

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

Stanovení prvkových nečistot v léčivých bylinách

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Tereza Polášková

Studijní obor: Chemie-analytik specialista

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Pluháček, Ph.D.

2024 Olomouc

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Tereza Polášková

Název práce: Stanovení prvkových nečistot v léčivých bylinách

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Pluháček, Ph.D.

Rok odevzdání práce: 2024

Anotace:

Tato bakalářská práce je zaměřena na prvkovou analýzu ve vybraných léčivých bylinách (kopřivě dvoudomé, jitroceli kopinatém a řebříčku obecném) a okolních půdách pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Teoretická část práce přináší přehled základních informací o bylinách a jejich rozkladech, instrumentaci ICP-MS a interferencích. Dále se zabývá nečistotami v léčivých bylinách, zejména pak přítomností těžkých kovů v bylinách souvisejících s geologickými a antropogenními vlivy. Na závěr je v teoretické části uvedena rešerše přehledně shrnující doposud publikované práce se zaměřením na prvkovou analýzu v bylinách pomocí ICP-MS.

V rámci experimentální části byla vyvinuta, optimalizována a validována dvojice ICP-MS metod v rozsahu linearity, meze detekce, meze stanovitelnosti, preciznosti a pravdivosti pro prvkovou analýzu léčivých bylin. Součástí experimentální práce je i výpočet rozšířené nejistoty měření. Pro účely analýzy byla vybrána kopřiva dvoudomá, jitrocel kopinatý a řebříček obecný, které byly sbírány, sušeny a skladovány. Byliny byly rozkládány v uzavřeném mikrovlnném systému směsí anorganických kyselin, zatímco půdy byly zpracovány extrakcí dle Mehlicha III. Obě validované ICP-MS metody byly použity pro analýzu 13 vzorků bylin a půd, které byly získány z 3 oblastí na Moravě. Provedená prvková analýza potvrdila bezpečnost samosběru, sušení a používání uvedených bylin z pohledu obsahu těžkých a esenciálních kovů.

Počet stran: 56

Jazyk: Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Tereza Polášková

Title: Elemental impurities screening in medicinal herbs

Type of thesis: Bachelor's

Department: Department of Analytical Chemistry

Supervisor: RNDr. Tomáš Pluháček, Ph.D.

The year of submission: 2024

Annotation:

This Bachelor thesis focuses on elemental analysis in selected medicinal herbs (*Urtica dioica*, *Plantago lanceolata* and *Achillea millefolium*) and their soils by inductively coupled plasma mass spectrometry. The theoretical part of the thesis provides an overview of basic information on herbs and their decompositions, ICP-MS instrumentation and interferences. It also deals with impurities in medicinal herbs, especially the presence of heavy metals in herbs caused by geological and anthropogenic influences. At the end of the theoretical part, there is a review referencing articles that deal with similar issues.

In the experimental part, a pair of ICP-MS methods were developed, optimized and validated in the range of linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), precision and trueness for elemental analysis of medicinal herbs, which are widely used in folk medicine for the treatment of various ailments. Collection, drying, storage as well as microwave digestion of acid mixtures in a closed system of selected medicinal plants were carried out for the analysis. Both validated ICP-MS methods were used for the analysis of 13 herb samples, which were collected from 3 regions in Moravia. Elemental analysis confirmed the safety of self-collection, drying and use of these herbs in terms of heavy and essential metal content.

Number of pages: 56

Language: Czech

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci.....

Podpis

Poděkování

Ráda bych touto cestou chtěla poděkovat všem, kteří mi jakýmkoliv způsobem pomohli s vypracováním bakalářské práce. Zejména vedoucímu mé bakalářské práce RNDr. Tomáši Pluháčkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a čas, který mi věnoval při přípravě mé bakalářské práce, Mgr. Filipu Gregarovi za odborné vedení v laboratoři a RNDr. Martinovi Kubovi za stanovení Hg v léčivých rostlinách.

Dále bych ráda poděkovala Katedře analytické chemie a Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého v Olomouci za poskytnutí přístrojů a chemikálií pro vypracování mé bakalářské práce. Předložená bakalářská práce vznikla za finanční podpory Interní grantové agentury Univerzity Palackého v Olomouci IGA_PrF_2024_026 „Moderní metody analýzy komplexních vzorků“.

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Teoretická část	2
2.1	Vybrané druhy rostlin	2
2.1.1	Kopřiva dvoudomá.....	2
2.1.2	Jitrocel kopinatý	3
2.1.3	Řebříček obecný.....	3
2.2	Rozpouštění a rozklady	4
2.2.1	Rozklady biologického materiálu	5
2.2.2	Mikrovlňný rozklad bylin.....	6
2.3	Těžké kovy	6
2.3.1	Toxicita těžkých kovů.....	6
2.3.2	Těžké kovy v půdě a vodě.....	7
2.3.3	Vliv vybraných kovů na životní prostředí	8
2.4	Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem	10
2.4.1	Princip	11
2.4.2	Zavádění vzorku	12
2.4.3	Zmlžovač.....	12
2.4.4	Mlžná komora	13
2.4.5	Plazmová hlavice	14
2.4.6	Vznik indukčně vázaného plazmatu	15
2.4.7	Ionizace prvků.....	16
2.4.8	Interface (rozhraní)	16
2.4.9	Iontová optika.....	17
2.4.10	Kolizní/reakční cela.....	17
2.4.11	Hmotnostní analyzátor	18
2.4.12	Detektor.....	19
2.5	Interference	20
2.5.1	Spektrální interference.....	20
2.5.2	Nespektrální interference.....	22
2.6	Prvková analýza bylin	23
2.6.1	Rešerše.....	24
3	Experimentální část.....	29
3.1	Chemikálie, pomůcky a přístroje	29

3.1.1	Chemikálie	29
3.1.2	Pomůcky	29
3.1.3	Přístroje	29
3.2	Analyzované vzorky bylin	30
3.3	Analyzované vzorky půd	32
3.4	Příprava kalibračních standardů, OQ vzorků a certifikovaných referenčních materiálů s přizpůsobenou maticí	34
3.5	Stanovení Hg pomocí jednoúčelového analyzátoru (AMA)	34
3.6	Validace ICP-MS metod	35
3.6.1	Linearita	35
3.6.2	Mez detekce a mez stanovitelnosti	35
3.6.3	Preciznost (opakovatelnost)	36
3.6.4	Pravdivost (výťažnost)	36
3.6.5	Výpočet nejistoty měření	36
4	Výsledky a diskuze	38
4.1	Výsledky validace metod	38
4.1.1	Linearita	38
4.1.2	Mez detekce a mez stanovitelnosti	40
4.1.3	Preciznost (opakovatelnost)	40
4.1.4	Pravdivost (výťažnost)	42
4.1.5	Rozšířená nejistota měření	43
4.2	Prvková analýza ve vzorcích léčivých bylin	44
4.3	Prvková analýza ve vzorcích půd	50
5	Závěr	52
6	Seznam použité literatury	54

Seznam použitých zkratk

AAS	Atomová absorpční spektrometrie (atomic absorption spectrometry)
CRM	Certifikovaný referenční materiál (certified reference material)
ICP	Indukčně vázané plazma (inductively coupled plasma)
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (inductively coupled plasma mass spectrometry)
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (inductively coupled plasma optical emission spectroscopy)
IS	Interní standard (internal standard)
KED	Eliminace interferencí na principu diskriminace kinetické energie (kinetic energy discrimination)
LTRL	Mez pro reportování kvantitativních výsledků (lower than reporting level)
LOD	Mez detekce (limit of detection)
LOQ	Mez stanovitelnosti (limit of quantification)
MS	Hmotností spektrometr (mass spectrometer)
PVC	Polyvinylchlorid (polyvinyl chloride)
QC	Kontrola kvality (quality control)
R	Pearsonův korelační koeficient
RF	Radiofrekvenční (radiofrequency)
RSD	Relativní směrodatná odchylka (relative standard deviation)
TMAH	Tetramethylamoniumhydroxid
TOF	Analyzátor doby letu (time of flight analyser)

1 Úvod

Analýza prvků je jednou z hlavních disciplín analytické chemie. Skládá se z části kvalitativní (identifikace jednotlivých kovů) a kvantitativní, kdy se stanovuje koncentrace nebo obsah prvků ve vzorku. Pro účely prvkové analýzy se využívá metod souhrnně nazvaných atomová spektrometrie. K jedné z předních technik patří ICP-MS neboli hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Mezi další lze zmínit atomovou absorpční spektrometrii (AAS) a optickou emisní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES). Technika ICP-MS byla poprvé představena před více než 40 lety a dnes patří k jedné z nejrychleji se rozvíjejících metod. Umožňuje analýzu velké části prvků z periodické tabulky, a to i ve stopových a ultrastopových množstvích. Vyznačuje se především velkou rychlostí a nízkými mezemi detekce a lze ji uplatnit v široké škále odvětví jako je geologie, biologie, analýza životního prostředí a mnohé další. [1; 2]

Léčivé byliny zažívají opětovný rozmach a těší se velké popularitě mezi širokou veřejností. Většina známých bylin je užívána pro svoje blahodárné účinky na zdraví lidí. Popularita bylinných doplňků roste také díky jejich menším vedlejším účinkům a často vysoké účinnosti, záleží však především na oblasti použití. Je nutné stanovit identitu, čistotu a kvalitu všech přípravků na rostlinné bázi, aby bylo bezpečné je plně využívat. Přítomnost těžkých kovů v půdě v důsledku geologických a antropogenních vlivů a jejich asimilace v rostlinách je zřejmá a nevyhnutelná. V domácím prostředí je však prakticky nemožné monitorovat přítomnost těžkých kovů a jejich hladiny, proto je potřeba dát zřetel na správném výběru lokalit pro sběr léčivých bylin. [3]

Experimentální část je zaměřena na vývoj a validaci metod atomové spektrometrie pro stanovení As, Cd, Co, Cr, Hg, Ni, Pb, V, Mo, B, Ba, Cu, Zn, Sr, Al, Ca, Fe, Mg, Mn v kopřivě dvoudomé, jitroceli kopinatém a řebříčku obecném. Vyvinuté ICP-MS metody umožnily stanovení As, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, V, Mo, B, Ba, Cu, Zn, Sr, Al, Ca, Fe, Mg, Mn po předchozím mikrovlánném rozkladu biologické matrice vzorků, zatímco rtuť byla stanovena přímo v pevném vzorku s využitím jednoúčelového analyzátoru rtuti. ICP-MS metoda byla validována v rozsahu linearit, meze detekce, meze stanovitelnosti, pravdivosti, preciznosti a z validačních dat byla dopočítána nejistota měření. Druhá část experimentální části byla zaměřena na korelaci výsledků extrahovatelných kovů z půdy (stanovení dle Mehlich III, JPP 30068.1, UKZUZ) s výsledky reflektujícími obsahy kovů v jednotlivých rostlinách s cílem určit schopnost asimilace kovů z okolní půdy.

2 Teoretická část

2.1 Vybrané druhy rostlin

Pro stanovení prvkových nečistot, zejména těžkých kovů, byli vybráni tři zástupci bylin, kteří se běžně vyskytují na řadě známých míst a jejich sběr je proto možný pro širokou veřejnost. Jedná se o kopřivu dvoudomou, jitrocel kopinatý a řebříček obecný. Všechny tři byliny jsou hojně využívány v rostlinných přípravcích pro svoje blahodárné účinky na lidské zdraví, ale také bývají nezbytnou pomocí v domácím léčení, ať už jde o jitrocel, který je často spojován s dýchací soustavou nebo řebříček ovlivňující kvalitu trávení. [4]

2.1.1 Kopřiva dvoudomá

Tato rostlina se vyskytuje ve velké míře po celém světě a v Česku je tento druh nejrozšířenějším zástupcem rodu kopřiva (Obr. 1). Typické jsou pro ni žahavé chlupy, které se vyskytují na listech i stoncích a obsahují látky jako histamin, acetylcholin a serotonin. Tyto sloučeniny vyvolávají známý pocit pálení kůže při případném kontaktu. [5] Rostlina je celá jedlá, proto lze sbírat jak nať, kořen i semena. Bylina má hned několik zdraví prospěšných účinků jako je léčba urogenitálních chorob, poruchy krvevotavy, revmatických a kožních obtíží. Využívá se nejčastěji jak čerstvých, tak i sušených listů pro přípravu nálevů, koupele, šťávy, tinktury a podobně. Hlavní klíčové prvky pro její rozpoznání jsou vejčitý tvar listů a jejich typické žahavé chlupy, dvoudomost a výskyt v hustých porostech. [4; 6]



Obr. 1 Kopřiva dvoudomá [7]

2.1.2 Jitrocel kopinatý

Jitrocel (Obr. 2) není náročný na klimatické ani půdní podmínky, a proto ho lze spatřit na většině luk, strání, hřištích, v příkopech, u krajnic cest a podobně. Obecně nevyhledává půdy těžké a přemokřené, naopak mu vyhovuje zemina lehká hlinitopísčitá. Při nedostatku závlahy/vody a na sušších místech jeho úroda výrazně klesá. Sklízí se především listy nejlépe ještě před nárůstem květního stvolu. Sběr je vhodný pouze za sucha, nasbíraná rostlina rychle vlhne a může se zapařit, proto je důležité bylinu co možná nejrychleji začít sušit v dobře odvětrávané místnosti. [8] Jitrocel lze doporučit pro podporu normální funkce dýchacího systému, střevního traktu, posilu imunitního systému a jako antioxidant. Použití je zejména pro výrobu sirupu proti kašli, případně příprava nálevů a čerstvých šťáv. Rozlišit ho lze podle úzkých kopinatých listů s podélnými žilkami a delšími stvoly zakončenými válcovitými klasy, které nesou drobné květy. [4; 9]



Obr. 2 Jitrocel kopinatý [10]

2.1.3 Řebříček obecný

Původní domovina řebříčku (Obr. 3) je v Evropě a Asii, nicméně byl postupně rozšířen do Severní Ameriky, Austrálie a Nového Zélandu. V naší oblasti ho lze nalézt v nížinách i horách. Bylina je velmi odolná, nevdí jí náhlé změny teploty ani výkyvy sucha, nevyhovuje jí přehnojená půda. Sklízí se květ a nať a při sběru je potřeba být opatrný, jelikož u jedinců s citlivou pokožkou může vyvolat podráždění. Řebříček má všestranné léčebné využití, a to snížení tlaku, horečky, mírnění kašle. Mimo to řebříček oplývá dezinfekčními, hojivými a protizánětlivými účinky. K léčbě zánětu dutiny ústní se často aplikuje kloktadlo, kdy v důsledku přítomnosti zklidňující látky azulenu se využívá také obkladů a koupelí. Květenství, které se i následně sbírá je chocholík tvořený drobnými úbory s nažloutlými květy. Rozeznat ho lze i podle charakteristického aroma, při promnutí mezi prsty. [4; 11]



Obr. 3 Řebříček obecný [12]

2.2 Rozpouštění a rozklady

Slovem rozpouštění se většinou rozumí rozpouštění pevných, kapalných nebo plyných látek ve vhodných kapalinách za nízkých teplot, a to buď s chemickou reakcí, nebo bez ní. Rozklad lze definovat jako rozložení látek při vyšších teplotách, případně za zvýšeného tlaku. Někdy není úplně možné rozlišovat mezi těmito dvěma termíny, protože pokud například použijeme horké kyseliny, jednalo by se i o rozpouštění, tak i o rozklad. [13]

Jednotný postup pro rozklad látek, který by šlo využít pro všechny typy vzorků neexistuje. Máme ovšem několik společných předpokladů, které je nutné splnit, tak abychom rozložili matrici vzorku pro účely prvkové analýzy. Mezi ně především patří: ultračistá činidla, úplné rozpuštění materiálu, minimalizace kontaminace prvky z rozpouštědel, prostředí nebo použitého zařízení, minimální ztráty analytu, rychlost a bezpečnost. [14]

Volba techniky pro rozložení vzorku je často velmi komplikovaná a závisí na kriteriích, jako je velikost vzorku, složitost (komplexnost) matrice, koncentrace stanovovaných prvků, přítomnosti prvků/iontů případně interferujících s analytem, typ zařízení, čas, a především odborné znalosti analytika. U metody ICP-MS dosahujících mezí detekce na úrovni ng/l vzniká největší obava z kontaminace, proto je vhodné volit co nejjednodušší způsob přípravy samotného kapalného nebo pevného vzorku či suspenze. Platí, že čím více kroků je do procesu zapojeno, tím větší je pravděpodobnost kontaminace analyzovaného vzorku. [14]

Jedno z možných rozdělení rozkladných metod je:

- rozpouštění bez chemické reakce
- rozklad na základě dodávání energie
- rozpouštění a rozklady chemickou reakcí ale bez změny oxidačního stavu
- rozklady využívající oxidaci analytu/matrice
- rozklady využívající redukci analytu/matrice

Mezi běžně používané techniky poté patří:

- otevřený rozklad na vařiči, v uzavřeném systému nebo mikrovlnném systému za použití koncentrovaných kyselin a oxidačních činidel jako je kyselina dusičná, chlorovodíková, fluorovodíková nebo jejich směsi.
- rozpouštění organické matrice silnými zásadami, např. trimethylamonium hydroxidem (TMAH)
- zahřívání s tavicími směsmi nebo tavidly, využívá se metaboritan lithný nebo peroxid sodíku a opětovné rozpuštění ve zředěné minerální kyselině (HNO₃ apod.)
- rozklad na suché cestě (zpopelnění/žihání pomocí plamene, tepelné lampy, nebo muflové pece)
- mokré zpopelňování využívající koncentrovaných kyselin (např. H₂SO₄ v muflové peci)
- rozpouštění pomocí organických rozpouštědel [14]

2.2.1 Rozklady biologického materiálu

Dříve byla biologická matrice pro prvkovou analýzu podrobena oxidačnímu mokrému rozkladu za využití kyseliny dusičné nebo směsi s peroxidem vodíku či kyselinou chloristou v otevřené nádobě např. kádince. Vzhledem k neúplnému rozložení organické matrice, potenciální ztrátě těkavých prvků (např. As, Hg, Sb, Se, apod.) a možné kontaminaci se dnes doporučuje využít rozklad na mokré cestě v uzavřených nádobkách. Také suché zpopelňování vzorků na vzduchu nebo v přítomnosti kyslíku při teplotách až 500 °C není vhodným způsobem, a to z důvodu ztráty již zmiňovaných těkavých prvků. Zdá se, že nejúspěšnějším dostupným postupem pro úplné rozložení materiálu eliminující rizika kontaminace a ztráty těkavých analytů je mikrovlnný rozklad směsí anorganických kyselin v uzavřeném systému za zvýšené teploty a tlaku. Běžně se používá množství až 500 mg homogenního biologického vzorku, který se vkládá do vysokotlakých rozkladných teflonových či křemenných nádob a rozklad probíhá za použití směsi HNO₃, H₂O₂ a HF v mikrovlnném rozkladném systému. [15]

2.2.2 Mikrovlnný rozklad bylin

Mikrovlnný rozklad je dobře zavedená technika, která má za úkol převést pevný biologický materiál na čirý roztok obsahující ionty prvků stabilizovaných kyselinou použitou pro rozklad. Prakticky se jedná o předúpravu vzorku, kdy se analyzovaná složka chemicky rozkládá pomocí minerálních kyselin, vysokého tlaku a teploty v uzavřené nádobě za použití speciálně navrženého výkonově či teplotně řízeného rozkladného programu. Při zahřívání se teplota rozkladné směsi pohybuje mezi 200 a 260 °C, což zdaleka přesahuje bod varu používaných kyselin, což umocňuje účinky kyseliny a zkracuje dobu mikrovlnného rozkladu. Časově se proces pohybuje kolem 20 až 40 minut. [13; 14; 16]

Vzhledem k tomu, že cílem mikrovlnného rozkladu je zajistit úplné rozpuštění/rozklad matrice beze ztrát analytů nebo kontaminace, používají se agresivní činidla jako je kyselina chlorovodíková, kyselina dusičná, kyselina fluorovodíková, kyselina sírová a peroxid vodíku. Rozkladná směs je vybrána na základě druhu matrice a analyzovaných prvků. Pro stanovení celkové koncentrace/obsahu vybraných analytů (Al, B, Mg atd) je potřeba dbát na správný výběr rozkladné směsi tak, aby byly rozloženy klastry, silikáty tvořené uvedenými prvky. Nádoby na rozklad vzorků musí být chemicky inertní a zároveň je potřeba, aby umožňovaly přenos samotného záření. Zvláště vhodným materiálem je modifikovaný teflon, který je hladký, má antiadhezivní povrch, je hydrofobní, snadno se čistí a minimalizuje tak možnost křížové kontaminace. [14; 16]

2.3 Těžké kovy

Tyto prvky lze definovat jako přirozeně se vyskytující s vysokou atomovou hmotností a hustotou nejméně pětkrát větší než voda. Ve většině případů jsou tyto kovy jedovaté již při nízkých koncentracích. Řadíme zde hlavně rtuť, olovo, kadmium, arsen, chrom, kobalt a thallium. Vyskytují se přirozeně v zemské kůře a nelze je nijak odbourat ani přeměnit. V menší míře se dostávají do našeho těla prostřednictvím potravin, pitné vody, vzduchu, pracovního prostředí, kosmetiky, léčiv a doplňků stravy. Naopak stopové prvky jako je měď, selen a zinek jsou pro náš organismus nezbytné a jejich příjem by měl být zajištěn ze stravy. [17; 18]

2.3.1 Toxicita těžkých kovů

Jejich časté využití v průmyslové, domácí, zemědělské, lékařské a technologické oblasti vedlo k širokému rozšíření po celém světě a vznikly obavy z možných nepříznivých účinků na lidské zdraví a prostředí, ve kterém žijeme. Toxicita těchto prvků především závisí na dávce, způsobu expozice, chemické formě (specii) a zároveň také na věku, pohlaví, genetice a výživovém stavu samotného jedince. [19]

Vzhledem k vysoké míře toxicity arsenu, kadmia, chromu, olova a rtuti, lze říct, že tyto prioritní kovy mají velký vliv na lidské zdraví. Celkově jsou zmíněné prvky považovány za jedovaté látky, o nichž je známo, že vyvolávají poškození mnoha orgánů, a to i při nižších úrovních expozice. [17; 18]

Těžké kovy jsou nebezpečné, protože mají tendenci se bioakumulovat, čímž zvyšují svou koncentraci v biologickém organismu. O bioakumulaci hovoříme v případech, kdy příjem a ukládání prvků probíhá rychleji, než jeho odbourávání nebo vylučování z organismu. Jednoduše můžeme říct, že prvky toxických kovů se v těle po celou dobu života jedince zadržují a je prakticky nemožné se jich systematicky zbavit nebo je zcela metabolizovat. Prvky kovů se mohou do vody a půdních roztoků dostat z průmyslových a spotřebitelských odpadů nebo dokonce z kyselých dešťů, které rozkládají půdu a uvolňují těžké kovy do potoků, jezer, řek a podzemních vod. Odtud se však většinou bere zdroj vody pro lidskou potřebu, a tak je zanesení těmito prvky více než pravděpodobné. [18]

2.3.2 Těžké kovy v půdě a vodě

Kovy a polokovy jsou prvky, které se vyskytují ve všech ekosystémech, ačkoli jejich přirozené koncentrace se liší v závislosti na místním geologickém podloží. Narušení půdy v oblastech obohacených o tyto prvky může zvýšit erozi a mobilizovat jejich toky do spádových oblastí. Lidská činnost redistribuuje a koncentruje prvky v oblastech, které jimi nejsou přirozeně obohaceny. [18; 19]

Kontaminace těmito prvky nelze často na první pohled poznat. Ke zhoršení stavu dochází, pokud jsou kovové prvky biologicky dostupné ve vysokých koncentracích a ty ovlivňují přežití, reprodukci a chování především vodních živočichů. Zatímco některé prvky jako je železo, měď, zinek, chrom a další jsou pro organismus nezbytné, všechny kovy včetně vyjmenovaných mohou být v určité míře toxické a vždy záleží na jejich koncentraci. Stopové prvky jako je mangan, kobalt, molybden, vanad a bor jsou nebezpečné, až při velmi vysokých koncentracích, a naopak jejich dlouhodobý nedostatek může vést k vážnějším zdravotním obtížím. Nepostradatelným prvkem pro lidské tělo je typicky vápník. Na druhé straně jsou zde těžké toxické kovy, kterým je nejlepší se vyvarovat, protože už při velmi nízké koncentraci dochází k nepříznivému vlivu na organismus. Mezi tyto prvky lze zařadit olovo, rtuť, kadmium, arsen a nikl. Stroncium, baryum a hliník lze považovat za méně toxické než výše zmíněné, nicméně některé jejich sloučeniny a izotopy mohou mít na lidské zdraví negativní vliv. [17; 19]

2.3.3 Vliv vybraných kovů na životní prostředí

Těžké kovy samy o sobě nebo smícháním s různými složkami životního prostředí, jako je voda, půda a vzduch se mohou stát silně jedovatými pro lidi a další živé organismy. Často jsme jim vystaveni už jen prostřednictvím potravního řetězce. Tři největší znečišťovatelé jsou olovo, kadmium a rtuť. [20]

Olovo je biologicky nerozložitelný kov, který se přirozeně vyskytuje v přírodě v relativně malých množstvích. Jeho hladina se v atmosféře neustále zvyšuje v důsledku lidské činnosti, včetně výroby, těžby a spalování fosilních paliv. Obecně je tento prvek toxický pro lidské tělo při působení většího množství. Vysoké úrovně expozice mohou u lidí vyvolat neobvyklé biochemické účinky, které následně negativně ovlivňují syntézu hemoglobinu, správnou funkci ledvin, gastrointestinálního traktu, kloubů a reprodukčních orgánů. Dlouhodobá expozice vede až k akutnímu nebo chronickému poškození nervového systému. Ačkoli většina lidí přijímá většinu olova z potravy, u určitých skupin obyvatelstva mohou být důležitější jiné zdroje. Například voda v oblastech s olověným potrubím, ovzduší v blízkosti místa zdroje emisí, prach a vločky barvy ze starých domů nebo zamořená půda. Do rostlin se kontaminant dostává skrze půdu, prach (ovzduší) a kyselá deště obsahující tento kov. Olovo patří mezi nejvíce recyklované neželezné kovy, a proto jeho sekundární výroba neustále roste. Jeho fyzikální a chemické vlastnosti se uplatňují v široké škále použití, jako jsou baterie, válcované a lisované výrobky, slitiny, pigmenty, pláště kabelů, broky a střelivo. [18]

Kadmium se uvolňuje do atmosféry v důsledku přírodních nebo antropogenních procesů. Jeho toxikologické vlastnosti vyplývají z chemické podobnosti se zinkem, který je pro rostliny, zvířata a člověka esenciálním prvkem. Kadmium je biopersistentní a po vstřebání do organismu v něm zůstává po mnoho let (u člověka po desetiletí), i když se nakonec vyloučí. U lidí je dlouhodobá expozice spojena s poruchou funkce ledvin a může také způsobit řídnutí kostí jako je osteomalacie nebo osteoporóza. Kadmium vzniká jako nevyhnutelný vedlejší produkt při rafinaci zinku (nebo příležitostně i olova), jelikož se přirozeně vyskytuje v surové rudě. Ke znečištění povrchových vod dochází absorpcí průmyslovým odpadem a povrchovým odtokem do sedimentů půdy a usazenin. U běžné nekuřácké populace je hlavní cestou expozice potrava, a to prostřednictvím přísad tohoto prvku do zemědělské půdy z různých zdrojů (atmosférická depozice a aplikace hnojiv) a příjmu potravinářskými a krmnými plodinami. Další expozice lidí je způsobena kadmiiem v ovzduší a pitné vodě. [18]

Jeho nejvýznamnější využití je v bateriích, povlacích poskytujících dobrou odolnost proti korozi, zejména v prostředí s vysokým namáháním, jako jsou námořní a letecké aplikace. Další použití je pak v pigmentech, stabilizátorech PVC a ve slitinách. Nachází se také jako nečistota v několika výrobcích, včetně fosfátových hnojiv, detergentů a rafinovaných ropných produktů. [18]

Rtuť je extrémně nebezpečný těžký kov, který se může nacházet v biosféře. V důsledku lidské činnosti se stala také rozšířeným kontaminantem a její obsah v atmosféře se zvyšuje. Rtuť je toxický prvek, který nemá žádnou známou funkci v lidské biochemii nebo fyziologii a v živých organismech se přirozeně nevyskytuje. Otrava anorganickou rtuť je spojena s třesem, zánětem dásní nebo drobnými psychickými změnami, spolu se samovolnými potraty a vrozenými vývojovými vadami. [18]

Hlavním přírodním zdrojem rtuti je odplyňování zemské kůry, emise ze sopek a vypařování z přírodních vodních ploch. Celosvětová těžba tohoto kovu vede k nepřímým únikům do atmosféry. Rtuť se široce používá v průmyslových procesech a v různých výrobcích (např. v bateriích, lampách a teploměrech). Je také doposud často využívána v zubním lékařství jako amalgám pro výplně a ve farmaceutickém průmyslu. Obavy ze rtuti v životním prostředí vyplývají z extrémně toxických forem, v nichž se může vyskytovat. V atmosféře se vyskytuje převážně v nereaktivní formě jako plynný prvek. Dlouhá životnost její plynné formy (řádově 1 rok) znamená, že emise, přenos a ukládání rtuti jsou globálním problémem. Přirozené biologické procesy mohou způsobit vznik methylovaných forem rtuti, které se bioakumulují více než milionkrát a koncentrují se v živých organismech, zejména pak v rybách. Monomethylrtuť způsobuje poškození mozku a centrálního nervového systému, zatímco fetální a postnatální expozice vedla k potratům, vrozeným malformacím a vývojovým změnám u malých dětí. Tyto formy jsou: monomethylrtuť a dimethylrtuť, které jsou vysoce toxické a způsobují neurotoxikologické poruchy. Hlavní cesta k člověku vede tedy přes potravní řetězec. [18]

2.4 Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem

ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) představuje moderní analytickou techniku, která umožňuje provádět přesnou kvantifikaci rozmanitých prvků v různorodých vzorcích s velmi nízkými mezemi detekce. Využívá spojení indukčně vázaného plazmatu (ICP) a hmotnostního spektrometru (MS) pro atomizaci, ionizaci prvků/izotopů za vzniku kladně nabitých iontů, které jsou následně separovány a detekovány pomocí hmotnostního spektrometru. Výsledkem ICP-MS analýzy je hmotnostní spektrum obsahující unikátní informace o kvalitativním (m/z) a kvantitativním složení (intenzita) analyzovaného vzorku. [14]

Přestože ICP-MS byla poprvé představena před více než 40 lety, některé laboratoře stále používají starší techniky atomové spektrometrie, jako je atomová absorpční spektrometrie (AAS) a optická emisní spektrometrie, ovšem v posledním desetiletí dochází k pomalému přechodu na ICP-MS. Z laboratorního hlediska je pravděpodobně nejvýznamnější výhodou její současné detekce více prvků naráz v rámci jedné analýzy. To je velký rozdíl například od AAS, kde je zdroj záření specifický pro jeden (výbojka s dutou katodou, bezelektrodová výbojka) či omezený počet prvků (kontinuální zdroj), a proto lze měřit pouze jeden nebo několik málo prvků najednou. Ve spojení s krátkou dobou analýzy a relativně jednoduchou přípravou vzorku nabízí ICP-MS možnost velmi vysoké prostupnosti (kapacity) analyzovaných vzorků. Nicméně pro laboratoře s malým objemem vzorků může být stále ekonomicky výhodnější provádět prvkovou analýzu s využitím jiných technik atomové spektrometrie než právě ICP-MS. [1]

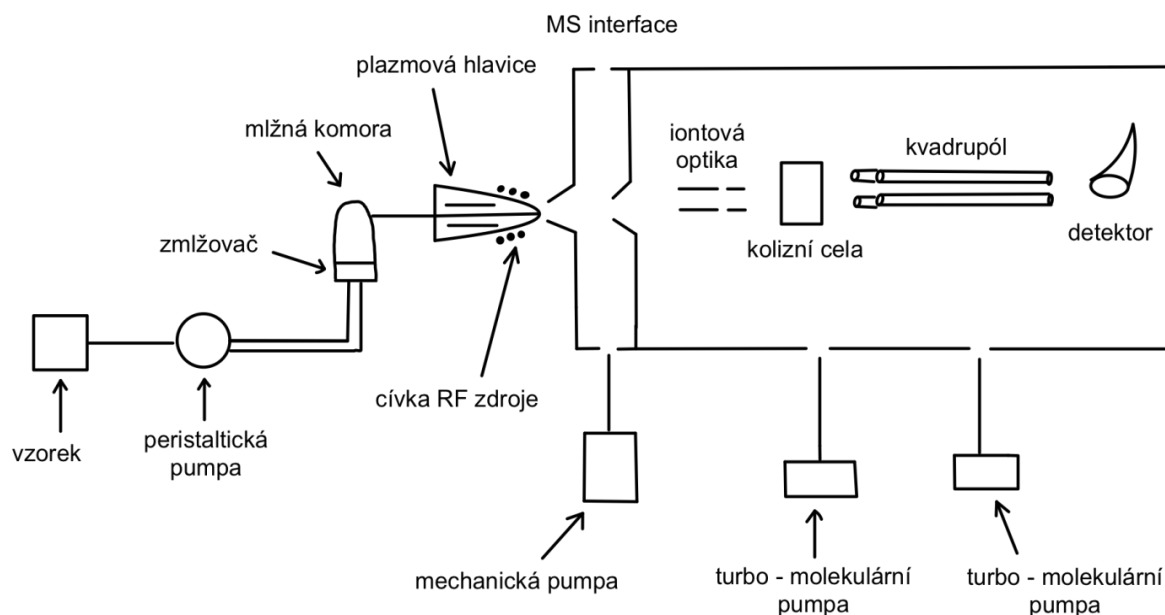
Technika ICP-MS se prosadila díky schopnosti současně detekovat a kvantifikovat prvky ve stopových až ultrastopových koncentracích, širokému lineárnímu dynamickému rozsahu, možnosti provádět speciální analýzu, jednoduchému spojení s laserovou ablací pro zobrazování, sledováním izotopových poměrů a podobně. Tato technika má široké spektrum aplikací, a to v oblasti analýzy složek životního prostředí pro analýzu stopových prvků a těžkých kovů v půdě, vodě a vzduchu, geologii, geochronologii a minerálech při studiu složení hornin, rud a minerálů, farmakologii a biologii pro sledování prvků ve vzorcích tkání, krve a moči, potravinářském průmyslu, archeologii, umění a mnohé další. Možnost současné analýzy více prvků poskytuje komplexní a efektivní řešení pro kvalitativní, kvantitativní, prostorovou a strukturní chemickou analýzu. [1; 14; 15]

2.4.1 Princip

Komerčně dostupné ICP-MS mají sedm základních částí: systém pro zavádění vzorku (autosampler, peristaltická pumpa, zmlžovač a mlžná komora), iontový zdroj (indukčně vázané plazma), interface (rozhraní), iontová optika, kolizní/reakční cela, hmotnostní analyzátor, detektor. [14]

Kapalné vzorky jsou systémem pro zavádění vzorků převáděny postupně až na jemný aerosol vhodný pro vnášení do indukčně vázaného plazmatu (ICP). ICP, vytvořené z plazmového plynu, argonu, dosahuje extrémně vysokých teplot (až 10 000 K), což umožňuje atomizaci a ionizaci vzorku s následným vytvořením kladně nabitých iontů izotopů analytů a matrice. Kladně nabité ionty jsou následně extrahovány přes rozhraní sadou elektrostatických čoček nazývaných iontová optika. Ta má za úkol mimo jiné zaostřit a vést svazek iontů do hmotnostního analyzátoru, kde jsou ionty separovány podle poměru jejich hmotnosti a náboje (m/z). [1; 14; 15]

Detektor pak zaznamená intenzitu dopadajících iontů pro každou hodnotu m/z , což vede k vytvoření hmotnostního spektra, jež slouží k následné kvalitativní a kvantitativní prvkové analýze zkoumaného vzorku. Na obrázku 4 je znázorněno jednoduché schéma přístroje ICP-MS vybaveného kolizní celou a kvadrupólovým analyzátelem. [14]



Obr. 4 Blokové schéma ICP-MS (ilustrace autorky)

2.4.2 Zavádění vzorku

Komerčně dostupné ICP-MS přístroje využívají autosampler a peristaltické čerpadlo, které přivádí analyzovaný vzorek do zmlžovače, vytvářejícího z kapalného vzorku polydisperzní aerosol. Jemný aerosol vhodný pro zavádění do ICP je z polydisperzního aerosolu oddělen v mlžné komoře. [15]

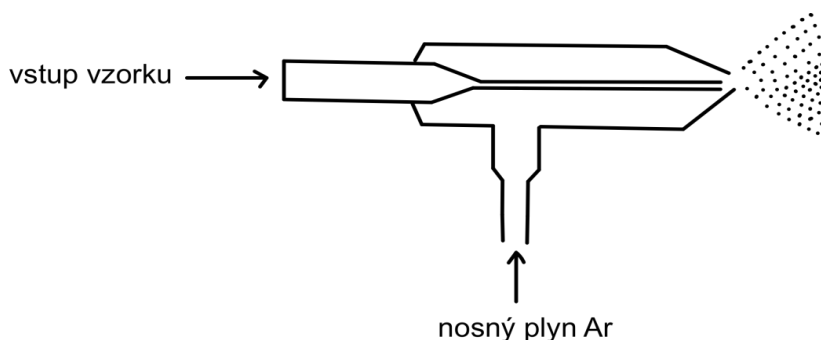
Autosampler je zařízení, které je standardně připojené k analytickému přístroji a slouží k automatickému vkládání/nasávání vzorku do ICP-MS pro účely kvalitativní a kvantitativní analýzy. Obvykle se skládá ze vzorkovacího místa pro zkumavky a nádoby pro promývací roztoky, vzorkovací hlavy, kterou může být sonda, jehla, pipeta a podobně a také kontrolního softwaru, který umožňuje programování/řízení celého procesu vzorkování dle předem zvolené sekvence vzorků (např. kalibrační standardy, slepé pokusy, reálné vzorky, obohacené vzorky apod.). Peristaltická pumpa se skládá ze soustavy miniválečků, které všechny rotují stejnou rychlostí. Stálým pohybem a tlakem válečků na hadičky se vzorek dále dostává do zmlžovače. Výhodou tohoto čerpadla je, že zajišťuje konstantní průtok kapaliny bez ohledu na rozdíly ve viskozitě, dále lze zároveň dalšími pozicemi přivádět interní standard a také odvádí nezmlženou část vzorku do odpadu. [1]

Jak již bylo uvedeno, tak tradiční způsob zavádění kapalného vzorku do ICP se skládá z dvojice oddělených procesů, a to generování aerosolu pomocí zmlžovače a separaci jemného aerosolu v mlžné komoře.

2.4.3 Zmlžovač

Úkolem zmlžovače je převod kapalného vzorku na polydisperzní aerosol ($<10 \mu\text{m}$) pomocí plynu proudícího rychlostí zhruba 1 l/min . Existuje celá řada zmlžovačů, od pneumatických (koncentrické, úhlové apod.), ultrazvukových až po desolvatační (termosprej) s účinnostmi 50 % a výše. Pneumatické zmlžovače k vytvoření aerosolu využívají průtok plynu a jsou zároveň nejběžnějším typem pro celou škálu aplikací od čistých až po zasolené vzorky. Řadíme zde i nejběžněji používaný koncentrický zamlžovač (Obr. 5), u kterého se plyn přivádí paralelně k proudu vzorku a je nejčastěji vyroben z borosilikátového skla, křemene nebo polymerů, což umožňuje i analýzu vzorků s korozivními maticemi. V případě koncentrických zamlžovačů dosahujeme velmi nízkých mezí detekce, avšak jsou vhodné pouze pro čisté vzorky. Tato nevýhoda je potlačena v případě úhlových zamlžovačů ortogonálně přivádějících proud vzorku. Ultrazvukový zmlžovač poté využívá ke generování aerosolu vibrace piezoelektrického převodníku prvku. Tato konstrukce zlepšuje meze detekce přibližně o jeden koncentrační řád, ve srovnání s předchozím zmíněným jsou však podstatně dražší. U desolvatačního systému aerosol ze zmlžovače prochází membránovou desolvatační jednotkou, kde jsou odstraněny páry

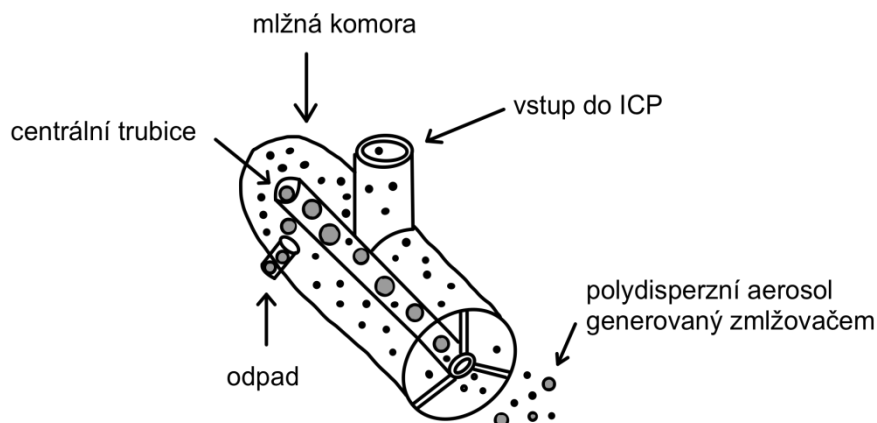
rozpouštědla pomocí protiproudu argonu. Přes membránu neprocházejí netěkavé složky vzorku, které pokračují dál do ICP. Kromě snížení meze detekce dochází také ke snížení tvorbě oxidických interferencí v plazmovém výboji, které mohou negativně ovlivnit kvantitativní stanovení vybraných prvků. [1; 14; 21]



Obr. 5 Koncentrický zamlžovač (ilustrace autorky)

2.4.4 Mlžná komora

Polydisperzní aerosol generovaný v zamlžovači vstupuje do mlžné komory, která slouží k několika důležitým účelům. Prvně selektivně separuje jemný aerosol vhodný pro vnášení do ICP a dále napomáhá k vyhlazení "zamlžovacích pulzů". Do mlžné komory dle Scotta vstupuje aerosol vzorku centrální trubicí a na jejím konci je aerosol nucen změnit směr toku o 180°. Tato změna směru toku aerosolu způsobí, že větší kapičky aerosolu opouštějí hlavní trubici (proud argonu) pod vlivem gravitace či nárazu do stěny mlžné komory a jsou odváděny do odpadu. Zatímco jemné kapičky aerosolu o průměru zhruba do 10 μm jsou vedeny mezi vnější stěnou a centrální trubicí. Cyklonové mlžné komory mají odlišnou konstrukci (zavádění polydisperzního aerosolu tangenciálně pod definovaným úhlem), ale separace větších kapiček funguje podobným způsobem. Proces zavádění vzorku v ICP-MS je poměrně neefektivní a obvykle se do plazmového výboje dostane pouze 1 až 2 % vzorku, zbytek je poté odveden z mlžné komory peristaltickým čerpadlem do odpadu. Proto faktory, které i jen nepatrně ovlivňují účinnost zavádění vzorku, mohou mít výrazný vliv na odezvu (citlivost) přístroje. Jedním z takových faktorů je teplota mlžné komory, která se obvykle udržuje kolem 2 °C a minimalizuje se tak vnášení rozpouštědla do ICP, vznik oxidických iontů a drift signálu. [1; 14] Na Obrázku 6 se nachází znázornění mlžné komory dle Scotta.

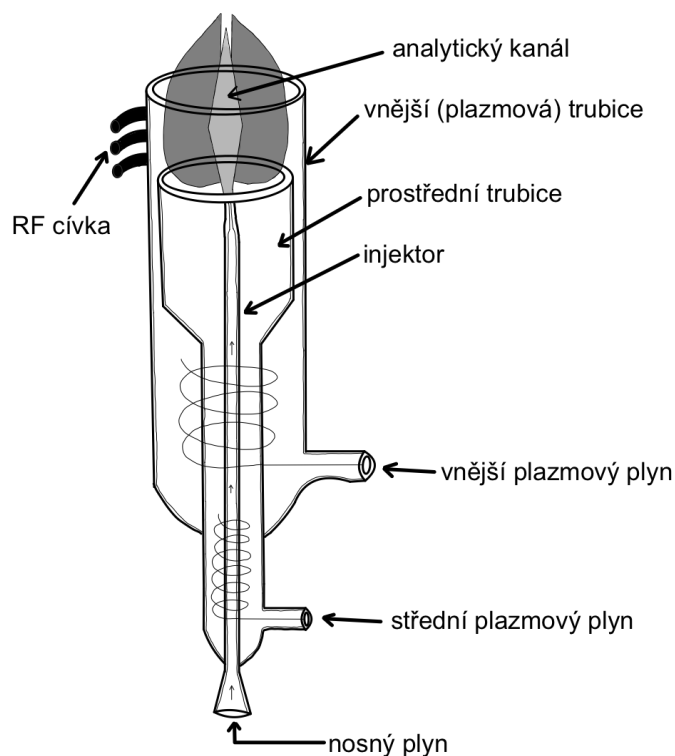


Obr. 6 Zobrazení mlžné komory dle Scotta (ilustrace autorky)

2.4.5 Plazmová hlavice

Plazmová hlavice (Obr. 7) se skládá ze tří soustředných trubic, které jsou obvykle vyrobeny z křemene. Všemi třemi trubicemi prochází argon s definovaným průtokem. Celkově je zde tedy vnější trubice, střední trubice a injektor. Plazmová hlavice může být buď jednodílná, nebo může mít rozebíratelnou konstrukci s možností výměny injektoru (volba materiálu pro korozivní matrice). Plyn nejčastěji argonu, který se používá k vytvoření plazmového výboje se nazývá plazmový plyn a prochází mezi vnější a střední trubicí rychlostí průtoku zhruba 12-17 l/min. Druhý střední (pomocný) plazmový plyn prostupuje mezi prostřední trubicí a injektorem rychlostí asi 1 l/min a jeho funkce je udržení stability a samotné oddělení výboje od plazmové hlavice. Vnitřní trubice se nazývá injektor a proudí jí aerosol vzorku unášený argonem, který vnáší vzorek do plazmatu. Jeho rychlost je zhruba 1 l/min a přivádí vzorek z mlžné komory. Pro účely analýzy korozivních vzorků může být injektor vyroben z odlišného materiálu, jako je hliník, platina nebo safír. [14; 22]

Ačkoli se nejčastěji používá argon jako nosný plyn, existují různé aplikace, které využívají i jiné směsi plynů. Příkladem může být hélium nebo směs argonu a kyslíku v poměru 8:2 pro přímé vnášení organických matric do ICP. [1]



Obr. 7 Plazmová hlavice (ilustrace autorky)

2.4.6 Vznik indukčně vázaného plazmatu

Plazma se tvoří na konci sady tří soustředných křemenných trubic, souhrnně označovaných jako plazmová hlavice. Vzdálený konec hlavice je obklopen měděnou indukční cívkou, která je připojena k radiofrekvenčnímu (RF) generátoru. RF generátor napájí cívku a vytváří vysokofrekvenční střídavý proud, který v hlavici indukuje časově proměnné elektromagnetické pole. [14; 22; 23]

Jakmile plazmovou hlavici konstantně proudí plynný argon je aplikován příkon přibližně 200 W z RF generátoru, který vyvolá silné elektromagnetické pole. Samotný výboj je iniciován vysokonapěťovým pulzem z Teslova generátoru. Tento pulz vyrazí z atomů argonu elektron za vzniku iontů argonu a volného elektronu. Ionty a elektrony jsou v hlavici ovlivňovány elektromagnetickým polem, jsou urychlovány a srážejí se s jinými atomy argonu za vzniku stabilního plazmového výboje. Pokud tyto srážky dodají dostatečnou energii, dochází k ionizaci dalších atomů za vzniku elektronů a iontů, které šíří kaskádu. Pohyb elektronů a iontů vytváří obrovské množství tepla. Výsledek se nazývá ICP, které může dosáhnout teploty až 10 000 Kelvinů. Takto vytvořené prstencové plazma se skládá z neutrálních atomů, iontů a elektronů argonu. Pro chod a udržení ICP je důležité dodávat potřebnou RF energii na cívku v plazmové hlavici. ICP lze charakterizovat jako kvazineutrální plyn nabitých a neutrálních částic vykazující kolektivní chování, kdy v indukční zóně je nejvyšší teplota a středem prochází chladnější analytický kanál, kterým prochází vzorek. [14; 23; 24]

2.4.7 Ionizace prvků

V rámci samotného plazmového výboje vznikají oblasti o různých teplotách, kterými vzorek prochází. Odlišné teplotní části hrají klíčovou roli v ionizaci analytu. Jakmile vzorek vystupuje z injektoru, pohybuje se rychlostí, která je schopná fyzicky vytvořit otvor ve středu plazmového výboje. Poté následuje několik fyzikálních změn při průchodu zónou předehřívací, zářivou (počáteční radiační zóna) a nakonec analytickou zónou, kde už vznikají kladně nabitě ionty. Těsně za injektorem se teplota pohybuje kolem 8000 K, postupně teplota klesá a na konci plazmatu je zhruba 6000 K. [1; 14]

Představa tvorby iontů je taková, že prvek se nachází v roztoku ve formě rozpuštěné soli. Nejprve dochází k desolvataci kapky a po oddělení molekul vody vzniká velmi malá pevná částice. Vzorek postupuje plazmovým výbojem a dochází k převodu na plynnou formu a poté na atom v základním stavu (volný atom v plynném stavu). Finální proces převodu atomu na iont spočívá hlavně ve srážkách s vysokoenergetickými elektrony argonu, méně poté s ionty argonu. Kladně nabitý iont poté vychází z plazmatu a směřuje dál do spojení. [14]

Většina prvků tvoří jednu nabitě kladné ionty (ionizace do prvního stupně), některé však mohou tvořit i malou část dvojitě nabitých iontů (ionizace do druhého stupně). Stupeň ionizace závisí na teplotě plazmatu a ionizačním potenciálu daného prvku. Většina prvků (69 prvků) má první ionizační potenciál mnohem nižší než argon (15,76 eV), a proto jsou v plazmatu účinně ionizovány v rozsahu 90 až 95 %. [1]

2.4.8 Interface (rozhraní)

Jednou z nejproblematictějších a nejvíce namáhaných částí v systému je rozhraní, a to nejen kvůli přechodu iontů z atmosférického tlaku do hlubokého vakua. Spojení se skládá ze dvou kónusů s kónickými kužely (sampler a skimmer), které jsou zakončené drobnými kruhovými otvory řádově v jednotkách mm. První v pořadí je sampler, který má otvor velký přibližně 0,8 – 1,2 mm a je asi o polovinu větší než u skimmeru. Z ICP jsou ionty vedeny skrze první kužel do expanzní komory, ze které jsou extrahovány skimmerem, který je obvykle v průměru menší a špičatější. Jako konstrukční materiál se používá nikl, ale i platina, která je více odolná vůči analýze korozivních vzorků. [14]

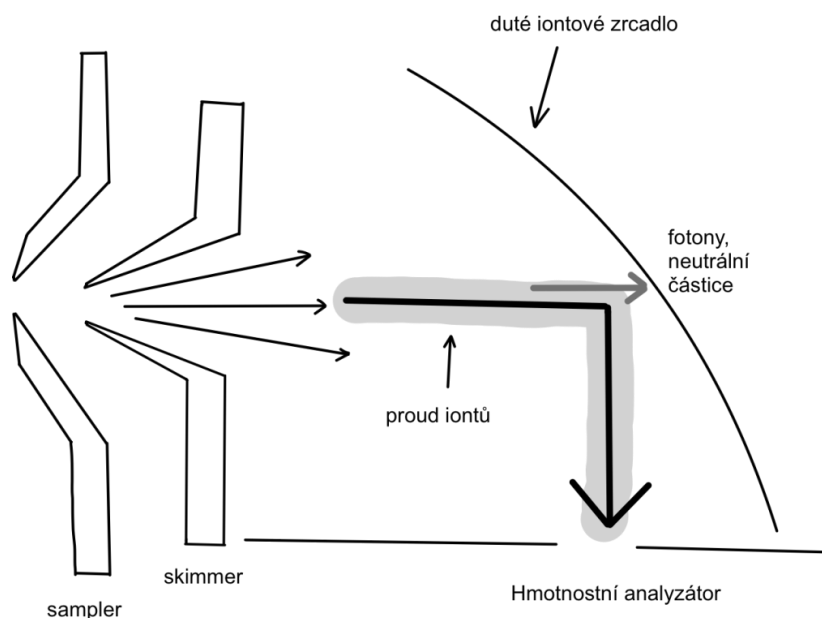
Jelikož je potřeba kompenzovat vysokou teplotu plazmatu, tak jsou kónusy namontovány do bloku (konstrukčním materiálem je hliník či měď), který je intenzivně chlazen vodou tak, aby se zabránilo jejich roztavení. [14]

2.4.9 Iontová optika

Iontová optika je sada kovových čoček, které fokusují svazek iontů předtím, než vstoupí do kolizní/reakční cely, respektive do hmotnostního analyzátoru. Lze si představit řadu kovových plíšků a válečků, které jsou naskládány těsně za sebou, a je na ně vkládáno napětí. [1]

Funkcí celého systému je jednak vést svazek iontů směrem k hmotnostnímu analyzátoru, ale i zabránit fotonům a jiným neutrálním částicím (např. neionizovaným složkám matrice), aby dopadaly na detektor. Zatímco detekce fotonů je základním principem v optické emisní spektrometrii, tak v ICP-MS jsou po dopadu na detektor zdrojem šumu a nestability signálu. [14]

Existují tři různé možnosti, jak zabránit průchodu nežádoucím složkám a to: „In line“, využívající uzemněné zarážky (bariéry) vložené do osy proudu iontů, do které poté neutrální částice a fotony narážejí, přičemž svazek iontů je veden mimo osu pomocí elektrického pole. Přístupem „Off axis“ se vychyluje proud iontů do hmotnostního analyzátoru umístěného mimo osu proti spojení. Třetí způsob spočívá ve změně směru průchodu iontového svazku o 90° pomocí dutého iontového zrcadla. [14; 23] Poslední typ iontové optiky je zobrazen na Obr. 8



Obr. 8 Iontová optika s využitím dutého iontového zrcadla (ilustrace autorky)

2.4.10 Kolizní/reakční cela

Pokud se jako analyzátor použije analyzátor s nízkou rozlišovací schopností (např. kvadrupól), je pravděpodobné, že bude ICP-MS vybaven i kolizní/reakční celou. Kolizní/reakční cela se používá k odstranění/minimalizaci interferencí, které vznikají

interakcí plazmového plynu se složkami vzorku. V případě měření bez vnášení kolizního plynu, představuje samotná kolizní cela iontovou čočku umístěnou mezi interface přístroje a kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem. [14]

Reakční cela používá reakční plyny (kyslík, čpavek) k odstranění známých reaktivních interferencí z každého izotopu analyty. V DRC (dynamic reaction cell) se využívá kvadrupól. [22; 25]

Kolizní cela používá nereaktivní plyn (helium, vodík) a proces nazývaný KED (kinetic energy discrimination) eliminující polyatomické interference na základě jejich vyššího počtu srážek s kolizním plynem. Kolizní cela se skládá z hexapólu nebo oktapólu. [14; 25]

KED využívá skutečnosti, že všechny polyatomické interference mají větší srážkový průřez než samotný analyt o stejné hmotnosti, takže dochází k častějším srážkám s atomy kolizního plynu a buď dochází k úplnému rozpadu anebo částečně ztratí svou kinetickou energii. Nastavením vhodného potenciálu na konci kolizní cely lze od sebe odseparovat polyatomické interference a ionty analytu s dostatečnou kinetickou energií. [14; 22; 25]

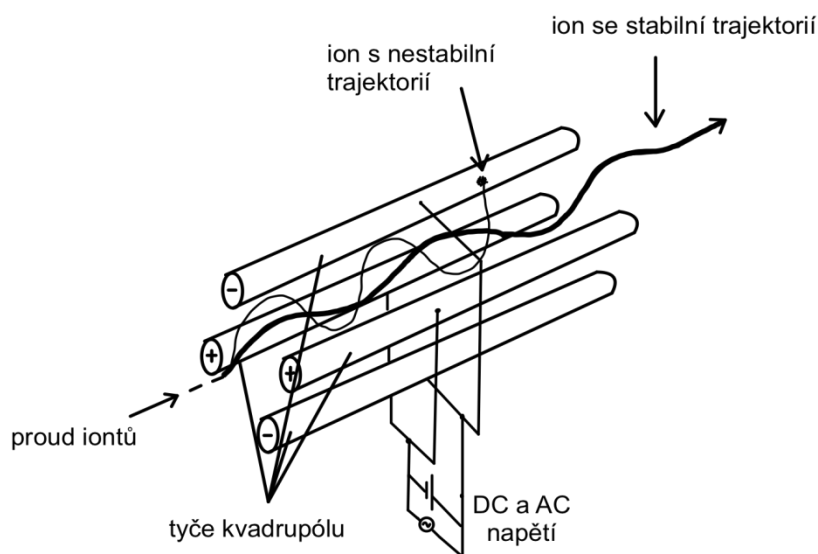
2.4.11 Hmotnostní analyzátoz

Analyzátozů existuje celá řada, ale všechny mají za cíl separovat ionty na základě jejich poměru m/z (hmotnosti iontu ku jeho náboji). Mezi klasické a starší technologie patří magnetický sektorový a kvadrupólový analyzátoz a za novější lze považovat analyzátoz doby letu, zkráceně TOF, iontovou past nebo iontovou cyklotronovou rezonanci. Všechny mají své silné i slabé stránky, ale nejpoužívanějším typem u ICP-MS je kvadrupólový hmotnostní analyzátoz. [15]

Kvadrupól se skládá ze čtyř rovnoběžných kruhových či hyperbolických kovových tyčí, které jsou umístěné ve čtvercovém uspořádání a jsou dlouhé 15 až 20 cm. Na protilehlé dvojice tyčí se přivádí radiofrekvenční střídavý (AC) a stejnosměrný (DC) potenciál, který vytváří ve středu časově proměnné elektrické pole, jímž ionty procházejí. Pro určitý poměr m/z existuje stabilní trajektorie letu iontů kvadrupólem pouze pro určité kombinace potenciálů střídavého a stejnosměrného proudu.

Ionty s nestabilní trajektorií narážejí do tyčí a po vybití jsou odstraněny vakuovým systémem. Napětí lze velmi rychle měnit, což umožňuje skenovat celý rozsah hmotností během několika milisekund. [14; 15]

Máme několik faktorů, které hrají důležitou roli při separaci různých hmot kvadrupólem. Především je to tvar, průměr a délka tyčí, frekvence, kvalita vakua, použité AC/DC napětí a kinetická energie iontů. Všechny tyto parametry mají přímý vliv na stabilitu iontů při jejich pohybu směrem k detektoru. [15]



Obr. 9 Kvadrupólový hmotnostní analyzátor (ilustrace autorky)

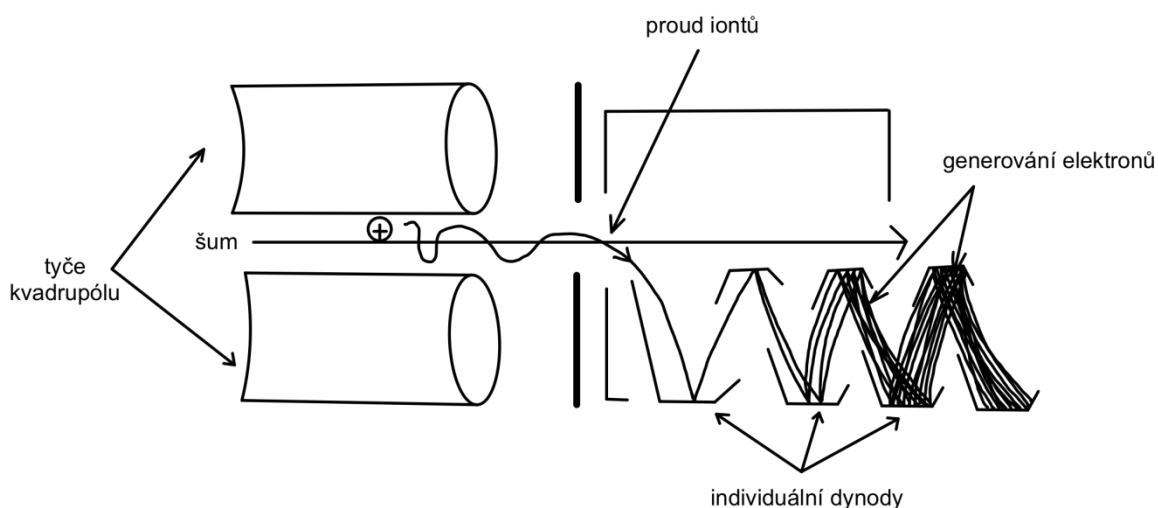
2.4.12 Detektor

Na konci celé analýzy je potřeba detekovat přichozí ionty o definované hodnotě m/z a změřit intenzitu signálu k čemuž slouží detektor. Po separaci iontů v hmotnostním analyzátoru se postupně zaznamenává vybraným iontům (m/z) jejich intenzita a zaznamená se tak hmotnostní spektrum. Hmotnostní spektrum představuje tedy závislost intenzity signálu na hodnotě poměru m/z . Každý ion (izotop prvku) má svůj identický poměr m/z a tím lze určit kvalitativní složení, zatímco výška píku pak určuje množství neboli kvantitativní složení. Nejvyužívanějšími detektory jsou elektronový násobič (channeltron), Faradayova klec a elektronový násobič s oddělenými dynodami. [14; 15]

Nejběžnějším detektorem používaným pro ICP-MS je elektronásobič s oddělenými dynodami. Kladně nabité ionty analytu dopadají na první dynodu detektoru. Dopad iontu způsobí vyražení několika elektronů, které následně dopadnou na další dynodu a uvolní další elektrony. Tento proces se nazývá sekundární emise a pokračuje a vytváří zesilovací kaskádu, která vrcholí dostatečně velkým (zesíleným) signálem, který lze spolehlivě detekovat. Tímto způsobem se může generovat měřitelný diskrétní puls z dopadu jediného iontu na detektor, což poskytuje velmi nízké meze detekce v jednotkách ng/l. [15]

Většina detektorů může pracovat jak v pulzním, tak v analogovém režimu. Tyto tzv. duální detektory se automaticky přepínají z pulzního do analogového režimu, když intenzita signálu překročí určitý práh zesíleného signálu na prostřední dynodě elektronového násobiče, což umožňuje rozšířit lineární dynamický rozsah detektoru na přibližně 8-12 řádů. [1; 14]

Pulzní režim se využívá při velmi nízkých koncentracích a měření tak probíhá na všech dynodách detektoru, kdežto analogový režim slouží pro vyšší koncentrace a detekce signálu se odehrává na prostřední dynodě tak, aby nedocházelo k přetížení detektoru. [14]



Obr. 10 Elektronový násobič s oddělenými dynodami (ilustrace autorky)

2.5 Interference

Při běžných analýzách metodou ICP-MS mohou vznikat různé druhy interferencí, přičemž je lze rozdělit do dvou velkých skupin, a to na spektrální a nespektrální interference. [14]

2.5.1 Spektrální interference

Spektrální interference můžeme dále rozlišit na polyatomické, izobarické a vzniklé dvojnásobně nabitými ionty. Všechny zmíněné jsou způsobeny jinými ionty, které mají stejnou nebo velmi podobnou hodnotu m/z jako ionty analyzovaného vzorku. [1; 14]

Izobarická interference

Pokud mají dva izotopy různých prvků stejnou nominální hodnotu m/z , kterou nelze pomocí daného hmotnostního spektrometru rozlišit, říká se, že jsou izobarické. Například železo a nikl mají oba jejich izotopy hodnotu m/z 58. Z toho důvodu bude železo interferovat s měřením izotopu niklu a naopak. [1]

Význam izobarické interference závisí na relativní koncentraci obou zastoupených izotopů. Izotop ^{58}Fe má obecně velmi nízký výskyt, ovšem v biologických vzorcích, jako je krev, je však koncentrace železa v poměru k niklu velmi vysoká, a proto může být interference významná. Mezi další příklady izobarického překryvu izotopů prvků patří například: $^{40}\text{Ca}/^{40}\text{Ar}$, $^{204}\text{Hg}/^{204}\text{Pb}$, $^{115}\text{Sn}/^{115}\text{In}$, $^{114}\text{Sn}/^{114}\text{Cd}$, $^{87}\text{Rb}/^{87}\text{Sr}$, $^{48}\text{Ca}/^{48}\text{Ti}$. Pro eliminaci izobarických interferencí je nutné dbát na vhodný výběr izotopů nebo je možnost využít korekční matematické rovnice, která počítá s přirozeným zastoupením individuálních izotopů analytu a interferujícího prvku (analýza interferujícího prvku na dvou různých izotopech). [1]

Polyatomické interference

Polyatomické interference jsou nejproblematictější typem spektrálních interferencí, které vznikají kombinací dvou nebo více atomických iontů. Polyatomické ionty vznikají v důsledku kombinace iontů použitého plazmového plynu, dále pak iontů z matrice vzorku, činidel použitých pro přípravu vzorku nebo z vnesených atmosférických plynů. O argonovém plazmatu je známo, že často dochází k interferencím vznikající kombinací izotopu ^{40}Ar a kyslíku (^{16}O) z vodných vzorků a vytváří se tak interference $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, což má významný vliv na kvantifikaci železa, nejhodněji zastoupeného izotopu s hodnotou m/z 56. Dalším příkladem mohou být vzorky, které obsahují chloridy (nebo v případech, kdy je při přípravě vzorku použita kyselina chlorovodíková) se v plazmatu tvoří interference $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ nebo i $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$, které mají stejnou hmotnost jako izotopy vanadu (^{51}V) a arsenu (^{75}As). [1]

Problém s polyatomickými interferencemi je tedy ten, že vzniklé kombinace iontů mohou mít podobné hodnoty m/z jako analyzované izotopy prvků, což ztěžuje jejich kvalitativní a kvantitativní analýzu pomocí ICP-MS a může poté dojít k nesprávným interpretacím získaných výsledků. Řešením problému může být využití studeného plazmatu pro interference spojené s izotopy argonu, kdy se zvýší průtok argonu a sníží se příkon do plazmatu. Dále se aplikují kolizní/reakční cely, které díky kolizím a reakcím dokážou účinně polyatomické interference odstranit, případně se využívají také ICP-MS s vysokým rozlišením vybavené sektorovými analyzátory anebo i ICP-MS vybavené trojitým kvadrupolovým analyzátorem (ICP-QQQ-MS). [14]

Interference dvojnásobně nabitými ionty

V ICP je většina prvků ionizována do prvního stupně (jedenkrát nabitě ionty), nicméně dochází i k tvorbě malého množství dvojnásobně nabitých iontů, zejména v případě prvků s nízkým druhým ionizačním potenciálem. Mezi takové prvky patří

především: baryum, stroncium a gadolinium. Dvojnásobně nabitě ionty interferují stanovení prvků nacházejících se na poloviční hodnotě m/z . [14]

Příkladem může být interference gadolinia při stanovení selenu. Čtyři izotopy selenu ($^{76}\text{Se}^+$ - m/z 76, $^{77}\text{Se}^+$ - m/z 77, $^{78}\text{Se}^+$ - m/z 78 a $^{80}\text{Se}^+$ - m/z 80) jsou zatíženy interferencemi odvozených od dvojnásobně nabitých izotopů gadolinia ($^{152}\text{Gd}^{++}$ - m/z 76, $^{154}\text{Gd}^{++}$ - m/z 77, $^{156}\text{Gd}^{++}$ - m/z 77 a $^{160}\text{Gd}^{++}$ - m/z 80). Interference způsobené dvojnásobně nabitými ionty jsou poměrně vzácné a řeší se například použitím uzemnění plazmové hlavice a vhodnou optimalizací podmínek plazmového výboje v rámci ladění přístroje s využitím ladícího roztoku, který obsahuje cer nebo baryum. Výsledkem je potlačení výskytu (procentuálního zastoupení) dvojnásobně nabitých iontů. [1]

2.5.2 Nespektrální interference

Nespektrální interference je možné rozdělit do tří různých kategorií:

- interference ovlivňující transport a zmlžování vzorku
- interference ovlivňující ionizaci v plazmatu
- usazování solí ve vrcholech kónusů rozhraní

Poslední interference jsou vyvolány vyšším množstvím rozpuštěných pevných látek, kyselin a snadno ionizovatelných prvků v analyzovaném vzorku. Tyto látky ovlivňují přepravu, tvorbu a následnou separaci jemného aerosolu, ionizaci a mohou se usazovat na kónusech interface. [14; 23]

Nejběžnějším způsobem potlačení nespektrálních interferencí je použití vhodného interního standardu, který je přidán v nízké koncentraci (jednotky až desítky $\mu\text{g/l}$) ke kalibračním standardům, slepým vzorkům i reálným vzorkům. Správně vybraný interní standard musí splňovat určitá kritéria:

- nesmí být přítomen v analyzovaném vzorku
- musí mít podobný ionizační potenciál a chování v plazmatu jako stanovované prvky
- podobná hodnota m/z

U více prvkové analýzy je proto zapotřebí použít směs několika interních standardů. Mezi nejčastěji používané prvky jako interní standardy patří ^{45}Sc , ^{89}Y , ^{103}Rh , ^{115}In a ^{232}Th . [14]

2.6 Prvková analýza bylin

Tradičně se byliny všeobecně používají v lidovém léčitelství a hrají důležitou roli v celkovém působení na lidské zdraví. Obvykle nejsou biologicky agresivní a nemají závažné vedlejší účinky. Léčebná aktivita bylin je spojena s obsahem biologicky aktivních organických látek, které jsou v bylinách obsaženy, patří zde například alkaloidy, třísloviny, silice nebo vitaminy. Kromě farmakologicky účinných látek roste zájem o jejich chemické složení, a to z důvodu možného výskytu nežádoucích složek jako jsou pesticidy, mikrobiálními kontaminanty, těžké kovy, mykotoxiny a podobně. Stanovení celkových koncentrací těžkých i biogenních kovů se rutinně provádí technikami atomové spektrometrie, zejména AAS (plamenová a elektrotermická atomizace), ICP-OES a ICP-MS v kombinaci s vhodnou metodou přípravy vzorku. Možnost, jak stanovit koncentraci těžkých kovů ve vzorcích bylin je jejich rozklad pomocí uzavřeného mikrovlnného systému a analýza pomocí ICP-MS. ICP-MS patří mezi nejrozšířenější metody kontroly kvality léčivých rostlin, vzhledem k velmi nízkým mezím detekce, širokému lineárnímu dynamickému rozsahu a možnosti současného stanovení ultrastopových a matričních prvků v jediné analýze. [26; 27; 28]

2.6.1 Rešerše

Tab. I Rešerše – Analýza kovů v bylinách pomocí ICP-MS

Téma	Autor	Byliny	Prvky	Metoda	Anotace	Reference
Stanovení stopových prvků v bylinných čajích metodou ICP-MS pomocí různých metod přípravy vzorků	S. Kilic, M. Soylak	13 bylin*	As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Ni, Pb, Se, V, Zn	ICP-MS	V této studii bylo zkoumáno 28 různých rostlin, používaných jako bylinné čaje v sáčcích a jako samotné listy/květy. Příprava spočívala buďto v přípravě čajového výluhu (zalití vroucí vodou po dobu 10 min) anebo rozklad v mikrovlnném systému Milestone (0,2 g rostlin bylo rozkládáno pomocí 6 ml HNO ₃ a 2 ml H ₂ O ₂). Závěrem bylo, že všechny validační parametry (linearita, LOD, LOQ, selektivita a výtěžnost) byly splněny. Mikrovlnný rozklad se ukázal jako vhodnější postup přípravy vzorků pro získání celkových obsahů kovů. Z výsledků vyplývá, že samotné listy jsou přínosnější než čajové sáčky. As, Cd, Pb, Se nebyly detekovány (<LOD). Obsahy Cr, Co, Ba a Ni se pohybovaly od 3 do 51 µg/kg.	[27]
Prvková analýza léčivých bylin a doplňků stravy	A. F. Szok a spol.	10 sušených bylin a jejich doplňky stravy#	K, Na, Ca, Mg, Zn, Cu, Cr, Se, Mn, Mo, Fe	ICP-MS, WD-XRF, SEM-EDX, IC	Zaměřením této práce byla analýza vybraných druhů rostlin a jejich doplňků stravy mimo jiné metodou ICP-MS. Vzorky byly připraveny mikrovlnným rozkladem s 5 ml HNO ₃ po dobu 40 min. Výsledky poukazují, že koncentrace prvků Mn, Zn, a Fe byly celkově vyšší ve srovnání s Cr, Cu, Se a Mo. Rostliny i doplňky stravy nepřekračují koncentraci Cd a Pb nařízené danou legislativou (1 µg/g pro Cd a 3 µg/g pro Pb). Závěrem lze říct, že koncentrace hlavních a stopových prvků se velmi lišili, což je možné vysvětlit geografickými, půdními, genetickými a dalšími rozdíly.	[26]

*fenykl, lípa, levandule, heřmánek, zelený čaj, tymián, šalvěj, rozmarýn, šípek, zázvor, echinacea, modrý čaj, meduňka

#Garcinie kambodžská, Indický angrešt, Andělka čínská, Klanopraška čínská, Šalvěj červenokořená, Šišák bajkalský, Bazalka indická, Třapatkovka nachová, Réva vinná, čekanka obecná

Tab. II Rešerše – Analýza kovů v bylinách pomocí ICP-MS

Téma	Autor	Byliny	Prvky	Metoda	Anotace	Reference
Stanovení toxických kovů metodou ICP-MS v asijských a evropských léčivých rostlinách a doplňcích stravy	A. F. Szok a spol.	20 sušených bylin a jejich doplňky stravy*	Pb, Cd, As, Al, Ni, Ba, Sb	ICP-MS	Výzkum byl zaměřen na stanovení obsahu vybraných toxických kovů v rostlinách používaných v tradiční čínské medicíně a některých evropských bylin. Analýza kovů zahrnovala také doplňky stravy dostupné na polském trhu, které obsahují studované rostliny. Jak samotné rostliny, tak doplňky stravy byly předem vysušeny a rozemlety a v množství zhruba 0,2 až 0,4 g naváženy do rozkladných kelímků, kde bylo přidáno 5 ml HNO ₃ a rozklad probíhal v mikrovlnném rozkladném systému. Výsledky naznačují, že koncentrace studovaných kovů v léčivých rostlinách se výrazně liší v závislosti na oblasti produkce. Studie prokázala, že v evropských i asijských léčivých rostlinách obsah kadmia a olova nepřekročil limit 1,00 µg/g pro Cd a 3,00 µg/g pro Pb (podle nařízení komise EU č. 1881/2006, č. 420/2011), kromě jednoho doplňku stravy obsahující asijskou léčivou rostlinu bakopu drobnolistou s obsahem Pb 9,27 ± 0,21 µg/g. Výrazně vyšší obsah Ni oproti všem ostatním rostlinám se vyskytla u kolovníku zašpičatělého s hodnotou 14,21 ± 0,49 µg/g.	[29]

*Andělíka čínská, Bakopa drobnolistá, Prorostlík sinensis, Kurkuma, Kolovník zašpičatělý, Emblika lékařská, Garcinie kambodžská, Sametové fazole, Bazalka indická, Ženšen pravý, Puerarie lobata, Šalvěj červenokořená, Klanopraška čínská, Šišák bajkalský, Siraita grosvenorii (Buddhovo ovoce), Vrcholák pravý, Vrcholák tříslivinný, Třezalka tečkovaná, Třapatkovka nachová, Réva vinná

Tab. III Rešerše – Analýza kovů v bylinách pomocí ICP-MS

Téma	Autor	Byliny	Prvky	Metoda	Anotace	Reference
Stanovení některých běžných těžkých kovů a radionuklidů v některých léčivých bylinách s použitím ICP-MS/MS	T. M. A. M. Thabit a spol.	10 bylin*	Al, As, Cd, Hg, Co, Cr, Ni, Pb, Sr, Th, U V	ICP-MS/MS	V této studii bylo analyzováno 10 druhů rostlin. Sto vzorků bylo odebráno na trhu v Egyptě, z nichž každý byl namočen, promyt a usušen v sušárně. Byliny byly rozkládány 5 ml HNO ₃ a 2 ml H ₂ O ₂ v mikrovlnném systému a měření probíhalo pomocí ICP-MS pracujícího v heliovém režimu, aby se snížilo pozadí způsobené polyatomickými interferencemi (snížení LOD). Hg a Th byly přítomny ve všech vzorcích pod LOD. As byl detekován v anýzu, ibišku, fenyklu a rozmarýnu a pohyboval se od 0,031 do 5,88 mg/kg. Al, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sr, a V byly detekovány ve většině vzorků, a to v rozmezí: 3,88 – 17,80, 0,122 – 0,654, 0,019 – 0,851, 0,344 – 2,91, 1,872 – 5,82, 0,120 – 12,56, 0,128 – 0,844, a 0,083 – 0,912 mg/kg.	[30]
Stanovení stopových prvků v běžně konzumovaných léčivých bylinách pomocí ICP-MS a vícerozměrné analýzy	Ş. Tokalioğlu	30 léčivých bylin [#]	Al, B, Ba, Fe, Zn, Mn, Mg, K, Na, P, Cu, Sr, Ca	ICP-MS	Cílem práce byla analýza 30 druhů rostlin, které byly získány na trzích v Turecku. Vzorky byly promyty, vysušeny při teplotě 105 °C, rozemlety a uchovány v chladničce. Bylo naváženo 200 mg vzorku pro mikrovlnný rozklad pomocí 5 ml HNO ₃ a 3 ml H ₂ O ₂ . Výsledky ukazují, že průměrně všechny byliny mají nejvyšší obsah Fe a nejméně pak Pb. Nejvyšší obsah Pb v µg/g byl zjištěn např. u zázvoru, kopřivy, třezalce, koncentrace však nepřesáhly doporučený limit pro Pb v léčivých rostlinách (10 µg/g). Nejvyšší obsahy Co a Ni byly zjištěny u kopřivy (2,35 ± 0,29 a 13,1 ± 1,7 µg/g).	[28]

*anýz, heřmánek, jetel, kmín, koriandr, fenykl, rozmarýn, šalvěj, tymián, ibišek

[#] Kopřiva dvoudomá, Lípa, Rozrazil zvěšincový, Mák setý, Třezalka tečkovaná, Máta peprná, Myrta obecná, Meduňka lékařská, Len setý, Jmelí bílé, Bazalka indická, Bazalka pravá, Skořicovník pravý, Zázvor lékařský, Levandule lékařská, Šalvěj lékařská, Kontryhel obecný, Šalvěj rozmarýnová, Artyčok, Vřes obecný, Cicimek, Rmenec sličný, Levandule smilovitá, Kopr vonný, Přeslička rolní, Granátové jablko, Růže šípková, Kassie pravá, Černucha setá, Sléz lesní

Tab. IV Rešerše – Analýza kovů v bylinách pomocí ICP-MS

Téma	Autor	Byliny	Prvky	Metoda	Anotace	Reference
Kontaminace těžkými kovy v rostlinných léčivých přípravcích: Stanovení, komplexní posouzení rizik a řešení	L. Luo a spol.	86 rostlin*	Cu, Hg, As, Cd, Pb	ICP-MS	Účelem tohoto výzkumu byla postupná analýza těžkých kovů u 1773 vzorků, které reprezentovali 86 různých druhů rostlin sesbíranými na čtyřech hlavních čínských trzích s bylinami. 0,5 g vzorku bylo rozemleto a bylo k němu přidáno 6 ml HNO ₃ přes noc, dále pak 1 ml H ₂ O ₂ při varu na varné desce, po ochlazení další HNO ₃ do objemu 7 ml, a nakonec samotný rozklad v mikrovlnném rozkladném systému. Podle čínského lékopisu byla u 541 vzorků (30,51 %) zjištěna přítomnost nejméně jednoho kovu v nadlimitním obsahu. Nejčastěji byl stanoven nadlimitní obsah Pb (5,75 %), Cd (4,96 %), As (4,17 %), Hg (3,78 %) a Cu (1,75 %). Konzumace některých z testovaných vzorků by mohly představovat riziko pro lidské zdraví.	[31]
Koncentrace kovů v tradičních a bylinných čajích a jejich potenciální nebezpečí na lidské zdraví	L. M. de Oliveira a spol.	Bylinný, černý, zelený a oolong čaj	Al, As, Cd, Cr, Pb	ICP-MS	Tato studie stanovila celkové a extrahovatelné koncentrace vybraných prvků u 47 vzorků 4 druhů čajů, které pocházejí ze 13 zemí. Vzorky čaje byly vysušeny, rozemlety a bylo naváženo 0,5 g, které byly rozloženy pomocí HNO ₃ a H ₂ O ₂ v otevřené nádobě (podle EPA Method 3050B). Extrakty (čajové fúze) byly ze vzorků bylin připraveny extrakcí horkou vodou po dobu 5 minut s následnou filtrací přes filtr, zchlazením a zředěním dvojnásobným množstvím vody. Závěrem bylo, že hladiny As, Cd a Pb nepřekračovaly limity (doporučené od WHO) s výjimkou jednoho bylinného čaje pro As a Pb. Dále byly zjištěné vysoké obsahy Cr u 47 % bylinných a 73 % tradičních čajů, jejichž obsahy překračovaly 2 mg/kg. Celkový obsah Al byl nižší v bylinných čajích než u tradičních, a to samé platilo pro jejich čajové fúze (extrakty).	[32]

*např.: Máta rolní, Jitrocel asijský, Právenka latnatá, Boryt barvířský, Puerarie laločnatá, Světlice barvířská, Listopadka indická, Podběl lékařský, Zlatice převislá, Ptačí zob, Smetanka lékařská, Cicimek čínský, Čtverák routovitý, Klanoplaška čínská, Touleň srdčitá, Gardénie jasmínovitá, Perila křovitá, Kurkuma, Koptis čínský, Zimolez japonský, Kdoulovec ozdobný

Tab. V Rešerše – Analýza kovů v bylinách pomocí ICP-MS

Téma	Autor	Byliny	Prvky	Metoda	Anotace	Reference
Krátkodobá variabilita makro a stopových prvků v pýru plazivém a kopřivě dvoudomé	I. Shtangeeva a spol.	Pýr plazivý a kopřiva dvoudomá a jejich půdy	Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Fe, Zn, Ba, Co, Ni, Cu	ICP-MS ICP-OES	Hlavním cílem výzkumu bylo studovat krátkodobé změny obsahů prvků ve dvou široce rozšířených rostlinných druhů pýru a kopřivy a v půdě rhizosféry rostlin. Po odběru jak rostlin, tak půdy byly rostliny omyty vodou, kořeny byly odděleny od listů a všechny složky byly sušeny na vzduchu do konstantní hmotnosti. Pro rozklad vzorků rostlin i půdy byl využit mikrovlnný rozkladný systém s použitím 9 ml HNO ₃ . Z výzkumu vyplývá, že obsahy všech prvků v odebraných rostlinách se v různé denní doby mění, což může být důsledek současného působení více faktorů. Jeden z hlavních faktorů může být rozdíl mezi jednoděložnou (pýr) a dvouděložnou (kopřiva) rostlinou. U vzorků kopřiv se v různé denní době i dnech pohybovaly obsahy Mg od 1 400 do 4 000 µg/g a Mn od 12 do 27 µg/g.	[33]
Posouzení potenciálních zdravotních rizik spojených s akumulací těžkých kovů v kopřivě dvoudomé	G. A. Barboiu a spol.	10 vzorků kopřivy dvoudomé a její půdy	Cr, Ni, Co, Cu, Zn, Cd, Pb	ICP-MS	Cílem výzkumu byla analýza 10 vzorků kopřivy dvoudomé a její půdy získané v dubnu z lokalit v Rumunsku. V každém odběrovém místě bylo odebráno 6 dílčích vzorků, které poté byly smíseny a homogenizovány, zvláště se analyzovaly stonky a listy kopřivy. Rostliny i půda byly sušeny v sušárně a rozloženy v případě půdy 3 ml HNO ₃ a 9 ml HCl a v případě rostlin 6 ml HNO ₃ a 1 ml H ₂ O ₂ v mikrovlnném rozkladném systému. Výsledky ukazují, že u vzorků půd došlo k překročení varovné meze v mg/kg u prvků Cr (300 mg/kg), Co (100 mg/kg), Cd (5 mg/kg), Pb (250 mg/kg) a Cu (250 mg/kg). V případě Cu byl zjištěn obsah až 1,5 x vyšší než maximální povolená hladina 500 mg/kg (podle rumunské vyhlášky č. 756/1997). U listů i stonků kopřivy byl překročen maximální obsah prvků Cd (0,2 mg/kg) a Pb (0,5 mg/kg) (podle rumunské vyhlášky 975/1998).	[34]

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie, pomůcky a přístroje

3.1.1 Chemikálie

- Certifikovaný referenční materiál, vodný kalibrační roztok ASTASOL® B, Al, Fe, Ca, Mg, Mn, Ba, Cu, Zn, Sr, Cd, Co, Cr, Ge, Ni, Pb, V, Mo (1000,0 ± 2,0 mg/l), Analytika spol. s.r.o., Česká republika.
- Certifikovaný referenční materiál zeleného čaje – METRANAL® CRM AN-BM02, Analytika spol. s.r.o., Česká republika.
- Certifikovaný referenční materiál jahodového listí – METRANAL® CRM AN-BM01, Česká republika.
- Kyselina dusičná Analpure®, 69 %, Analytika spol. s.r.o., Česká republika.
- Peroxid vodíku, 30 % p.a., Analytika spol. s.r.o., Česká republika.
- Kyselina fluorovodíková, min. 48 % p.a., Analytika spol. s.r.o., Česká republika.
- Mehlich III (0,2 mol/l CH₃COOH; 0,015 mol/l NH₄F; 0,013 mol/l HNO₃; 0,25 mol/l NH₄NO₃; 0,001 mol/l EDTA)

3.1.2 Pomůcky

- Skleněné a plastové laboratorní nádobí
- Teflonové kelímky s víčky a karuselem pro MW rozklad
- Automatické pipety Finnpipette F2 (100 – 1000 µl a 0,5 – 5 ml) a špičky
- Ruční kávový mlýnek na homogenizaci bylin
- Třecí miska a síto na homogenizaci půd (velikost ok 2 mm)
- Diskový mikrofiltr (nylon, velikost pórů 0,45 µm) a plastová stříkačka

3.1.3 Přístroje

- ORS-ICP-MS Agilent 7700x, Agilent Technologies, Japonsko
- Přístroj pro přípravu ultračisté vody, Milli-Q® Reference systém, Millipore, Francie
- Mikrovlnný rozkladný systém, Milestone MLS 1200 Mega, Milestone, Itálie
- Elektronické váhy, Mettler Toledo New Classic MS, Mettler Toledo, Švýcarsko
- Antistatická sada obsahující U-elektrodu a napájecí zdroj, Mettler Toledo, Švýcarsko
- Třepačka, Benchmark BV1000 Vortex mixer, USA
- Analyzátor AMA 254, Altec, Česká republika

Všechno skleněné i plastové laboratorní nádobí bylo po dobu 24 hod ponecháno (louženo) v 10% HNO₃, poté bylo 3x vypláchnuto ultračistou vodou a usušeno v sušárně. Takto připravené laboratorní nádobí bylo uzavřeno do plastových uzavíratelných sáčků, proti případné kontaminaci z okolí.

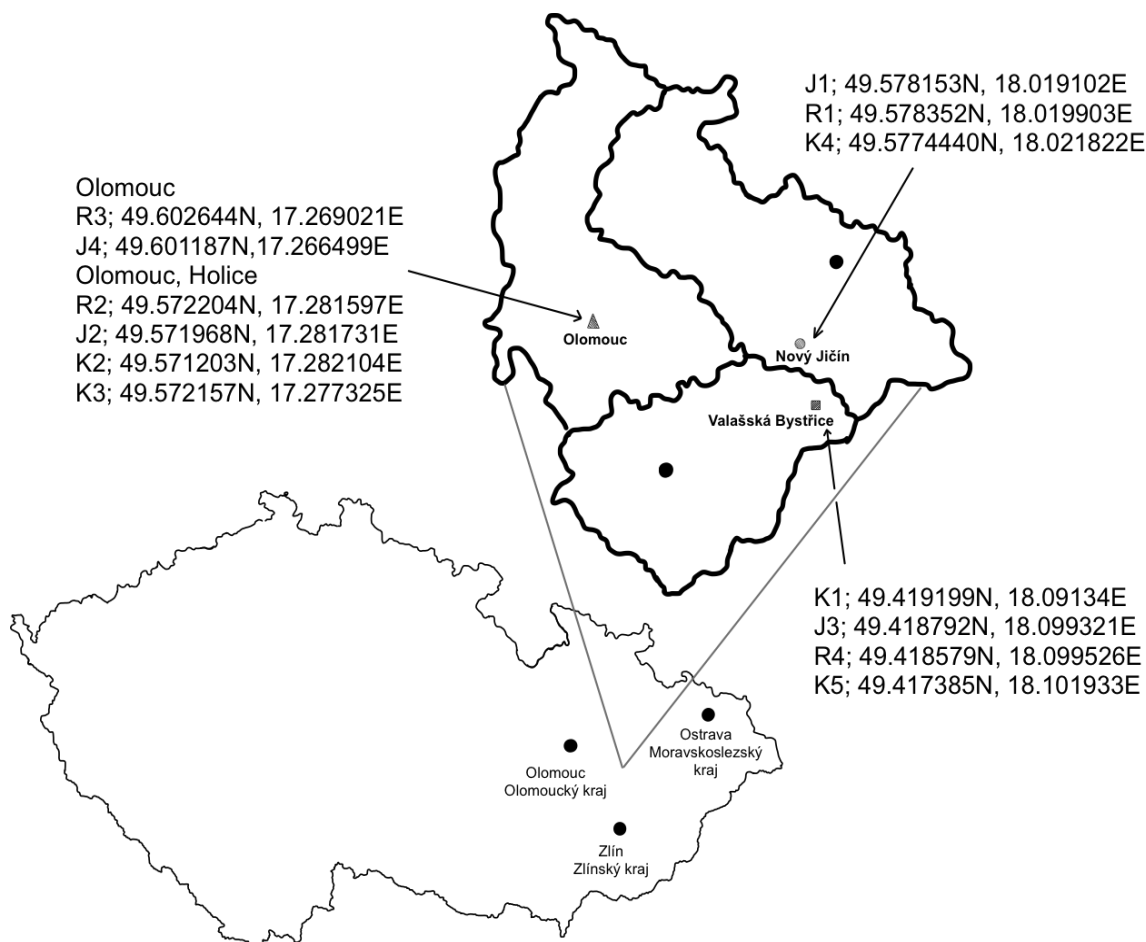
3.2 Analyzované vzorky bylin

Pro prvkovou analýzu byly zvoleny kopřiva dvoudomá, jitrocel kopinatý a řebříček obecný pro svůj rozšířený výskyt na různých lokalitách a pro jejich blahodárné účinky na zdraví. Sběr rostlin probíhal s ohledem na výskyt a léčivou část rostliny: kopřiva dvoudomá; sběr listů (květen), jitrocel kopinatý; sběr listů (červen-srpen), řebříček obecný; sběr rozvitéch květů (červen-srpen). Léčivé rostliny byly sušeny v temné chladnější místnosti po dobu 8 až 10 dní. Následně byly vzorky přemístěny do vhodných dobře uzavíratelných skleněných nádob. Celkem bylo sesbíráno 13 vzorků z 3 hlavních lokalit, které byly zaznamenány do Tab. VI.

Tab. VI Seznam vzorků a sběrných míst

Číslo vzorku	Druh rostliny	Lokalita
K1	Kopřiva dvoudomá	Valašská Bystřice, zahrada
K2		Olomouc, areál PŘF UP Holice
K3		Olomouc, Holice
K4		Nový Jičín, zahrada
K5		Valašská Bystřice, cesta
J1	Jitrocel kopinatý	Nový Jičín, louka
J2		Olomouc, areál PŘF UP Holice
J3		Valašská Bystřice, louka
J4		Olomouc, centrum
R1	Řebříček obecný	Nový Jičín, louka
R2		Olomouc, areál PŘF UP Holice
R3		Olomouc, centrum
R4		Valašská Bystřice, louka

Pro přesnou evidenci míst byla vytvořena mapa, které zobrazuje všechny tři jednotlivé kraje (Olomoucký, Zlínský, Moravskoslezský) a tři hlavní místa (Olomouc, Valašská Bystřice, Nový Jičín), kde byly byliny sbírány. U každého místa jsou vypsané jednotlivé vzorky a jejich přesná poloha podle souřadnic. Mapa včetně vzorků a jejich souřadnic byly zaneseny do Obr. 11.



Obr. 11 Mapa sběrných míst (ilustrace autorky)

Homogenizace a rozklad vzorků bylin

Před vlastní ICP-MS analýzou bylo potřeba vzorky listů a květů homogenizovat mletím na velmi jemné částičky pomocí keramického mlýnku na kávu. Takto připravené vzorky (0,25 g) byly naváženy do teflonových rozkladných kelímků, ke vzorkům byla přidána rozkladná směs složená ze 4 ml kyseliny dusičné, 1 ml peroxidu vodíku a 0,125 ml kyseliny fluorovodíkové. Vzorky byly rozkládány v uzavřeném mikrovlnném systému MLS 1200 Mega (Milestone, Itálie) podle 7 krokového rozkladného programu dle Tab. VII.

Tab. VII Rozkladný program

Krok	Čas (min)	Výkon (W)	Krok	Čas (min)	Výkon (W)
1	2	250	5	2	500
2	2	0	6	2	0
3	5	400	7	6	600
4	2	0	Ventilace 5 min		

Po mikrovlnném rozkladu a vychladnutí mineralizačních kelímků na laboratorní teplotu, byly mineralizáty kvantitativně převedeny do 25ml odměrné baňky a doplněny ultračistou vodou po rysku. Pro analýzu byly vybrány následující prvky: Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn. Pro stanovení matričních prvků Mg, Ca, Fe, Mn byly vzorky 10x naředěny před vlastní ICP-MS analýzou. Všechny vzorky byly změřeny v 6 nezávislých technických replikách.

3.3 Analyzované vzorky půd

Celkem bylo sesbíráno 13 vzorků půd v těsné blízkosti sběru léčivých bylin, které jsou uvedené v kapitole 3.2 v Tab. VI. Vzorky půd byly odebírány vždy minimálně 5 až 10 cm pod stanovištěm rostliny, a to po odstranění horní travnaté vrstvy. Následně byly vzorky půd sušeny na vzduchu v řádu 8 až 10 dnů. Takto usušené půdy byly uschovány do dobře uzavíratelných nádob. Přehled vzorků půd byl zaznamenán do Tab. VIII.

Tab. VIII Seznam vzorků půd

Číslo vzorku	Lokalita
J1 P	Nový Jičín, louka
R1 P	Nový Jičín, louka
K4 P	Nový Jičín, zahrada
J4 P	Olomouc, centrum
R3 P	Olomouc, centrum
K2 P	Olomouc, Holice areál
J2 P	Olomouc, Holice areál
R2 P	Olomouc, Holice areál
K3 P	Olomouc, Holice
K5 P	Valašská Bystřice, cesta
J3 P	Valašská Bystřice, louka
R4 P	Valašská Bystřice, louka
K1 P	Valašská Bystřice, zahrada

Homogenizace a rozklad vzorků půd

Před samotnou prvkovou analýzou vzorků půd bylo potřeba vzorky půd zpracovat tak aby byl k ICP-MS analýze použit dostatečně homogenní a reprezentativní vzorek reflektující průměrný obsah prvků v dané lokalitě. V první řadě bylo potřeba z půd odstranit zbytky organické hmoty (kořínky, větvičky...), následně byly vzorky rozemlety v třecí misce na velmi jemný půdní prášek a prosety skrze síto s oky o průměru 2 mm.

Pro přípravu výluhů z půd byl použit jednotný pracovní postup (JPP), který byl vydán Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (JPP 30068.1).

Byl navážen zhruba 1 g půdního vzorku a k němu bylo přidáno 10 ml extrakčního činidla Mehlich III. Vzorky byly třepány (extrahovány) 15 min na třepačce a poté bylo z vrchní části odebráno asi 5 ml vzorku, které byly přefiltrovány přes nylonový diskový mikrofiltr pomocí stříkačky. Takhle odebrané vzorky byly naředěny 10x a 100x pro následnou prvkovou analýzu pomocí ICP-MS. Roztok Mehlich III byl získán od paní Hany Staškové, laborantky katedry analytické chemie. K přípravě byly použity chemikálie o čistotě nejméně p. a.

ICP-MS analýza

Ke kvantitativnímu stanovení Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn bylo využito ORS-ICP-MS 7700x (Agilent Technologies, Japonsko) vybavené autosamplermem, koncentrickým zamlžovačem (400 μ l/min), chlazenou mlžnou komorou dle Scotta, kolizně/reakční celou pracující v He módu pro potlačení spektrálních interferencí a kvadrupólovým analyzátozem. Ge, Tb, Bi byly využity jako interní standardy pro eliminaci nespektrálních interferencí. Optimalizované ICP-MS podmínky jsou uvedeny v Tab. IX.

Tab. IX Optimalizované podmínky ICP-MS analýzy

Parametr	Metoda stopové prvky	Metoda matriční prvky
Příkon RF generátoru [W]	1 550	1 550
Vnější plazmový plyn (l/min)	14,97	14,97
Střední plazmový plyn (l/min)	0,9	0,9
Nosný plyn (l/min)	1,05	1,05
He v kolizní cele (ml/min)	4,3	4,3
Integrační čas (s)	0,1	0,1
Monitorované izotopy	¹¹ B, ⁵¹ V, ⁵² Cr, ⁵⁹ Co, ⁶⁰ Ni, ⁶³ Cu, ⁶⁶ Zn, ⁷² Ge (IS), ⁷⁵ As, ⁸⁸ Sr, ⁹⁵ Mo, ¹¹¹ Cd, ¹³⁷ Ba, ¹⁵⁹ Tb (IS) ²⁰⁸ Pb, ²⁰⁹ Bi (IS)	²⁴ Mg, ²⁷ Al, ⁴³ Ca, ⁵⁵ Mn, ⁵⁶ Fe, ⁷² Ge (IS)

3.4 Příprava kalibračních standardů, OQ vzorků a certifikovaných referenčních materiálů s přizpůsobenou maticí

Pro účely validace metod bylo potřeba připravit řadu kalibračních roztoků, slepých vzorků, OQ vzorků a vzorků certifikovaných referenčních materiálu (CRM) zeleného čaje a jahodového listí.

Pro účely prvkové analýzy CRM a vzorků bylin a půd byly analyzované prvky rozděleny do tří skupin lišících se rozsahem koncentrací kalibračních standardů. Pro účely stanovení koncentrací prvků ve slepých pokusech (vzorcích) byla připravena kalibrace v rozsahu 0,5 – 100 µg/l pro všechny analyzované prvky. Rozsah kalibrací pro analýzu CRM a reálných vzorků je uveden v Tab. X.

Tab. X. Záznam kalibračních řad pro CRM a vzorky

Kalibrační standard	1. skupina	2. skupina	3. skupina
	As, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, V, Mo	B, Ba, Cu, Zn, Sr	Al, Ca, Mg, Fe, Mn
	Koncentrace (µg/l)		
1	0,5	5	50
2	1	10	100
3	5	50	500
4	10	100	1000
5	50	500	5000
6	100	1000	10 000

Příprava CRM spočívala v navážce zhruba 0,25 g zeleného čaje nebo jahodového listí a následném rozkladu pomocí kyselin v uzavřeném mikrovlnném systému stejně jako v kapitole 3.2 Příprava vzorků bylin a Tab. VII. Dvanáct slepých vzorků bylo připraveno obdobně s tím rozdílem, že do rozkladných kelímků byla odpipetována pouze směs kyselin pro rozklad (HNO₃, H₂O₂, HF).

3.5 Stanovení Hg pomocí jednoúčelového analyzátoru (AMA)

Koncentrace rtuti ve vzorcích bylin byla stanovena pomocí jednoúčelového atomového absorpčního spektrometru AMA 254 v prostorách národní referenční laboratoře pro kovy a dusíkaté sloučeniny (oddělení cizorodých látek Kroměříž, SVÚ Olomouc). Navážka vzorku byla 30 až 50 mg a měření bylo provedeno dle SOP CZL 2/95.

3.6 Validace ICP-MS metod

Validace obou metod byla prováděna v rozsahu testování linearitu, meze detekce (LOD), meze stanovitelnosti (LOQ), preciznosti vyjádřené relativní směrodatnou odchylkou (RSD) a pravdivosti prezentované ve formě výtěžnosti.

Byly využity dva CRM jahodového listí a zeleného čaje a z důvodu podobných obsahů prvků v analyzovaných vzorcích byla využita pro preciznost a pravdivost jen jedna hodnota CRM.

3.6.1 Linearita

Linearita byla ověřována na základě ICP-MS analýzy 6 kalibračních roztoků v rozsahu 0,5 – 100 µg/l pro As, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, V, Mo, 5 – 1000 µg/l pro B, Ba, Cu, Zn, Sr, a 50 – 10 000 µg/l pro Al, Ca, Mg, Fe, Mn. Byla zhodnocena lineární závislost kalibračních křivek a korelační koeficienty.

Akceptační kritérium: Splnění lineární závislosti a hodnota korelačního koeficientu $R \geq 0,99$

3.6.2 Mez detekce a mez stanovitelnosti

LOD a LOQ byly vypočítány z analýzy 12 nezávisle připravených slepých pokusů. LOD a LOQ vypočítány pomocí rovnic č. 1 a 2, kdy byly dosazeny hodnoty průměru a výběrového odhadu směrodatné odchylky pro pozadí slepých pokusů. Následně byly LOD a LOQ (µg/l) přepočteny na µg/g s ohledem na použitou navážku a ředění pomocí rovnice č. 3. Hodnoty LOD a LOQ určují, zda byly analyzované prvky ve vzorcích stanoveny kvantitativně, detekovány (<LOQ) nebo nedetekovány (<LOD).

Výpočet hodnot LOD a LOQ v µg/l využívá \bar{x} (průměr naměřených hodnot) a s (výběrová směrodatná odchylka).

$$LOD = \bar{x} + (3,3 \cdot s) \quad (1)$$

$$LOQ = \bar{x} + (10 \cdot s) \quad (2)$$

Přepočet LOD a LOQ z µg/l na µg/g, w_v , je obsah v µg/g, c_p je koncentrace v µg/l, V je objem odměrné baňky (0,025 l), m je hmotnost navážky (0,250 g).

$$w_v = \frac{c_p \cdot V}{m} \quad (3)$$

3.6.3 Preciznost (opakovatelnost)

Pro ověření preciznosti byla použita dvojice matričních certifikovaných referenčních materiálů (CRM) jahodového listí a zeleného čaje, které byly připraveny v 6 nezávislých replikách dle postupu uvedeného v podkapitole 3.4. Pro stanovení matričních prvků Al, Mg, Ca, Fe, Mn byly vzorky 10x naředěny před vlastní ICP-MS analýzou. Preciznost je vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka (RSD), která byla vypočítána dle rovnice č. 4.

Výpočet hodnot RSD v procentech využívá s (výběrový odhad směrodatné odchylky) a \bar{x} (průměr naměřených hodnot).

$$RSD (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \quad (4)$$

Akceptační kritérium: RSD \leq 20 %

3.6.4 Pravdivost (výtěžnost)

Pro ověření pravdivosti byla použita dvojice matričních certifikovaných referenčních materiálů (CRM) jahodového listí a zeleného čaje, které byly připraveny v 6 nezávislých replikách dle postupu uvedeného v podkapitole 3.4. Pro stanovení matričních prvků Al, Mg, Ca, Fe, Mn byly vzorky 10x naředěny před vlastní ICP-MS analýzou. Pravdivost je vyjádřena nejčastěji jako výtěžnost v procentech, která byla vypočítána dle rovnice č. 5.

Výpočet výtěžnosti v procentech využívá \bar{x} (průměr naměřených hodnot) a w_{ref} (referenční obsah v $\mu\text{g/g}$).

$$Výtěžnost (\%) = \frac{\bar{x}}{w_{ref}} \cdot 100 \quad (5)$$

Akceptační kritérium: Výtěžnost 80 % – 120 %

3.6.5 Výpočet nejistoty měření

Kombinovaná nejistota měření (u_c), respektive rozšířená nejistota měření (U) pro analyzované prvky byla vypočtena na základě získaných validačních dat naměřených s využitím CRM s přizpůsobenou maticí. Pro výpočet rozšířené nejistoty byly využity výpočty podle rovnic č. 6 až 8. [35]

Výpočet nejistoty vychýlení u_b v procentech využívá Δ (rozdíl průměru z opakovaných měření CRM a certifikované hodnoty), u_{ref} (standardní nejistota certifikované hodnoty CRM), s (směrodatná odchylka), n (počet měření CRM).

$$u_b = \sqrt{\Delta^2 + u_{ref}^2 + \frac{s^2}{n}} \quad (6)$$

Výpočet kombinované nejistoty u_c v procentech využívá s_{RW} (mezilehlá preciznost) a u_b (nejistota vychýlení).

$$u_c = \sqrt{s_{RW}^2 + u_b^2} \quad (7)$$

Výpočet rozšířené nejistoty U v procentech využívá u_c (kombinovaná nejistota). Volba koeficientu rozšíření (k) vychází z požadované konfidenční úrovně například $k = 2$ (95 %), $k = 2,58$ (99 %), $k = 3$ (99,73 %). Pro výpočet rozšířené nejistoty byl použit koeficient rozšíření 2.

$$U = k \cdot u_c \quad (8)$$

4 Výsledky a diskuze

4.1 Výsledky validace metod

V rámci experimentální části byly vyvinuty dvě ICP-MS metody pro stanovení stopových a matričních prvků využívající mikrovlnně asistovaného rozkladu v uzavřeném systému. Obě metody byly validovány v rozsahu testování linearity, LOD, LOQ, preciznosti a pravdivosti. Výsledky testovaných validačních parametrů jsou shrnuty v Tab. XI.

Tab. XI Přehled výsledků validace

Validační parametr	Akceptační kritérium	Splněno
Linearita	$R \geq 0,99$	✓
Preciznost	$RSD \leq 20\%$	✓
Pravdivost	Výtěžnost 80 % – 120 %	✓*

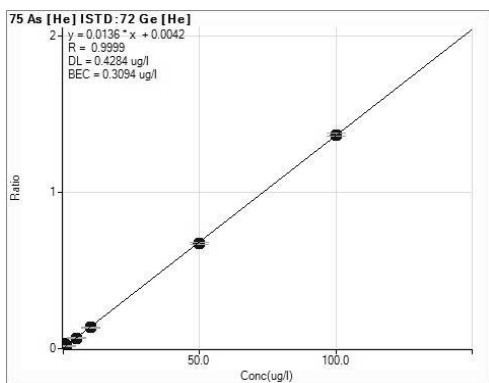
* kromě bóru a vápníku

4.1.1 Linearita

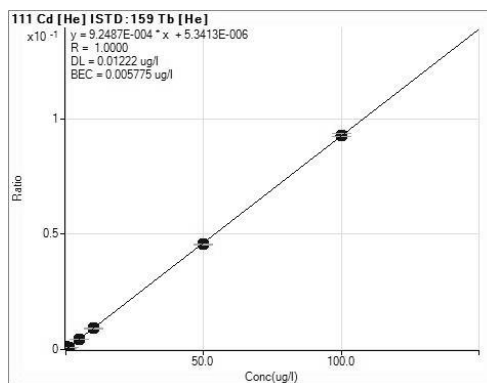
Linearita byla testována pomocí kalibrační řady konstruované ze 6 nenulových kalibračních standardů, která byla připravena podle podkapitoly 3.4. V Tab. XII jsou uvedeny nejnižší korelační koeficienty získané pro daný prvek a splnění akceptačního kritéria. Na Obr. 12 až 19 jsou znázorněné jednotlivé lineární závislosti pro prvky As, Cd, Sr, Cu, Mn, Mo, Ni, Zn.

Tab. XII Korelační koeficienty pro stanovované prvky

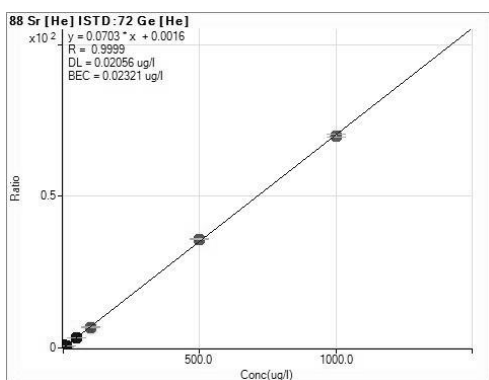
Prvek	Korelační koeficient R	Splněno	Prvek	Korelační koeficient R	Splněno
Al	0,9999	✓	Fe	1,0000	✓
As	0,9999	✓	Mg	1,0000	✓
B	0,9999	✓	Mn	1,0000	✓
Ba	0,9997	✓	Mo	1,0000	✓
Ca	0,9999	✓	Ni	1,0000	✓
Cd	1,0000	✓	Pb	1,0000	✓
Co	0,9999	✓	Sr	0,9999	✓
Cr	0,9998	✓	V	0,9997	✓
Cu	0,9999	✓	Zn	0,9998	✓



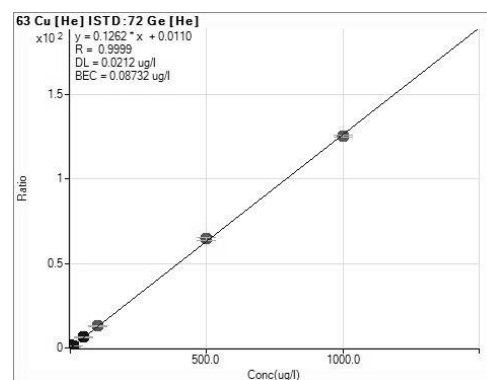
Obr. 12 Kalibrační křivka pro As



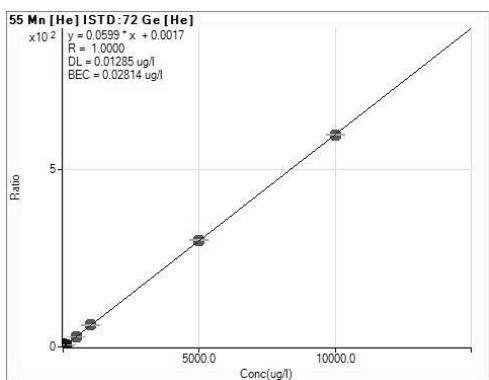
Obr. 13 Kalibrační křivka pro Cd



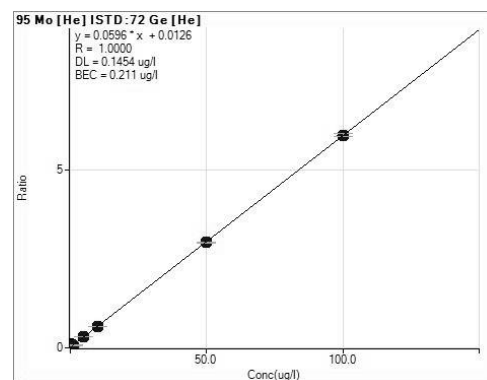
Obr. 14 Kalibrační křivka pro Sr



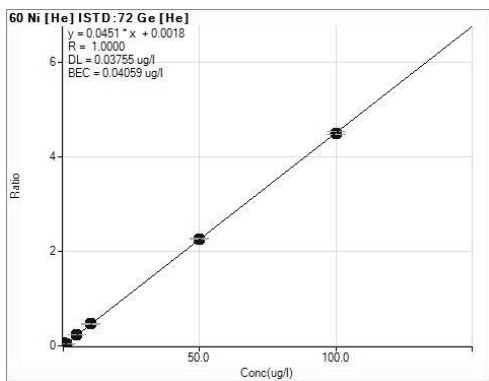
Obr. 15 Kalibrační křivka pro Cu



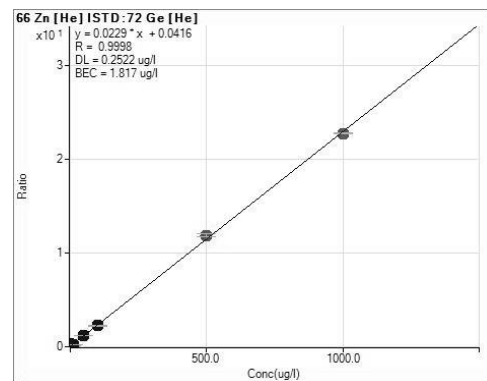
Obr. 16 Kalibrační křivka pro Mn



Obr. 17 Kalibrační křivka pro Mo



Obr. 18 Kalibrační křivka pro Ni



Obr. 19 Kalibrační křivka pro Zn

Závěr: Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny stanovované prvky. Linearita kalibračních křivek byla splněna a korelační koeficienty R se pohybovaly v rozmezí 0,9997– 1,0000.

4.1.2 Mez detekce a mez stanovitelnosti

Pro stanovení meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ) bylo změřeno 12 slepých pokusů (vzorků) pro prvky Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn. Výsledky LOD a LOQ v $\mu\text{g/g}$ byly zaznamenány do Tab. XIII.

Tab. XIII Záznam výsledků LOD a LOQ pro stanovované prvky

Prvek	LOD [$\mu\text{g/g}$]	LOQ [$\mu\text{g/g}$]	Prvek	LOD [$\mu\text{g/g}$]	LOQ [$\mu\text{g/g}$]
Al	0,66	1,65	Fe	2,93	6,45
As	0,066	0,170	Mg	0,71	1,22
B	784	1517	Mn	0,055	0,104
Ba	0,63	1,18	Mo	0,081	0,157
Ca	2,11	4,09	Ni	0,053	0,115
Cd	0,016	0,032	Pb	0,040	0,094
Co	0,093	0,252	Sr	0,098	0,177
Cr	0,117	0,286	V	0,009	0,016
Cu	0,063	0,126	Zn	2,53	5,82

Závěr: LOD a LOQ byly vypočítány pro všechny prvky. Rozmezí pro LOD bylo od 0,009 $\mu\text{g/g}$ pro vanad po 784 $\mu\text{g/g}$ pro bor a rozmezí pro LOQ bylo od 0,016 $\mu\text{g/g}$ pro vanad po 1517 $\mu\text{g/g}$ pro bor.

4.1.3 Preciznost (opakovatelnost)

Preciznost byla ověřena stanovením 6 nezávisle připravených vzorků CRM zeleného čaje a jahodového listí pro prvky Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn. Hodnoty relativní směrodatné odchylky RSD v % byly uvedeny do Tab. XIV.

Tab. XIV Hodnoty RSD (%) pro vybrané prvky

Prvek	Certifikovaná hodnota ($\bar{x} \pm U$, $\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	Splněno	CRM
Al	474 \pm 55	9	✓	JL
As	0,156 \pm 0,012	11	✓	ZČ
B	32,3 \pm 2,9*	2	✓	JL
Ba	110 \pm 5	1	✓	JL
Ca	5 100 \pm 278	8	✓	ZČ
Cd	0,170 \pm 0,011	2	✓	JL
Co	0,372 \pm 0,020	2	✓	ZČ
Cr	0,603 \pm 0,043	5	✓	ZČ
Cu	13,20 \pm 0,8	2	✓	ZČ
Fe	782 \pm 39	1	✓	JL
Mg	3 868 \pm 171	2	✓	JL
Mn	1 200 \pm 41	1	✓	ZČ
Mo	0,31 \pm 0,034*	4	✓	JL
Ni	4,84 \pm 0,13	2	✓	ZČ
Pb	1,54 \pm 0,09	4	✓	ZČ
Sr	66,3 \pm 2,7	1	✓	JL
V	0,239 \pm 0,022	6	✓	ZČ
Zn	26,2 \pm 0,9	2	✓	ZČ

* Indikativní hodnota

JL- CRM jahodové listí (METRANAL® CRM AN-BM01)

ZČ - CRM zelený čaj (METRANAL® CRM AN-BM02)

U – rozšířená nejistota (k= 2)

Závěr: Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny prvky. Hodnoty RSD se pohybovaly v rozmezí od 1 % až do 11 %. Nejvyšší hodnoty RSD byly stanoveny pro arsen a hliník. Celkově byly hodnoty RSD nižší pro většinu prvků u CRM jahodového listí.

4.1.4 Pravdivost (výtěžnost)

Pravdivost byla ověřena stanovením 6 nezávisle připravených vzorků CRM zeleného čaje a jahodového listí pro prvky Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn. Hodnoty výtěžnosti v % byly uvedeny do Tab. XV. Vypočítané hodnoty výtěžnosti v % byly také shrnuty do grafu na Obr. 20.

Tab. XV Hodnoty výtěžnosti (%) pro vybrané prvky

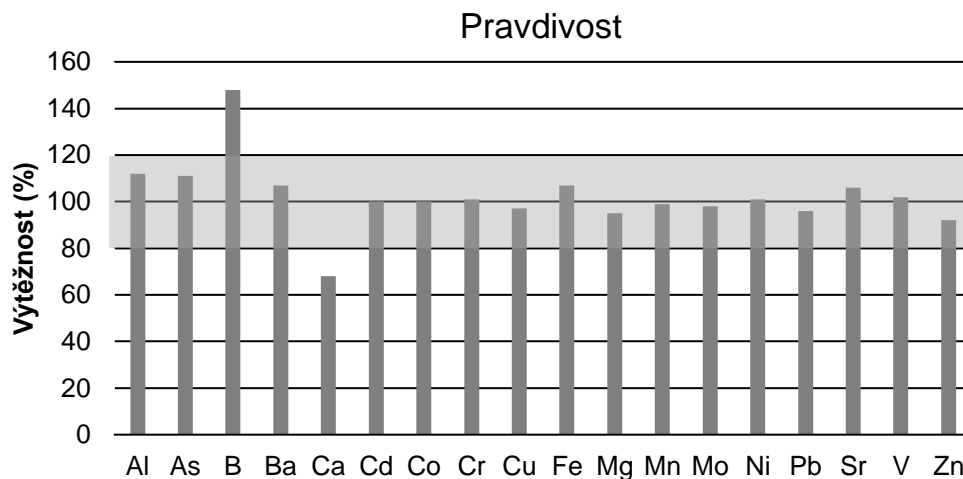
Prvek	Certifikovaná hodnota ($\bar{x} \pm U$, $\mu\text{g/g}$)	Výtěžnost (%)	Splněno	CRM
Al	474 \pm 55	112	✓	JL
As	0,156 \pm 0,012	111	✓	ZČ
B	32,3 \pm 2,9*	148	x	JL
Ba	110 \pm 5	107	✓	JL
Ca	5 100 \pm 278	68	x	ZČ
Cd	0,170 \pm 0,011	100	✓	JL
Co	0,372 \pm 0,020	100	✓	ZČ
Cr	0,603 \pm 0,043	101	✓	ZČ
Cu	13,20 \pm 0,8	97	✓	ZČ
Fe	782 \pm 39	107	✓	JL
Mg	3 868 \pm 171	95	✓	JL
Mn	1 200 \pm 41	99	✓	ZČ
Mo	0,31 \pm 0,034*	98	✓	JL
Ni	4,84 \pm 0,13	101	✓	ZČ
Pb	1,54 \pm 0,09	96	✓	ZČ
Sr	66,3 \pm 2,7	106	✓	JL
V	0,239 \pm 0,022	102	✓	ZČ
Zn	26,2 \pm 0,9	92	✓	ZČ

* Indikativní hodnota

JL- CRM jahodové listí (METRANAL® CRM AN-BM01)

ZČ - CRM zelený čaj (METRANAL® CRM AN-BM02)

U – rozšířená nejistota (k= 2)



Obr. 20 Shrnutí výtěžnosti (%) graficky

Závěr: Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny prvky kromě B a Ca. Hodnoty výtěžnosti se pohybovaly nejčastěji v rozmezí od 92 % až po 112 %, kromě Ca (68 %) a B (148 %).

4.1.5 Rozšířená nejistota měření

Poslední částí validace ICP-MS metod bylo vyhodnocení kombinované a rozšířené nejistoty měření na základě využití vstupních informací z certifikátu a analýze pro jednotlivé matriční CRM (certifikovaná/indikativní hodnota a nejistota) a výsledků ověření pravdivosti a preciznosti (naměřená průměrná hodnota a výběrový odhad směrodatné odchylky). Vypočtená kombinovaná a rozšířená nejistota ($k = 2$) pro jednotlivé prvky je shrnuta v Tab. XVI. Neakceptovatelná hodnota rozšířené nejistoty byla získána pro Ca, kdy největší příspěvek k nejistotě tvoří rozdíl v naměřených obsazích Ca odpovídajících pouze 68 % certifikované hodnoty.

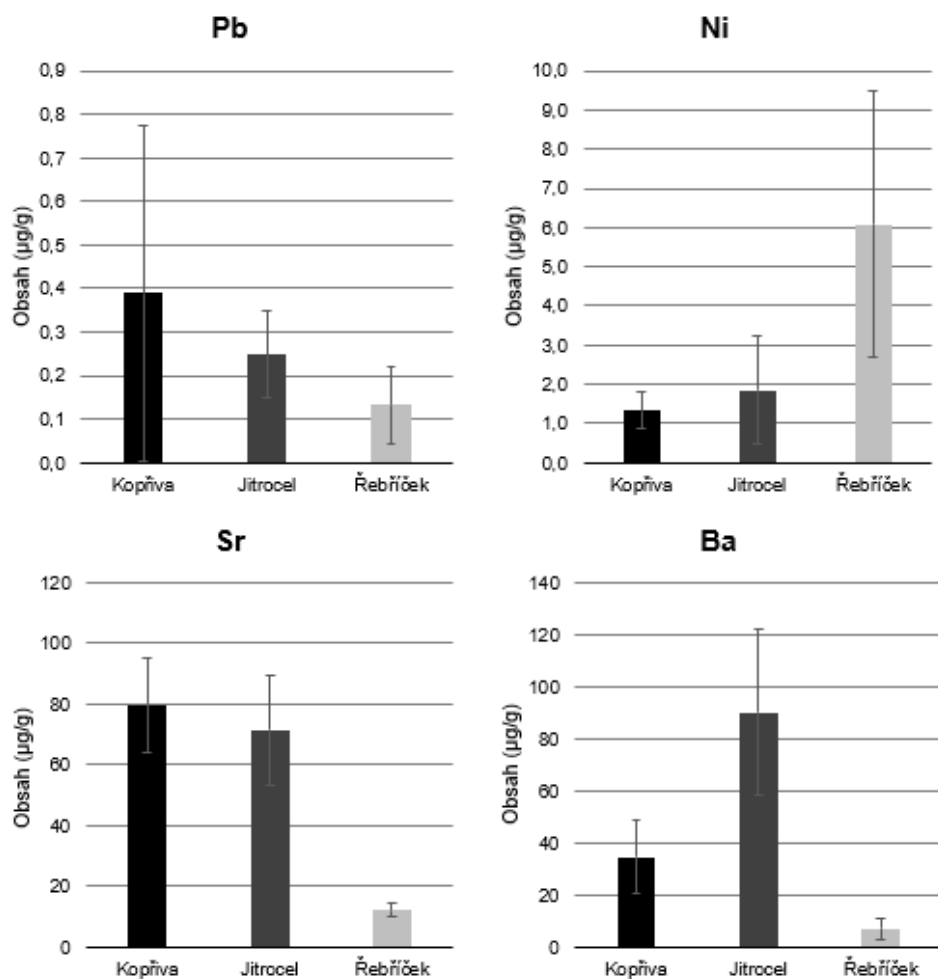
Tab. XVI Rozšířená nejistota měření

Prvek	Kombinovaná nejistota (%)	Rozšíření nejistota (%)
Al	14.4	28.8
As	15.8	31.7
B	5.3	10.6
Ba	2.7	5.5
Ca	150.7	301.4
Cd	4.0	8.0
Co	4.1	8.3
Cr	8.3	16.7
Cu	4.1	8.2
Fe	5.6	11.2
Mg	19.3	38.7
Mn	2.3	4.6
Mo	8.1	16.1
Ni	3.1	6.2
Pb	6.0	11.9
Sr	2.8	5.6
V	9.8	19.6

4.2 Prvková analýza ve vzorcích léčivých bylin

Validovaná ICP-MS metoda byla použita pro stanovení obsahu Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn v listech kopřivy dvoudomé, jitroceli kopinatém a květu řebříčku obecného, které byly sbírány na 3 hlavních lokalitách na Moravě. Zmíněné prvky kromě B byly stanoveny ve všech 13 odebraných vzorcích bylin (5 vzorcích kopřivy dvoudomé, čtyřech vzorcích jitrocele kopinatého, čtyřech vzorcích řebříčku obecného). Výsledky jsou shrnuty na Obr. 21 a v Tab. XVII – Tab. XIX. Celkové zhodnocení výsledků poukazuje na bezpečnost samosběru, sušení a využívání bylin pro léčebné účely. Získané výsledky potvrdily velmi nízké obsahy kadmia a olova (vyjma vzorků J3, R4 pro Cd a K3 pro Pb s obsahy okolo 1 µg/g). Stanovené obsahy těžkých kovů jsou v souladu s doposud publikovanými daty pro léčivé rostliny jako je fenykl, tymián, šalvěj, rozmarýn, čekanka, třezalka, meduňka, podběl a další. [26; 27; 28; 29; 30; 31] Zatímco květy řebříčku obsahují daleko více Ni oproti ostatním dvěma rostlinám, u Sr je tomu naopak a můžeme pozorovat téměř řadový rozdíl v jeho obsahu v kopřivě a jitroceli (≈ 80 µg/g).

Největší obsahy Ba byly stanoveny v listech jitrocele ($65 - 137 \mu\text{g/g}$), které odpovídají trojnásobnému a desetinásobnému obsahu v porovnání s listy kopřivy a květy řebříčku. Mezi další prvky, jejichž obsahy se liší napříč analyzovanými bylinami patří V, Zn, Mo, Cd, Ca, Mn. Ze získaných kvantitativních výsledků reflektujících hladiny kovů v jednotlivých léčivých rostlinách vyplývá, že dochází ke specifické akumulaci kovů s ohledem na druh rostliny a lokalitu sběru a také s ohledem na geologické podloží a pokročilost urbanizace. Zajímavé je porovnání průměrného obsahu Pb v jednotlivých rostlinách, z grafu na Obr. 21 se může zdát, že kopřiva v sobě průměrně akumuluje více olova, tento rozdíl je ovšem způsoben jednou extrémní hodnotou ze vzorku K3 ($1,055 \pm 0,141 \mu\text{g/g}$). Tato extrémní hodnota není ojedinělá a můžeme ji pozorovat i u výsledků obsahu Mn ($291,6 \pm 12,4 \mu\text{g/g}$) a Cd ($1,241 \pm 0,092 \mu\text{g/g}$), kde takový řádový rozdíl v obsahu vidíme u vzorku R4. Za zajímavé pozorování lze označit, že zvýšené obsahy Cd a Mn se nepotvrdily v případě výsledků pro jitrocel a kopřivu odebrané v těsné blízkosti na louce ve Valašské Bystřici, ale došlo k výrazné akumulaci Mo v kopřivě a Ba, Ni, Cu, Zn, Mn v jitroceli (2 – 3x vyšší obsahy). Na druhou stranu žádná z lokalit nevykazuje současně zvýšené obsahy kovů pro 2-3 testované léčivé rostliny. Nakonec byla ve vzorcích bylin stanovená rtuť pomocí jednoúčelového analyzátoru a nejvyšší stopový obsah rtuti byl zaznamenán u vzorku J2 ($0,018 \pm 0,002 \mu\text{g/g}$). Prvky jako stroncium, baryum a vápník jsou především akumulovány v listech kopřivy i jitrocele, nicméně do květů řebříčku neprostupují. Při porovnání vzorků bylin se současnými limity v nařízeních a dle předložené rešerše v Tab. I až V lze zhodnotit následující: Obsahy Cd ve všech analyzovaných vzorcích rostlin nepřekročili nařízení komise EU č. 1881/2006, č. 420/2011, kdy je limit stanoven na $1,00 \mu\text{g/g}$ až na jeden vzorek řebříčku R4 s hodnotou $1,241 \pm 0,092 \mu\text{g/g}$. To samé nařízení je platné i pro obsah Pb s limitem $3,00 \mu\text{g/g}$, přičemž tento limit splňují všechny analyzované vzorky. U Cr se pohyboval obsah většiny analyzovaných vzorků kolem $2 \mu\text{g/g}$ až na jednu nadlimitní hodnotu $8,91 \pm 1,21 \mu\text{g/g}$ u vzorku R3. Prvky jako As, Co a B byly u vzorků bylin ve většině případů pod mezí detekce, respektive mezí stanovitelnosti. Obsahy Mg se u vzorků kopřiv pohybovaly od 2581 až po 5886 $\mu\text{g/g}$, což jsou srovnatelné výsledky s článkem v Tab. V, kdy jejich hodnoty Mg se pohybovaly od 1400 do 4000 $\mu\text{g/g}$. Naopak tomu bylo u Mn, kdy změřené obsahy vzorků kopřiv K1 až K5 se pohybují od 16,6 až do 74,7 $\mu\text{g/g}$, avšak publikované hodnoty obsahů pro kopřivu se pohybovaly od 12 do 27 $\mu\text{g/g}$. Pro nikl u vzorků kopřiv se obsahy pohybovaly kolem 1,5 $\mu\text{g/g}$, což je mnohonásobně méně než u článku z Tab. III, kdy jejich nejvyšší obsah Ni byl zjištěn právě u kopřivy s hodnotou 13,1 $\mu\text{g/g}$. Srovnatelné hodnoty jsou také u vanadu, kdy obsahy ze článku v Tab. III se pohybují v rozmezí 0,083 až 0,912 $\mu\text{g/g}$ a všechny námi analyzované vzorky bylin od 0,063 do 1,479 $\mu\text{g/g}$. Průměrné obsahy pro vybrané kovy lišící se v jednotlivých léčivých rostlinách jsou zobrazeny na Obr. 21.



Obr. 21 Porovnání průměrných obsahů vybraných kovů v kopřivě dvoudomé, jitroceli kopinatém a řebříčku obecném pro Ni, Pb, Sr a Ba

Tab. XVII Kopřiva dvoudomá – obsah prvků v µg/g

Prvek	Obsah ($\bar{x} \pm U$, µg/g)				
	K1	K2	K3	K4	K5
B	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
V	0,128 ± 0,021	0,420 ± 0,069	1,479 ± 0,242	0,157 ± 0,026	0,116 ± 0,019
Cr	2,63 ± 0,36	1,91 ± 0,26	2,79 ± 0,38	0,59 ± 0,08	1,41 ± 0,19
Co	<LOQ	0,295 ± 0,021	0,562 ± 0,041	<LOQ	<LOD
Ni	1,50 ± 0,09	1,46 ± 0,08	1,82 ± 0,11	0,54 ± 0,03	1,37 ± 0,08
Cu	8,73 ± 0,81	10,47 ± 0,97	6,72 ± 0,62	8,30 ± 0,77	12,23 ± 1,13
Zn	29,8 ± 5,3	26,4 ± 4,7	15,1 ± 2,7	13,7 ± 2,4	31,3 ± 5,6
As	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Sr	67,9 ± 8,2	72,5 ± 8,8	76,8 ± 9,3	107,0 ± 13,0	74,3 ± 9,0
Mo	12,98 ± 1,92	5,79 ± 0,86	3,84 ± 0,57	3,59 ± 0,53	3,18 ± 0,47
Cd	<LOQ	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD
Ba	43,5 ± 6,2	18,6 ± 2,6	29,9 ± 4,2	53,8 ± 7,6	27,5 ± 3,9
Pb	0,205 ± 0,027	0,397 ± 0,053	1,055 ± 0,141	0,137 ± 0,018	0,156 ± 0,021
Mg	2968 ± 370	5886 ± 734	3883 ± 484	2581 ± 322	3189 ± 398
Al	80,9 ± 23,3	299,4 ± 86,2	737,1 ± 212,3	101,2 ± 29,1	81,0 ± 23,3
Ca	17142 ± 11291	19534 ± 12867	25469 ± 16777	30635 ± 20180	13847 ± 9121
Mn	68,6 ± 2,9	74,7 ± 3,2	44,9 ± 1,9	16,6 ± 0,7	54,5 ± 2,3
Fe	115 ± 16	242 ± 34	734 ± 104	116 ± 16	118 ± 17
Hg	0,009 ± 0,002	0,008 ± 0,002	0,014 ± 0,001	0,008 ± 0,002	0,009 ± 0,002

<LOD prvek nebyl detekován, <LOQ prvek nebyl stanoven, ale detekován

Tab. XVIII Jitrocel kopinatý – obsah prvků v µg/g

Prvek	Obsah ($\bar{x} \pm U$, µg/g)			
	J1	J2	J3	J4
B	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
V	0,073 ± 0,012	0,659 ± 0,108	0,063 ± 0,010	0,137 ± 0,022
Cr	2,32 ± 0,32	2,35 ± 0,32	1,88 ± 0,26	1,13 ± 0,15
Co	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Ni	1,51 ± 0,09	1,22 ± 0,07	3,87 ± 0,22	0,80 ± 0,05
Cu	11,53 ± 1,06	7,13 ± 0,66	12,72 ± 1,18	8,26 ± 0,76
Zn	39,8 ± 7,1	35,6 ± 6,3	66,6 ± 11,9	36,6 ± 6,5
As	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Sr	51,2 ± 6,2	90,8 ± 11,0	82,2 ± 10,0	61,6 ± 7,5
Mo	1,12 ± 0,17	2,26 ± 0,34	0,55 ± 0,08	2,45 ± 0,36
Cd	0,172 ± 0,013	0,107 ± 0,008	0,762 ± 0,056	0,089 ± 0,007
Ba	79,7 ± 11,3	77,9 ± 11,1	136,8 ± 19,4	65,9 ± 9,3
Pb	0,161 ± 0,021	0,359 ± 0,048	0,165 ± 0,022	0,304 ± 0,040
Mg	1879 ± 234	4577 ± 571	3892 ± 485	2392 ± 298
Al	50,8 ± 14,6	459,3 ± 132,3	51,1 ± 14,7	101,8 ± 29,3
Ca	13124 ± 8645	21075 ± 13882	10582 ± 6970	13375 ± 8810
Mn	13,7 ± 0,6	19,3 ± 0,8	103,5 ± 4,4	16,3 ± 0,7
Fe	81,2 ± 11,5	311,6 ± 44,2	71,4 ± 10,1	90,8 ± 12,9
Hg	0,015 ± 0,002	0,018 ± 0,002	0,006 ± 0,001	0,012 ± 0,001

<LOD prvek nebyl detekován, <LOQ prvek nebyl stanoven, ale detekován

Tab. XIX Řebříček obecný – obsah prvků v µg/g

Prvek	Obsah ($\bar{x} \pm U$, µg/g)			
	R1	R2	R3	R4
B	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
V	0,206 ± 0,034	0,167 ± 0,027	0,191 ± 0,031	0,089 ± 0,015
Cr	1,74 ± 0,24	1,51 ± 0,21	8,91 ± 1,21	6,13 ± 0,83
Co	0,294 ± 0,021	<LOQ	0,515 ± 0,037	0,491 ± 0,036
Ni	2,68 ± 0,16	4,68 ± 0,27	6,31 ± 0,36	10,65 ± 0,62
Cu	13,3 ± 1,2	12,9 ± 1,2	10,4 ± 1,0	20,4 ± 1,9
Zn	42,5 ± 7,6	31,7 ± 5,7	27,3 ± 4,9	73,3 ± 13,1
As	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Sr	9,7 ± 1,2	13,2 ± 1,6	11,6 ± 1,4	14,9 ± 1,8
Mo	1,68 ± 0,25	2,07 ± 0,31	1,58 ± 0,23	0,30 ± 0,04
Cd	0,205 ± 0,015	0,062 ± 0,005	0,092 ± 0,007	1,241 ± 0,092
Ba	6,67 ± 0,95	4,44 ± 0,63	4,24 ± 0,60	13,27 ± 1,88
Pb	0,253 ± 0,034	0,126 ± 0,017	0,113 ± 0,015	<LOQ
Mg	1933 ± 241	2175 ± 271	3185 ± 397	2511 ± 313
Al	119,7 ± 34,5	102,5 ± 29,5	106,9 ± 30,8	57,5 ± 16,6
Ca	4764 ± 3138	5804 ± 3824	5751 ± 3789	5521 ± 3637
Mn	33,4 ± 1,4	16,0 ± 0,7	32,8 ± 1,4	291,6 ± 12,4
Fe	129,9 ± 18,4	93,4 ± 13,3	113,3 ± 16,1	98,3 ± 13,9
Hg	0,004 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,003 ± 0,001	0,005 ± 0,001

<LOD prvek nebyl detekován, <LOQ prvek nebyl stanoven, ale detekován

4.3 Prvková analýza ve vzorcích půd

Vzorky půd odebrané v těsné blízkosti léčivých bylin byly podrobeny extrakci s využitím roztoku Mehlich III s následným kvantitativním stanovením Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn pomocí ICP-MS. Obsahy testovaných prvků v půdách byly převedeny z $\mu\text{g}/\text{kg}$ na $\mu\text{g}/\text{g}$ a souhrn výsledků je uveden v Tab. XX. Obsahy všech testovaných prvků v půdách splnily požadavky dle platné vyhlášky č. 153/2016 Sb., a to kromě jedné extrémní hodnoty ($218 \mu\text{g}/\text{g}$) Zn u vzorku K5P (Valašská Bystřice, cesta v blízkosti skládky komunálního odpadu), kdy maximální povolený obsah je $120 \mu\text{g}/\text{g}$ Zn pro běžné půdy. V porovnání s ostatními lokalitami, půda odebraná v lokalitě Valašská Bystřice, louka obsahuje nejnižší množství těžkých a biogenních prvků, což by tuto lokalitu předurčovalo pro sběr léčivých bylin. Nicméně v porovnání s celkovým obsahem těžkých prvků (Cd, As, Pb, Hg) v jednotlivých druzích bylin byl v této lokalitě stanoven nejvyšší obsah Pb v řebříčku obecném a Cd v jitroceli kopinatém. Dále lze poukázat na řádově odlišnou hodnotu Zn ve vzorku půdy K5P ($218 \mu\text{g}/\text{g}$), přičemž tato hodnota nekoreluje s hodnotou ze vzorku rostliny K5 a podobný případ je naopak i se vzorky rostlin řebříčků R4 u Mn ($291 \mu\text{g}/\text{g}$) a R3 pro Cr ($8,91 \mu\text{g}/\text{g}$), které taktéž nekorelují se svými vzorky půd R4P a R3P. Z výše uvedeného vyplývá, že na akumulaci kovů v rostlinách nemusí mít až tak velkých vliv samotné půdní podloží, ale jiné faktory, které mohou hrát důležitou roli a to zejména pH, rozpustnost kovů/minerálů, druh rostliny, stádium růstu rostliny (u kopřiv je doporučováno sbírat mladé rostliny, které však mohou mít tendenci akumulovat vyšší koncentrace všech nezbytných prvků pro růst a tím pádem akumulovat i těžké kovy), kořenový systém nebo mikrobiální interakce (vliv mikroorganismů na proces přijímání živin a zároveň těžkých kovů). Z výsledků analýzy půd zároveň vyplývá, že blízké lokality sběru mezi sebou v obsahu prvků často korelují a lze tak říct, že je do určité míry půda v dané lokalitě homogenní a její složení není příliš odlišné, pokud se posuneme o pár set metrů dál. Je potřeba upozornit i na to, že ne vždy se i obyčejná louka může zdát jako ideální zdroj sběru, ostatně to potvrzují výsledky vzorků půd i bylin v oblasti Valašské Bystřice. Celkově lze shrnout, že ze všech tří bylin v průměru v obsahu všech analyzovaných prvků na tom vychází nejhůře kopřiva, a to jak její vzorky, tak i vzorky půd, nicméně vzhledem ke stanovištím, na kterých kopřiva roste je to více než pochopitelné.

Tab. XX Vzorky půd – obsahy prvků v µg/g (RL = 0,05 µg/g)

Prvek	Nový Jičín			Olomouc centrum		Olomouc Holice areál			Holice	Valašská Bystřice			
	J1 P	R1 P	K4 P	J4 P	R3 P	K2 P	J2 P	R2 P	K3 P	K5 P	J3 P	R4 P	K1 P
	Obsah (µg/g)												
B	4,02	4,64	4,36	4,86	3,60	4,61	3,31	2,87	5,44	5,47	5,25	5,24	6,05
V	0,701	0,880	0,610	0,579	0,426	0,893	0,440	0,707	1,031	0,131	0,242	0,157	0,996
Cr	0,109	0,221	0,141	0,075	0,053	0,074	0,050	0,083	0,443	0,078	0,099	0,077	0,152
Co	0,347	0,347	0,840	0,463	0,387	0,577	0,574	0,549	0,290	0,369	0,191	0,139	0,260
Ni	0,918	1,017	1,569	0,704	0,763	1,197	0,800	0,657	0,966	1,528	1,071	1,459	1,332
Cu	3,49	3,94	2,73	3,71	3,06	4,19	2,80	3,28	4,27	4,10	3,26	2,30	5,93
Zn	4,48	9,72	5,22	18,44	22,05	16,49	4,73	4,23	10,15	218	6,56	11,41	59,25
As	0,156	0,178	0,135	0,244	0,189	0,262	0,189	0,194	0,308	0,184	0,072	0,077	0,522
Sr	12,70	15,82	17,94	12,05	10,95	16,60	9,33	12,58	19,38	14,30	3,82	4,13	14,62
Mo	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL	<LTRL
Cd	0,284	0,241	0,150	0,152	0,156	0,178	0,120	0,135	0,077	0,282	0,246	0,186	0,460
Ba	31,3	40,1	59,7	25,5	43,2	42,1	32,6	40,9	21,2	51,9	61,0	45,4	68,8
Pb	9,89	9,22	6,68	13,55	9,89	13,59	7,23	9,46	8,94	8,22	8,31	5,82	14,36
Mg	203	368	202	263	375	307	332	268	341	356	87	155	198
Al	238	549	464	314	397	397	367	449	776	488	860	652	859
Ca	4772	2965	3888	3258	2486	2328	1600	1772	7434	2727	541	645	3123
Mn	70,6	96,3	103,6	85,7	86,7	98,5	37,0	51,5	62,8	85,3	57,0	59,6	85,2
Fe	192	309	255	190	210	277	223	202	327	132	212	248	236

5 Závěr

Pro prvkovou analýzu (Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn) byly zvoleny tři druhy léčivých rostlin, a to kopřiva dvoudomá, jitrocel kopinatý a řebříček obecný včetně vzorků půd odebraných v těsné blízkosti, tak aby bylo možné korelovat nalezené obsahy prvků. Celkem bylo odebráno 13 vzorků bylin a půd ze tří hlavních lokalit, a to z Moravskoslezského kraje (Nový Jičín), Olomouckého kraje (Olomouc) a Zlínského kraje (Valašská Bystřice). Pro analýzu byly využity listy (kopřiva a jitrocel), tak květy (řebříček) a sběr bylin i půd probíhal od května do srpna. Před vlastní ICP-MS analýzou prvků bylo potřeba vzorky usušit, homogenizovat a v případě bylin byl proveden mikrovlnný rozklad v uzavřeném systému a u půd extrakce podle Mehlich III.

V rámci experimentální části byly validovány dvě ICP-MS metody v rozsahu validačních parametrů: linearita, LOD, LOQ, preciznosti a pravdivosti. Součástí validace ICP-MS metod byl i výpočet kombinované a rozšířené nejistoty měření, kdy pro výpočet byla použita validační data naměřená s využitím matricového CRM. Kalibrační křivky byly pro všechny změřené prvky lineární a korelační koeficienty se pohybovaly v rozmezí 0,9997 až 1,0000. Preciznost a pravdivost byla stanovena pomocí dvou certifikovaných referenčních materiálů, a to zeleného čaje a jahodového listí. Pro preciznost byla vypočítána relativní směrodatná odchylka (RSD) jednotlivých prvků, která se pohybovala od 1 % až do 11 %. Pravdivost byla stanovena jako výtěžnost v procentech, přičemž pro většinu prvků byla výtěžnost v rozsahu 92 % až 112 %, kromě vápníku (68 %) a boru (148 %). Validací parametry byly splněny pro všechny prvky, kromě dvou již zmíněných, a to vápníku a boru pro pravdivost.

ICP-MS metody byly využity pro stanovení 18 prvků, přičemž rtuť byla stanovena samostatně na jednoúčelovém atomovém absorpčním spektrometru AMA 254 (národní referenční laboratoř pro kovy a dusíkaté sloučeniny – oddělení cizorodých látek Kroměříž, SVÚ Olomouc). Získané výsledky byly vyhodnoceny na základě vypočítaných LOD a LOQ. ICP-MS analýza potvrdila bezpečnost samosběru a užívání uvedených bylin z pohledu obsahu těžkých i esenciálních kovů. Nicméně lze pozorovat rozdíly v obsazích jednotlivých kovů mezi jednotlivými léčivými rostlinami, ale i v rámci jednotlivých skupin s ohledem na místo sběru léčivých rostlin. Při srovnání všech dostupných výsledků pro jednotlivé odběrové lokality bez ohledu na druh rostliny bylo zjištěno, že nejvyšší obsahy Ni, Cu, Zn, Cd, Mn, Ba byly stanoveny ve vzorcích odebraných na louce ve Valašské Bystřici.

Celkově nejvyšší obsahy byly stanoveny u prvků B, V, Cu, As, Cd, Ba a Pb ze vzorku půd kopřivy na zahradě ve Valašské Bystřici. Naopak prvky jako As, Cd, Co a B nebyly většinou detekovány nebo nebyly stanoveny. Na druhou stranu žádná z lokalit nevykazuje současně zvýšené obsahy kovů pro 2-3 testované léčivé rostliny. Závěrem lze říct, že akumulace (fytoextrakce) kovů nezávisí pouze na lokalitě, ale i na daném druhu léčivé rostliny či přesněji kombinace vícero parametrů včetně vlastností půdy, půdního mikrobiomu, stupně urbanizace apod.

6 Seznam použité literatury

- [1] S. Wilschefski, M. Baxter, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects, *Clin. Biochem. Rev.* 40 (2019) 115-133.
- [2] <https://www.jcu.edu.au/advanced-analytical-centre/analytical-facilities/all-instruments/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometer-icp-ms>, staženo 4. srpna 2023.
- [3] K. Sukender, S. Jaspreet, D. Sneha, G. Munish, AAS Estimation of Heavy Metals and Trace elements in Indian Herbal Cosmetic Preparations, *Res. J. Chem. Sci.* 2(3) (2012) 46-51.
- [4] M. Knauerová, J. Drnková, *Atlas bylin*, Edika, Brno 2017.
- [5] https://cs.wikipedia.org/wiki/Kop%C5%99iva_dvoudom%C3%A1, staženo 3. října 2023.
- [6] <https://www.bylinkyprovsechny.cz/byliny-kere-stromy/byliny/90-kopriva-dvoudoma-ucinky-na-zdravi-co-leci-pouziti-uzivani>, staženo 3. října 2023.
- [7] <http://www.fotodoma.cz/rostliny-plantae/kopriva-dvoudoma/>, staženo 21. února 2024.
- [8] <https://www.naturway.cz/atlas-bylin/jitrocel-kopinaty>, staženo 4. října 2023.
- [9] <https://www.pharmapoint.cz/herbar/jitrocel-kopinaty/>, staženo 4. října 2023.
- [10] https://web2.mendelu.cz/af_211_multitext/systematika/ucebni_text/system/kryto-semenne/dvoudelozne/jitrocelovite/Plantago_lanceolata.html, staženo 23. února 2024.
- [11] <https://www.herbalista.cz/bylinky/rebricek-obecnny-achillea-millefolium/>, staženo 5. října 2023.
- [12] https://web2.mendelu.cz/af_211_multitext/systematika/ucebni_text/system/kryto-semenne/dvoudelozne/hvezdnicovite/Achillea_millefolium.html, staženo 22. února 2024.
- [13] R. Bock, *A Handbook for Decomposition Methods in Analytical Chemistry*, Wiley, USA 1979.
- [14] R. Thomas, *Practical Guide to ICP-MS*, CRC Press, New York, 2008.
- [15] J.S. Becker, *Inorganic Mass Spectrometry*, Wiley, Anglie 2007.

- [16] https://www.lambda-at.com/basic_principles_of_microwave_digestion.html, staženo 25. října 2023.
- [17] E. Asrari, Heavy metal contamination of water and soil: Analysis, Assessment, and Remediation Strategies, Apple Academic Press, New York 2014.
- [18] <https://www.lenntech.com/processes/heavy/heavy-metals/heavy-metals.htm>, staženo 26. října 2023.
- [19] <https://www.epa.gov/caddis-vol2/metals>, staženo 29. října 2023.
- [20] S. Mitra, A.J. Chakraborty, A.M. Tareq, T.B. Emran, F. Nainu, A. Khusro, A.M. Idris, M.U. Khandaker, H. Osman, F.A. Alhumaydhi, J. Simal-Gandara, Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity, J. King Saud Univ., Sci. 34 (2022) 1-16.
- [21] <https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/TCH-1815551-NexION-5000-ICP-MS-Interferences.pdf>, staženo 16. března 2024.
- [22] J. Grepl, Prvková analýza rostlinných olejů a tuků, bakalářská práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2023.
- [23] M. Ručka, Aplikace technik atomové spektroskopie pro kontrolu kvality farmaceutické výroby, bakalářská práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2018.
- [24] V. Kanický, J. Kučera, V. Tomášek, V. Helán, Analýza anorganických látek, 2 Theta, Český Těšín 2023.
- [25] https://www.agilent.com/cs/library/articlereprints/Public/5990_5955EN%20HR.pdf, staženo 1. dubna 2024.
- [26] A. Filipiak-Szok, M. Kurzawa, M. Cichosz, E. Szłyk, Elemental Analysis of Medicinal Herbs and Dietary Supplements, Anal. Lett. 48 (2015) 2626-2638.
- [27] S. Kilic, M. Soylak, Determination of trace element contaminants in herbal teas using ICP-MS by different sample preparation method, J. Food Sci. Technol. 57 (2020) 927-933.
- [28] Ş. Tokaloğlu, Determination of trace elements in commonly consumed medicinal herbs by ICP-MS and multivariate analysis, Food Chem. 134 (2012) 2504-2508.
- [29] A. Filipiak-Szok, M. Kurzawa, E. Szłyk, Determination of toxic metals by ICP-MS in Asiatic and European medicinal plants and dietary supplements, J. Trace Elem. Med. Biol. 30 (2015) 54-58.

- [30] T.M.A.M. Thabit, D.I.H. Elgeddawy, S.A. Shokr, Determination of Some Common Heavy Metals and Radionuclides in Some Medicinal Herbs Using ICP-MS/MS, *J. Aoac Int.* 103 (2020) 1282-1287.
- [31] L. Luo, B. Wang, J. Jiang, M. Fitzgerald, Q. Huang, Z. Yu, H. Li, J. Zhang, J. Wei, C. Yang, H. Zhang, L. Dong, S. Chen, Heavy Metal Contaminations in Herbal Medicines: Determination, Comprehensive Risk Assessments, and Solutions, *Front. Pharmacol.* 11 (2021) 1-14.
- [32] L.M. de Oliveira, S. Das, E.B. da Silva, P. Gao, J. Gress, Y. Liu, L.Q. Ma, Metal concentrations in traditional and herbal teas and their potential risks to human health, *Sci. Total Environ.* 633 (2018) 649-657.
- [33] I. Shtangeeva, M. Niemelä, A. Ryumin, V. Chelibanov, A. Golovin, I. Vesavaara, P. Perämäki, Short-term Variability of Macro- and Trace Elements in *Elymus Repens* L. and *Urtica Dioica* L, *Front. Biosci., Elite Ed.* 14 (2022) 2-10.
- [34] G.A. Barboiu, C. Radulescu, I.V. Popescu, I.D. Dulama, I.A. Bucurica, S. Teodorescu, R.M. Stirbescu, N.M. Tanase, POTENTIAL HEALTH RISK ASSESSMENT ASSOCIATED WITH HEAVY METAL ACCUMULATION IN NATIVE *URTICA DIOICA*, *Rom. Rep. Phys.* 72 (2020) 2-12.
- [35] V. Červený, E. Klokočnicková, S. Kříženecká, D. Milde, A. Nižnanská, Z. Plizák, M. Suchánek, J. Vilímc, *Kvalimetrie 23. Měření v chemii: Stručný přehled metrologie v chemii*, Eurachem ČR, Ústí nad Labem 2018.