oblasti jsou již delší dobu používány také kontinuální zdroje záření. Velikost vyzařené energie ovlivňuje odstup signálu od šumu a tím i mez detekce (velikost minimální měřitelné absorbance), ale neovlivňuje velikost absorbance^[34].

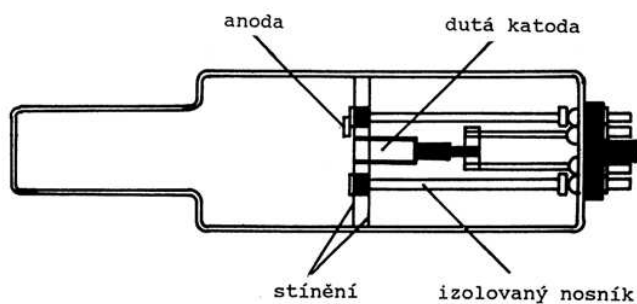
2.1.1.1.1. Výbojka s dutou katodou (HCL - Hollow Cathode Lamp)

Výbojky jsou nejpoužívanějším zdrojem primárního čárového záření díky relativně dlouhé životnosti a pro jejich stabilní a intenzivní záření. Emitují čárové spektrum (s pološířkou 0,002 nm), ve kterém převažují rezonanční čáry, neovlivněné samoabsorpcí. Výbojka s dutou katodou je evakuovaná skleněná baňka naplněná plnicím monoatomickým plynem, zpravidla neonem nebo argonem na tlak okolo 0,5 kPa. Výstupní okénko je vyrobeno z materiálu propouštějícího příslušné emisní čáry. Pro oblast do 240 nm se volí optický křemen, nad 240 nm to může být některý ze speciálních optických druhů skla (Pyrex) a pro oblast nad 300 nm stačí běžné optické sklo. Uvnitř výbojky se nachází dutá katoda (obr. 2) vyrobená z velmi čistého materiálu prvku, který má být lampou stanovován (Cu, Zn, Ni, ...), nebo z materiálu s chudým emisním spektrem (Al, Cu), který je pokryt folií kovu (vzácné kovy),

ze slitiny kovů, ze sintrovaného práškového materiálu (pro špatně opracovatelné kovy). Víceprvková katoda je tvořena sintrací 2 - 6 práškových kovů. Nad katodou je umístěna anoda z materiálu s vysokou teplotou tání (Ta, Ti, W, Zr,...), případně další pomocná elektroda. Potenciálový spád mezi katodou a anodou je 200 - 600 V.

Principem výbojky je tvorba nízkotlakého doutnavého výboje v dutině katody. Vložením potenciálu dochází k ionizaci vzácného plynu díky srážkám s urychlenými elektrony. Kladně nabitě ionty vzácného plynu jsou přitahovány ke katodě, bombardují její povrch a vyrážejí odtud atomy kovu do prostoru, tzv. katodické rozprašování, a u snadno těkavých prvků dochází i k termickému vypařování. Volné atomy jsou dále excitovány srážkami s ionty a elektrony a při následné deexcitaci jsou emitovány fotony charakteristické pro materiál katody.

Životnost výbojek závisí na čistotě materiálu katody a je z velké části dána stabilitou tlaku plnicího plynu^[34, 35].



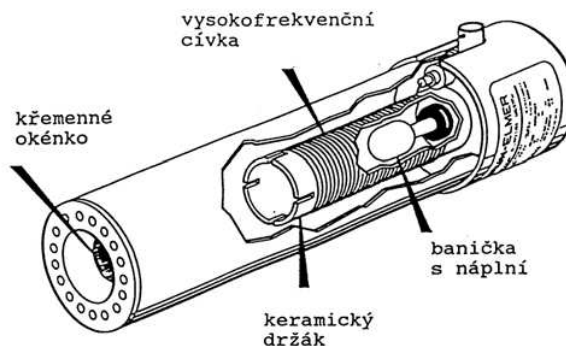
Obr. 2: Výbojka s dutou katodou

2.1.1.1.2. Bezelektrodotová výbojka (EDL – Electrodeless Discharge Lamp)

Tyto výbojky emitují velmi úzké čáry s intenzitou až o několik řádů vyšší než výbojky s dutou katodou, což je důležité pro prvky s čarami v oblasti spektra pod 220 nm (Se, As, Pb a P), kde se projevuje absorpce záření vzduchem, plamenem a optickým systémem.

Jsou to křemenné baničky nejčastěji válcovitého či sférického tvaru o délce několika centimetrů s vnitřním průměrem 5 – 10 mm. Uvnitř baničky je určité množství směsi čistého prvku a jeho těkavé sloučeniny (nejčastěji jodidu). Banička je naplněna plnicím plynem (Ar, Ne, He) na tlak 30 – 300 Pa a je umístěna do pole cívky RF generátoru (obr. 3). Uvnitř výbojky dochází k vytvoření stabilního prstencového výboje při stěnách výbojky, takže záření prochází zanedbatelnou vrstvou atomové páry uvnitř výbojky a samoabsorpce rezonančních čar je minimální.

Použití bezelektrodové výbojky přináší zlepšení poměru signál/šum a tím i meze detekce 2 – 3x proti výbojce s dutou katodou. Zlepší se také linearita kalibrační křivky^[34, 35].



Obr. 3: Bezelektrodová výbojka

2.1.1.1.3. Super lampy

Superlamps patří mezi tzv. „boosted“ výbojky. Jejich výhoda oproti klasické výbojce s dutou katodou je ve vyšší intenzitě záření (o 5 – 75 %) a užších čarách, v závislosti na prvku. Předností před bezelektrodovými výbojkami je velmi dlouhá životnost, vyšší linearita kalibrace pro některé prvky a nižší pořizovací náklady.

Základní princip vychází z výbojky s dutou katodou, navíc je ale použit tzv. emitorelektronů a cylindrická katoda bez dna. Dochází k obdobnému buzení jako u výbojky s dutou katodou (tedy doutnavému výboji) mezi cylindrickou katodou a anodou, která je umístěna pod ní. Z opačné strany je vnitřní prostor cylindrické katody bombardován elektrony z emitorelektronů, což způsobuje homogenní buzení v celém objemu cylindrické cely. Tím je dána malá pravděpodobnost dlouhodobého výskytu atomů v základním energetickém stavu, čímž je potlačena samoabsorpce. Intenzivnější buzení a vyšší používané žhavicí proudy jsou příčinou vyšších intenzit záření^[35].

2.1.1.2. Optický systém

Optický systém tvoří monochromátor a pomocné optické prvky. Jeho úkolem je vést paprsek záření ze zdroje skrz absorpční prostředí do disperzního prvku, který izoluje příslušný spektrální interval, a po výstupu z disperzního prvku fokusovat záření na detektor.

2.1.1.2.1. Pomocné optické prvky

Optické systémy tvoří čočky, zrcadla, rotační zrcadlové sektory a polopropustná zrcadla. Čím více optických prvků systém obsahuje, tím jsou větší ztráty záření způsobené snížením detekčních limitů. Z tohoto důvodu jsou u moderních spektrometrů minimalizovány počty optických prvků a čočky jsou nahrazeny odraznými konkávními zrcadly, které mají o polovinu nižší ztráty záření než čočky. Z hlediska životnosti je pak nutné, aby spektrometr měl všechny zrcadlové plochy chráněné tenkou vrstvou křemene, která zajišťuje snadné čištění zrcadel a zároveň působí jako ochrana před korozivním prostředím laboratoře^[35].

2.1.1.2.2. Monochromátor

Hlavním úkolem je separovat úzký pás vlnových délek $\Delta\lambda$ ze spektra. Velikost intervalu $\Delta\lambda$ se volí velikostí výstupní štěrbiny monochromátoru. V AAS se běžně pracuje s intervaly od 0,2 do 2,0 nm. Monochromátor se skládá ze vstupní štěrbiny, disperzního prvku (reflexní mřížka, hranol, ojedinele filtry), výstupní štěrbiny a zaostřovací pomocné optiky (čočky, zrcadla). Nejčastěji se používá uspořádání Ebbertovo nebo Czerny-Turner, u levnějších přístrojů se můžeme setkat s uspořádáním podle Litrowa. Vždy jsou použity rovinné difrakční mřížky s počtem vrypů 1200 až 2400 mm, lineární reciproká disperze bývá v rozsahu od 5 nm do 0,1 nm/mm. U nejmodernějších spektrometrů, kde je kladen důraz na minimalizaci ztrát záření, se používají interferometricky zhotovené mřížky s maximálně 1800 vrypy na mm a monochromátory s fokální délkou do 400 mm^[35].

2.1.1.2.3. Optické uspořádání

V atomové absorpční spektrometrii jsou nejčastěji využívány spektrometry jednokanálové s jedno nebo dvoupraprskovým uspořádáním, výjimečně dvoukanálové. Jednokanálový spektrometr analyzuje jeden prvek v jednom analytickém pochodu. V posledních několika letech se objevují nové konstrukce umožňující i víceprvkovou analýzu^[35, 36].

- Jednopaprskové spektrometry

Mají jednoduché uspořádání a vykazují minimální ztráty záření, takže není nutné používat primární zdroje záření s vyšší intenzitou. Nedokáží však eliminovat kolísání intenzity zdroje primárního záření a celkovou nestabilitu systému^[35].

Mechanicky nebo elektronicky modulované záření (frekvence 50 - 500 Hz) primárního zdroje prochází absorpčním prostředím (plamen), dopadá na vstupní štěrbinu monochromátoru, ze kterého dopadá na detektor. Výstupní signál detektoru je analytickým signálem^[36].

- Dvoupaprskové spektrometry

Paprsek z primárního zdroje dopadá nejprve na polopropustné zrcadlo, kde dochází k jeho rozdělení na měrný a srovnávací. Pouze měrný paprsek prochází atomizátorem. Poté jsou oba fázově posunutá paprsky sjednoceny polopropustným zrcadlem. Rotující modulátor nebo rotující zrcadlový selektor zajišťuje, aby v jeden okamžik dopadal na detektor měrný nebo srovnávací paprsek.

Dvoupaprskový systém eliminuje fluktuace intenzity zdroje primárního zdroje a nestabilitu systému, protože měření se vždy vyhodnocuje porovnáním měřeného a srovnávacího paprsku. Nevýhodou tohoto uspořádání je kromě vyšší ceny zejména ztráta záření primárního zdroje (dělení paprsků, více optických členů), které je nutné u některých systémů eliminovat používáním primárního zdroje s vyšší intenzitou záření (EDL, Superlamps), protože jinak dochází ke zhoršování detekčních limitů přístroje^[35].

- Dvoukanálový spektrometr

Tento přístroj umožňuje současné stanovení dvou prvků ve vzorku, nebo použití jednoho prvku jako vnitřního standardu. V druhém případě jsou eliminovány i fluktuace plamene, neboť jak paprsek měrný, tak i srovnávací prochází absorpčním prostředím současně. Jsou značně nákladné a poměrně málo rozšířené^[36].

2.1.1.3. Atomizátor

Atomizátor má v AAS funkci zdroje a rezervoáru volných atomů. Zároveň zpravidla slouží i jako absorpční prostředí^[35]. Jeho principem je s dostatečnou účinností přeměnit stanovovaný prvek (analyt) na atomovou páru, tj. na atomy v základním, excitovaném a event. ionizovaném stavu. Základním požadavkem je poskytování nejvyšší koncentrace volných atomů analytu^[36].

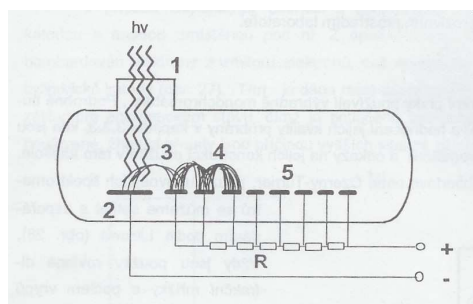
K atomizaci se používají plameny, elektrotermické atomizátory a křemenné trubice, většinou vyhřívané. Podle používaných atomizátorů se AAS dělí na plamenovou AAS (FA-AAS) a AAS s elektrotermickou atomizací (ETA-AAS)^[35].

2.1.1.4. Detektor

V AAS se jako detektory záření nejčastěji používají fotonásobiče nebo plošné detektory.

Fotonásobič je evakuovaná skleněná baňka se vstupním okénkem z vhodného materiálu, zpravidla z křemene. Uvnitř je fotocitlivá katoda, anoda a systém dynod, kterých bývá 9 až 13. Celý fotonásobič je uzavřen ve světlotěsném pouzdru a je umístěn hned za výstupní štěrbinou monochromátoru. Principem je dopad fotonu na světlocitlivou vrstvu, kde dojde k vyražení elektronu, který je urychlen v elektrickém poli a přitažen na první z dynod. Dopad elektronu na dynodu způsobí vyražení několika sekundárních elektronů (max. 4), které jsou přitahovány k další dynodě. Mezi jednotlivými dynodami je udržován potenciálový spád 50 - 150 V. Tím je zaručen lavinový vzrůst počtu elektronů a měřitelné výstupní proudy i při nízkých intenzitách dopadajícího záření. Linearita odezvy fotonásobičů je vysoká (5 - 6 řádů) a časová konstanta velmi nízká (10^{-8} – 10^{-9} s), takže je možné provádět rychlá měření v širokém rozsahu intenzit.

Použitelnost fotonásobiče pro příslušnou spektrální oblast omezuje materiál katody. Dopadající foton musí mít totiž dostatečnou energii pro vyražení elektronu, což vylučuje použití některých fotonásobičů v dlouhovlnné oblasti spektra. V AAS se většinou používá pouze jeden fotonásobič pro celou spektrální oblast, dosahovaná citlivost je tedy určitým kompromisem^[35].



Obr. 4: Schéma fotonásobiče (1 - křemenné okénko, 2 – fotokatoda, 3 – primární elektrony, 4 – pomnožné sekundární elektrony, 5 – systém dynod)

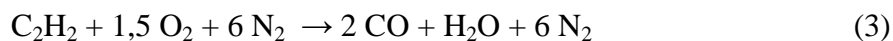
2.1.2. AAS s plamenovou atomizací

Jejím principem je převedení roztoku na aerosol ve zmlžovači a zavádění tohoto aerosolu do laminárního předmíchávaného plamene.

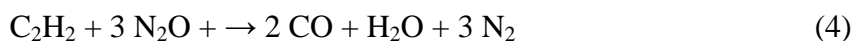
2.1.2.1. Plamen

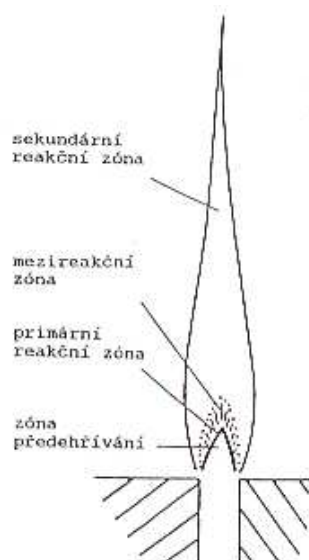
Plamen je oblast, kde probíhá hoření, chemická reakce mezi palivem a oxidovadlem za vývoje tepla a záření. V AAS se jako palivo používá téměř výhradně acetylen, dále se může použít propan/butan nebo vodík, jako oxidovadlo se využívá vzduch, oxid dusný nebo kyslík. Proces hoření, poloha a tvar plamene jsou kontrolovány a stabilizovány hořákem. Plamen by měl být průzračný v užívané spektrální oblasti (190 - 850 nm), musí mít vlastní slabé záření, co nejvyšší účinnost atomizace a nízký stupeň ionizace. Plamen není homogenní, ale skládá se z několika výrazně ohraničených zón (obr.5). Těsně nad štěrbinou hořáku je tenká přehřívací zóna (o šířce 0,01 - 0,1 mm), kde se plyny zahřívají na zápalnou teplotu (600 - 800 K). Na tuto zónu navazuje primární reakční zóna, ve které probíhá hoření a radikálové reakce, které způsobují molekulární emise. Tato zóna má normální šířku okolo 0,1 mm, ale při nadbytku paliva se výrazně zvětšuje (tzv. bohatý plamen). Poté následuje mezireakční zóna, ve které jsou výrazné redukční podmínky. Zóna není ovlivněna kyslíkem z okolní atmosféry a oxidovadlo bylo již spotřebováno v primární zóně. Nad mezireakční zónou je sekundární reakční zóna, kde dochází k dohořívání způsobené difúzí kyslíku z okolní atmosféry.

Z hlediska analytického je nejčastěji využívána oblast mezireakční zóny, případně oblast těsně nad touto zónou. Pro získání optimálních výsledků je nutné optimalizovat výšku pozorování, tedy místo kudy měrný paprsek prochází plamenem a složení plamene pro každý prvek. Plameny se liší přítomností radikálů a teplotou. V AAS se nejčastěji používá plamen acetylen-vzduch, který dosahuje teplot 2200 °C. Pomocí něj lze stanovit více jak 30 prvků^[34, 35].



Plamen s oxidem dusným dosahuje teplot 2700 °C.





Obr. 5: Struktura plamene

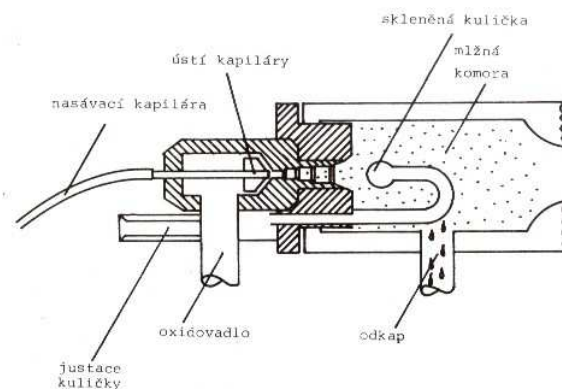
2.1.2.2. Hořák

V AAS se nejčastěji používají jednošterbinové hořáky z masivní oceli, litiny nebo titanu. Jejich šterbina má rozměry 50 x 0,5 mm pro plamen acetylen-oxid dusný a 100 x 0,5 mm pro plamen acetylen-vzduch. Dále je možné využít tříšterbinový hořák, který je vhodný pro vzorky s vysokým obsahem solí (dokonce až 30 %). V poslední době se využívají hořáky s profilovanou šterbinou, která umožňuje vzdušné chlazení, tím dosáhneme konstantní teploty šterbiny a zamezíme jejímu zapékání.

K získání homogenní směsi aerosolu vzorku, oxidovadla a paliva slouží mlžná komora. Účinnost zmlžování je mimo jiné ovlivněna kvalitou stěn komory. K roztříštění kapek a zachycení kapek většího průměru slouží nárazové tělísko (skleněná nebo tantalová kulička) a záchyt kapek (na lopatkách turbínky)^[34].

2.1.2.3. Zmlžovač

Zmlžování vede k disperzi roztoku vzorku do kapiček malého průměru. Nejčastěji používané zmlžovače v AAS jsou pneumatické s nasáváním vzorku tlakovým plynem. Umožňují zmlžování na mlhu, resp. aerosol s kapičkami o průměru 1 - 50 μm a dosahují účinnosti 5 - 15 % pro vodné roztoky. Pneumatické zmlžovače se rozdělují na koncentrické, které mají nasávací kapiláru a trysku umístěné soustředně, a úhlové, které mají kapiláru a trysku na sebe kolmo.



Obr. 6: Koncentrický pneumatický zmlžovač

V Babingtonově zmlžovači dochází k dispergování vzorku před ústím tlakové trysky. Vzorek je nezávisle nasáván peristaltickým čerpadlem. Má větší spotřebu vzorku a je vhodný pro roztoky s vyšším obsahem solí. U ultrazvukového zmlžovače nastává tvorba aerosolu vibrací monokrystalu (BaTiO_3). Je dosaženo vysoké účinnosti zmlžování 70 - 80 %.

V poslední době se využívá také hydraulický vysokotlaký zmlžovač, kde je kapalina vedena vysokotlakým čerpadlem pod tlakem 5 - 40 MPa do trysky a dosáhne se turbulentního toku. Ve vzdálenosti 15 - 25 mm od trysky je umístěno nárazové tělísko. Účinnost zmlžování je okolo 90 %^[34].

2.1.2.4. Základní pochody při atomizaci v plameni

Celý proces atomizace vycházející z kapalného vzorku je možné popsat následujícími pochody (obr.7):

- zmlžování roztoku (vznik mokrého aerosolu),
- odpaření rozpouštědla (vznik suchého aerosolu),
- vypaření částice,
- chemické reakce se složkami přítomnými v plameni,
- vznik volných atomů (atomizace),
- ionizace a rekombinace,
- termická excitace a deexcitace.

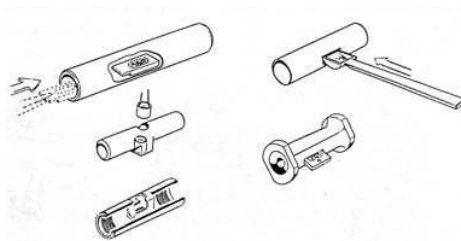
kyslíku. V některých případech může být nahrazen dusíkem nebo směsí argonu a vodíku).

Podle tvaru se elektrotermické atomizátory rozdělují na otevřené a uzavřené typy. S otevřeným typem atomizátoru se lze setkat pouze u velmi starých přístrojů. V běžné analytické praxi se používají uzavřené atomizátory, které mají převážně tvar trubek (Massmanova typu). Volné šíření par je omezováno stěnami atomizátoru a doba zadržení par analytu je podstatně vyšší než u otevřeného typu. Část atomizátoru, kam je dávkován vzorek, se nazývá podložka vzorku a může být nedílnou součástí atomizátoru, nebo může být výměnná (platforma, sonda, lodička, ...). Uzavřené atomizátory představují poměrně masivní zařízení, které bývá chlazeno vodou^[35].

2.1.3.2. Dávkování vzorků do ETA-AAS

Běžně se v elektrotermických atomizátorech analyzují kapalně vzorky, nebo dobře homogenizované suspenze, které je možné dávkovat stejným způsobem jako kapaliny. Dávkované objemy se pohybují od 5 do 100 μl . K dávkování se dříve využívalo ručních mikrodávkačů. V současné době byly nahrazeny automatickými dávkovači, které dosahují velmi dobré reprodukovatelnosti.

Analýza pevných vzorků není zcela běžná, neboť velkým problémem je sestavení kalibrace. Musí se kalibrovat pevnými standardy s přesně definovaným obsahem analyzovaného prvku a musí být homogenní. Prakticky se analýza pevných vzorků uskutečňuje zasouváním lodiček, nebo různě tvarovaných nosičů přímo do kyvety (obr. 8).



Obr. 8: Různé typy vnášení pevného vzorku do elektrotermického atomizátoru

Pro vnášení pevných práškových vzorků do atomizátoru lze také využít suspenzní techniku (Slurry sampling), kdy se pevný vzorek namele na definovanou velikost a dávkuje se v podobě homogenní suspenze pomocí automatického podavače^[35].

2.1.3.3. Děje vedoucí k atomizaci v ETA-AAS

Děje probíhající v atomizátoru během atomizační fáze jsou velmi komplikované. Lze je rozdělit do dvou skupin:

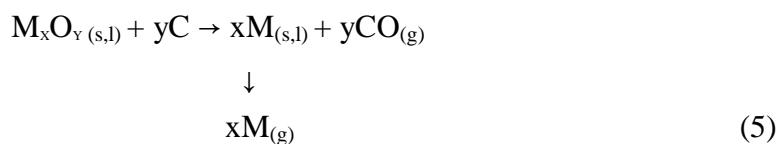
- děje vedoucí ke vzniku volných atomů analytu,
- děje vedoucí k jejich zániku nebo odstranění z optické osy spektrometru, tedy z pozorovaného objemu.

Z hlediska časové posloupnosti lze děje rozdělit na:

- vypařování analytu v molekulární a atomární formě,
- disociace molekulárních forem analytu v plynné fázi a následné reakce volných atomů se složkami atmosféry atomizátoru,
- heterogenní, obecně zvrtné reakce mezi povrchem atomizátoru a složkami plynné atmosféry,
- fyzikální transportní děje v atomizátoru^[35].

Volné plynné atomy pak mohou vznikat v grafitovém atomizátoru následujícími mechanismy:

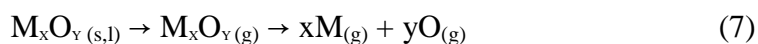
- redukce oxidu na kov v kondenzované fázi a následné vypaření kovu



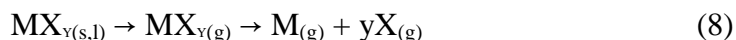
- termický rozklad v pevné fázi



- vypaření oxidu a jeho následná disociace



- vypaření halogenidu a jeho následná disociace



Povrch grafitu (materiálu atomizátoru) je za vysokých teplot vysoce reaktivní a je tudíž pravděpodobná celá řada reakcí s analytem i složkami matrice vzorku, např. sorpce kyslíku, chemisorpce a tvorba termicky stabilních sloučenin. Při výstupu volných atomů z atomizátoru může dojít k zániku atomů ve vnitřním prostoru

atomizátoru nebo k výstupu atomů na koncích atomizátoru či dávkovacím otvorem (konvekci, expanzí nebo pomocí difúzního transportu)^[34].

2.1.3.4. Teplotní program v ETA-AAS

Vlastní analytický proces při analýze s ETA má několik fází, které musí být důkladně optimalizovány. Každá fáze (teplotní krok) je charakterizována rychlostí nárůstu teploty, konečnou teplotou, dobou zdržení (tj. doba, po kterou je teplota udržována) a případně dalšími parametry, jako je např. typ inertu a jeho průtok. Spojením jednotlivých fází vzniká tzv. teplotní program, který charakterizuje celý analytický proces. Teplotní program se skládá z následujících kroků:

- a) Fáze sušení - dochází k vysušení kapalného vzorku, teplota se volí 5 až 10 °C nad bodem varu rozpouštědla.
- b) Fáze pyrolýzy (rozkladu) - hlavním cílem je přeměna matrice vzorku nebo její odstranění termickým procesem, ovšem bez ztráty analyzovaného prvku. Maximální teplotu, kterou lze použít, určíme z tzv. rozkladné křivky.
- c) Fáze atomizace - optimální teplota atomizace se určuje z tzv. atomizační křivky. Doba atomizace se volí taková, aby s jejím prodlužováním již nedocházelo ke změnám plochy píku. Zaznamenává se analytický signál.
- d) Fáze čištění - tento krok zaručuje odpaření zbytku vzorku, který zde mohl zůstat po fázi atomizace. Používá se vyšší teplota než u atomizace a maximální průtok inertu.
- e) Fáze chlazení^[35].

2.1.3.5. Teplota atomizátoru

Teplota atomizátoru, respektive její časový průběh a rozložení teploty v prostoru atomizátoru, je rozhodujícím faktorem ovlivňujícím atomizační mechanismus. Teplota atomizátoru na počátku atomizační fáze po určitou dobu roste a pak je konstantní v čase, ale ne v prostoru – teplotní gradient podél osy atomizátoru. Neizotermičnost atomizačního děje je příčinou negativních jevů (kondenzace v chladnější části, reakce volných atomů s matricí). Prostorovou neizotermičnost lze částečně odstranit použitím tzv. příčně uchycených atomizátorů, které mají minimální teplotní gradient podél osy atomizátoru. Časovou neizotermičnost je možné odstranit použitím tzv. L'vovovy platformy, což je grafitová destička, která se dotýká

stěn atomizátoru pouze ve čtyřech bodech, takže přenos tepla k platformě se děje převážně radiací^[35].

2.1.4. Korekce pozadí

V reálné praxi dochází kromě specifické absorpce (způsobené volnými atomy analyzovaného prvku) také k absorpci nesespecifické (absorpce pozadí). Absorpce pozadí je způsobena rozptylem záření na nevypařených částicích, molekulární absorpcí nebo překryvem spektrálních čar. Rozptyl na částicích se zvětšuje směrem ke kratším vlnovým délkám a hraje významnou úlohu v krátkovlnné oblasti UV spektra. Molekulární absorpce se může projevat širokými molekulárními pásy v celé oblasti spektra. Absorpce pozadí způsobuje kladnou chybu, která bývá významná zejména u vzorků s komplikovanou maticí, u vzorků s vysokým obsahem solí a při měření malých absorbancí. Pro získání správných výsledků (specifické absorpance) se musí od celkové absorpance odečíst absorpance pozadí. K tomu nám slouží tzv. korekce pozadí.

Způsoby korekce pozadí lze rozdělit na sekvenční a simultánní.

- Sekvenční způsob korekce

Změří se celková absorpce na analytické čáře a následně se měří absorpce pozadí na čáře blízké, kde analyt neabsorbuje. Tento způsob korekce nelze použít pro korekci pozadí, kde se průběh pozadí výrazněji mění s vlnovou délkou a pro sledování dějů, které se mění s časem. Patří sem korekce pomocí blízké čáry.

- Simultánní způsob korekce

Všechny moderní spektrometry jsou vybaveny některým simultánním typem korekce pozadí. Poskytuje správnější výsledky a je použitelná u všech technik atomizace. Do simultánního způsobu patří korekce pomocí zdroje kontinuálního záření, s využitím Zeemanova jevu, a metoda samozvratu čáry zdroje primárního záření (metoda Smith-Hieftje).

Nejrozšířenější způsob korekce je pomocí zdroje kontinuálního záření, kdy je prostředí atomizátoru střídavě ozařováno čárovým primárním a kontinuálním zdrojem záření s frekvencí 50 - 200 Hz. Jako kontinuální zdroj se v UV oblasti (do 350 nm) používá deuteriová výbojka a pro viditelnou oblast halogenová výbojka. Výhodou korekce s kontinuálním zdrojem je nízká cena a vysoká frekvence odečítání signálu. Nevýhodou je špatné korigování strukturovaného pozadí, kdy může docházet ke značným chybám^[35].

2.1.5. Interference

Jde o efekt rozdílné velikosti signálu, který získáme pro stejnou koncentraci analytu v čistém standardu a za přítomnosti doprovodných složek (matrice). Interference mohou způsobovat jak zvýšení, tak snížení signálu. Interference se dělí na spektrální a nespektrální (vliv matrice). Z hlediska výskytu lze nespektrální rušivé vlivy dělit na interference v kondenzované a plynné fázi. Z hlediska studia interferencí se dělí na fyzikální a chemické^[35].

2.1.5.1. Interference v FA-AAS

Interference v kondenzované fázi	Eliminace
Interference transport - změny v rychlosti sání a účinnosti zmlžování (vliv viskozity, povrchového napětí a solnosti roztoků). Interference vypařování - vznik méně těkavé sloučeniny, - vznik těkavější sloučeniny, - disperze analytu v rušící složce s odlišnou těkavostí.	Volba experimentálních podmínek - složení plamene, - úprava výšky pozorování, - úprava teploty plamene, - uvolňovací činidla (EDTA, LaCl ₃).
Interference v plynné fázi	Eliminace
Posun disociační rovnováhy Posun ionizační rovnováhy Změny prostorového rozložení volných atomů v plameni	Ionizační interference - ionizační pufr (obvykle roztok alkalického kovu, zvýšení tlaku elektronů v plameni).

2.1.5.2. Interference v ETA-AAS

Interference v kondenzované fázi	Eliminace
Změny rozložení analytu na atomizační podložce Změna nasákavosti atomizační podložky Vznik snadno těkavé sloučeniny a ztráty analytu během termické úpravy Vznik termicky stabilní sloučeniny a její nedostatečná atomizace	Použití modifikátorů Zvýšení izotermičnosti atomizace (použitím platformy, sondy)
Interference v plynné fázi	Použití jiného atomizačního povrchu
Posun disociační rovnováhy Změna rychlosti výstupu analytu z atomizátoru	

2.1.5.3. Modifikátory

Jako modifikátory matrice lze označit ty látky, které jsou schopny ovlivnit průběh termické úpravy nebo atomizační mechanismus, přičemž nesmí obsahovat stanovovaný prvek. Principy působení modifikátorů:

- modifikátor stabilizuje analyt v atomizátoru do vyšších teplot (tvorbou termicky stabilnější sloučeniny nebo slitiny),
- modifikátor reaguje s analytem za vzniku těkavější sloučeniny,
- modifikátor reaguje s interferentem za vzniku těkavější sloučeniny,
- modifikátor reaguje přednostně s interferentem za vzniku termicky stabilní sloučeniny^[35].

K modifikaci matrice se používá celá řada sloučenin. Jejich působení závisí na reakci modifikátoru nebo jeho účinné formy s analytem a matricí., případně povrchem atomizátoru. Používá se například: thiomocovina, kyselina askorbová, dusičnany (Pd^{2+} , Ni^{2+} , ...), atd.^[34]

2.2. Káva

2.2.1. Kávovník

Kávovník je dřevina subtropického a tropického podnebného pásma, který se pěstuje v Asii, Jižní a Střední Americe, Africe, Indonésii a na Arabském poloostrově, především v hornatých krajinách. Vyžaduje teplé a vlhké podnebí se stálými teplotami mezi 18 - 22 °C, ale i ochranu před prudkými větry a dostatek vláhy. V oblastech se silnými větry jsou kávovníkové plantáže chráněny pásy jiných rostlin, například vysokými banánovníky se širokými listy a kukuřičnými lány. Patří do druhu Rubiaceae, rodu *Coffea*, který zahrnuje přibližně 80 druhů. Z nich se prakticky využívají pouze kávovník arabský, kávovník robusta a kávovník liberijský^[37]. Velikost dřevin je různá, od nízkých keřů až po stromy dosahující výšky až 18 metrů. Pochopitelně, že u pěstovaných kávovníků se jejich výška přizpůsobuje daným potřebám a tak se pravidelným seřezáváním udržují ve výšce kolem půldruhého metru.

Kvetou bílými voňavými a jasmínu podobnými květy, jež se rychle mění v zárodky plodů, které svým tvarem a v době zrání i dost podobnou barvou připomínají naše třesně. Zelené plody zpočátku žloutnou, červenají (nejlepší pro sklizeň) až se konečně zabarvují jemně dořívova. Skládají se z povrchové kožovité slupky, nasládlé šťavnaté dužniny a pergamenovité slupky, obalující dvě kávová zrna (semena). Někdy se vyvine pouze jedno zrno vejčitého tvaru (perlová káva), které se však kvalitou neliší od ostatních. Každé semeno je ještě obaleno volným o semením zvaným stříbřitá blanka.

Kávovník začíná plodit po 3 - 4 letech a plodí 20 až 30 let. Kávovníky arabský dává sklizeň 2 - 3 ročně, protože kávovník má zároveň květy, zelené i zralé plody. Z každého keře lze otrhat v průměru asi 2 - 3 kilogramy plodů, což po zpracování představuje asi 500 - 750 g zralých zrn. Po následovném upražení tato zrna ztrácí asi 20 % své hmotnosti^[38].

- Kávovník arabský (*Coffea arabica*)

Je to stále zelený keř nebo stromek dosahující výšky 5 - 6 m, s lesklými listy a vonnými, bílými květy. Za příznivých podmínek začíná rodit po třech až čtyřech letech od výsadby, přiměřené výnosy lze očekávat od 6 roků. Úrodu poskytuje 25 - 35 let podle odrůdy, půdních a klimatických podmínek. Keře se většinou pěstují

ve výškách 1000 až 1800 metrů nad mořem. Představuje zhruba 65 % světové produkce kávy. Kávovník arabský má mnoho odrůd díky pěstování v různých podnebných pásích a nadmořských výškách. Liší se především vzrůstem keře, tvarem jeho listů a květů. Rovněž barva, velikost a tvar kávových bobulí jeví určitou variabilitu^[39].

- Kávovník robusta (Coffea canephora)

Dorůstá do výšky 7 - 13 m a poskytuje první úrodu již 2 roky po vysazení. Plody uzrávají průběžně po celý rok. Kávovník je značně odolný proti nižším teplotám a nemocem, které postihují kávovníkové plantáže. Je též oblíbený pro svůj vysoký výnos. Pěstuje se ve výškách 500 až 900 metrů nad mořem. Sklizená kávová zrna se nevyrovnají chutí ani kvalitou kávě arabika, přesto se jí na plantážích dává přednost pro její odolnost, menší nároky na jakost půdy a pro vysokou úrodnost. Vysazuje se zpravidla i na dřívější plantáže arabiky, které byly poničeny chorobou či mrazem. V současné době představuje sklizeň této kávy cca 30 % světové produkce a její podíl se stále zvyšuje. Káva též obsahuje vyšší množství kofeinu oproti kávovníku arabskému.

- Kávovník liberijský (Coffea liberica)

Je silná mohutná dřevina, dorůstající do výše až 18 metrů, avšak na plantážích se vyskytuje jako keř. Pěstuje se v tropických a subtropických nížinách Afriky a Jižní Ameriky s velkou vlhkostí vzduchu, kde teploty dosahují 20 - 25 °C. Mají velké květy a větší zakulacené plody se silnou tuhou dužinou, která se obtížně odděluje od semen. Plody má v hustých skupinách a dává bohatou sklizeň. Na světovém trhu má však malý význam. Díky její specifické nahořklé chuti je poptávka po ní minimální^[37].

Oblasti pěstování

Pěstování kávy se věnuje více než 50 států světa nacházejících se v pásu mezi obratníkem Raka a Kozoroha. Zatímco arabika se převážně pěstuje ve Střední a Jižní Americe (nejlepší káva pochází z Kolumbie, Brazílie, Kostariky, Jamaiky, Mexika, Peru, Ekvádoru, Kuby, Panamy, Venezuely a Guatemaly), v Africe je produkce arabiky podstatně menší (nejdůležitější plantáže jsou v Etiopii, Keni, Ugandě, Angole, Zairu, Togu, Madagaskaru, Jemenu a Tanzánii) a asijské země pěstují až na výjimky téměř výhradně robustu (Indonésie, Jáva, Sumatra, Papua Nová Guinea, Vietnam, Filipíny, Laos, Srí Lanka a Indie). Přesto podíl arabiky činí 65 % celosvětové

sklizně kávy a stále se zvětšuje. Celková produkce kávových zrn činí v posledních letech více než 90 milionů žoků (1 žok = 60 kg), což přesahuje cca o 5 % světovou poptávku. Střední a Jižní Amerika, včetně Karibské oblasti vyprodukuje 70 % celkového objemu sklizně, Afrika 10 % a Asie 20 %^[38].

2.2.2. Výroba kávy

2.2.2.1. Sklizeň kávy

Po třech až čtyřech letech dávají stromky kávovníku své první plody, které jsou na větvích uspořádány v řádcích nebo hroznech.

Zrna, která nakupujeme, jsou semena kávovníku. Jsou uložena v peckovicích, plodech podobných třešním, které se v době sklizně vybarvují do červena, někdy až do fialova. Pod barevným obalem plodu, slupkou či exokarpem, se nachází dužnaté oplodí, mezokarp, poté nejprve slizovitá vrstva a pak pergamenová slupka obsahující semeno, osemení zvané též endokarp. V něm se zpravidla nacházejí dvě zrna. Většina peckovic arabiky dozrává po 6 až 8 měsících, zatímco robusta k tomu potřebuje 9 až 11 měsíců.

Doba sklizně se mění podle zeměpisné polohy. Severně od rovníku (Etiopie, Střední Amerika) se káva sklízí od září do prosince. Na jih od rovníku (Brazílie, Zimbabwe) probíhá hlavní sklizeň v dubnu nebo v květnu, může se však protáhnout až do srpna. V zemích na rovníku (Uganda, Kolumbie) je možno kávu sklízet po celý rok zejména na plantážích ležících v rozdílné nadmořské výšce.

Sklizeň se provádí dvojím způsobem. Při takzvaném česání se veškerá úroda trhá z větví kávovníku při jednom průchodu plantáží. Druhá metoda se nazývá selektivní česání (selektivní sklizeň). Provádí se v několika probírkách s odstupem 8 až 10 dnů a zajišťuje, že se sklídí pouze zralé, tmavě červené plody.

Náklady na sklizeň představují odhadem polovinu všech vynaložených nákladů kávové plantáže nebo farmy. V Brazílii je snaha tyto náklady snížit použitím česacích strojů. Stroje však nejsou vhodné pro všechny typy půd a je třeba načesané peckovice prosívat, aby se odstranilo listí a úlomky větviček.

Proto se káva z větší části sklízí ručně. K namáhavé sezónní práci patří i to, že česači nesmějí sbírat nezralé, chorobami postižené, poškozené či přezrálé plody, neboť by tyto exempláře sklizeň znehodnotily. Nedožrálá, zmrzlá, seschlá nebo světlehnědá,

zahnědlá, černá a voskovitá zrna po rozdrčení, rozmáčknutí či rozlomení nepříjemně páchnou, říká se o nich, že mají lišku a mohou zkazit celou partii kávy^[40].

2.2.2.2. Zpracování kávy

Bezprostředně po sklizni se z plodů musí získat zelená zrnka. Existují dvě metody, které mají vliv na kvalitu a cenu kávy. Nejlevnější postup je „suché“ zpracování, používané pro zrna nižší jakosti, zatímco kvalitnější zrna se zpracovávají „mokrou“ cestou.

- Suché zpracování

Při suchém postupu se sklizené plody nejprve properou ve velkých nádržích, kde se zbaví nečistot a hlíny. Následně se rozprostírají na slunci, v tenkých 6 až 10 cm silných vrstvách, na betonových nebo kamenných podlahách, a v pravidelných časových intervalech se prohrabávají, aby se uspíšilo důkladné proschnutí a aby se zabránilo kvašení a fermentaci. Při dešti nebo poklesu teplot se plody musejí zakrývat plachtami.

Asi po čtyřech týdnech klesne vlhkost peckovic zhruba na 12 %, vnější slupka je v tu dobu tmavohnědá a křehká. Plody se poté ve strojích oloupou až na vlastní zrnka.

Tato metoda je rychlá, levná, jednoduchá, šetrná k životnímu prostředí a zvyšuje obsah cukru v zrnku.

- Mokré zpracování

Mokvý postup vyžaduje vyšší náklady i větší svědomitost, dokáže však lépe zachovat kvalitu kávových zrn a méně je poškozuje.

Kávové plody se plaví ve velikých nádržích (tancích), kde se zbavují listí, suchých nezralých plodů a veškerých nečistot. Proudem vody jsou plody unášeny do mačkáčeho stroje, tzv. pulpovníku, kde se kávová semena uzavřená v pergamenovité slupce z plodů uvolní, odskakují stranou a dužina plodu se ozubeným válcem pulpovníku odděluje a vodou odplavuje. Aby byla zajištěna kvalita zrn, musí se tato operace provést co nejdříve po sklizni – ideálně nejpozději do 12 hodin po ni.

Dalším stupněm mokrého zpracování je fermentace neboli kvašení, kdy semena zbavená dužiny jsou proudem vody unesena do betonových nádrží. Při kvašení enzymy uvolňují zbývající lepkavou vrstvu, která pokrývá pergamenovou slupku semen. K tomu jsou semena uložena na 12 až 72 hodin do kvasných nádrží při teplotě

60 – 70 °C. Doba uložení se řídí okolní teplotou, silou zbytku obalové vrstvy a množstvím přítomných mikroorganismů.

Důležitá je průběžná kontrola kvality, aby se předešlo vzniku takzvané kávy s liškou. Pouhé jediné zetlelé či zatuchlé zrno může zkazit celý náklad kávy.

Sušení zrn

Kávová zrna se stále ještě nacházejí ve svém pergamenovém obalu a po mokřém zpracování obsahují asi 50 % vlhkosti. Aby byla káva skladovatelná, musí se vlhkost snížit zhruba na 11 %. Tato hranice je rozhodující, protože zrna arabiky obsahující pouze 10 % vlhkosti ztrácejí svou modrozelenou barvu a doplácují na přesušení svou kvalitou.

I k sušení pergamenové slupky se zrna rozkládají jako při suchém postupu na betonové sušící plochy nebo na sušící stoly či desky.

Na velkých plantážích nebo v místech, kde trvalé deště brání procesu sušení, se používá sušících strojů. Zrna přicházejí do provzdušňovacích beden, kde jsou vystavena působení horkého vzduchu. Jinak se zrna suší na slunci. Přitom se v období 12 až 15 dnů pravidelně obracejí, aby vyschla rovnoměrně. Důležité je, aby pergamenová slupka nepopraskala.

Nyní, když je fáze zpracování uzavřena, označují se zrna jako *pergamenová káva*. V ideálním případě zůstávají v tomto stavu až do doby bezprostředně před exportem^[41].

2.2.2.3. Pražení kávy

Pražení kávy je opravdovým uměním a je jednou z nejdůležitějších operací v procesu zpracování. Teprve upražením rozvine káva své charakteristické aroma. Bez pražení by lidé z pití kávy neměli patřičný požitek.

Během pražícího procesu dochází díky vysokým teplotám k chemickým reakcím: škrob se mění na cukr, vytvářejí se různé kyseliny, zatímco jiné se odbourávají. Rozvolňuje se původní buněčná struktura zrn, což ovlivňuje jejich roztržení, při kterém rýha na zrnu s praskotem a třeskem puká jako popcorn. Bílkovina se rozkládá na peptidy a ty se vylučují jako oleje. Vlhkost a oxid uhličitý se odpaří a při silnějším pražení se vytváří uhlík.

Aromatické oleje, nazývané také kávová esence nebo kávový olej, jsou těkavými nositeli typických aromatických a chuťových látek kávy, a protože jsou ve vodě rozpustné, projeví se výrazně v kávovém odvaru. Kyslík a v omezené míře

i světlo jsou největšími nepřáteli pražené kávy, protože už bezprostředně po upražení ztrácí jejich vlivem vůni.

Většina pražících strojů je plynových a pracuje při teplotách kolem 290 °C. Už v prvních pěti minutách vystupuje vlivem vysokých teplot voda ze zrn. V důsledku toho ztratí zrna i zbývající vlhkost, čímž prasknou. Jakmile zrna dosáhnou teploty asi 200 °C změní se pozvolna jejich barva z bledě zelené na tmavohnědou a na povrch vystoupí oleje. Tento postup se nazývá pyrolýza, rozklad látek teplem.

Důležité je, aby zrna byla během pražení v neustálém pohybu. To zabezpečuje nejen rovnoměrné upražení, ale zároveň brání, aby se zrna spálila.

Bezprostředně po upražení se káva ochlazuje na speciálních sítích nejen vzduchem, ale také postřikováním vodou, aby se zabránilo pokračování pražícího procesu. Čím rychleji se upražená zrna zchladí, tím lépe.

Jako základní poznatek obecně platí, že čím tmavší je pražení (dlouhá doba pražení), tím nižší je konečná kvalita, a čím silněji se káva praží, tím více ztrácí vlastní charakter. V některých zemích se při pražení do kávy přidávají další ingredience: skořice, hřebíček, zázvor a jiné, které pak výrazně mění celkové aroma kávy^[40].

2.2.2.4. Mletí kávy

S každým dalším krokem zpracování se krátí „životnost“ kávy, zrna ztrácejí chuť a vůni. Surová káva je trvanlivá po léta. Po upražení si však zrnková káva uchovává aroma jenom týden, po dvou týdnech se vůně sníží zhruba na polovinu. Po umletí se redukuje čerstvost vůně nanejvýš na několik dní.

Mletím se dosahuje rychlejšího vyluhování kávy v horké zálivce. Mletí v mlýnku má být pomalé, aby se káva nepřehřála. Káva se vysokou teplotou ochuzuje o velmi cenné, snadno těkající aromatické látky a připaluje se. Používají se kávomlýnky tříštivé (rotující nože na hřídelce kávomlýnku) nebo kávomlýnky s drtiči (výhodou je možnost regulace hrubosti mletí).

Stupně mletí kávy se v podstatě rozlišují na hrubé, střední a jemné. Jemně umletá káva nemusí být tak dlouho v kontaktu s horkou vodou jako káva hrubě umletá. Velice hrubě mletá káva je nejvhodnější pro takzvanou konvicovou přípravu. Rovněž metoda přípravy nápoje v kávovarech a filtrováním vyžaduje hrubější umletí než vaření v přístrojích na espresso, jímž káva protéká v nejkratší době. Perfektní mletá káva

pro tureckou kávu je jemnější než písek, pro přípravu v konvici by měla ideálně být natolik hrubá, aby chůze po ní bosou nohou způsobovala bolest^[40].

2.2.3. Chemie kávy

V černé tekutině, kterou dostaneme některým z různých způsobů přípravy kávy, jsou stovky organických látek, které jsou jen částečně známé a o jejich možných fyziologických účincích se až na výjimky nic neví. Extrakty obsahují i malá množství sacharidů a tuků: ze známých cukrů se sacharóza (cukr v cukřence) během pražení ztrácí až na méně než 3 % suché hmotnosti zrněk a podobně mizí glukóza a fruktóza. Sacharidy, zbylé po pražení, jsou tedy z diabetického hlediska zanedbatelné.

Obsah tuků v zelené kávě je dost vysoký, mezi 10 – 20 % (podle druhu kávovníku - více v arabice, méně v robustě). Většina kávového oleje je tvořena triglyceridy kyseliny linoleové a palmitové, tedy podobnými lipidy, jaké se vyskytují v zeleninách. O tom, kolik tuku přejde do hotového nápoje, rozhoduje způsob vaření. Při přípravě turecké kávy nebo prostým vařením po několik minut se dostane do kávy v šálku 60 – 200 mg celkových tuků, tedy nijak významné množství, kdyby mezi nimi nebyly diterpeny *kafestol* a *kahweol*, které zvyšují hladinu cholesterolu v krvi. Je tedy užitečné zmínit se, jak se těchto látek zbavit. Jestliže se připravuje tzv. překapávaná káva, kdy se horkou vodou přelévají drcená zrna na papírovém filtru, klesá obsah tuků a mezi nimi i *kafestolu* a *kahweolu* v nápoji na minimum. Pomáhá i přelití uvařené kávy přes filtr, většina lipidů se na jeho papíře zachytí. Málo tuků zůstane také v instantní kávě, i když jsou dost velké rozdíly mezi výrobky různých firem.

Stejně jako v každé rostlinné hmotě jsou i v kávě minerály: nejvíce draslíku, méně vápníku, hořčíku, fosfátů.

Účinky kávy, pro které jsme si ji oblíbili, způsobují tři alkaloidy: *kofein*, *teofyn* a *teobromin*. Chemicky jsou to deriváty xantinu: kofein je 1,3,7-trimetylxantin, teofylin 1,3-dimetylxantin a teobromin 3,7-dimetylxantin. Teobromin je hlavním metyloxantinem v kakau a nemá přímý vliv na naši psychiku. Je ovšem výrazným diuretikem.

Kofeinu je v mírně pražené arabice asi 1,3 %, v robustě 2,4 %, tedy téměř dvojnásobek. Obsahy teofylinu a teobrominu v kávě se pohybují v tisícinách procenta.

Kofein má mnohem silnější stimulační účinek, především na činnost mozkové kůry, než ostatní metyloxantiny.

Účinky obou alkaloidů ve větších dávkách pocítujeme při dýchání, teofylin více než kofein povzbuzuje plyny oxidu uhličitého, který dráždí nervová centra v horní části míchy, řídící intenzitu našeho dechu. Za normálních okolností se u zdravých lidí, pijících tři šálky kávy denně, toto neprojeví.

Velmi sledovaný je účinek kávy na žaludeční sliznici. Káva zvyšuje vylučování žaludeční kyseliny a enzymů pepsinu, což má v normálním případě příznivý vliv na trávení, ovšem osoby trpící peptickými vředy jícnu, žaludku nebo dvanáctníku by se měly pít kávy vyvarovat a to platí i pro kávu bezkofeinovou. Nejde pouze o kofein, protože káva obsahuje i další látky, které vznikají při pražení, a ty dráždí žaludeční sliznici.

Všechny tři alkaloidy jsou hořké látky. Kofein působí výrazně na lidské chuťové buňky a přispívá k celkové chuti kávy. I ve velmi nízkých koncentracích ovlivňuje chuť sladkých, hořkých a slaných přísad limonád^[39].

2.2.4. Význam některých prvků

Vápník je rostlinami z půdního roztoku přijímán jako Ca^{2+} . Tvoří významnou součást buněčných membrán. Rovněž neutralizuje toxické organické kyseliny vznikající v rostlinách, ovlivňuje aktivitu mnohých enzymů, dělení buněk apod. Vápník se hromadí zvláště ve starých pletivech. Při jeho nedostatku se zpomaluje růst kořenů i celých rostlin, nastává chloróza listů, rozpad dělicích pletiv ve stoncích a kořenech.

Hořčík je přijímán ve formě hořečnatých iontů Mg^{2+} . Je důležitou součástí molekul chlorofylu, aktivuje činnost mnoha enzymů, které se uplatňují v energetickém metabolismu buňky (zejména při přeměnách ATP). Dále je hořčík nezbytný při fotosyntéze, dýchání, syntéze nukleových kyselin, bílkovin a mnohých dalších procesech. V půdách, kde je nedostatek hořčíku (např. kyselé půdy), se může stát limitující živinou pro rostliny. Jeho nedostatek se projevuje chlorózou v důsledku rozkladu chlorofylu.

Železo má v rostlině především katalytickou funkci (např. katalyzuje syntézu chlorofylu), účastní se také mnohých oxidoredukčních reakcí v procesech dýchání a fotosyntézy. Nejvíce je obsažen v chloroplastech. Nedostatečný příjem železa (např. vápenaté půdy) vede u rostlin ke snížení intenzity dýchání i fotosyntézy, ke žloutnutí listů (chloróze) a jejich rychlému opadu.

Zinek je přijímán rostlinami jako kation Zn^{2+} . Jeho funkce spočívá především v aktivaci řady enzymů, ovlivňuje taktéž syntézu bílkovin i důležitého fytohormonu auxinu. Nedostatek zinku brání využití fosforu rostlinou a projevuje se tak narušením tvorby semen, zakrslým růstem, bíloželým zbarvením starších listů a poruchami plodnosti.

Měď vstupuje do rostlin v podobě iontu Cu^{2+} . Hromadí se zejména v semenech a rostoucích částech rostlin. Měď je součástí mnoha enzymů, hraje důležitou roli v asimilaci CO_2 a v ATP syntézy a spolu s molybdenem a železem se účastní procesu fixace vzdušného dusíku půdními bakteriemi. Nedostatek mědi způsobuje zpomalení růstu i kvetení rostlin, vznik chloróz, blednutí listů apod.

Mangan je rostlinami přijímán jako kation Mn^{2+} a v rostlinách se pohybuje jako Mn-chelát převážně v lýku cévních svazků. Podílí se na přenosu elektronů při fotosyntéze, biosyntéze chlorofylu, syntéze vitamínu C a tvorbě bílkovin. Nedostatek manganu ve výživě rostliny vede k zeslabení její fotosyntézy a dýchání. Viditelnými příznaky jsou inhibice růstu, chlorózy a nekrózy mladých listů a jejich opad.

Nikl je součástí ureázy. U rostlin způsobuje chlorózy a nekrózy. Při dlouhodobém působení zinku dochází k funkční poruše buněčné membrány.

Kadmium je neesenciální prvek a je potenciálně toxický pro vyšší rostliny, živočichy a lidi. Jeho toxicita se u rostlin projevuje zakrslým růstem a chlorózou. Dále kadmium zasahuje do spotřeby, přenosu a využití několika prvků (např. Ca, Mg, P a K) a vody rostlinami.

Chrom je toxický prvek, který silně dráždí epitel. Jeho přebytek způsobuje inhibici růstu u rostlin, chlorózy u mladých listů, nerovnováhu živin, vadnutí vrcholků rostlin a poškození kořenů.

Vysoká úroveň **olova** způsobuje inhibici enzymatické aktivity, nerovnováhu vody, změny v propustnosti membrány a narušuje minerální výživu^[1, 42-47].

2.2.5. Analýza kávy a jiných nápojů a potravin

O zdravé potraviny a nápoje se zajímá čím dál více lidí. V potravinářském průmyslu je zapotřebí analyzovat jednotlivé složky v syrových i zpracovaných výrobcích. Ke kontrole bezpečnosti potravin a při vývoji nových potravinářských výrobků se využívají veškeré analytické metody. Do nedávné doby byly hlavními

nástroji v analýze potravin především vysokoúčinná kapalinová chromatografie a plynová chromatografie. V dnešní době se využívá také iontová chromatografie, kapilární elektroforéza, atomová absorpční spektrometrie a indukčně vázané plazma s hmotnostní spektrometrií nebo s optickými emisními technikami^[27].

Káva je jedním z nejdůležitějších zemědělských výrobků v mezinárodním obchodě. Největším výrobcem a vývozcem tohoto produktu je Brazílie. Z hlediska mezinárodního obchodu je druhým nejdražším výrobkem, který uvede ročně do oběhu přibližně 35 miliard dolarů, a je nahraditelná pouze ropou. Vzhledem k její velké spotřebě pro milióny lidí na celém světě je velký zájem o stanovení minerálních živin a toxických prvků, které jsou v ni obsaženy^[17].

Onianwa a kolektiv zkoumali obsah těžkých kovů v nápojích v Nigérii pomocí atomové absorpční spektrometrie. Kovy si zvolili vzhledem k jejich esenciální nebo naopak toxické povaze. Z řad esenciálních prvků si vybrali železo, měď, zinek, chrom a kobalt, zatímco za toxické olovo, kadmium a nikl. Nápoje byly rozděleny do devíti kategorií: čaj, káva, nápoje z cereálií, kakaové nápoje, mléčné výrobky, ovocné šťávy, sladové nápoje, sycené nealkoholické nápoje a vína.

Čaj, káva, kakao, nápoje z obilovin a některé mléčné produkty byly zkoumány jako pevné látky. Tyto vzorky byly zpopelněny v muflové peci při 550 °C a popel byl rozpuštěn v kyselině dusičné o koncentraci 1 mol/l. Kapalné vzorky byly odpařeny do sucha s málo koncentrovanou kyselinou dusičnou v odpařovací misce na regulované plotýnce. Upečená karamelová hmota byla následně také zpopelněna a rozpuštěna v kyselině dusičné o koncentraci 1 mol/l. Ve zkoumaných vzorcích bylo následně provedeno stanovení na kovy za použití plamenové atomové absorpční spektrometrie s plamenem vzduch-acetylen.

Bylo studováno 5 druhů káv: Bongo, Owl, Nidocafe, Nescafe, Maxwell (běžně dostupné v Nigérii). Průměrné koncentrace vybraných prvků (v mg/kg) i se směrodatnou odchylkou jsou uvedeny v tabulce I.

Tab. I: Průměrné koncentrace (mg/kg)

Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
0,14±0,11	5,6±5,8	2,9±2,5	4,8±3,7	51±70	0,9±1,1	0,30±0,34	10,7±4,2

Koncentrace kovů byly obecně mnohem nižší (asi desetkrát) u kapalných vzorků, což bylo způsobeno jejich velmi vysokým obsahem vody. Celkově studie ukázala, že hladiny osmi studovaných těžkých kovů jsou obecně v nízkých koncentracích a jsou dobře porovnatelné s úrovní těchto kovů v podobných nápojích z jiných částí světa^[6].

K určení původu zelené kávy si Oleszczuk s kolektivem vybrali tři prvky: kobalt, měď a mangan, které stanovovali pomocí atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací. Pro validaci metody byla použita řada certifikovaných referenčních materiálů (kukuřičné otruby, rýžová mouka, citrusové a jablečné listy) a jako referenční metoda byla využita metoda indukčně vázaného plazmatu s optickou emisní spektrometrií. Ke zpracování vzorků byl využit mikrovlnný rozklad pomocí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku v poměru 7:1 pro vzorek o hmotnosti okolo 0,5 g.

Naměřená mez detekce pro kobalt, měď a mangan byla 0,012, 0,006 a 0,004 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pro elektrotermickou atomizaci a 0,015, 0,13 a 0,10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ za využití ICP-OES. Limit detekce byl pro měď a kobalt řádově lepší při použití atomové absorpční spektrometrie než při použití optického indukčního plazmatu, díky absenci jakéhokoliv ředění, což demonstruje převahu použití této techniky pro stanovení stopových prvků^[8].

Wróbel s kolegy stanovovali celkový hliník, chrom, měď, železo, mangan a nikl v zeleném čaji, černém čaji, čaji z ibišku a v *Ilex paraguariensis*, která se používá pro přípravu mate, pomocí elektrotermické atomové absorpční spektrometrie po rozkladu kyselinou dusičnou a chloristou. Bylo studováno louhování čaje a bylo analyzováno jaké množství každého prvku se dostane do nápoje. Množství prvků vyplavených při zalití horkou vodou a louhování závisí na procesu přípravy (hmotnost vzorku ku objemu vody, teplotě, času, míchání a dalších), z tohoto důvodu je důležité pracovat za stejných podmínek. Z černého čaje se hliník, měď a mangan vyplaví z jedné třetiny z celkového obsahu v rostlinném obsahu. Ze zeleného čaje se vyplaví větší podíl mědi a manganu. Železo se uvolní ze 4,3 % z černého čaje a z 8,1 % ze zeleného čaje. Nikl se vyplaví z poloviny a chrom z jedné čtvrtiny u obou typů čajů. U vzorků ibišku a mate docházelo k uvolnění většího množství chrómu a mědi (cca 100 % a 47,9 % z celkového množství chrómu a 93,4 % a 81,3 % celkové mědi, pro ibišek a mate) a i ostatní prvky přecházely ve větší míře oproti černému a zelenému

čaji. Z výsledků vyplývá, že jako vhodný zdroj základních mikroživin je maté pro mangan (celkový obsah 2223 ± 110 mg/g, 48,1 % se vylouží při louhování), louhování ibišku je dobrým zdrojem železa (111 ± 5 mg/g, uvolní se 40,5 %) a mědi ($5,9 \pm 0,3$ mg/g, uvolní se 93,4 %) ve srovnání s jinými nápoji využitými při studiu. Dále bylo vyzorováno, že množství uvolněných prvků silně závisí na obsahu kyseliny tříslové v nápoji (kromě niklu), při nižší úrovni kyseliny tříslové dochází k lepšímu vyplavování prvků^[48].

Pro stanovení šestnácti základních a stopových prvků v různých typech vzorků potravin (káva, rýže, fazole, vejce, maso, ryby, chléb, cukr, zelenina, sýry, sušené mléko, máslo, pšenice, hrušky, ořechy, čokoláda, sušenky a těstoviny) vyvinul Elene P. Nardi se svými spolupracovníky metodu indukčně vázaného plazmatu s hmotnostní spektrometrií (ICP-MS). Rozklad vzorků probíhal pomocí mikrovlnné mineralizace s kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku. Správnost a přesnost metody byla ověřena na základě analýzy pěti standardních referenčních materiálů a použitím srovnávací metody AAS. Výhodou ICP-MS je schopnost multielementárního měření, nízké detekční limity, širší lineární dynamický rozsah, poskytuje jednodušší spektrální interference a izotopové informace. Získané limity detekce jsou uvedené v tabulce II:

Tab. II: Limity detekce (ng/g)

Se	Pb	Cd	Mn	Co	Zn	C	Sr	Mo	V	Mg	Hg	Al	As	Cr	Ni
20	4,0	0,2	5,0	0,5	30	16	12	1,0	5,0	60	4,0	35	5,0	10	7,0

Výsledky měření za využití ICP-MS se shodovaly s výsledky získanými ze srovnávací metody AAS a nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly mezi certifikovanými a naměřenými hodnotami^[21].

Cílem studie Santosy a Oliveiry bylo stanovení minerálních živin a toxických prvků v rozpustné kávě pomocí indukčně vázané plazmové atomové emisní spektrometrie (ICP-AES) za účelem ověření kvality složení brazilské rozpustné kávy z určitých oblastí země. Bylo studováno několik prvků (Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Cr a Sn) ve 21 vzorcích rozpustných káv z brazilského trhu. ICP-AES byla zvolena pro svou nízkou mez detekce, vysokou citlivost, široký lineární dynamický rozsah, přesnost a rychlost.

Při měření byla zjištěna velmi nízká koncentrační hladina pro chrom a částečně hliník. Množství zinku a mědi se pohybuje v jednotkách mg/kg, zatímco u manganu a železa je koncentrace v desítkách mg/kg. Měřené makroprvky (hořčík, sodík, draslík, fosfor, síra a vápník) se v kávě vyskytovaly ve vyšších koncentračních hladinách a to okolo desetin až jednotek g/100g.

Dále výsledky ukázaly rozdílné hodnoty mezi naměřenými daty pro jednotlivé prvky, což mohlo být způsobeno rozdíly v průmyslovém procesu výroby a/nebo faktory ovlivňujícími pěstování kávovníku, jako je typ půdy, používání různých hnojiv obohacených chemickými látkami a okolními podmínkami. Nicméně stanovené hodnoty byly shledány jako přijatelné pro lidskou spotřebu vzhledem k nutričním a toxickým aspektům, s výjimkou jednoho vzorku, který měl vyšší koncentraci chromu než povoluje Brazilská potravinářská legislativa a jehož znečištění mohlo být způsobeno jeho kovovou nádobou, ve které se prodává^[17].

Sádecká s Polonským studovali ionty a stopové prvky v nápojích a potravinách pomocí kapilární elektroforézy. V potravinách analyzovali ionty siřičitanové, síranové, fosforečnanové, dusitanové, dusičnanové, kyanidové, bromidové, bromičnanové, chloridové, chloritanové, flouridové, jodidové, amonné, sodné, draselné, hořečnaté a vápenaté a stopové prvky: železo, zinek, měď, kobalt, nikl, mangan, vanad, molybden a wolfram. Metodu kapilární elektroforézy si zvolili pro její vysoké rozlišení s krátkou dobou analýzy, nízké náklady a použití minimálního množství rozpouštědla^[27].

Yang a kolektiv se zabývali stanovením draselných, sodných, vápenatých, hořečnatých a manganatých iontů v referenčních materiálech a ve vzorcích čaje. Vzorky byly připravovány mikrovlnným rozkladem pomocí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku (2:0,5). Anorganické ionty byly elektroforeticky odděleny a sledovány přímo on-column nebo nepřímo UV detekcí. Selektivitu elektroforetického dělení lze ovlivnit změnou pH, solvatací organických rozpouštědel nebo přidáním povrchově aktivních látek do elektrolytu. Byl naměřen limit detekce a limit kvantifikace pro vybrané ionty. Díky vysoké iontové síle, způsobené přebytkem kyseliny v roztoku, je třeba vzorky ředit. Díky tomu není možná analýza vzorků s nízkou koncentrací^[26].

Tab. III: Limit detekce (LOD) ($\mu\text{g/l}$)

	K^+	Na^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Mn^{2+}
LOD	500	170	220	70	280

2.3. Rozklad biologických látek

Rozklad je chemický proces, při kterém v důsledku proběhnutí chemické reakce dochází k úplné destrukci původní sloučeniny a rozloženou látku není možné získat zpět v původním složení po odstranění rozkladného činidla.

Rozklady organických a biologických látek před stanovením anorganických analytů můžeme podle použitého postupu rozdělit na:

- rozklady na suché cestě (patří sem např. spalování, zpopelňování),
- rozklady na mokré cestě (zahrnuje zejména rozklady kyselinami klasickým ohřevem a mikrovlně generovaným teplem za normálního, zvýšeného a vysokého tlaku),
- ostatní typy rozkladů (např. enzymatický, fotolytický a pod.).

2.3.1. Suchý rozklad

Při tomto typu rozkladu se látky s organickou maticí rozkládají při nižší teplotě působením tepelné energie, pomocných a oxidačních činidel (kyslíku) po dostatečně dlouhou dobu, postupným, pomalým spalováním, přesněji zpopelňováním. Proces je možné urychlit změnou tlakových podmínek.

Suché rozklady dělíme podle způsobu provedení rozkladu v otevřeném, polozavřeném a uzavřeném systému a probíhají buď při nízké nebo vysoké teplotě.

Suchý rozklad v otevřeném systému

Klasický, suchý rozklad na vzduchu za atmosférického tlaku patří k nejdéle využívanému rozkladu. Jeho nevýhoda spočívá ve ztrátě těkavých (As, Cd, Hg, Pb, Se apod.) i netěkavých (Cr, Fe, aj.) analytů ve fázi spalování a vysoká úroveň kontaminace. Vlastní suchý rozklad je tvořen čtyřmi základními kroky: sušení, spalování, zpopelňování a rozklad popela.

Přednosti suchého otevřeného rozkladu se nalézají v nízké finanční náročnosti, v jednoduchosti provedení, v možnosti rozkládat současně větší počet vzorků a v možnosti použití dostatečně velkých navážek a tím eliminovat vliv nehomogenity vzorku.

Nedostatky suchého otevřeného rozkladu jsou zejména v dlouhém rozkladném čase, v možnosti kontaminace okolním prostředím, v zájemné kontaminaci

rozkládaných vzorků, v nebezpečí ztrát těkavých i netěkavých analytů a v problému dodržovat přesně reprodukovatelnost podmínek rozkladu.

Suchý rozklad v polozavřeném systému

Tímto postupem je možné rozkládat menší množství vzorku. Pracuje se např. ve skleněné, resp. křemenné trubici vyhřívané odporovou spirálou v proudu vzduchu (kyslíku, ...) nebo v otevřené skleněné trubici umístěné ve spirále, která je napájena vysokofrekvenčním proudem, který vyvolá indukční teplo.

Toto uspořádání se pro kompletní rozklad v současné době používá zřídka. V případě potřeby je možné tento typ rozkladu použít pro analýzu charakteristických skupin tehdy, kdy vzniklé plyny rozložených organických látek vedou přímo do např. plynového chromatografu, nebo do hmotnostního spektrometru.

Suchý rozklad v uzavřeném systému

Suchý rozklad v uzavřeném systému zahrnuje postupy, které mohou probíhat za atmosférického, mírně zvýšeného, nebo za vyššího tlaku.

Suchý rozklad v uzavřeném systému za atmosférického tlaku může probíhat podle Schönigera, Wickbolda, v proudu kyslíku, v nízkotlaké kyslíkové plazmě. Suchý rozklad v uzavřeném systému za zvýšeného, resp. vysokého tlaku probíhá v kyslíkové nádobě.

2.3.2. Mokrý rozklad

Mokrý kyselinový oxidační rozklad patří ke klasickým, velmi rozšířeným typům rozkladů. Určujícím parametrem rozkladu organických látek, kromě charakteru rozkladných činidel a rozkládaných látek, je teplota rozkladu. Vzhledem k tomu, že bod varu používaných kyselin není příliš vysoký, potřebné teploty se v nutných případech dosahuje rozkladem za zvýšeného nebo vysokého tlaku.

Mokrý rozklad je možné dělit podle přenosu, resp. generování tepla na rozklady v otevřených systémech s konvenčním ohřevem, v tlakových (uzavřených) systémech s konvenčním ohřevem, v otevřených systémech s mikrovlně podporovaným ohřevem, v tlakových (uzavřených) systémech s mikrovlně podporovaným ohřevem a ve smíšených systémech.

Při mokřém kyselinovém rozkladu uskutečňovaném v mikrovlnném zařízení (peci) se potřebná teplota rozkladu dosahuje přímo v rozkládané směsi, ve které potřebné teplo vzniká velmi rychlou konverzí mikrovlnné energie na energii tepelnou.

Podstatou mokřého rozkladu organických látek je jejich rozklad oxidací koncentrovanými kyselinami s velkými oxidačními schopnostmi, který se může umocnit kombinací s dalšími oxidačními činidly, např. H_2O_2 , KI apod. Nejčastěji používanou kyselinou je koncentrovaná kyselina dusičná, dále pak kyselina sírová nebo chloristá a jejich kombinace.

Mokřý rozklad v otevřeném systému s konvenčním ohřevem

K ohřevu se využívá varná deska, vařič, sušárna apod. Tento typ rozkladu má teplotní omezení, které vyplývá z bodu varu kyselin nebo jejich směsí. Mezi jeho přednosti patří ekonomická dostupnost a jednoduchost provedení. K nedostatkům se řadí nízká účinnost rozkladu, dlouhý čas rozkladu, možná kontaminace a ztráta těkavých analytů, vysoká spotřeba činidel a bezpečnostní riziko.

Mokřý rozklad v uzavřeném systému s konvenčním ohřevem

Mezi vhodná činidla pro rozklad organických látek patří kyselina dusičná, která má nízký bod varu a tudíž není schopna organické látky úplně rozložit. Oxidační schopnost kyselin a tedy i jejich schopnost rozkládat organické látky roste s rostoucí teplotou (tlakem), proto je lepší vzorky rozkládat v uzavřené nádobě.

Ohřev u uzavřených tlakových nádobách se uskutečňuje v hliníkovém anebo jiném kovovém vyhřívaném bloku s elektrotermickou regulací teploty, resp. v olejové koupeli, v sušárně apod. Uvnitř kovového bloku se nachází teflonová nádobka.

Přednosti tlakového rozkladu jsou: malý objem rozkladného činidla, minimální možnost kontaminace, nízké hodnoty slepých pokusů, zabránění ztrát těkavých analytů a účinnější rozklad. Nedostatky tlakové rozkladu jsou: relativně nízké hodnoty navážky a adsorpce některých analytů na povrchu nádobky s možnou deformací teflonu za vyšších teplot a tlaků.

Mokřý rozklad v otevřeném mikrovlnném systému

Oproti klasickému kyselinovému rozkladu se výrazně zkracuje čas rozkladu, a to 3 až 5 krát. Obvykle se používá sekvenční upořádání, kdy se vzorky dostávají do fokusovaného pole mikrovlnného záření postupně za sebou.

Výhody otevřeného rozkladu s fokusovaným mikrovlnným zářením jsou v možnosti automatizace, v krátkém rozkladném čase a v možnosti rozkladu explozivních vzorků. Mezi nevýhody patří vyšší spotřeba rozkladných činidel, zvýšené riziko kontaminace, možnost ztát těkavých analytů a sekvenční (postupný) rozklad jednotlivých vzorků a tím relativně dlouhý čas potřebný k rozkladu celé sady vzorků.

Mokrý rozklad v uzavřeném mikrovlnném systému

K přednostem uzavřeného mikrovlnného rozkladu se řadí snížená hladina kontaminací, snížená spotřeba organických činidel a lepší hygiena práce. Nevýhody uzavřeného mikrovlnného rozkladu jsou ve zvýšeném bezpečnostním riziku, v nemožnosti dodatečného, resp. postupného přidávání činidel, a v relativně nízké hmotnosti navážky.

2.3.3. Rozklad podporovaným mikrovlnným zářením

Mikrovlnné záření je elektromagnetické neionizující záření, které vyvolává pohyb polárních molekul a iontů kapalin. Při absorpci mikrovlnného záření kapalinami dochází k otáčení molekul látek s permanentními dipóly, resp. k přemísťování iontů látek, beze změny ve vlastní struktuře látky.

Vlnová oblast mikrovlnného záření leží mezi infračervenou a rádiovou oblastí elektromagnetického spektra, tj. záření o vlnové délce od 1 do cm. Těmto vlnovým délkám odpovídá frekvence od 300 MHz do 300 GHz. Domácí a laboratorní mikrovlnné pece pracují na frekvenci 2,45 GHz, což představuje vlnovou délku 12,2 cm.

Efektivita ohřívání vzorků pomocí mikrovlnného záření závisí na více faktorech. Mezi nejdůležitější patří schopnost látky pohlcovat – absorbovat mikrovlnné záření, frekvence mikrovlnného záření, elektrický výkon mikrovlnného zařízení a hmotnost vzorku. Schopnost pohlcovat mikrovlnnou energii je dána koeficientem rozptylu $\text{tg } \delta$. Čím je jeho hodnota vyšší, tím je látka schopna pohltit více mikrovlnné energie. Při ohřevu látek o nízké hmotnosti je velká část energie nepohlčena, ale pouze prochází nebo se odráží. U vzorků o vysoké hmotnosti a vysoké hodnotě $\text{tg } \delta$ vzniká ohřev v celé hloubce pronikání mikrovlnného záření prostřednictvím molekulových interakcí, atomových interakcí a iontové vodivosti.

Z hlediska konstrukce jsou známé dva základní typy mikrovlnných mineralizátorů, a to mikrovlnný mineralizátor s rozptýleným, nebo s usměrněným mikrovlnným zářením.

Mikrovlnný mineralizátor s rozptýleným mikrovlnným zářením

Skládá se z mikrovlnného generátoru – magnetronu, vysílací antény, vlnovodu, vysokofrekvenčního rezonátoru, směšovače, cirkulátoru, otočného držáku vzorků (rotoru, karuselu), snímače teploty a tlaku a regulátoru výkonu pece. Magnetron generuje mikrovlnné záření o frekvenci 2,45 GHz, které je vedeno vlnovodem do vysokofrekvenčního rezonátoru, ve kterém směšovač usměřňuje záření do jednotlivých částí vnitřního objemu pece. Vlnovod, směšovač i stěny rezonátoru jsou vyrobeny z reflektujícího materiálu, takže mikrovlnný paprsek se v rezonátoru rozšiřuje mnohonásobným odrazem od stěny ke stěně. Rotor se otáčí konstantní rychlostí po dobu rozkladu a tím se zabezpečí rovnoměrný ohřev vzorků. Hodnoty teploty a tlaku v nádobách jsou snímány snímači, které mohou být v jedné, nebo ve všech rozkladných nádobkách. Na základě naměřených hodnot teploty se reguluje výkon mikrovlnné pece.

Mikrovlnné pece s usměrněným (fokusovaným) mikrovlnným zářením

Zařízení s fokusovaným mikrovlnným zářením je složeno z magnetronu, antény, vlnovodu a někdy rezonátoru a cirkulátoru. Přenos mikrovlnné energie se uskutečňuje buď rezonátorem, nebo se mikrovlnná energie do vzorku přenáší přímo pomocí vlnovodu. Zařízení pracující s fokusovaným mikrovlnným zářením neobsahuje směšovač a otočný držák vzorků, protože vzorek v rozkladné nádobce je umístěn přímo v pravoúhlém vlnovodu, nebo v kruhovém rezonátoru. Takovéto uspořádání se využívá při rozkladech za normálního tlaku. Při rozkladech za vysokého tlaku je rozkladná nádobka obvykle umístěna v ocelovém ochranném plášti a mikrovlnné záření se zavádí do rozkladných nádob anténou. V takovémto případě mikrovlnné záření nejdříve prochází vzorkem umístěným např. v teflonové nádobce, neabsorbovaný podíl záření se odráží od stěn ochranného pláště a znovu působí na vzorek.

Při výběru kyselin nebo jejich směsí na mikrovlnný rozklad je důležité zohlednit, aby efektivně rozkládaly matici a aby anion kyseliny s analytem vytvářely rozpustnou sůl. K rozkladu se nejčastěji používají běžné kyseliny, které je možné

připravit v čisté formě jako je kyselina dusičná, chlorovodíková, fluorovodíková, sírová, fosforečná, méně často chloristá, nebo jejich směsi. Důležité je, aby materiál nádoby nereagoval s vybranou kyselinou.

Kyselina dusičná se používá nejčastěji vzhledem k tomu, že vznikající dusičnany jsou ve vodném prostředí dobře rozpustné. Je silným oxidovadlem a do roztoku převede i stopové prvky z biologických materiálů. Dá se připravit velmi čistá a tudíž odpadá problémy s možnou kontaminací pocházející z jejího používání. Při rozkladu v uzavřeném systému stačí kratší čas než v otevřeném systému, protože rostoucí tlak zvyšuje její bod varu a tím i teplotu rozkladu. Teplota rozkladu dosahovaná v otevřeném systému nepostačuje k rozkladu biologických materiálů. Proto se ke kyselině dusičné přidávají další oxidovadla jako je peroxid vodíku, nebo kyselina chloristá.

Kyselina chlorovodíková je výborným rozpouštědlem některých kovů a jejich oxidů. Při zvýšeném tlaku a teplotě je možné rozložit některé silikáty, těžkovitelné oxidy, sírany a fluoridy, pokud přidáme kyselinu chlorovodíkovou. K rozkladu biologických vzorků se nepoužívá.

Kyselina fluorovodíková je vhodná k rozkladu látek obsahujících křemík. Tím, že křemík přejde na těkavý fluorid křemičitý se matrice rozruší a analyty se uvolní. Využívá se ve směsi s jinými kyselinami a k rozkladu v uzavřeném systému. Není vhodná k rozkladu vzorků rostlinného původu.

Kyselina sírová je vhodná pro rozklad mnohých biologických tkání, neorganických oxidů, hydroxidů, slitin apod. Při jejím použití je třeba pamatovat na tvorbu nerozpustných síranů, např. barnatých, olovnatých apod.

Kyselina trihydrogenfosforečná je vhodná pro rozložení slitin na bázi železa. Dobře rozpouští hliníkové strusky, železné rudy, chrom a alkalické kovy.

Kyselina chloristá horká a koncentrovaná představuje nebezpečí výbuchu, a to zejména při kontaktu s organickým materiálem.

Směsi kyselin se využívají podle potřeby tak, aby se dosáhlo co nejúčinnějšího rozkladu a aby nedošlo ke vzniku nerozpustných podílů. Nejčastěji se využívá směs kyseliny dusičné s ostatními kyselinami, a to zejména trihydrogenfosforečnou, chlorovodíkovou, fluorovodíkovou a sírovou^[49].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Chemikálie, přístroje a pomůcky

Chemikálie

- roztoky kalibračních standardů o koncentraci $1,000 \pm 0,002$ g/l (Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn v 2 % HNO₃) o čistotě 99,999 %, Analytika spol. s.r.o., Praha
- roztoky kalibračních standardů o koncentraci $1,000 \pm 0,005$ g/l (Ca v 2 % HNO₃) o čistotě 99,999 %, Analytika spol. s.r.o., Praha
- modifikátor matrice hexahydrát dusičnan hořečnatý o koncentraci 1 g/l, čistota 99,995 %, Analytika spol. s.r.o., Praha
- modifikátor matrice dusičnan paladnatý o koncentraci 2 g/l, čistota 99,999 %. Analytika spol. s.r.o., Praha
- uvolňovací činidlo pro FA-AAS chlorid lanthanitý o koncentraci 25 g/l, o čistotě 99,999 %, Analytika spol. s.r.o., Praha
- NCS Certified Reference Material NCS ZC 73014 Tea, China National Analysis Center for Iron & Steel, 2008
- peroxid vodíku 30 %, p.a., (pro stopovou analýzu), Analytika spol. s.r.o., Praha
- kyselina dusičná 67 %, p.a., (pro stopovou analýzu), Analytika spol. s.r.o., Praha
- deionizovaná voda

Přístroje

- nerezový mlýnek, Sunix
- elektronické váhy ABJ 220-4M, KERN & Sohn GmbH, Německo
- mikrovlnný laboratorní systém, Milestone, Itálie
- atomový absorpční spektrometr Avanta Σ , GBC, Austrálie

Mikrovlnné rozkladné zařízení Milestone je laboratorní přístroj určený pro rozklad analytických vzorků za mokra v uzavřené vysokotlaké nádobě s využitím působení mikrovln pro podporu chemických pochodů. Rozklad probíhá za zvýšené teploty. Mikrovlny jsou v rozkladných směsích (kyseliny, často s přídavkem oxidovadla H₂O₂) účinně absorbovány a poté, co směsi dosáhnou bodu varu, dochází ke značnému zvýšení tlaku a tím k maximálnímu urychlení rozkladu vzorku.

Mikrovlnné pole je rozptýlené a rovnoměrný ohřev vzorku je zajištěn otáčením rotoru konstantní rychlostí. Mikrovlny působí na rozkládaný vzorek v teflonové mineralizační nádobce, která je umístěna v rotoru. Rotor je vyroben z materiálu propouštějícího mikrovlnné záření.

Součástí dvoupaprskového spektrometru Avanta Σ je plamenový atomizátor s automatickým otočným hořákem a elektrotermický atomizátor GF 3000 s automatickým podavačem vzorků PAL 3000. Zdrojem záření jsou výbojky s dutou katodou dodané pro analýzu Ca, Mg, Fe, Zn, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb australskou firmou Photron a Varian a pro stanovení Cu německou firmou Narva. Korekce pozadí byla zajištěna pomocí deuteriové výbojky.

Pomůcky

- mineralizační teflonové kelímky s víčky
- automatické pipety Finnpipette (100 - 1000 μ l, 1 - 5 ml), Labsystem, Finsko
- skleněné laboratorní nádobí (odměrné baňky 5, 10, 25, 50, 100 a 250 ml, kádinky, nálevky)
- grafitové kyvety (RMI s.r.o., Česká republika)
- gravimetrický filtrační papír Schleider & Schüll, Rakousko

Chemické nádobí používané k přípravě vzorků a standardních roztoků bylo ponecháno po dobu minimálně 24 hodin v 10 % kyselině dusičné. Poté se několikrát omylo čistou deionizovanou vodou a vysušilo v sušárně. Nádobí bylo uchováváno vedle ostatních pomůcek určených pro stopovou analýzu.

Analyzovaná káva

- 100 % arabika, Indie, Botanico Café, Prostějov
- 100 % arabika, Keňa, Botanico Café, Prostějov
- 100 % arabika, Kolumbie supremo, Kafe Kodó s.r.o., Olomouc
- 100 % arabika, Honduras SHG, Kafe Kodó s.r.o., Olomouc
- 100 % arabika organic, Ethiopie Mocca Sidamo, Kafe Kodó s.r.o., Olomouc
- kávová směs Kafe Kodó (arabika Indie Plantation, arabika Brazílie Santos, robusta Indie), Kafe Kodó s.r.o., Olomouc

3.2. Příprava kávy

Káva byla jemně umleta v ručním nerezovém mlýnku. Z každého vzorku bylo naváženo 7g kávy do čisté kádinky o objemu 150 ml a zalito 100 ml deionizované vody o teplotě 90 °C. Literatura uvádí, že ideální teplota pro přípravu kávy by se měla pohybovat mezi 90 až 94 °C^[50]. Doba louhování kávy byla kolem 5 minut. Poté byl roztok přefiltrován do plastových kelímků s víčkem na jednoduché filtrační aparatuře s využitím gravimetrického filtračního papíru. Kávová usazenina z filtračního papíru byla sušena na vzduchu při laboratorní teplotě.

3.3. Rozklady

Rozklad vzorku

K mineralizaci analyzovaného materiálu byla využita rozkladná směs kyseliny dusičné a peroxidu vodíku v poměru 3:1. Rozklad probíhal v uzavřené teflonové nádobce. Proces mineralizace byl vícekrokový a byl řízen softwarově.

Rozkladný proces

Mineralizované množství kávy se pohybovalo okolo 0,2 g. Rozkladná směs použitá k mineralizaci byla složena ze 3 ml 65 % kyseliny dusičné a 1 ml 30 % peroxidu vodíku. Rozkladný program se sestával ze sedmi kroků. Mineralizát byl kvantitativně převeden do 25 ml odměrné baňky a doplněn na požadovaný objem deionizovanou vodou. Takto upravené vzorky byly skladovány v lednici při teplotě 2 - 5 °C.

Tab. IV: Rozkladný program

Č. kroku	Čas (min)	Výkon (W)
1	2	250
2	2	0
3	5	400
4	2	0
5	2	400
6	1	0
7	7	600

3.4. Použité metody

Plamenová atomizace

Technika plamenové absorpční spektrometrie byla použita při stanovení Ca, Cu, Fe, Mg a Zn. Atomizace probíhala v plameni acetylen – vzduch. Roztoky (slepý pokus, referenční materiály, standardy a vzorky) byly nasávány a signál byl změřen pětkrát. Po každém roztoku byla po dobu několika sekund nasávána deionizovaná voda. Pro odstranění nespektrálních interferencí vápníku bylo ke vzorku přidáváno uvolňovací činidlo LaCl_3 o koncentraci 25 g/l. Kvantitativní vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační křivky.

Tab. V: Kalibrační roztoky a základní parametry stanovení FAAS

Prvek	Kalibrační roztoky (mg/l)	Vlnová délka (nm)	Šířka štěrbin (nm)	Žhavicí proud (mA)
Ca	0,5 – 10	422,7	0,5	5,0
Cu	0,05 – 1,0	324,7	1,0	3,0
Fe	0,1 – 3,0	248,3	0,2	7,0
Mg	0,05 – 1,0	285,2	0,5	3,0
Zn	0,05 – 1,0	213,9	0,5	5,0

Elektrotermická atomizace

Stanovení Cd, Cr, Mn, Ni a Pb bylo provedeno pomocí ETA-AAS s grafitovou kyvetou bez platformy. Pro dávkování roztoku (slepý pokus, referenční materiály, standardy a vzorky) do atomizátoru byl použit automatický podavač. Každý roztok byl proměřen dvakrát. Pro zjištění obsahu olova a kadmia ve vzorcích byl použit směsný modifikátor $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ a $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ v poměru 2:1. Kvantifikace byla provedena metodou kalibrační křivky.

Tab. VI: Kalibrační roztoky a základní parametry stanovení ETA-AAS

Prvek	Kalibrační roztoky (mg/l)	Vlnová délka (nm)	Šířka štěrbin (nm)	Žhavicí proud (mA)
Cd	0,00025 – 0,0025	228,8	0,5	3,0
Cr	0,005 – 0,02	357,9	0,2	6,0
Mn	0,025 – 0,1	279,5	0,2	5,0
Ni	0,01 – 0,1	232,0	0,2	4,0
Pb	0,005 – 0,02	283,3	0,5	5,0

Tab. VII: Parametry teplotního programu pro mangan, nikl a chrom

Fáze teplotního programu	Teplota (°C)	Doba nárůstu teploty (s)	Doba držení teploty (s)	Typ plynu
1. sušení	90	5,0	5,0	Ar
2. sušení	120	5,0	15,0	Ar
3. rozklad	700 ^a /900 ^b /1100 ^c	10,0	15,0	Ar
4. rozklad	700 ^a /900 ^b /1100 ^c	0,0	1,0	-
5. atomizace	2200 ^a /2400 ^b /2500 ^c	1,0	1,2	-
6. čištění	2650	1,0	3,0	Ar

^a mangan^b nikl^c chrom**Tab. VIII:** Parametry teplotního programu pro kadmium a olovo

Fáze teplotního programu	Teplota (°C)	Doba nárůstu teploty (s)	Doba držení teploty (s)	Typ plynu
1. sušení	90	1,0	5,0	Ar
2. sušení	110	10,0	15,0	Ar
3. rozklad	800 ^a /900 ^b	10,0	15,0	Ar
4. rozklad	800 ^a /900 ^b	0,0	1,0	-
5. atomizace	1600 ^a /2000 ^b	0,8	1,0	-
6. čištění	2650	1,0	3,0	Ar

^a kadmium^b olovo

3.5. Příprava kalibračních roztoků

Pro plamenovou atomizaci

Pro sestavení kalibrační křivky byla využita řada kalibračních roztoků, které byly připravovány jedenkrát za čtvrt roku. Pro přípravu standardů byly využity komerční standardy s garantovaným obsahem prvku. Byl připraven zásobní roztok o koncentraci 10 mg/l do 100 ml odměrné baňky. Z něj byly následně připraveny standardy o definovaných koncentracích do 50 ml odměrných baněk a byla k nim přidána kyselina dusičná o objemu 0,5 ml.

Pro elektrotermickou atomizaci

Z komerčního standardu s garantovanou koncentrací prvku byl metodou postupného ředění připraven nejkonzentrovanejší standard kalibrační řady, který byl připraven před každým měřením. Vlastní kalibrační řada byla připravena v autosampleru.

3.6. Statistické vyhodnocení

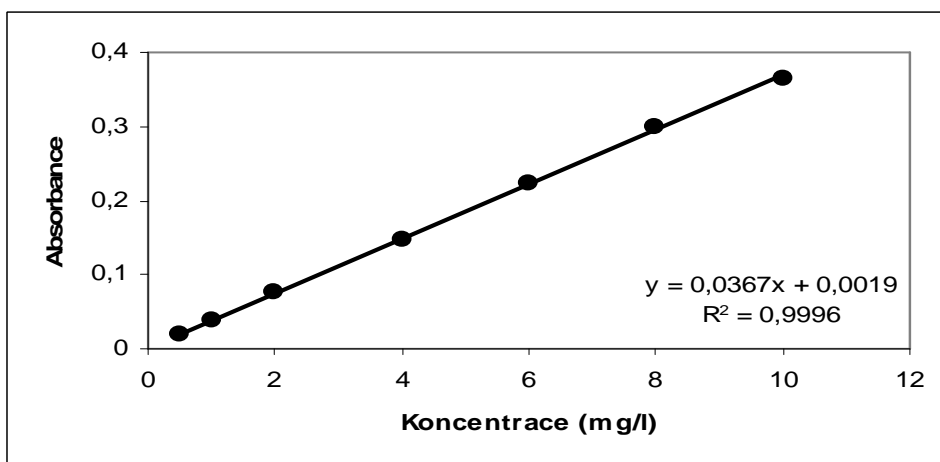
K vyhodnocení experimentálních dat byl použit program Microsoft Excel a statistický program QC.Expert 2.5 (Trilobyte s.r.o., Česká republika). Jeho součástí bylo stanovení průměrných hodnot obsahu sledovaných prvků a jejich intervalů spolehlivosti, dále také určení meze detekce, preciznosti, pravdivosti a nejistoty stanovení.

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1. Stanovení jednotlivých prvků

Vápník

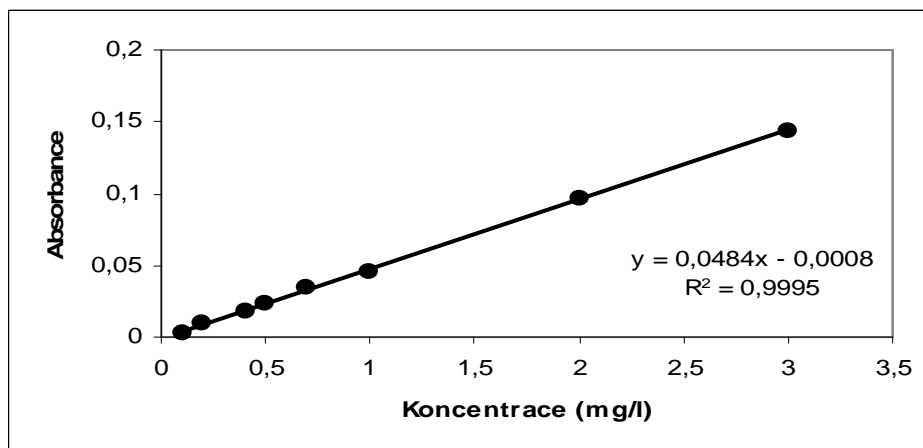
Vápník byl stanovován metodou plamenové atomizace v atomové absorpční spektrometrii. Základní podmínky stanovení jsou uvedeny v kapitole 3.4. Kvantifikace byla provedena metodou kalibrační křivky za využití kalibračních standardů v rozmezí koncentrací 0,5 – 10,0 mg/l (Obr. 9).



Obr. 9: Kalibrační závislost pro vápník.

Železo

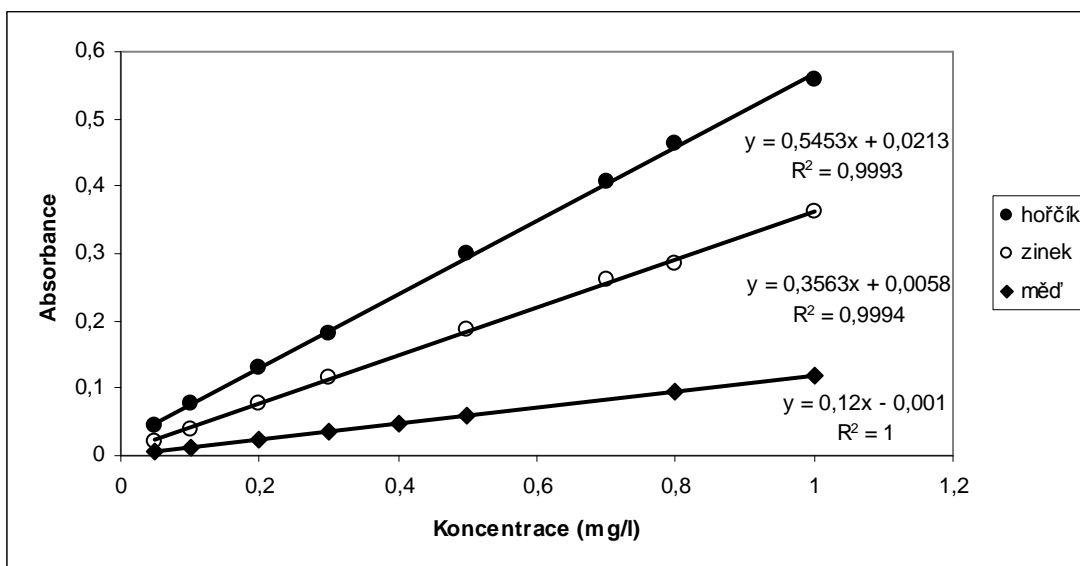
Železo bylo stanovováno metodou plamenové atomizace v atomové absorpční spektrometrii. Podmínky stanovení jsou popsány v kapitole 3.4. Kvantifikace byla provedena metodou kalibrační křivky za využití kalibračních standardů v rozmezí koncentrací 0,1 – 3,0 mg/l (Obr. 10).



Obr. 10: Kalibrační závislost pro železo.

Hořčík, zinek, měď

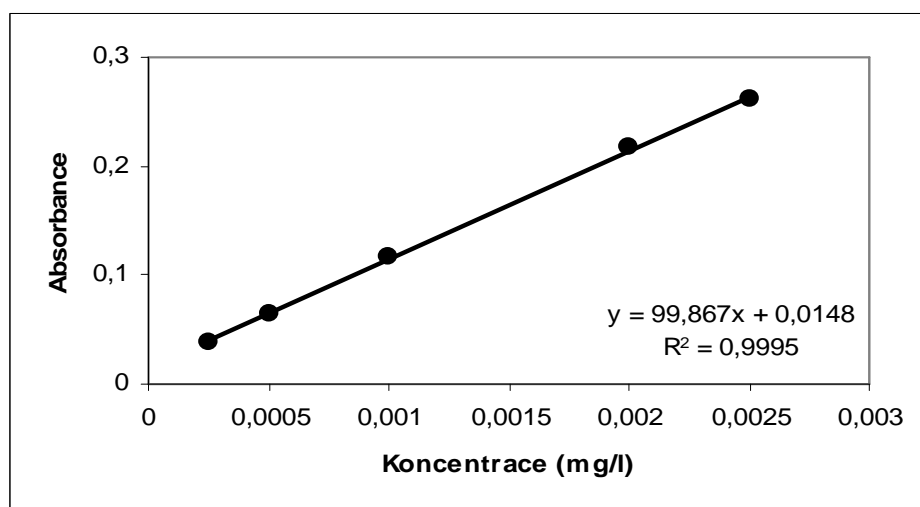
Hořčík, zinek a měď byly stanovovány metodou plamenové atomizace v atomové absorpční spektrometrii. Základní podmínky, za kterých bylo provedeno stanovení, jsou uvedeny v kapitole 3.4. Kvantifikace byla provedena metodou kalibrační křivky za využití kalibračních standardů v rozmezí koncentrací 0,05 – 1,0 mg/l (Obr. 11).



Obr. 11: Kalibrační závislost pro hořčík, zinek a měď.

Kadmium

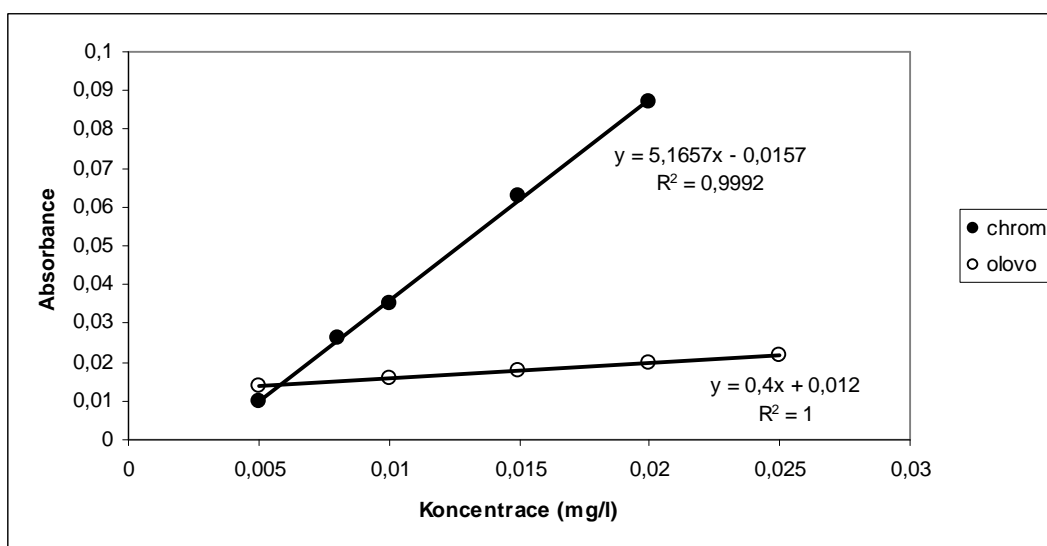
Kadmium bylo stanovováno metodou elektrotermické atomizace v atomové absorpční spektrometrii. Základní podmínky a parametry stanovení jsou popsány v kapitole 3.4. Kvantifikace byla provedena metodou kalibrační křivky za využití kalibračních standardů v rozmezí koncentrací 0,00025 – 0,0025 mg/l (Obr. 12).



Obr. 12: Kalibrační závislost pro kadmium.

Chrom, olovo

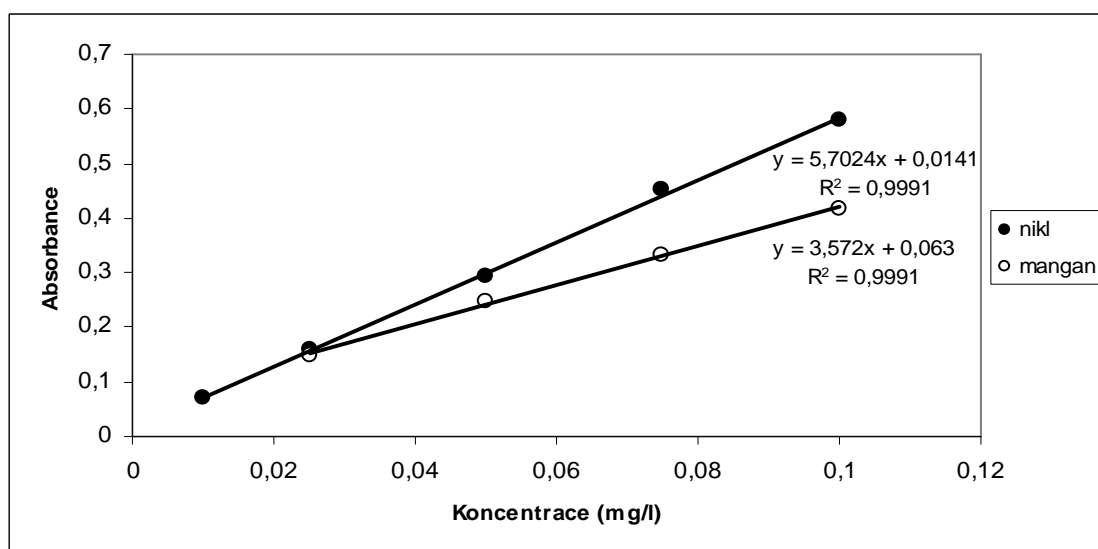
Chrom a olovo byly stanovovány metodou elektrotermické atomizace v atomové absorpční spektrometrii. Základní podmínky a parametry stanovení jsou uvedeny v kapitole 3.4. Kvantifikace byla provedena metodou kalibrační křivky za využití kalibračních standardů v rozmezí koncentrací 0,005 – 0,02 mg/l pro chrom a 0,005 – 0,025 mg/l pro olovo (Obr. 13).



Obr. 13: Kalibrační závislost pro chrom a olovo.

Nikl, mangan

Nikl a mangan byly stanovovány metodou elektrotermické atomizace v atomové absorpční spektrometrii. Základní podmínky a parametry uvádí kapitola 3.4. Kvantifikace byla provedena metodou kalibrační křivky za využití kalibračních standardů v rozmezí koncentrací 0,01 – 0,1 mg/l pro nikl a 0,025 – 0,1 mg/l pro mangan. (Obr. 14).



Obr. 14: Kalibrační závislost pro nikl a mangan.

4.2. Verifikace metody a odhad nejistoty

Stanovení meze detekce

Mez detekce (LOD – Limit of Detection) byla vypočítána z kalibrační závislosti za využití nižších kalibračních roztoků jednotlivých prvků pomocí přímé metody analytu, kdy je využito statistických vlastností kalibračního modelu, a pomocí Kaiserova postupu, který vychází z hodnocení variability měření nulového vzorku^[51]:

$$LOD = \frac{3 \cdot s \cdot c}{\bar{x}} \quad (9)$$

kde s je směrodatná odchylka, c je koncentrace a \bar{x} je průměrná koncentrace.

Tab. IX: Stanovení limitu detekce

Prvek	Kalibrační roztoky (mg/l)	Přímá metoda analytu	Kaiserův postup
Ca	0,5 – 10,0	0,021 mg/l	0,014 mg/l
Cu	0,05 – 1,0	0,022 mg/l	0,018 mg/l
Fe	0,1 – 3,0	0,18 mg/l	0,11 mg/l
Mg	0,05 – 1,0	0,042 mg/l	0,022 mg/l
Zn	0,05 -1,0	0,035 mg/l	0,011 mg/l
Cd	0,0003 – 0,0015	0,15 µg/l	0,08 µg/l
Cr	0,002 – 0,01	2,30 µg/l	1,24 µg/l
Mn	0,001 – 0,005	1,28 µg/l	0,32 µg/l
Ni	0,001 – 0,005	2,34 µg/l	1,33 µg/l
Pb	0,005 -0,025	9,12 µg/l	8,27 µg/l

Tab. X: Stanovení limitu detekce – přepočet na průměrnou navážku 0,2 g

Prvek	Kalibrační roztoky (mg/l)	Přímá metoda analytu	Kaiserův postup
Ca	0,5 – 10,0	2,63 mg/kg	1,75 mg/kg
Cu	0,05 – 1,0	2,75 mg/kg	2,25 mg/kg
Fe	0,1 – 3,0	22,50 mg/kg	13,75 mg/kg
Mg	0,05 – 1,0	5,25 mg/kg	2,75 mg/kg
Zn	0,05 - 1,0	4,38 mg/kg	1,38 mg/kg
Cd	0,0003 – 0,0015	0,02 mg/kg	0,01 mg/kg
Cr	0,002 – 0,01	0,29 mg/kg	0,16 mg/kg
Mn	0,001 – 0,005	0,16 mg/kg	0,04 mg/kg
Ni	0,001 – 0,005	0,29 mg/kg	0,17 mg/kg
Pb	0,005 -0,025	1,14 mg/kg	1,03 mg/kg

Stanovení preciznosti

Preciznost (dříve přesnost) vyjadřuje těsnost souhlasu mezi nezávislými výsledky zkoušky získanými za předem specifikovaných podmínek. Byla vypočtena jako relativní směrodatná odchylka z 21 až 34 nezávislých měření certifikovaného referenčního materiálu NCS ZC 73014 Tea. Výsledky jsou shrnuty v tabulce XI a lze je považovat za uspokojivé jak pro plamenovou, tak i pro elektrotermickou atomizaci.

Tab. XI: Stanovení preciznosti (%)

Prvek	RSD	Prvek	RSD
Ca	3,38	Cd	12,06
Mg	4,87	Cr	11,90
Fe	6,83	Mn	5,83
Cu	3,93	Ni	12,44
Zn	4,14	Pb	14,95

Stanovení pravdivosti

Pravdivost se vyjadřuje jako těsnost souhlasu mezi průměrnou hodnotou získanou z velkého počtu výsledků měření a dohodnutou referenční hodnotou (pravou hodnotou). Pravdivost techniky byla vyhodnocena z 21 až 34 nezávislých měření certifikovaného referenčního materiálu NCS ZC 73014 Tea. Naměřené koncentrace prvků se pohybují v intervalu spolehlivosti certifikované hodnoty. Jedinou výjimkou je železo, kdy byl naměřen nižší obsah. Pravděpodobně došlo k jeho ztrátám při mineralizaci.

Tab. XII: Stanovení pravdivosti techniky

Prvek	Naměřené hodnoty $\bar{x} \pm s$	CRM $\bar{x} \pm s$
Ca (g/kg)	3,27±0,11	3,26±0,04
Mg (g/kg)	1,85±0,09	1,86±0,06
Fe (mg/kg)	161,79±11,05	242±9
Cu (mg/kg)	18,70±0,73	18,6±0,4
Zn (mg/kg)	49,83±2,07	51±1
Cd (mg/kg)	0,06±0,01	0,062±0,002
Cr (mg/kg)	0,47±0,06	0,45±0,05
Mn (mg/kg)	502,34±29,30	500±10
Ni (mg/kg)	3,59±0,45	3,4±0,2
Pb (mg/kg)	1,57±0,24	1,5±0,1

Kde \bar{x} je průměrná koncentrace, s je směrodatná odchylka a CRM je certifikovaný referenční materiál.

Stanovení nejistoty

Nejistota byla vypočtena z kvality kontrolního vzorku a za použití certifikovaného referenčního materiálu podle technické zprávy 537 NORDTESTu^[52]:

$$u_{odchylka} = \sqrt{odchylka^2 + \left(\frac{s_{CRM}}{\sqrt{n}}\right)^2} + u_{CRM}^2 \quad (10)$$

$$u_C = \sqrt{s_{CRM}^2 + u_{odchylka}^2} \quad (11)$$

$$U = 1,96 \cdot u_C \quad (12)$$

kde odchylka je rozdíl mezi průměrem a referenční hodnotou, s_{CRM} je výběrový odhad směrodatné odchylky opakovaných měření certifikovaného referenčního materiálu, n je počet měření, u_{CRM} je standardní nejistota certifikovaného referenčního materiálu (z certifikátu), u_C je kombinovaná standardní nejistota a U je rozšířená nejistota. Vyšší nejistota měření u olova je patrně dána stářím výbojky, které způsobilo kolísání naměřených hodnot, a je také způsobena tím, že jsme na úrovni meze detekce, kdy nejistota bývá větší. U železa je vysoká nejistota dána jeho ztrátou při mineralizaci.

Tab. XIII: Stanovení nejistoty

Prvek	Nejistota (%)	Prvek	Nejistota (%)
Ca	7,2	Cd	25,67
Mg	11,37	Cr	33,72
Fe	66,78	Mn	13,15
Cu	8,73	Ni	28,50
Zn	10,03	Pb	34,07

4.3. Vyhodnocení výsledků

Bylo studováno deset prvků, a to vápník, měď, železo, hořčík a zinek pomocí plamenové atomizace a kadmium, chrom, mangan, nikl a olovo za využití elektrotermické atomizace. Jako vzorky byly použity různé druhy kávy, které jsou běžně komerčně dostupné v obchodech. Všechny vzorky kávy byly typu Arabika. Byla studována káva z Kolumbie, Indie, Keni, Hondurasu, Brazílie a kávová směs složená z káv arabiky pocházející z Indie a Brazílie, smíchaná s kávou robusta z Indie .

Pro celkové stanovení prvků byla káva rozložena kyselinou dusičnou s peroxidem vodíku za podmínek uvedených v experimentální části (kapitola 3.3.). Ve všech případech byly obdrženy čisté a bezbarvé roztoky.

Výsledné hodnoty z provedených analýz jsou shrnuty a uvedeny v následujících tabulkách a v příloze. Z naměřených dat byly vypočítány střední hodnoty se směrodatnou odchylkou, které jsou pro šest typů káv uvedeny v následujících tabulkách.

Tab. XIV: Pražená káva - zrno

Prvek	Indie	Keňa	Kolumbie	Honduras	Etiopie	Kafe Kodó
Ca (g/kg)	0,73±0,09	0,76±0,06	1,06±0,25	0,53±0,10	0,80±0,06	0,79±0,07
Cu (mg/kg)	17,66±1,42	19,37±1,38	17,63±1,41	16,51±1,74	17,99±2,15	18,25±0,79
Fe (mg/kg)	46,78±4,86	35,98±5,94	23,38±7,24	45,70±0,97	34,06±4,88	18,72±0,90
Mg (g/kg)	2,19±0,13	2,29±0,20	1,75±0,40	1,96±0,09	2,07±0,13	2,16±0,21
Zn (mg/kg)	7,04±1,62	1,72±1,27	6,12±1,02	4,44±0,61	4,66±1,00	3,81±0,78
Cd (mg/kg)	0,04±0,02	0,01±0,002	-	0,05±0,01	0,04±0,01	0,04±0,01
Cr (mg/kg)	0,89±0,14	0,70±0,12	-	0,29±0,07	0,29±0,09	0,18±0,04
Mn (mg/kg)	109,19±10,06	124,17±14,43	52,40±1,70	111,29±17,75	24,94±4,59	57,97±9,95
Ni (mg/kg)	3,64±0,86	1,66±0,69	-	0,59±0,14	0,47±0,15	2,02±0,32
Pb (mg/kg)	-	-	-	-	-	-

- nedetekováno

Tab. XV: Pražená káva - mletá

Prvek	Indie	Keňa	Kolumbie	Honduras	Etiopie	Kafe Kodó
Ca (g/kg)	0,75±0,01	0,76±0,01	1,04±0,06	0,54±0,04	0,78±0,02	0,79±0,01
Cu (mg/kg)	17,13±0,55	19,98±0,36	18,77±0,20	16,13±0,53	16,90±0,96	17,68±0,36
Fe (mg/kg)	44,77±1,98	36,14±1,36	338,47±3,10	131,42±4,79	121,98±4,07	154,74±3,56
Mg (g/kg)	2,15±0,05	2,25±0,08	1,60±0,06	2,02±0,02	2,00±0,02	2,16±0,07
Zn (mg/kg)	6,82±0,39	1,62±0,30	21,89±0,95	8,98±0,32	8,55±0,38	6,04±0,41
Cd (mg/kg)	0,04±0,01	0,01±0,01	-	0,05±0,01	0,03±0,01	0,04±0,01
Cr (mg/kg)	0,82±0,09	0,76±0,06	0,62±0,06	0,54±0,04	1,87±0,08	0,63±0,14
Mn (mg/kg)	105,23±3,75	123,16±1,58	52,96±0,89	107,25±2,82	25,68±1,91	59,52±5,80
Ni (mg/kg)	3,53±0,67	1,50±0,31	139,31±7,88	13,20±0,05	9,30±0,48	7,88±0,63
Pb (mg/kg)	-	-	-	-	-	-

- nedetekováno

Získané hodnoty zčásti odpovídají výsledkům publikovaným jinými autory, Onianwou s kol.^[6] a Santosem s kol.^[17]. Srovnání bylo provedeno pro praženou zrnkovou a mletou kávu, neboť pro nepraženou kávu a pro přípravu kávy nebyly nalezeny žádné publikace zabývající se touto problematikou.

Hladina toxického prvku, olova, byla ve všech studovaných kávách pod mezí detekce, Onianwa s kolektivem naměřili průměrnou koncentraci olova $0,3 \pm 0,34$ mg/kg. Obsah mědi je ve všech vzorcích kávy vyšší (průměr $17,9 \pm 0,93$ mg/kg) oproti hodnotám, které uvádí Onianwa a kol. ($4,8 \pm 3,7$ mg/kg). Obsah železa koresponduje s výsledky autorů (51 ± 70 mg/g), mírně snížený obsah tohoto prvku byl nalezen u káv z Kolumbie a kávové směsi Kafe Kodó ($23,38 \pm 7,24$ mg/kg, $18,72 \pm 0,90$ mg/kg). U zinku byly nalezeny nižší hodnoty než uvádějí výše zmínění autoři ($10,7 \pm 4,2$ mg/kg) u všech analyzovaných káv, jako příklad lze zmínit kávu z Keni ($1,72 \pm 1,27$ mg/kg). Zvýšené hodnoty niklu byly zaznamenány u káv z Indie, Keni a kávové směsi Kafe Kodó ($3,64 \pm 0,86$ mg/kg, $1,66 \pm 0,69$ mg/kg, $2,02 \pm 0,32$ mg/kg), naopak snížené byly u káv z Hondurasu a Etiopie ($0,59 \pm 0,14$ mg/kg, $0,47 \pm 0,15$ mg/kg). U kávy z Kolumbie nebyl nikl

detekován, narozdíl od publikovaných výsledků ($0,9 \pm 1,1$ mg/kg). Obsah chromu byl u všech zkoumaných káv zjištěn nižší (jako například káva z Etiopie $0,29 \pm 0,09$ mg/kg nebo káva z Kolumbie, kde nebyl chrom detekován, Onianwa a kol. uvádí $2,9 \pm 2,5$ mg/kg. Množství kadmia bylo ve srovnání s publikovanými výsledky ($0,14 \pm 0,11$ mg/kg) zhruba 10 krát nižší ve všech zkoumaných kávách (např. káva z Keni $0,01 \pm 0,002$ mg/kg a u kávy z Kolumbie nebylo kadmium detekováno). Ve srovnání s množstvím manganu v kávě publikovaným Santosou a kol. $15,08 \pm 8,23$ mg/kg byl naměřen vyšší obsah tohoto prvku u všech analyzovaných káv, pro názornost lze zmínit kávu z Indie a Hondurasu ($109,19 \pm 10,06$ mg/kg, $111,29 \pm 17,75$ mg/kg). Obsah vápníku v kávě z Kolumbie ($1,06 \pm 0,25$ g/kg) koresponduje s publikovanými výsledky ($1,2 \pm 0,2$ g/kg), u ostatních káv je obsah tohoto prvku nižší (pro názornost lze uvést kávu z Etiopie ($0,8 \pm 0,06$ g/kg). Množství hořčíku bylo nižší u všech analyzovaných káv (lze zmínit kávovou směs Kafe Kodó a kávu z Kolumbie $2,16 \pm 0,21$ g/kg, $1,75 \pm 0,40$ g/kg) oproti hodnotám, které publikovali výše zmínění autoři ($3,4 \pm 0,5$ g/kg).

Tab. XVI: Nepražená káva - Kolumbie

Prvek	zrno	mletá
Ca (g/kg)	0,70±0,06	0,75±0,002
Cu (mg/kg)	16,71±2,70	16,19±0,61
Fe (mg/kg)	13,81±6,24	819,66±66,61
Mg (g/kg)	0,95±0,04	1,05±0,01
Zn (mg/kg)	4,82±1,82	20,21±0,37
Cd (mg/kg)	-	-
Cr (mg/kg)	-	0,73±0,03
Mn (mg/kg)	58,42±1,68	54,10±1,01
Ni (mg/kg)	-	234,97±6,19
Pb (mg/kg)	-	-

- nedetekováno

Tab. XVII: Mletá pražená káva – porovnání naměřených dat před a po poškození mlýnku

Indie			Keňa	
Před poškozením	Po poškození		Před poškozením	Po poškození
0,75±0,01	0,75±0,02	Ca (g/kg)	0,76±0,01	0,77±0,01
17,13±0,55	17,43±0,82	Cu (mg/kg)	19,98±0,36	19,69±0,55
44,77±1,98	159,94±8,47	Fe (mg/kg)	36,14±1,36	162,14±4,03
2,15±0,05	2,1±0,19	Mg (g/kg)	2,25±0,08	2,26±0,12
6,82±0,39	8,73±0,95	Zn (mg/kg)	1,62±0,30	8,45±0,28
0,04±0,01	0,04±0,01	Cd (mg/kg)	0,01±0,001	0,03±0,01
0,82±0,09	1,14±0,07	Cr (mg/kg)	0,76±0,06	0,96±0,17
105,23±3,75	107,86±2,11	Mn (mg/kg)	123,16±1,58	124,9±7,61
3,53±0,67	6,35±0,41	Ni (mg/kg)	1,50±0,31	5,6±0,4
-	-	Pb (mg/kg)	-	-

- nedetekováno

Snahou analýz bylo také zjistit, jak se mění koncentrace vybraných prvků v kávě během jejího zpracování (tabulka XVI a XVII).

Obecně lze říci, že během pražícího procesu se obsahy sledovaných prvků výrazně nemění, jak je možno vyčíst z tabulky XVI. Káva pocházející z Kolumbie byla čerstvě upražená v elektrickém pražícím stroji od turecké firmy Toper v kavárně Kafe Kodó. U zakoupených zrnkových káv z šesti oblastí je možné vyzorovat větší rozptyl výsledků než po umletí těchto káv, což může být způsobeno rozdílným typem půdy, výskytem těžkého průmyslu v blízkosti a nebo okolními podmínkami pěstování. Během provádění experimentů došlo k poškození mlýnku na kávu, konkrétně rotujících nožů, ze kterých se uvolňuje železo, chrom, nikl a zinek. Domnívám se, že toto poškození bylo způsobeno pomletím neupražené kávy, která má mnohem tvrdší zrna než káva pražená. V tabulce XVII, která shrnuje stanovené množství analyzovaných prvků v kávě z Indie a Keni, můžeme porovnat obsah těchto prvků v kávách před a po poškození mlýnku. Jak je možno z tabulky vyčíst, nejvíce se zvýšil obsah

železa, niklu, a chrómu a to tři- až čtyřikrát, obsah zinku byl navýšen dvakrát. Je nutné upozornit na fakt, že kávy z Kolumbie, Hondurasu, Etiopie a kávová směs Kafe Kodó byly mlety až po poškození mlýnku.

Tab. XVIII: Mletá pražená káva – příprava kávy z Indie a Keni

Indie			Keňa	
Mletá káva	Sedlina/ filtrát		Mletá káva	Sedlina/ filtrát
0,75±0,02	0,65±0,02	Ca (g/kg)	0,77±0,003	0,68±0,006
	0,94±0,01			0,94±0,01
17,43±0,82	17,14±0,48	Cu (mg/kg)	19,69±0,55	17,88±0,14
	0,81±0,11			1,022±0,01
159,94±8,47	157,83±5,09	Fe (mg/kg)	162,14±4,03	161,86±2,13
	3,30±0,04			2,99±0,49
2,1±0,19	1,14±0,11	Mg (g/kg)	2,26±0,12	1,33±0,19
	1,26±0,20			1,40±0,03
8,73±0,95	8,23±0,73	Zn (mg/kg)	8,45±0,28	7,46±0,62
	1,31±0,09			1,50±0,22
0,04±0,01	0,03±0,01	Cd (mg/kg)	0,03±0,004	0,02±0,01
	0,01±0,002			0,01±0,001
1,14±0,07	0,88±0,31	Cr (mg/kg)	0,96±0,17	0,78±0,09
	0,17±0,01			0,15±0,01
107,86±2,11	91,86±1,29	Mn (mg/kg)	124,9±7,61	95,24±4,93
	12,73±0,25			27,15±0,54
6,35±0,41	6,08±0,97	Ni (mg/kg)	5,6±0,4	5,25±0,52
	0,31±0,01			0,34±0,03
-	-	Pb (mg/kg)	-	-
	-			-

- nedetekováno

Tab. XIX: Pražená káva – příprava kávové směsi Kafe Kodó

Filtrovaná			Presso	
Mletá káva	Sedlina/ filtrát		Mletá káva	Sedlina/ filtrát
0,79±0,01	0,74±0,01	Ca (g/kg)	0,79±0,07	0,65±0,07
	0,58±0,07			0,44±0,01
17,68±0,36	16,55±0,43	Cu (mg/kg)	18,25±0,79	17,34±0,12
	0,51±0,09			0,53±0,01
154,74±3,56	150,65±2,65	Fe (mg/kg)	18,72±0,90	16,85±0,97
	0,81±0,01			1,44±0,23
2,16±0,07	1,21±0,01	Mg (g/kg)	2,16±0,21	1,27±0,04
	1,18±0,02			1,01±0,01
6,04±0,41	5,21±0,08	Zn (mg/kg)	3,81±0,78	3,30±0,01
	0,57±0,06			0,64±0,05
0,04±0,01	0,03±0,01	Cd (mg/kg)	0,04±0,01	0,03±0,01
	0,01±0,001			0,004±0,001
0,628±0,14	0,52±0,04	Cr (mg/kg)	0,18±0,04	0,16±0,01
	0,11±0,02			0,09±0,01
59,52±5,80	48,49±0,41	Mn (mg/kg)	57,97±9,95	43,99±2,52
	12,29±0,43			8,64±0,35
7,88±0,63	7,45±0,07	Ni (mg/kg)	2,02±0,32	1,97±0,04
	0,52±0,05			0,46±0,01
-	-	Pb (mg/kg)	-	-
	-			-

- nedetekováno

Tab. XX: Pražená káva – příprava káv – množství prvků v kávovém filtrátu (%)

	Indie	Keňa	Kafe Kodó	
	Filtrovaná	Filtrovaná	Filtrovaná	Presso
Ca	125	122	73	56
Cu	5	5	3	3
Fe	2	2	0,5	8
Mg	60	60	55	47
Zn	16	18	9	17
Cd	35	34	25	20
Cr	15	16	17	33
Mn	12	22	21	15
Ni	5	6	7	22
Pb	-	-	-	-

- nedetekováno

Při zkoumání distribuce kovů během přípravy kávy bylo zjištěno, že velká část těžkých kovů zůstane v kávové sedlině. Výsledky pro celkové stanovení prvků v kávové sedlině a filtrátu jsou shrnuty v tabulkách XVIII a XIX. Pro porovnání byl nalezen pouze článek zabývající se problematikou přípravy černého a zeleného čaje od Wróbela a kol. Z naměřených výsledků vyplývá, že při louhování kávy se uvolní menší množství sledovaných prvků (mědi, železa, chrómu, manganu a niklu) než při louhování černého nebo zeleného čaje. Výjimka byla nalezena pouze pro kafe Kodó, kdy při přípravě kávy v presovači byla nalezena vyšší koncentrace chrómu (uvolnila se zhruba jedna třetina sledovaného prvku, zatímco při přípravě čaje se uvolnila pouze čtvrtina) a dále se uvolnila stejná koncentrace železa jako při louhování zeleného čaje (cca 8 %).

Část z celkového obsahu prvku, který se vyplaví do filtrátu, byla hodnocena jako procento z jeho obsahu v rostlinném materiálu a výsledky jsou uvedeny v tabulce XX. Káva z Indie a Keni byla připravována pouze za využití gravimetrického filtračního papíru a kávová směs Kafe Kodó byla připravována navíc i za využití presovače. Při přípravě kávy pomocí gravimetrického filtračního papíru se z kávy uvolnilo méně železa (cca 1,5 %), chrómu (cca 16 %) a niklu (cca 6 %), zatímco při přípravě kávy v presovači se uvolnilo 8% železa, 33% chrómu a 22% niklu. Mangan se z jedné pětiny uvolnil z kávy z Keni a z kávové směsi při filtrační úpravě. Nejmenší obsah zinku (9 %) byl vyplaven z kávové směsi Kafe Kodó při filtrační úpravě. Z kávy

z Indie a Keni se vyplavil větší podíl mědi a kadmia (cca 5 % z celkového množství mědi a téměř 35 % celkového kadmia). Hořčík se u všech typů káv a u obou typů příprav uvolňoval zhruba ve stejném množství (cca 55 %). Obsah vápníku se při přípravě kávy za využití filtrační úpravy téměř zdvojnásobil, zatímco při přípravě v presovači se obsah vápníku zvýšil o 20 % oproti jeho obsahu v původním rostlinném materiálu. Pravděpodobnou příčinou nárůstu obsahu vápníku je jeho uvolnění z filtračního papíru, z laboratorního nádobí uvolněn být nemohl, jelikož veškeré použité nádobí bylo louženo v kyselině dusičné a jiný způsob kontaminace není znám. Vápník se ve větším množství vyplavil z kávy z Indie (125 %) a z kávy z Keni (122 %). Olovo nebylo v původním rostlinném materiálu detekováno a tudíž nebyla sledována jeho distribuce při přípravě kávy.

Dále bylo porovnáváno množství jednotlivých prvků v kávách v závislosti na oblasti jejich původu. Obecně lze konstatovat, že rozdíly nejsou příliš významné. Měď byla ve všech analyzovaných kávách přítomna s malými odchylkami podobně. Olovo nebylo detekováno v žádné zkoumané kávě. Mangan byl nalezen v nejmenším množství v kávě z Etiopie ($24,94 \pm 4,59$ mg/kg), nejvíce ho bylo v kávě z Keni ($124,17 \pm 14,43$ mg/kg). Obsah niklu byl nejvyšší v kávě pocházející z Indie ($3,64 \pm 0,86$ mg/kg). Hladina železa byla nejnižší v kávové směsi Kafe Kodó ($18,72 \pm 0,90$ mg/kg), naopak nejvyšší byla nalezena v kávě z Indie ($46,78 \pm 4,86$ mg/kg). Nejvyšší obsah chrómu zaznamenala káva z Indie ($0,89 \pm 0,14$ mg/kg), naopak nejnižší, kromě kávy z Kolumbie, kde nebyl detekován, byla hladina chrómu změřena u kávové směsi Kafe Kodó ($0,18 \pm 0,04$ mg/kg). V kávě z Keni byl zjištěn nejnižší obsah zinku ($1,72 \pm 1,27$ mg/kg). Obsah kadmia byl nejvyšší v kávě z Hondurasu ($0,05 \pm 0,01$ mg/kg), nejnižší v kávě z Keni ($0,01 \pm 0,002$ mg/kg) a Kolumbie, kde nebyl detekován. Obsah vápníku byl zjištěn ve všech kávách téměř stejný, výjimkou je káva z Kolumbie ($1,06 \pm 0,25$ mg/g), kde bylo jeho množství vyšší. Totéž platí pro obsah hořčíku, s výjimkou kávy z Kolumbie ($1,75 \pm 0,40$ mg/g), kde je jeho množství naopak nejnižší. Obsah těžkých kovů byl nejnižší v kávě z Kolumbie, kde nebylo detekováno kadmium, chrom, nikl ani olovo.

5. ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývala stanovováním vybraných kovových prvků v zrnech kávy z různých oblastí, které jsou běžně dostupné v obchodech. Vzorky byly skladovány v lednici při teplotě 2 - 5 °C a před vlastní analýzou byly rozloženy pomocí mikrovlnné mineralizace za využití rozkladné směsi kyseliny dusičné a peroxidu vodíku.

Vápník, měď, železo, hořčík a zinek byly analyzovány technikou plamenové atomové absorpční spektrometrie, v plameni acetylen-vzduch. Stanovení kadmia, chrómu, manganu, niklu a olova bylo provedeno pomocí elektrotermické atomizace v grafitové kyvetě bez platformy. Ke kvantitativnímu vyhodnocení jednotlivých měření bylo ve všech případech využito metody kalibrační křivky.

Pro všechny stanovované prvky byl vypočítán limit detekce. Dále byla ověřena preciznost, pravdivost a nejistota stanovení.

Během zpracování kávy nedochází k výrazným změnám koncentrace sledovaných prvků. Při zkoumání distribuce analyzovaných prvků během přípravy kávy bylo zjištěno, že největší množství kovových prvků zůstane v kávové sedlině.

V analyzovaných kávách byly srovnávány obsahy vybraných prvků v závislosti na jejich původu. Mezi naměřenými hodnotami studovaných prvků pro jednotlivé kávy nebyly zaznamenány výrazné rozdíly, jedinou výjimku tvoří prvek nikl, u kterého byl zjištěn až sedminásobný rozdíl v naměřených obsazích.

Závěrem lze říci, že cíle práce byly splněny. Byla vypracována literární rešerže a provedena verifikace metody, která zahrnovala stanovení limitu detekce, preciznosti, pravdivosti a nejistoty stanovení. Ověřená metoda byla aplikována na experimentální stanovení reálných vzorků káv.

6. LITERATURA

- [1] H. G. William, *Introduction to Plant Physiology*, Ontario, **1999**.
- [2] L. S. di Toppi, R. Gabbrielli, *Environmental and Experimental Botany* **1999**, *41*(2), 105-130.
- [3] V. Page, R. C. Le Bayon, U. Feller, *Environmental and Experimental Botany* **2006**, *58*(1-3), 269-278.
- [4] P. Zhuang, M. B. McBride, H. P. Xia, N. Y. Li, Z. A. Lia, *Science of the Total Environment* **2009**, *407*(5), 1551-1561.
- [5] I. Raskin, N. Kumar, S. Dushenkov, D. E. Salt, Bioconcentration of heavy metals by plants, in *Environmental biotechnology*, **1994**, pp. 285-290.
- [6] P. C. Onianwa, I. G. Adetola, C. M. A. Iwegbue, M. F. Ojo, O. O. Tella, *Food Chemistry* **1999**, *66*(3), 275-279.
- [7] J. S. dos Santos, M. L. P. dos Santos, M. M. Conti, S. N. dos Santos, E. de Oliveira, *Food Chemistry* **2009**, *115*(4), 1405-1410.
- [8] N. Oleszczuk, J. T. Castro, M. M. da Silva, M. D. A. Korn, B. Welz, M. G. R. Vale, *Talanta* **2007**, *73*(5), 862-869.
- [9] M. C. Yebra, S. Cancela, R. M. Cespon, *Food Chemistry* **2008**, *108*(2), 774-778.
- [10] S. Saracoglu, K. O. Saygi, O. D. Uluozlu, M. Tuzen, M. Soylak, *Food Chemistry* **2007**, *105*(1), 280-285.
- [11] T. G. Kazi, N. Jalbani, J. A. Baig, M. B. Arain, H. I. Afridi, M. K. Jamali, A. Q. Shah, A. N. Memon, *Food Chemistry* **2010**, *119*(4), 1313-1317.
- [12] S. Demirel, M. Tuzen, S. Saracoglu, M. Soylak, *Journal of Hazardous Materials* **2008**, *152*(3), 1020-1026.
- [13] N. Jalbani, F. Ahmed, T. G. Kazi, U. Rashid, A. B. Munshi, A. Kandhro, *Food and Chemical Toxicology* **2010**, *48*(10), 2737-2740.
- [14] R. Lara, S. Cerutti, J. A. Salonia, R. A. Olsina, L. D. Martinez, *Food and Chemical Toxicology* **2005**, *43*(2), 293-297.
- [15] Z. Ajtony, N. Szoboszlai, E. K. Susko, P. Mezei, K. Gyoergy, L. Bencs, *Talanta* **2008**, *76*(3), 627-634.
- [16] W. P. C. Santos, V. Hatje, L. N. Lima, S. V. Trignano, F. Barros, J. T. Castro, M. G. A. Korn, *Microchemical Journal* **2008**, *89*(2), 123-130.

- [17] E. J. dos Santos, E. de Oliveira, *Journal of Food Composition and Analysis* **2001**, *14*(5), 523-531.
- [18] A. Krejčova, T. Cernohorsky, *Food Chemistry* **2003**, *82*(2), 303-308.
- [19] P. L. Fernandez, F. Pablos, M. J. Martin, A. G. Gonzalez, *Food Chemistry* **2002**, *76*(4), 483-489.
- [20] T. Roychowdhury, H. Tokunaga, M. Ando, *Science of the Total Environment* **2003**, *308*(1-3), 15-35.
- [21] E. P. Nardi, F. S. Evangelista, L. Tormen, T. D. SaintPierre, A. J. Curtius, S. S. de Souza, F. Barbosa, *Food Chemistry* **2009**, *112*(3), 727-732.
- [22] K. Antonín, Stanovení fosforu metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, in Chem. Listy, **2010**, pp. 20-22.
- [23] T. Capote, L. M. Marco, J. Alvarado, E. D. Greaves, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* **1999**, *54*(10), 1463-1468.
- [24] T. Golob, U. Dobersek, P. Kump, M. Necemer, *Food Chemistry* **2005**, *91*(4), 593-600.
- [25] A. Jastrzebska, B. Brudka, T. Szymanski, E. Szlyk, *Food Chemistry* **2003**, *83*(3), 463-467.
- [26] Q. Yang, C. Hartmann, J. Smeyersverbeke, D. L. Massart, *Journal of Chromatography A* **1995**, *717*(1-2), 415-425.
- [27] J. Sadecka, J. Polonsky, *Journal of Chromatography A* **1999**, *834*(1-2), 401-417.
- [28] E. Szlyk, A. Jastrzebska, B. Brudka, *Talanta* **2004**, *63*(3), 575-580.
- [29] I. Karadjova, S. Girousi, E. Iliadou, I. Stratis, *Mikrochimica Acta* **2000**, *134*(3-4), 185-191.
- [30] A. H. Alghamdi, Applications of stripping voltametric techniques, in Arabian Journal of Chemistry, **2010**, pp. 1-7.
- [31] S. Abbasi, H. Khani, R. Tabaraki, *Food Chemistry* **2010**, *123*(2), 507-512.
- [32] L. Qiong, W. Lirong, X. Danh, L. Guanghan, *Food Chemistry* **2006**, *97*(1), 176-180.
- [33] P. Ostapczuk, *Analytica Chimica Acta* **1993**, *273*(1-2), 35-40.
- [34] J. Komárek, *Atomová absorpční spektrometrie*, Masarykova univerzita, Brno, **2000**.
- [35] T. Černohorský, P. Jandera, *Atomová spektroskopie*, Univerzita Pardubice, Pardubice, **1997**.

- [36] V. Stučka, *Analytická atomová optická spektrometrie*, Univerzita Palackého, Olomouc, **2000**.
- [37] O. Dufek, *Káva známá i neobyčejná*, Pavla Momčilová-Medica Publishing, Čestlice, **2000**.
- [38] <http://www.gastrokafe.cz/>, (28.11.2010).
- [39] I. Krejčí, *O kávě a čaji, aneb, víme proč je pijeme?*, Grada Publishing, Praha, **2000**.
- [40] J. Thorn, *Káva: Příručka pro labužníky*, Fortuna Print, Praha, **2000**.
- [41] Z. Žáček, *Zajímavě o kávě a čaji*, Praha, **1960**.
- [42] L. Kincl, *Biologie rostlin*, Fortuna, Praha, **2000**.
- [43] V. Hejnák, *Fyziologie rostlin*, Praha, **2005**.
- [44] G. R. Noggle, G. J. Fritz, *Introductory plant physiology*, New Jersey, **1976**.
- [45] S. K. Yadav, *South African Journal of Botany* **2010**, 76(2), 167-179.
- [46] S. Megateli, S. Semsari, M. Couderchet, *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2009**, 72(6), 1774-1780.
- [47] P. Das, S. Samantaray, G. R. Rout, *Environmental Pollution* **1997**, 98(1), 29-36.
- [48] K. Wrobel, E. M. C. Urbina, *Biological Trace Element Research* **2000**, 78(1-3), 271-280.
- [49] E. Krakovská, H.-M. Kuss, *Rozklady v analytické chemii*, Viena Košice, Slovenská republika, Košice, **2001**.
- [50] P. Martin, *Káva, Ivo Železný*, Praha, **2004**.
- [51] W. J. Price, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption*, Hyden, London, **1979**.
- [52] B. Magnusson, T. Näykki, H. Hovind, M. Krysell, *Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories*, Nordtest Report TR 537, Espo, **2004**.

7. PŘÍLOHY

Tab. XXI: Experimentální data certifikovaného referenčního materiálu - čaj

	Ca (g/kg)	Mg (g/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
1	3,25	1,90	x	18,53	48,31	0,061	-	500,24	3,49	-
2	3,32	1,89	171,36	18,95	50,16	0,070	0,47	497,36	3,58	1,51
3	3,34	1,86	x	18,29	49,95	0,061	-	509,28	3,49	-
4	3,13	1,88	187,74	18,48	51,21	0,076	0,51	489,27	3,57	1,31
5	3,32	1,88	175,16	18,11	49,14	0,063	0,47	494,39	3,21	1,65
6	3,10	1,94	x	19,16	47,19	0,076	0,39	509,07	3,34	1,25
7	3,26	1,96	x	19,35	50,70	0,060	0,61	401,91	3,59	x
8	3,28	1,78	184,74	17,96	51,32	0,058	0,47	449,65	3,43	1,41
9	3,11	1,88	166,72	19,07	50,67	0,060	0,36	510,31	3,56	1,65
10	3,36	1,76	150,65	18,00	47,71	0,054	0,54	501,39	-	1,72
11	3,26	1,75	148,54	17,79	48,61	0,050	0,45	494,44	3,34	1,44
12	3,34	1,73	161,27	19,35	50,20	0,060	-	495,44	4,33	1,81
13	3,27	1,91	157,88	19,10	45,09	0,053	-	543,21	-	1,46
14	3,21	1,85	167,32	18,46	51,09	0,061	0,47	526,76	4,16	1,32
15	3,45	1,99	x	17,99	52,01	0,051	0,44	524,50	3,43	1,58
16	3,50	1,67	162,59	19,63	48,91	0,054	-	539,36	3,32	1,38
17	3,25	1,60	152,95	18,36	51,03	-	-	488,29	4,41	1,36
18	3,09	1,88	x	18,30	47,64	-	-	498,36	2,92	1,26
19	3,25	1,79	141,52	17,89	47,30	-	-	490,51	3,38	1,80
20	3,39	1,92	150,81	19,47	51,02	0,053	-	492,76	3,29	1,83
21	3,30	1,87	x	18,41	47,65	0,060	0,49	496,18	-	1,79
22	3,17	1,85	156,76	19,43	49,13	0,060	0,49	516,58	2,90	1,53
23	3,22	1,97	x	18,88	48,21	0,050	-	463,24	3,77	x
24	3,14	1,78	159,46	20,53	54,31	0,050	0,41	508,24	3,28	x
25	3,19	1,88	x	19,31	49,77	0,050	0,44	509,88	4,28	-
26	3,42	2,01	x	18,60	46,87	0,065	0,43	517,56	3,43	-
27	3,13	1,96	170,43	18,35	49,31	0,063	0,46	491,28	3,22	-
28	3,16	1,77	159,64	16,75	52,33	0,056	-	505,27	4,74	-
29	3,42	1,91	162,95	18,15	52,50	0,050	0,53	503,07	3,65	-
30	3,04	1,80	159,78	18,01	50,03	0,060	0,45	482,22	3,47	-
31	3,33	1,80	150,48	19,31	48,88	0,062	0,56	495,47	3,11	2,02

32	3,48	1,89	152,89	19,50	53,87	-	0,44	508,94	4,22	1,99
33	3,28	1,84	166,67	18,72	49,50	0,060	0,47	576,44	4,01	x
34	3,24	1,91	164,75	19,63	52,61	0,068	0,42	548,70	3,35	x

- nedetekováno

x vyloučená data

Tab. XXII: Experimentální data – káva z Indie

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
zrno										
1	0,73	15,2	44,95	2,40	6,14	-	0,62	119,08	3,80	-
2	0,67	18,71	40,17	2,00	8,73	0,07	0,78	118,33	3,26	-
3	0,60	18,28	46,32	2,23	6,42	0,03	0,94	111,41	2,58	-
4	0,69	17,73	44,42	2,31	9,47	0,06	1,04	114,4	4,96	0,003
5	0,75	16,54	53,50	2,21	5,03	0,05	0,95	106,49	4,79	0,001
6	0,81	19,56	43,71	2,06	5,24	0,02	0,82	104,33	3,14	-
7	0,88	16,71	54,40	2,15	8,04	-	0,99	87,80	3,69	-
8	0,68	18,59	46,80	2,20	7,28	0,01	1,00	111,73	2,90	-
mletá před poškozením mlýnku										
9	0,76	18,02	44,80	2,20	6,95	0,05	0,88	111,95	3,76	-
10	0,74	17,23	44,64	2,13	7,17	0,03	0,90	104,16	4,00	-
11	0,75	16,92	46,09	2,07	6,69	0,02	0,78	103,43	3,73	-
12	0,76	16,87	41,60	2,15	7,10	0,03	0,68	104,03	2,35	-
13	0,76	16,59	46,73	2,18	6,21	0,06	0,87	102,91	3,83	-
mletá poškození mlýnku										
14	0,73	19,92	154,91	2,31	9,39	0,03	1,18	108,79	5,9	-
15	0,75	17,89	155,20	1,97	7,65	0,04	1,05	105,45	6,44	-
16	0,76	16,48	169,72	2,02	9,16	0,04	1,17	109,35	6,70	-

- nedetekováno

Tab. XXIII: Experimentální data – káva z Hondurasu

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
zrno										
1	0,43	14,63	45,58	1,85	3,75	0,06	0,38	119,2	0,75	-
2	0,63	18,07	46,73	2,01	4,69	0,04	0,25	123,71	0,47	-
3	0,52	16,82	44,80	2,02	4,89	0,06	0,26	90,97	0,55	-
4	0,53	17,83	44,63	2,01	4,07	0,04	0,18	73,63	0,38	-
mletá (po poškození mlýnku)										
5	0,49	16,16	138,26	2,01	8,53	0,05	0,57	105,83	13,22	-
6	0,56	15,43	128,67	2,01	9,06	0,04	0,54	108,65	13,14	-
7	0,58	16,22	131,08	2,02	9,01	0,06	0,57	104,11	13,25	-
8	0,54	16,70	127,65	2,05	9,31	0,05	0,49	110,42	13,20	-

- nedetekováno

Tab. XXIV: Experimentální data – káva z Keni

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
zrno										
1	0,77	18,55	38,55	2,47	0,32	0,01	0,91	129,96	2,54	-
2	0,73	19,90	39,43	2,26	2,93	-	0,46	104,48	1,07	-
3	0,81	21,69	33,56	2,63	-	0,01	0,75	139,76	1,10	-
4	0,88	18,76	42,83	2,13	-	-	0,71	104,25	1,00	-
5	0,77	17,65	34,55	2,15	-	-	0,65	116,33	1,48	-
6	0,69	20,92	23,22	2,38	0,99	-	0,69	139,74	1,17	-
7	0,89	19,26	39,19	2,31	-	0,01	0,72	133,71	2,51	-
8	0,70	18,27	36,54	1,99	2,65	0,01	0,68	125,11	2,38	0,002
mletá před poškození mlýnku										
9	0,76	19,83	37,84	2,26	1,43	0,01	0,72	121,81	1,09	-
10	0,76	20,43	36,83	2,32	2,08	-	0,80	125,49	1,80	-
11	0,75	19,51	35,42	2,29	1,28	-	0,67	122,1	1,43	-
12	0,75	19,90	36,34	2,11	1,67	0,01	0,81	124,08	1,82	-
13	0,76	20,21	34,29	2,25	1,66	0,01	0,81	122,32	1,35	-
mletá po poškození mlýnku										
14	0,80	20,25	166,72	2,17	8,13	0,04	0,92	126,81	5,18	-
15	0,77	19,14	160,54	2,21	8,66	0,03	1,14	131,37	5,65	-
16	0,74	19,70	159,15	2,39	8,58	0,03	0,82	116,51	5,97	-

- nedetekováno

Tab. XXV: Experimentální data – káva z Kolumbie

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
zrno										
1	1,33	14,95	28,92	1,76	5,72	-	-	54,27	-	-
2	0,84	22,54	26,05	2,14	7,72	-	-	50,93	-	-
3	1,02	21,34	15,19	1,34	6,40	-	-	52,01	-	-
mletá (po poškození mlýnku)										
4	0,99	18,61	336,22	1,62	22,30	-	0,66	53,77	144,35	-
5	1,02	18,71	337,18	1,54	22,56	-	0,55	53,10	143,36	-
6	1,10	19,00	342,01	1,65	20,80	-	0,66	52,01	130,23	-

- nedetekováno

Tab. XXVI: Experimentální data – káva z Etiopie

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
zrno										
1	0,77	18,23	40,8	2,25	3,18	0,04	0,30	19,97	0,57	-
2	0,78	19,02	31,45	2,01	4,97	0,04	0,36	23,2	0,37	-
3	0,89	19,82	34,28	2,08	5,20	0,04	0,36	30,85	0,32	-
4	0,76	14,93	29,7	1,96	5,29	0,03	0,16	25,76	0,62	-
mletá (po poškození mlýnku)										
5	0,78	17,13	117,00	2,02	8,00	0,03	1,79	26,85	9,85	-
6	0,75	16,84	121,35	1,99	8,62	0,03	1,89	26,89	9,50	-
7	0,78	16,87	122,70	1,98	8,87	0,04	1,96	22,87	9,08	-
8	0,80	16,76	126,88	2,01	8,72	0,04	1,83	26,11	8,77	-

- nedetekováno

Tab. XXVII: Experimentální data – kávová směs Kafe Kodó

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
zrno										
1	0,84	18,25	19,40	2,01	3,96	0,03	0,13	47,25	1,62	-
2	0,71	17,93	18,68	2,02	5,08	0,05	0,19	67,58	2,44	-
3	0,73	17,22	19,68	2,02	3,62	0,04	0,17	69,29	1,82	-
4	0,81	19,37	17,38	2,25	3,13	0,04	0,22	50,85	1,97	-
5	0,87	18,48	18,48	2,49	3,25	0,05	-	54,86	2,23	-
mletá (po poškození mlýnku)										
6	0,81	17,79	156,00	2,20	5,43	0,04	0,70	61,26	8,15	-
7	0,80	17,60	150,62	2,12	6,04	0,04	0,57	55,71	8,80	-
8	0,79	18,25	159,03	2,05	6,34	0,04	0,44	65,92	7,30	-
9	0,78	17,31	156,52	2,22	6,49	0,04	0,62	63,13	7,30	-
10	0,78	17,47	151,51	2,20	5,87	0,05	0,81	51,57	7,86	-

- nedetekováno

Tab. XXVIII: Experimentální data – káva z Kolumbie - nepražená

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
zrno										
1	0,77	19,21	11,34	0,99	4,25	-	-	60,16	-	-
2	0,70	13,85	9,18	0,94	3,35	-	-	56,82	-	-
3	0,64	17,07	20,90	0,92	6,86	-	-	58,27	-	-
mletá (po poškození mlýnku)										
4	0,75	16,23	756,41	1,05	20,29	-	0,71	53,15	228,28	-
5	0,75	15,55	813,38	1,04	20,54	-	0,73	55,15	240,49	-
6	0,74	16,77	889,20	1,06	19,81	-	0,75	54,00	236,14	-

- nedetekováno

Tab. XXIX: Experimentální data – příprava kávové směsi Kafe Kodó

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
sedlina - filtrovaná										
1	0,77	16,20	147,72	1,22	5,25	0,03	0,45	45,01	7,51	-
2	0,72	16,29	149,82	1,21	5,28	0,03	0,52	51,38	7,29	-
3	0,71	16,92	151,94	1,21	5,58	0,01	0,57	49,12	7,52	-
4	0,74	16,79	153,11	1,19	4,71	0,03	0,52	48,43	7,49	-
sedlina - presso										
5	0,70	17,25	17,54	1,30	3,31	0,03	0,15	42,21	2,00	-
6	0,60	17,42	16,16	1,25	3,30	0,04	0,16	45,78	1,95	-
filtrát-filtrovaná										
7	0,56	0,57	0,80	1,20	0,61	0,01	0,12	11,99	0,56	-
8	0,60	0,44	0,81	1,17	0,53	0,01	0,10	12,60	0,48	-
filtrát - presso										
9	0,45	0,52	1,28	1,01	0,61	0,004	0,09	8,89	0,46	-
10	0,44	0,53	1,60	1,00	0,68	0,005	0,08	8,39	0,45	-

- nedetekováno

Tab. XXX: Experimentální data – příprava kávy z Indie

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
sedlina										
1	0,66	16,92	150,45	1,06	8,46	0,02	1,05	90,84	5,78	-
2	0,66	17,84	160,28	1,04	8,65	0,04	1,17	90,80	5,94	-
3	0,61	16,78	161,90	1,15	7,15	0,03	0,47	93,50	5,16	-
4	0,66	17,00	158,69	1,29	8,66	0,03	0,84	92,20	7,44	-
filtrát-filtrovaná										
5	0,95	0,89	3,27	1,40	1,37	0,02	0,16	12,91	0,32	-
6	0,94	0,73	3,33	1,12	1,24	0,01	0,17	12,55	0,30	-

- nedetekováno

Tab. XXXI: Experimentální data – příprava kávy z Keni

	Ca (g/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (g/kg)	Zn (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)
sedlina										
1	0,67	17,69	164,91	1,18	7,65	0,01	0,76	90,59	5,75	-
2	0,68	18,02	161,37	1,15	8,03	0,01	0,69	96,89	5,63	-
3	0,68	17,88	159,97	1,50	7,59	0,03	0,91	101,42	4,88	-
4	0,68	17,93	161,18	1,53	6,58	0,02	0,76	92,05	4,73	-
filtrát-filtrovaná										
5	0,95	1,02	2,65	1,43	1,66	0,01	0,14	27,54	0,36	-
6	0,93	1,03	3,33	1,38	1,34	0,01	0,16	26,77	0,32	-

- nedetekováno