

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



**Stanovení změn koncentrace hliníku v odvaru a digestátu
*Hibiscus sabdariffa***

Bakalářská práce

Autor práce: Denisa Binderová

Vedoucí práce: Ing. Miroslava Potůčková

estné prohlá-ení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Stanovení změn koncentrace hliníku v odvaru a digestátu *Hibiscus sabdariffa*" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 15.4.2016

Podkování

Ráda bych touto cestou podkovala Ing. Miroslav Potkové za veškerý čas, který mi vnovala, za odborné a cenné rady a také za obrovskou vstřícnost a trpělivost při zpracování této práce. Dále bych ráda podkovala panu doc. Ing. Drábkovi, Ph.D. za ochotu a zmešlení potěbných vzorků a také dalším lidem z katedry pedologie a ochrany půdy, kteří mi velmi pomohli v metodické části.

Stanovení změn koncentrace hliníku v odvaru a digestátu *Hibiscus sabdariffa*

Souhrn

Tato bakalářská práce se zabývala charakterizací obsahu hliníku v odvaru a digestátu ibi-ku súdánského (*Hibiscus sabdariffa*), jehož sušené části jsou často používány pro přípravu jednodruhových i směsných bylinných i ovocných čajů po celém světě. Tento prvek je totiž při nadměrné expozici v lidském organismu toxický. Množství hliníku, které lidský trávicí trakt s určitou potravinářskou maticí přijme a je schopen vstřebat, závisí na mnoha faktorech, například na formě přítomného prvku, fyzikálně-chemických vlastnostech potraviny a v neposlední řadě také na jejich společném chování v lidské gastrointestinální soustavě. Koncentrace hliníku v samotné sušené rostlinné matici ibi-ku súdánského je dána mimo jiné schopností rostliny akumulovat v půdě přítomný prvek a vytvářet ve svých pletivech komplexy, díky kterým se chrání před jeho toxicitou.

V praktické části bakalářské práce proběhlo stanovení množství hliníku v sušené rostlinné matici 8 čajů z ibi-kové květiny, jejich nálevu a digestátu emisní spektrometrií s indukovaným vázaným plazmatem (ICP-OES). Tráveniny odvarů byly připraveny podle aktuální verze statického *in vitro* gastrointestinálního modelu Infogest Working Group. Bylo zjištěno, že obsah prvku v rostlinné matici nebyl ovlivněn ($p < 0,05$) způsobem zemědělské produkce (konvenční × ekologické) ani zeměpůdou. Ze sušeného ibi-kové květiny pak přešlo do jeho odvaru pouze průměrně 5 % vodního množství hliníku, je-li nebylo ($p < 0,05$) přímo úměrné výchozímu obsahu. Po průchodu nálev simulovaným trávicím procesem byl zaznamenán statisticky významný ($p > 0,05$) nárůst koncentrace prvku. Pozorované zvýšení obsahu hliníku bylo pravděpodobně způsobeno kyselým pH flukuidní fáze trávení, díky kterému přešel prvek do dobře rozpustných a tím lépe vstřebatelných forem.

Klíčová slova: hliník, ibi-ek súdánský, *in vitro* trávení, metabolismus, toxicita

Determination of aluminium concentration changes in infusion and digesta of *Hibiscus sabdariffa*

Summary

The aim of this bachelor thesis was to characterize aluminium content in infusion and digestate of *Hibiscus sabdariffa* tea. Dried Hibiscus is worldwide used for the manufacture of herbal or fruit tea. Aluminium is at excessive exposure toxic for human organism. The amount of this element which is human gastrointestinal tract able to intake and absorb depends on many factors such as the form of it, physico-chemical properties of a food matrix and on their behavior in the human gastrointestinal system. The concentration of aluminum in the dried plant matrix is influenced by the ability of plant to accumulate element from the soil and create aluminium complexes in tissues. This process protects plant against aluminium toxicity.

In experimental part of bachelor thesis was determined the amount of aluminum in dried plant matrix of 8 herbal teas of hibiscus flower, their infusions and digestates by emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP-OES). Digestates from infusions were prepared according to the current version of the static *in vitro* gastrointestinal model Infogest Working Group. The content of the element in plant matrix was not ($p < 0.05$) effect by the type of agricultural production (conventional \times ecological) or country of origin. From dried hibiscus flowers passed only cca 5 % of aluminium into the infusion and this amount was not ($p < 0.05$) proportional to the initial content of element. There was a statistically significant ($p > 0.05$) increase in the concentration of aluminium after infusions digestion via simulated gastrointestinal process. The observed increase of aluminum content was probably caused by the acidic pH of the gastric phase of digestion where aluminium passed into well soluble and therefore better absorbable forms.

Keywords: aluminium, *Hibiscus sabdariffa*, *in vitro* digestion, metabolism, toxicity

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce	2
3 Literární re-er-e	3
3.1 Hliník	3
3.1.1 Formy hliníku	3
3.1.2 Vstup hliníku do lidského organismu	5
3.1.3 Vst ebávání a vylu ování hliníku v lidském organismu	8
3.1.4 Biologická aktivita hliníku	10
3.1.5 Vliv hliníku na zdraví.....	10
3.2 aj	12
3.2.1 Rozd lení aj	12
3.2.2 Ibi-ek súdánský	12
3.2.3 Biologická aktivita ibi-ku súdánského	14
3.3 Hliník v ajích	16
3.3.1 Hliník v pravých ajích	17
3.3.2 Hliník v bylinných ajích	18
3.3.3 Hliník v ajích obsahujících ibi-ek súdánský	19
4 Materiály a metody	20
4.1 Materiály, chemikálie, p ístroje a za ízení	20
4.1.1 Materiály.....	20
4.1.2 Chemikálie	21
4.1.3 P ístroje a za ízení.....	21
4.2 Metody	22
4.2.1 P íprava nálevu pro <i>in vitro</i> trávení	22
4.2.2 <i>In vitro</i> trávení (Infogest Working Group, 2016)	22
4.2.3 M ení koncentrace hliníku	23
4.3 Statistická analýza	24
5 Výsledky	25
6 Diskuze	31
7 Záv r	33
8 Seznam poufité literatury	35
9 Seznam zkratek	40

1 Úvod

Ibi-ek súdánský (*Hibiscus sabdariffa*) je po celém světě hojně využíván, a jím k přípravě pokrmů, krmiv, kosmetiky a dalších produktů, tak i přípravě nápojů. V některých zemích se stalo pití ibi-kového čaje tradicí. V České republice ho lze sehnat jako samostatný bylinný čaj nebo je součástí ovocných čajů, kde tvoří převážnou část sušených rostlin. Ibi-ek je díky obsahu některých látek doporučen mimo jiné pro prevenci některých onemocnění nebo i pro lidi trpící například na onemocnění ledvin, ale také se doporučuje i u hotných a kojících žen i dále, protože neobsahuje povzbuzující látky. Ibi-ek súdánský však patří mezi rostliny, které jsou schopné ve svých pletivech akumulovat pro lidský organismus toxický prvek - hliník. Některé rostliny tento prvek akumulují a nevykazují jakékoliv známky toxicity díky tomu, že si ve svých pletivech vytváří neškodné komplexy. Hliník se však při určitých podmínkách z těchto komplexů může uvolňovat a při konzumaci dostávat do lidského organismu, kde může působit toxicky. V jaké míře se prvek z komplexu uvolní a vstřebá do organismu závisí na mnoha faktorech, a ufl to jsou fyzikálně-chemické vlastnosti potravin a tedy i forma prvku, tak i způsob, jakým je potrava přijata. Existují totiž látky, které vstřebání hliníku mohou podpořit nebo naopak inhibovat. Velký vliv na uvolnění prvku z nevídatelných komplexů má například pH prostředí. Nadměrnému příjmu hliníku je doporučováno se vyhnout u hotných žen, dětí a také u lidí trpících ledvinovými chorobami. Pro něj je maximální doporučené množství sníženo Světovou zdravotnickou organizací (WHO) pod 0,05 mg/l. Vzhledem k tomu je významné charakterizovat množství prvku v různých druzích potravinářských matric, které jsou běžně konzumovány a mohou být rizikové pro citlivé skupiny obyvatelstva.

2 Cíl práce

Hypotéza: Koncentrace hliníku v odvaru a digestátu ibi-kového čaje je závislá na rostlinné matrici, formě obsaženého prvku a přípravě nálevu.

Cílem bakalářské práce je v teoretické části zpracování literární rešerše shrnující současně poznatky o obsahu hliníku v rostlinách používaných k přípravě bylinných, ovocných a pravých čajů a faktorech, které jej ovlivňují. V praktické části pak bude provedeno stanovení koncentrace hliníku v sušené rostlinné hmotě *Hibiscus sabdariffa*, jejím odvaru a digestátu pomocí ICP-OES.

3 Literární re-er-e

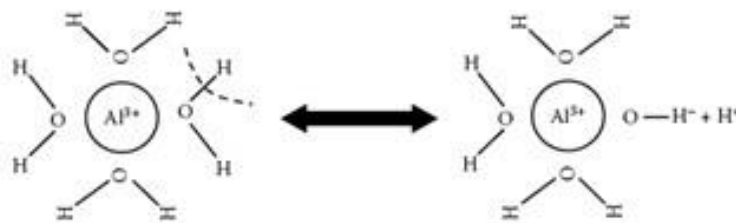
3.1 Hliník

Hliník (Al) je třetí nejrozšířenější prvek na Zemi, hned po kyslíku a křemíku. Zaujímá zhruba 8 % zemské kůry a nachází se v různých minerálech, například v flivcích a slídách (aluminosilikáty). Průmyslově je těžen především ve formě bauxitu ($\text{Al}_2\text{O}_3 \times \text{H}_2\text{O}$) a má široké využití, mimo jiné i jako stavební a obalový materiál (Health Canada, 1998). Al je, díky své rozpustnosti, těženou součástí atmosféry, podzemní a zejména povrchové vody, rostlin a živočichů. Do životního prostředí je tento prvek uvolňován hlavně průrodnými procesy a projevy lidské činnosti jako jsou sopečné erupce, eroze podzemí, zemědělská činnost nebo spalování uhlí. Množství Al v daném prostředí je pak závislé na jeho kyselosti, která ovlivňuje rozpustnost prvku. Ta je nejnižší v rozmezí pH 5,5 až 6,0 a narůstá při vyšších i nižších hodnotách aktivní kyselosti. Zvýšený obsah volného prvku ve vodních zdrojích tak mohou podpořit i kyselé deště (ISO 12020, 1997; Jones et Bennett, 1986; WHO, 2004).

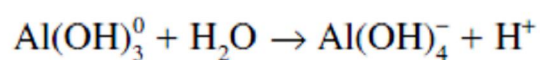
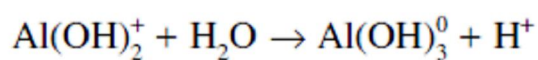
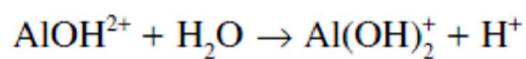
3.1.1 Formy hliníku

Forma Al, v níž se vyskytuje v různých anorganických a organických komplexech, ovlivňuje jeho rozpustnost a tím i pohyblivost v prostředí, biologickou dostupnost a toxicitu. Mezi nejběžší anorganické sloučeniny tohoto prvku patří hydroxidy, křemičitany, oxidy a komplexy na bázi fluoridů, fosforenanů, chloridů a síranů. Z organických forem jsou to pak zejména sloučeniny s fulvovými a huminovými kyselinami. Většina ze jmenovaných látek je nerozpustná (Adams et Hathcock, 1984; Hue et al., 1986).

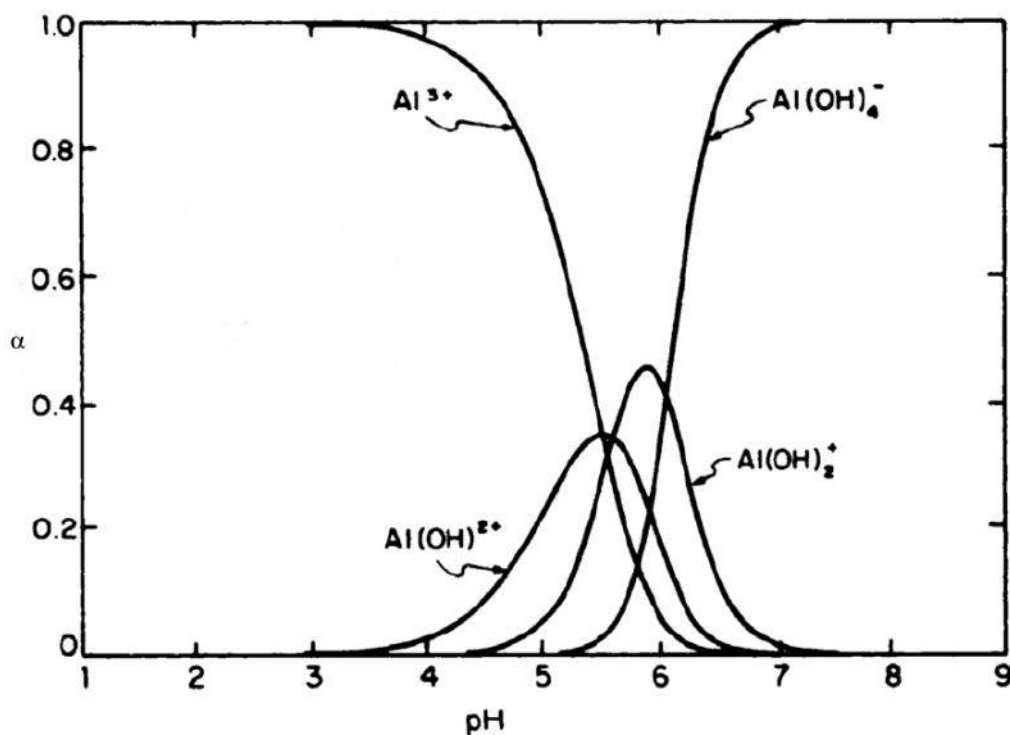
Jak již bylo řečeno, rozpustnost Al roste zejména při nižších hodnotách pH, kdy se uvolní volné kationty Al^{3+} . Ty patří, spolu s $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ (struktura uvedena na obr. 1), $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ a $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ (struktura uvedena na obr. 2) a labilními anorganickými komplexy s fluoridy nebo sírany, mezi formy pro flivé organismy toxické a závislost jejich výskytu na aktivní kyselosti prostředí je znázorněna na obr. 3 (Exley et House, 2012).



Obrázek 1: P echod Al^{3+} na $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ (Gregory, 2006).



Obrázek 2: P echod AlOH^{2+} na $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ (Essington, 2004).



Obrázek 3: Vliv pH prostředí na formy výskytu Al. α = celkový Al obsažený v roztoku (Martin, 1986).

3.1.2 Vstup hliníku do lidského organismu

Al může vstupovat do lidského organismu několika způsoby. Největší množství (asi 95 %) pochází z potravy, protože prvek je přirozenou součástí rostlinných a živočišných tkání a nachází se též v pitné vodě (< 5 %). S tím souvisí i použití určitého typu kuchyňského nádobí a aditiva. Podle studie Cabrera-Vique a Mesíase (2013) byly nejvyšší příjmy Al zaznamenány u lidí s vyšším příjmem zpracované stravy a konzerv, zatímco nejnižší příjmy byly prokázány při dodržování stedomořské stravy, která dává přednost čerstvým potravinám. Průměrný obsah Al ve vybraných potravinářských produktech je uveden v tab. 1. Jeho dalšími zdroji, který je přijímán gastrointestinálním traktem i intravenózně, jsou léky pro vnější užití (analgetika, přípravky proti nevolnosti a peroxidace žaludku) a vakcíny (na které sloučeniny Al dokáží zpomalit uvolnění antigenu a posilují imunogenicitu). Prvek může být dále absorbován částí respiračním systémem a v malém množství i kůže, nebo hlinité sloučeniny se používají také při výrobě kosmetických produktů, například krémů, očních stínů a rtěnek, ale i antiperspirantů, kde tyto látky napomáhají blokaci potních kanálků (Domingo, 2003; Lubkowska et Chlubek, 2014; Podda, 2001; Shaw et Tomljenovic, 2003; Yokel et Florence, 2006).

Tabulka 1: Průměrný obsah Al ve vybraných potravinářských produktech (Lubkowska et Chlubek, 2014).

Produkt	Obsah Al [$\mu\text{g/g}$ první váhy, $\mu\text{g/ml}$]	
	Průměr	Rozpětí
Byliny	19,00	8,20 - 26,00
Coca-Cola	0,70	0,30 - 1,30
Cukr a produkty na cukr bohaté	6,70	3,40 - 12,00
čaj	55,50	43,40 - 58,00
Chleba a koláče	7,40	3,40 - 22,00
Kakao a produkty z kaka	33,00	9,40 - 103,00
Káva	27,00	25,60 - 29,10
Koření	145,00	6,50 - 695,00
Kravné mléko	-	15,00 - 400,00
Luskoviny	9,30	3,20 - 16,00
Maso (i nakládané) a vnitřnosti	5,40	2,50 - 10,00
Mateřské mléko	-	4,00 - 65,00
Mléko a mléčné produkty	4,50	1,20 - 16,00
Motřské plody	3,40	1,40 - 6,60
Mouka a produkty z mouky	9,50	3,80 - 34,00
Nápoje	1,50	0,40 - 2,60
Olivový olej	0,04	0,02 - 0,07
Ovoce	2,70	0,70 - 7,90
Pivo	0,80	0,10 - 1,10
Ryby, konzervované ryby	3,20	1,20 - 5,50
Sójová bílkovina	-	500,00 - 2400,00
Sůl	5,60	0,50 - 15,00
Zelenina	-	0,70 - 33,00

Celková koncentrace Al v potravinách závisí nejen na jeho vlastním obsahu v dané surovině, ale také na dalších faktorech. Měly by být nastaveny podmínky, kterých technologických procesů během zpracování, balení a skladování, používáním typů potravinářských aditiv, v nichž se prvek nachází (například E541 (fosforenan sodnohlinitý) je obsažen v taveném sýru a v prášku do pečiva, tedy i v pekařských výrobcích, E559 (kemifitan hlinitý)

je protispékavá látka nacházející se v instantní kávě, sušeném mléku, kofeínu a flávonoidů a E173 (kovový pigment) se uplatňuje při zdobení dortů a cukrovinek a při výrobě potravinových obalů, a také poufťím hliníkových obalů a zejména v něm v hliníkovém nádobí, při jehož poufťí bylo zjištěno, že může dojít až k 10% zvýšení množství Al v potravíně (Cabrera - Vique et Mesías, 2013; Domingo, 2003; Solkiewicz et Lewandowski, 2000). Konečnou celkovou koncentraci ovlivní dále například délka a teplota záhřevu surovin, pH procesu, složení potraviny, respektive přítomnost dalších sloučenin (solí, organické kyseliny), a vývoj reakce (Rana et al. 2001; Cabrera et Mesías, 2013). Lze tedy říci, že i stravovací návyky a rostoucí spotřeba produktů s vysokým stupněm zpracování má vliv na množství prvku každodenně vstupujícího do lidského organismu (Cabrera et Mesías, 2013).

Přirozený obsah Al v pitné vodě závisí na fyzikálně-chemických a mineralogických faktorech. Jeho dalšími zdroji jsou pak hlinité soli vyuffřivané křemíkové vodě. Patří mezi ně zejména kamenec (síran hlinitý), který jako koagulant pomáhá při odstraňování barvy, zákalu a patogenních organismů, jako jsou viry a prvoci rodu *Giardia*. Konečná koncentrace prvku ve vodě je závislá jak na množství přidávaného kamence, tak na poufťím procesu křemíkové povrchové vody a jeho podmínkách (pH, teplota). Protože takto přidávaný Al je zčásti ve formě rozpustných látek včetně organických, tedy pro lidský organismus lépe absorbovatelný, množství koagulantu je optimalizováno tak, aby koncentrace zbytkového prvku byla co nejnižší (Health Canada, 1998; Miller et al., 1984; WHO, 2004).

Světová spotřeba Al na osobu je různorodá a liší se jak v rámci států a měst, tak podle jednotlivců. Světová zdravotnická organizace (WHO) stanovila hranici celkového maximálního doporučeného denního příjmu prvku na 5 mg/den. Množství přijatého Al v pitné vodě a nápojích by pak nemělo překročit 0,2 mg/l, přičemž v pitné vodě se běžně nachází okolo 0,1 mg Al. V současnosti jsou nejnižší průměrné hodnoty příjmu prvku na obyvatele zaznamenávány v Rakousku (1,9 - 2,4 mg/den), Nizozemsku (3,1 mg/den) nebo ve Spojeném království (3,9 mg/den). Doporučenou denní dávku podle WHO naopak překročí například Spojené státy americké (7,1 - 8,2 mg/den), Německo (8 - 11 mg/den) a Švédsko (13 mg/den) (WHO, 2004; Yokel et Florence, 2006). Tyto hodnoty vyjadřují množství podávané, přičemž vliv na lidský organismus má pak množství absorbované, tedy biologická dostupnost Al (Yokel et Florence, 2008).

3.1.3 Vstřebávání a vylučování hliníku v lidském organismu

Biologicky dostupné množství Al po jeho orálním příjmu se obvykle pohybuje v rozmezí 0,2 až 1,5 %. Tato hodnota je pravděpodobně ovlivněna mimo jiné velikostí dávky, dietními faktory, pH prostředí a tedy formou v ní obsaženého prvku. Bylo zjištěno, že kolikrát násobně většímu vstřebávání dochází u osob vystavených menším pravidelným dávkám (do 5 mg/den), nežli u nepravidelného příjmu vysokých dávek (1 - 3 g/den), a že s rostoucí dávkou absorpce u zdravých jedinců klesá (Health Canada, 1998).

Významnou úlohu při absorpci Al hraje tělko pro chod matrice gastrointestinálním traktem. Jak již bylo popsáno v kap. 3.1, prvek se nachází v dobře rozpustné a tím i dobře vstřebatelné formě v alkalické a zejména kyselé oblasti pH. Avšak i přes to, že v žaludku, pro něj je nízká aktivní kyselost prostředí typická, je provedeno nejvíce množství z celkového příjmu Al do rozpustné podoby, při posunu tráveniny do střeva s tím neutrálním pH je většina tohoto prvku přeměněna na nerozpustné sloučeniny, jež nejsou absorbovatelné. Bylo pozorováno, že nejvíce vstřebávání Al v intestinální části trávicího traktu dochází v proximální části dvanáctníku, kde je pH kyslejší. Dalšími výzkumy, zaměřenými na analýzu koncentrace prvku v krevním séru a moči, bylo zjištěno, že jeho obsah v těchto tekutinách roste, pokud byl podán jako hydroxid hlinitý (absorpce až 0,45 %), uhličitán hlinitý nebo dihydroxid aminoacetát hlinitý (absorpce 0,57 - 1,16 %). Získané výsledky potvrzují, že mezi nejlépe vstřebatelné formy Al patří látky s nízkou molekulovou hmotností a labilní sloučeniny (Kaehny et al., 1997; Reiber et al. 1995; Nowak et Brus, 1996).

Transport prvku přes stěvní stěnu probíhá ve dvou etapách. V první dochází k jeho rychlé slizniční absorpci a ve druhé k pomalému uvolnění do krevního oběhu. V kardiovaskulárním systému je pak Al vázán na některé plazmatické transportní proteiny, především transferin (až 60 %) a sérový albumin (34 %). Zbytek se slučuje v krevním séru s citrátem a méně než 1 % je přítomno ve formě fosforenanů a hydroxidů. Tak může být prvek transportován do různých tkání a orgánů, kde je kumulován (DeVoto et Yokel, 1994; Krewski et al., 2007). Nejvíce hladiny Al u savců byly nalezeny v ledvinách, plicích, přítlných tkáních, skeletu, slezině a tlusté fláze, ale také v mozku (zejména v bílé hmotě), kde se jeho množství zvyšuje s věkem. Provedené studie v této oblasti také zaznamenaly, že míra hromadění prvku ve tkáních je dále ovlivněna typem podávané sloučeniny, způsobem jejího vstupu do organismu, v věkem, zdravotním stavem (funkčností ledvin) a dietními návyky respondenta (Health Canada, 1998). Existují však i další faktory, které vstřebávání

a metabolismus prvku v lidském organismu mohou ovlivňovat. Jedním z nich je i obsah dalších minerálů (vápníku, hořčíku nebo železa), s nimiž hlinité ionty soutěží o absorpční receptory v gastrointestinálním traktu. Zvyšená absorpce a kumulace Al v nervové tkáni, jež způsobovala narušení celkové struktury neurofibrilárních klubek, byla například pozorována při nedostatku vápníku nebo hořčíku (Cabrera-Vique et Mesías, 2013). Dále bylo zjištěno, že přítomnost kyseliny askorbové, citrónové, jablečné a mléčné ve střevě může zvyšovat vstřebávání prvku snížením pH. Stejný účinek byl zaznamenán i u sacharinu, vitamínu D nebo parathormonu. Z tohoto důvodu hraje složení potravy ve vztahu k absorpci Al tak významnou roli. Silný vliv má také souasný příjem jídla s pitnou vodou prvek obsahující (Cabrera-Vique et Mesías, 2013; Deng et al., 1998).

Vstřebatelnost Al může být na druhou stranu snížena například přítomností fosforenanů, které s ním tvoří i při nízkém pH komplexy, v nichž je prvek velmi silně vázán, čímž se stává prakticky neabsorbovatelným (Health Canada, 1998; Martin, 1986). Martin (1986) pozoroval pokles míry vstřebávání Al při příjmu potravy a pitné vody obsahující jak prvek, tak fosfátové sloučeniny (fyáty, kaseiny) (Martin, 1986). Biologickou dostupnost Al může také snížit souasný příjem minerálních vod s obsahem křemítanů, které mají stejný účinek jako fosforenany. Bylo zaznamenáno, že rozpustný oxid křemíčitý tvoří nerozpustné hlinitosilikátové komplexy v trávicím traktu (Edwardson et al., 1993).

Gastrointestinální absorpce prvku je ovlivňována i zdravotním stavem, při němž některé choroby ji mohou podporovat. K vyčislu vstřebávání Al tak dochází například při encefalopatii, chronickém selhání ledvin a urémii a enteropatii, jež moduluje propustnost střevní stěny (Health Canada, 1998).

Vylučování prvku z lidského organismu je poměrně nízké. Hlavní úlohu v něm zaujímají ledviny. Literatura uvádí, že močí je denně vyloučeno v průměru 20 - 50 g Al. Nízká efektivita tohoto procesu je způsobena jeho resorpcí v proximálních kanálcích. Retence prvku tak může vést u jedinců s poškozenými ledvinami nebo u zdravých osob vystavených vysokým dávkám Al až k intoxikaci organismu (Volkonen et Aitio, 1997). Zhruba 2 % prvku jsou vyloučena také flukou, ale i tento způsob je u zdravého jedince poměrně nevýznamný (Health Canada, 1998). Závěry některých studií pak naznačují, že Al by mohl být naopak vyloučen například stolicí (Greger et Baier, 1983), avšak toto zjištění nebylo dosud potvrzeno a výsledky jiných prací v této oblasti ho spíše popírají (Priest, 1993).

3.1.4 Biologická aktivita hliníku

Al se za určitých podmínek, jako je například nízké pH, vyskytuje ve formách, které jsou potenciálně toxické pro všechny živé organismy. Při akutní expozici je toxicita však nízká. Dle dostupné literatury nedochází k projevům škodlivých krátkodobých účinků ani při perorálních dávkách 100 mg/kg tělesné hmotnosti za den, příjem v takovém množství však může vést k široké škále toxických projevů (Health Canada, 1998). Z tohoto důvodu byl WHO stanoven doporučený maximální příjem prvku. Přípustný obsah Al v pitné vodě (0,2 mg/l) je pak snížen pro těhotné a kojící ženy, kojence a osoby trpící poruchami ledvin pod 0,05 mg/l (WHO, 2004).

3.1.5 Vliv hliníku na zdraví

Jako neurotoxin je prvek především spojován s neurodegenerativními onemocněními, jako jsou demence a Alzheimerova choroba. Má tendenci k nerovnoměrné akumulaci v mozku, a zejména v šedé hmotě může být jeho koncentrace až dvakrát vyšší než v bílé. Ačkoli byly u osob postižených neurodegenerativními onemocněními zjištěny zvýšené hodnoty Al v mozkové tkáni, stále nebylo zcela potvrzeno, zda jsou tyto nálezy příčinou poruch, nebo jejich projevem. Pro pozitivní vliv prvku na vznik senilní demence hraje fakt, že jeho obsah v mozku, ale i dalších orgánech, především v plicích, roste s věkem pacient (Alfrey, 1986; Crapper et al., 1989; Lubkowska et Chlubek, 2012; Strzalkowska, 1991). Dalším zpusobem, kterým by se Al potenciálně mohl podílet na vzniku a rozvoji neurodegenerativních onemocnění, je jeho schopnost inhibovat množství enzymových procesů, jež probíhají v lidském metabolismu. Bylo prokázáno, že tato biologická aktivita se vztahuje zejména na biokatalyzátory využívací ATP jako substrát, které se podílejí mimo jiné na syntéze katecholaminů a antioxidačních reakcích. Ionty prvku mají totiž schopnost vytvářet s ATP silné komplexy díky spojování jejich fosfátových skupin s nukleovými kyselinami a fosfátovými proteiny. Narušení antioxidačních procesů pak zvyšuje oxidační stres buněk, jež byl také pozorován u mozkových neuronů. Šeším může díky tomu dojít až k jejich amyloidóze, která je mimo jiné pozorována při Alzheimerově chorobě (Altmann et al., 1987; Hamilton et al., 2001; Milla et al., 2002; Zatta et al., 2002).

Al dále působí toxicky na dýchací, kosterní, a krevetvorný systém, což může způsobovat encefalopatii, osteomalácii a mikrocytární anémii. Osteomalacie může být pravděpodobně vyvolána jeho schopností ovlivňovat poměr mezi koncentrací vápníku a fosforu v krevní plazmě (Diaz-Corte et al., 2001; Malluche, 2002). Rozvoj mikrocytární

anémie je pak nejspíše způsoben tím, že prvek soustředí se železem v biosyntéze hemu a v katabolických procesech. To vede k poklesu erytrocytů a snížené produkci hemoglobinu (Vittori et al., 2002).

Zkoumána byla také mutagenita a kancerogenita Al. Výsledky provedených studií byly v obou oblastech negativní. Ačkoliv prvek je schopen tvořit komplexy s DNA a na které jeho sloučeniny dokáží vyvolat chromozomální anomálie u rostlinného materiálu, nebyla zaznamenána jeho mutagenita ani v lidském buňkách. Stejně tak nebyla prokázána ani souvislost Al se zvýšeným výskytem nádorů (Leonard et Leonard, 1989; WHO, 2004).

3.2 čaj

Podle zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změnách a doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny, je čajem výrobek rostlinného původu sloužící k přípravě nápoje určeného k pití nebo nápoj připravený z tohoto výrobku (Zákon č. 110/1997 Sb., Vyhláška č. 78/2003 Sb.).

3.2.1 Rozdělení čaj

Dle zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změnách a doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny, jsou čaje rozdělovány do 3 základních kategorií, na pravé, ovocné a bylinné. Dále jsou do těchto kategorií zařazeny též ovocné, ochucené a aromatizované čaje a výrobky získané vodní extrakcí, jež slouží po rozpuštění ve vodě k přípravě instantních čajů a čajových nápojů.

Čaj pravý je produkt vyrobený z výhonků, listů, pupenů nebo jemných částí zelených stonků čajovníku čínského (*Camellia sinensis*), případně jejich kombinací. Podle způsobu fermentace je dále kategorizován na zelený čaj pravý, jež je nefermentovaný, polofermentovaný čaj pravý (oolong), u nějž došlo k částečné fermentaci, a černý čaj pravý, ve kterém proběhla plná fermentace.

Čaj ovocný je definován jako výrobek ze sušeného ovoce a částí sušených rostlin, kde podíl sušeného ovoce je vyšší než 50 % hmotnosti. Čaj bylinný je pak produkt z částí jednotlivých bylin nebo jejich směsí nebo směsí bylin s pravým čajem i s ovocem, při němž obsah bylin musí být alespoň 50 % hmotnosti (Zákon č. 110/1997 Sb., Vyhláška č. 78/2003 Sb.).

3.2.2 Ibi-ek súdánský

Ibi-ek súdánský (*Hibiscus sabdariffa* Linnaeus) pochází z čeledi slézovité (*Malvaceae*), která zahrnuje přes 300 druhů bylin, keřů i stromů. Jedná se o jednoletou, až 2,5 m vysokou bylinu s červenými stonky a zelenými, 7,5 - 12,5 cm dlouhými, střídavě posazenými listy s načervenalou řasnatou. Ty jsou u mladých a v horní části starších rostlin jednoduché, zatímco tvar dolních listů starších zástupců je 3 až 4 laločnatý s ozubenými okraji. Květy, zasazené jednotlivě v úžlabí listů, jsou až 12,5 cm široké a skládají se z 5 kališních lístků. Jejich barevná škála sahá od bílé až po červenou a fialovou až s kaštanovou skvrnou, která na konci dne při uvadání opět zčervená, ač po typicky červenou barvu. Bylina je zobrazena na obr. 4 (Mohamed et al., 2007).



Obrázek 4: Ibi-ek súdánský (Dostupné z: <http://www.theepochtimes.com/n3/1933499-hibiscus-tea-for-weight-loss-blood-pressure-and-inflammation>).

Ibi-ek súdánský pochází z Afriky a bylo prokázáno, že byl domestikován již před 4 000 let před naším letopočtem v západním Súdánu. Dnes je pěstován v tropických a subtropických oblastech po celém světě, kde jsou zajištěny minimální noční teploty 20 °C po 4 - 8 měsíců v roce, 13 hodin slunečního záření a 130 - 250 mm měsíčního úhrnu srážek. Rostlina je z hlediska potřeby živin nenáročná a dobře prospívá i na chudých půdách, představuje tedy jednu z ideálních plodin pro rozvojové země. Její hlavní nevýhodou je pomalý růst (Ali et al., 2005; De-Costa-Rocha et al., 2014; McKay et al., 2010).

Bylina našla pro myslivé využití v potravinářství, krmivářství, textilním a kosmetickém průmyslu i farmacii. V západní Africe jsou listy a semena tradičně používány pro přípravu pokrmů. V Turecku a Jižní Americe je ibi-ek súdánský pro svou mírně nakyslou chuť oblíbený jako teplý i studený nápoj, který je známý pod názvy Roselle, kyselý čaj, Agua de Jamaica nebo Karkade. V západním světě je pak rostlina uplatňována nejčastěji jako složka bylinných a ovocných čajů (Ali et al., 2005; De-Costa-Rocha et al., 2014; Ross, 2003). Její potenciál je však mnohem širší. Z květů se mohou těžit dřeviny a kůry, zmrzlina, okolády a pudinky, koláče, ale také kvašené nápoje (Sáyago-Ayerdi et al., 2007). Bylina je také využívána jako krmivo pro zvířata. V Indii je ibi-ek súdánský jedním z nejdůležitějších druhů pěstovaných pro vlákno, jež slouží jako náhražka juty pro výrobu oblečení nebo ložního prádla. V Malajsii je jeho olej součástí kosmetických přípravků. V Číně je využíván

pro své léčivé vlastnosti. Květy, které jsou pro své účinky vyušívány, se sbírají mezi květenstvím a zájmem (De-Costa-Rocha et al., 2014; Ismail et al., 2008).

3.2.3 Biologická aktivita ibi-ku súdánského

Bylina je pro své příznivé účinky na lidské zdraví tradiční surovinou lidové medicíny. Používají se zejména její květy, listy a semena, jež jsou bohaté na vitamíny, minerální látky, vlákninu a bioaktivní sloučeniny, mezi kterými lze jmenovat především různé organické kyseliny, fytoosteroly, polyfenoly, flavonoidy a antokyany (Ali et al., 2005). Dle výsledků dostupných studií je složení květu ibi-ku súdánského následující: bílkoviny 1,9 g/100g, tuk 0,1 g/100g, sacharidy 9,2 g/100g a vláknina 2,3 g/100g (cca 33,9 %). Sacharidy jsou tvořeny z velké části složenými cukry, jejichž základními stavebními jednotkami jsou především arabinóza, galaktóza, glukóza, rhamnóza a menší množství kyseliny galakturonové, glukuronové, manózy a xylózy (Sindi et al., 2014). Z vitamínů je rostlina bohatá například na vitamín C (14 mg/100g, sušené květy 260 až 280 mg/100g) nebo β -karoten (300 mg/100g). Množství vitamínů je však velmi variabilní, což může být důsledkem odlišného genomu a odrůdy, životním prostředím nebo podmínkami sklizně (De-Costa-Rocha et al., 2014; Ismail et al., 2008). Bylina též obsahuje významné množství vápníku (1,72 mg/100g) a železa (57 mg/100g). Extrakty ibi-ku súdánského vykazují vysoké procento organických kyselin, a to zejména kyselinu citrónovou (12 až 20 % hm.), hydroxycitrónovou (< 15 % hm.), jablečnou (2 až 9 % hm.) a vinnou (8 % hm.), v malém množství pak kyselinu –avelovou. Obsah antokyanů (skupina derivátů flavonoidů a přírodních pigmentů) dodává květu rostliny typickou barvu, jež se mění v závislosti na pH. Za aroma jsou odpovědné tyto kofeolové látky. V květu ibi-ku súdánského bylo nalezeno celkem 23 sloučenin, dle jejich struktury se mezi aldehydy, alkoholy, ketony, organické kyseliny a terpeny (Ramirez-Rodrigues et al., 2011).

Bylina je vyušívána k podpoře léčby a prevenci vzniku mnoha akutních i chronických onemocnění. Pozitivní účinky byly prokázány například na aterosklerózu, diabetes, hypertenzi, jaterní a kardiovaskulární choroby. Díky obsahu fenolických sloučenin (polyfenoly a flavonoidy) a vlákniny byly také pozorovány antimikrobiální, antioxidační, antitumorální, cholesterolemické a imunostimulační vlastnosti ibi-ku súdánského (Sindi et al., 2014; Jeszka-Skowron et al., 2015). Studie zaměřené na biologickou aktivitu rostliny dále zaznamenaly, že má schopnost uvolňovat dleho a stěvní sliznici a podporovat reprodukční funkce. Extrakt z ibi-ku súdánského též inhibuje aktivitu α -amyláz a blokuje absorpci cukru a křemíku, což může být příznivé při snižování váhy (De-Costa-Rocha et al., 2014).

Sušené fermentované kalichy byliny mohou díky svému nízkému pH navíc ovlivovat dostupnost minerálních látek, jako je hořčík, vápník, zinek nebo železo (Falade et al., 2005).

3.3 Hliník v ajích

Jak již bylo podrobně rozebráno v kap. 3.1, Al je v různých formách přirozenou součástí ovzduší, vody i vody, odkud se může dostat též do pletiv rostlin a tkání živočichů. Kořeny rostlin přicházejí do kontaktu s prvky v tůině v podobě ne-kodných oxidů nebo hlinítků emi itan. Tyto sloučeniny však vlivem přirodních procesů a lidskou činností mohou uvolňovat kationt Al^{3+} , který je pro mnoho rostlinných druhů toxický, a to v mikromolárních koncentracích. Bylo zjištěno, že Al^{3+} omezuje růst kořeny, má silný negativní vliv na příjem živin i vody a tím působí celkový záporný vliv na produktivitu. Zemědělské výnosy jsou tak ohroženy především na kyselých půdách, kde se vlivem pH prostředí kationt uvolňuje z prátomných forem Al snadněji a ve větším množství. Jako obranu si rostliny proti toxickému působení Al^{3+} vyvinuly různé mechanismy. Mezi 2 nejrozšířenější patří způsob založený na zabránění vstupu prvku do pletiv a způsob založený na jeho kumulaci. Oba pracují na principu tvorby látek, jejichž anionty vytvářejí dostatečně silné komplexy s kationtem, jako jsou například citrát, malát a oxalát. Tyto organické kyseliny jsou pak v prvému případě uvolněny do rhizosféry, kde chelatují Al^{3+} a tím zabrání vstupu toxické formy Al do rostliny. Popsaný mechanismus vyvolává u zemědělských plodin, mezi nimiž jsou i kukuřice, oves, pohanka, pšenice, sója nebo flito. V druhém případě dochází k hromadění kationtu v pletivech, kde je jeho toxicita neutralizována tvorbou příslušných komplexů. Takto jsou rostliny chráněny i při vysokých koncentracích prvku. K druhému vyvolávajícím popsaný mechanismus patří například flóra tropických deštných pralesů (Delhaize et Ryan, 1995).

Mezi rostlinami vyvolávanými k výrobě patří mezi druhy akumulující Al. Tento potravinářský produkt, jež je celosvětově velmi oblíbený, a to jako součást životního stylu, široce konzumován, je tak jedním z hlavních potravinových zdrojů prvku v lidském jídelníku. Bylo zaznamenáno, že pití aje může zvýšit příjem Al až dvojnásobně. To lze vysvětlit tím, že prvek je v ajeových nálevehch přítomen plně nebo částečně ve formě komplexů s organickými molekulami, jako jsou například polyfenolické sloučeniny, které mají vysokou afinitu k alkaloidům, sacharidům, bílkovinám, ale také kovům (Alberti et al., 2003). Absorpce Al přítomného v nápoji lidským organismem může být také zvýšena způsobem výroby a podáváním produktu. Pozitivně působí například přidání kyseliny citrónové, jež je vyvolávána nejen jako konzervant a acidulant komerčních výrobků, ale je také přirozenou součástí citronové šťávy, tradičního ochucovadla aje. Prvek ve formě citrátu hlinitého prochází totiž snadno přes gastrointestinální bariéru (Greger et Powers, 1992). Stejně jako lze zvýšit biologickou dostupnost Al přidáním citronové šťávy, hovoří se

o možnosti zvýšení pípidání mléka do áje (Kralj et al., 2005). Podle Streeta a kol. (2007) pípidání cukru do nálevu nemá žádný vliv na dostupnost Al (Street et al., 2007).

3.3.1 Hliník v pravých ájích

Již v dávných dobách za ali lidé pitnou vodu áste n nahrazovat horkými výluhy z pozd jí cílen píp stovaných bylin, ovoce a dalších rostlinných druh . Pravé áje pocházejí z rostlin rodu *Camellia*, které se brání toxicit Al^{3+} kumulací ním mechanismem, kdy je Al ve form komplex s organickými kyselinami hromad n v pletivech a izolován od metabolicky aktivních ástí (Martin, 1990). Jeho množství v ájovníku záleží na ad faktor , mimo jiné na nadmo ské vý-ce, pípních podmínkách, kyselosti a množství srátek, genetické odr d a stá í rostliny. Matsumoto a kol. (1976) ve své studii uvádí, že staré listy ájovníku mohou obsahovat až 30 mg prvku na gram su-iny. Spole n s n kolika druhy ko ení se tak tato potraviná ská surovina a výrobky z ní adí k matricím s nejvyššími koncentracemi Al (Matsumoto et al., 1976; Müller et al., 1998). Na množství prvku, jež pípejde do nápoje má v-ak krom jeho obsahu v produktu vliv i samotný zp sob pípravy a podávání odvaru (teplota vody, pom r su-ená matrice:voda, délka louhování, pípet nálev (s pípívajícím pítem se obsah Al snižuje), píídavek ochucovadel atd., jak bylo popsáno v kap. 3.3) (Marcus et al., 1996). P ehled pírných koncentrací Al v su-ené matrici a nálevech r zných druh pravých áj po 5 min louhování je uveden v tab. 2.

Tabulka 2: Koncentrace Al vybraných druhů pravých čajů.

Produkt	c_{Al} [$\mu\text{g/g}$]	c_{Al} [$\mu\text{g/100ml}$]
Bílý čaj ^d	neuveďeno	143,0 \pm 17,0
erný čaj ^a	899,0 \pm 292,0	419,0
erný čaj ^c	445,0 - 1552,0	neuveďeno
erný čaj ^d	neuveďeno	155,0 \pm 5,0
Zelený čaj ^c	520,0 - 940,0	neuveďeno
Zelený čaj ^d	neuveďeno	358,0 \pm 30,0
Bílý čaj (Pai Mu Tan) ^b	805,0	95,1
erný čaj (Ceylon OP decaffeinated Superior) ^b	825,0	271,0
erný čaj (Darjeeling FF FTGFOP1 Lucky Hill Inbetween) ^b	869,0	210,0
erný čaj (Golden Yunnan FO) ^b	659,0	184,0
erný čaj (Pu - Erh) ^b	1280,0	66,9,0
Zelený čaj (Darjeeling SFTGFOP Moondakotee) ^b	966,0	166,0
Zelený čaj (China Senecha) ^b	2410,0	700,0
Zelený čaj (Java OP Green) ^b	1560,0	304,0

^aMüller et al., 1997

^bStreet et al., 2007

^cWróbel et Colunga, 2000

^dMilani et al., 2015

3.3.2 Hliník v bylinných čajích

I přes oblíbenost pro svou chuť, absenci kofeinu a příznivé vlivy přímo léčebné účinky na lidský organismus je doporučováno bylinné čaje konzumovat s opatrností vzhledem k přirozenému obsahu některých rizikových prvků a látek, mezi nimi patří i Al. Literatura však uvádí, že pití těchto nápojů by nemělo způsobovat zdravotní problémy, pokud ve stejnou dobu nejsou požívány potraviny kontaminované vysokým množstvím toxických forem tohoto prvku (Yalcin Gorgulu et al., 2014). Přehled průměrných koncentrací Al v sušených matricích a nálevech různých druhů bylinných čajů po 3 - 15 min louhování je uveden v tab. 3.

Tabulka 3: Koncentrace Al vybraných druhů bylinných čajů.

Druh byliny	c_{Al} [$\mu\text{g/g}$]	c_{Al} [$\mu\text{g}/100\text{ml}$]
Citrónová tráva ^{f, g}	$1080,0 \pm 50,0^f$	$260,0 \pm 80,0^g$
Fenykl ^b	neuveďeno	9,0
Ginko ^e	$50,0 \pm 1,0$	$57,0 \pm 19,0$
Ginko ^e	$74,0 \pm 2,0$	neuveďeno
Hibiscus ^h	$272,0 \pm 19,0$	13,0
Hibiscus ^c	245.5 ± 7.0	$6,7 \pm 0,7$
Hibiscus ^c	222.3 ± 0.6	$6,3 \pm 0,5$
Máta peprná ^a	$477,0 \pm 52,0$	14,5
čajpek ^c	$183,0 \pm 32,0$	neuveďeno
čajpek ^d	$157,0 \pm 12,0$	$56,0 \pm 5,5$

^aMüller et al., 1997

^bOzcan et al, 2008

^cMalik et al., 2013

^dBasgel et Erdemoglu, 2006

^eStefanovits-Banyai et al., 2006

^fKumar et al., 2005

^gMilani et al., 2015

^hWrobel et al. 2000

3.3.3 Hliník v čajích obsahujících ibi-ek súdánský

Ibi-ek súdánský je v dnešní době velmi populární slofkou a ufi teplých nebo vychlazených nápojů po celém světě, a to především díky své příjemné kyselé chuti a obsahu přírodního červeného barviva. Je jak významným samostatným druhem čaje, tak je využíván jako základní slofka ovocných a směrných bylinných čajů, které bfi mohou obsahovat až 50 % a více této rostliny.

Samotný ibi-ek súdánský je také často doporuován ke spotřebě u hotných flenám a dle toho vzhledem k nepřítomnosti kofeinu (Prenesti et al., 2007). Nejvyšší hodnoty Al u Malíka a kol. (2013) byly naměřeny v BIO ibi-ekovém čaji, a to až $12,05 \mu\text{g}/100\text{ml}$. Podle Toncea a kol. (2015) dochází u ekologického zemědělství k okyselování půdy a tím i v ní koncentraci Al, který se ve formě Al^{3+} dostává do půdního roztoku a je tak přístupný pro rostliny (Malík et al., 2013; Tonce et al., 2015).

4 Materiály a metody

4.1 Materiály, chemikálie, přístroje a zařízení

4.1.1 Materiály

Pro přípravu nálev z ibi-kového květu bylo použito 8 bylinných čajů, které jsou běžně dostupné v tržní síti ČR. Jejich seznam je uveden v tabulce 4.

Tabulka 4: Seznam použitých rostlinných matic.

Vzorek	Název	Výrobce	Původ	Min. trvanlivost
1	Karkade bylinný čaj Ibi-ek súdánský květu	Valdemar Grešek - Natura s.r.o.	Súdán	10. 12. 2016
2	Bylinný čaj BIO Ibi-ek květu Sonmentor	Sonmentor s.r.o.	Burkina Faso	8. 2016
3	Bylinný čaj Ibi-ek květu	Vlčková Helena	Súdán	10. 9. 2016
4	Rafinovaný ibi-ek	Dr. Popov s.r.o.	Srí Lanka	5. 1. 2018
5	Nálev byliny - Ibi-ek	Oxalis, spol. s.r.o.	Nigérie	3. 12. 2017
6	Bylinný čaj Ibi-ek květu	Great Tea Garden s.r.o.	Egypt	11. 9. 2018
7	Ibi-ek celý	Amana s.r.o.	Súdán	14. 1. 2017
8	Karkade čaj	RE food - orientální potraviny	Súdán	neuveďeno

4.1.2 Chemikálie

Pro vytvoření trávicích – áv a p ípravu puřrovacích roztok byly pouřity následující chemikálie o istot p.a.:

- $\text{CaCl}_2 \times (\text{H}_2\text{O})_2$ (Penta, R)
- HCl (Lach-ner, R)
- KCl (Lach-ner, R)
- KH_2PO_4 (Penta, R)
- $\text{MgCl}_2 \times (\text{H}_2\text{O})_6$ (Penta, R)
- NaCl (Lach-ner, R)
- NaHCO_3 (Lach-ner, R)
- NaOH (Lach-ner, R)
- $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (Penta, R)

Pro *in vitro* simulaci trávicího procesu byly pouřity následující enzymy a látky o istot vhodné pro potraviná ské ú ely (food grade):

- pankreatin (Sigma-Aldrich, USA)
- pepsin (Sigma-Aldrich, USA)
- flú (Sigma-Aldrich, USA)

4.1.3 P ístroje a za ízení

Pro pr b h trávení a stanovení množství Al bylo pouřito standardní p ístrojové vybavení analytické laborato e. Speciální p ístroje jsou uvedeny níře:

- iCAP 7000 (Thermo Scientific, USA)
- Mini inkubátor Cultura (Merck Millipora, DE)
- Orbital shaker 3005 (GFL, DE)

4.2 Metody

4.2.1 Příprava nálevu pro *in vitro* trávení

Nálev byl připraven zalitím 1 g sušiny ibi-kového květu do 50 ml vroucí pitné vody. Směs byla dále louhována 15 min a poté zfiltrována přes sítko, přes kuchyňský cedník, nebo přes buňku. K nálevu byl analogicky připraven slepý vzorek pouze z pitné vody.

4.2.2 *In vitro* trávení (Infogest Working Group, 2016)

Nálevy byly podrobeny aktuální verzi simulovaného *in vitro* gastrointestinálního trávení modelu Infogest Working Group (Minekus et al., 2014; Infogest Working Group, 2016). Tento model zahrnuje celkem 3 fáze - orální, gastrickou a intestinální (tenké střevo). U tekutin lze v orální fázi vynechat. Složení simulovaných trávicích šťáv je uvedeno v tabulce 5.

Tabulka 5: Složení simulovaných trávicích šťáv.

Chemikálie	Zásobní roztok		Simulovaná flalude ní – áva	Simulovaná st evní – áva
	c [g/l]	c [mol/l]	c [mmol/l]	c [mmol/l]
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	44,10	0,30	0,15	0,60
HCl	-	6,00	15,60	8,40
KCl	37,30	0,50	6,90	6,80
KH ₂ PO ₄	68,00	0,50	0,90	0,80
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	30,50	0,15	0,12	0,33
NaCl	117,00	2,00	47,20	38,40
NaHCO ₃	84,00	1,00	25,00	85,00
(NH ₄) ₂ CO ₃	48,00	0,50	0,50	-

Pro flalude ní fázi trávení byly vzorky nálevu vytemperovány na 37 °C (Mini inkubátor Cultura, Merck Millipora, DE) a smíchány se stejn vytemperovaným (Mini inkubátor Cultura, Merck Millipora, DE) roztokem simulované flalude ní – ávy (SGF) a 0,075 mmol/l CaCl₂ × H₂O (Penta, R) s obsahem pepsinu (Sigma-Aldrich, USA) v poměru 1:1, aby koncentrace enzymu ve finálním roztoku byla 500 U/ml. Směs byla dále podrobena simulaci gastrického trávení při pH 3 (1M HCl, Lach-ner, R), 37 °C a 200 rpm (Orbital shaker 3005, GFL, DE) po 2 h.

Ihned po ukonění simulovaného gastrického trávení byla započata fáze stevnění. Ke vzorkům byla přidána simulovaná stevnění – áva (SIF) vytemperovaná na 37 °C (Mini inkubátor Cultura, Merck Millipora, DE), enzym pankreatin (Sigma-Aldrich, USA), $\text{CaCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ (0,6 mmol/l, Sigma-Aldrich, USA) a flu (20 mmol/l, Sigma-Aldrich, USA) vytemperované (Mini inkubátor Cultura, Merck Millipora, DE) stejně jako SIF. Směsný poměr byl opět 1:1, aby koncentrace enzymu pankreatinu (Sigma-Aldrich, USA) ve finálním roztoku byla 100 U/ml. Vzniklá směs byla nakonec pro simulaci trávení v tenkém stěvu upravena na pH 7 (1M NaOH, Lach-ner, R). Samotná simulace intestinální fáze probíhala při 37 °C a 200 rpm (Orbital shaker 3005, GFL, DE) po 2 h. *In vitro* trávicí procesy byly ukoněny inaktivací enzymů zmrazením trávenin na -80 °C (hlubokomrazicí skříňový box Sanyo, Schoeller, R). Analogicky byly též připraveny slepé vzorky bez přidavku železového kvrtu. Pro každý vzorek byla provedena 3 paralelní stanovení.

4.2.3 Měření koncentrace hliníku

Měření koncentrace Al probíhalo pomocí analytické metody emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) na přístroji iCAP 7000 (Thermo Scientific, USA).

Rostlinná matrice (sušený železový kvrt) byla před vlastní analýzou rozlofena následujícím způsobem: 1 g vzorku byl navážen (analytické váhy Sartorius Extend, Sartalex, R) do teflonových nádob vylouhovaných v 10% HCl (Lach-ner, R) a vysušených v sušárně (Memmert, Thermo Scientific, USA) do konstantní hmotnosti. Pipetou bylo přidáno 10 ml 65% HNO_3 (Centralchem, SK). Nádoby byly lehce uzavřeny víčkem a jejich obsah ponechán přes noc zreagovat. Následoval záhřev plně dotážené nádoby na topné desce (deska topná HD, Mercier, R) při cca 120 °C po 2 h. Vychlazené vzorky byly poté pomocí stříčky s destilovanou vodou převedeny do 50ml odměrných baněk, je-li byly po rysku doplněny destilovanou vodou a promíchány. Vzniklá směs byla přefiltrována (filtr 390, Munktell, DE) a 5 ml filtrátu převedeno do 50ml odměrných baněk, je-li byly opět doplněny po rysku destilovanou vodou a promíchány. 10 ml takto vzniklých roztoků bylo přefiltrováno přes 0,45 μm nylonový filtr (Labhut, UK) do 12ml plastových zkumavek a analyzováno na ICP-OES. Takto bylo dosaženo zednění 500 \times . Analogicky byly též připraveny blanky. Pro každý vzorek byla provedena 3 paralelní stanovení a výsledky byly přepočítány na sušinu.

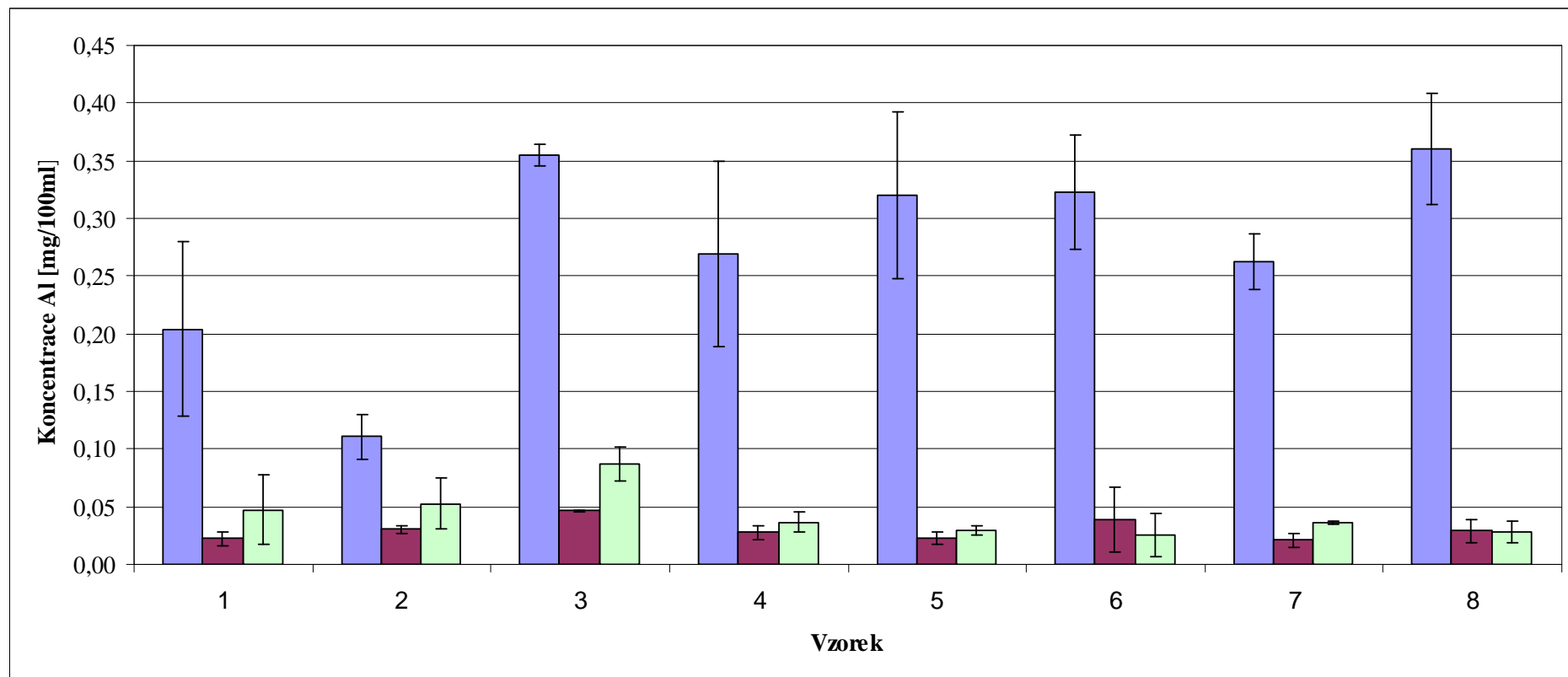
Nálevy, jejich digestáty a jim odpovídající slepé vzorky byly před ICP-OES analýzou přefiltrovány v množství 10 ml přes 0,45 μm nylonový filtr (Labhut, UK) do 12ml plastových zkumavek. Nálevy byly připraveny čerstvé, digestáty byly do stanovení uchovány při -80 °C (hlubokomrazicí skříňový box Sanyo, Schoeller, R).

4.3 Statistická analýza

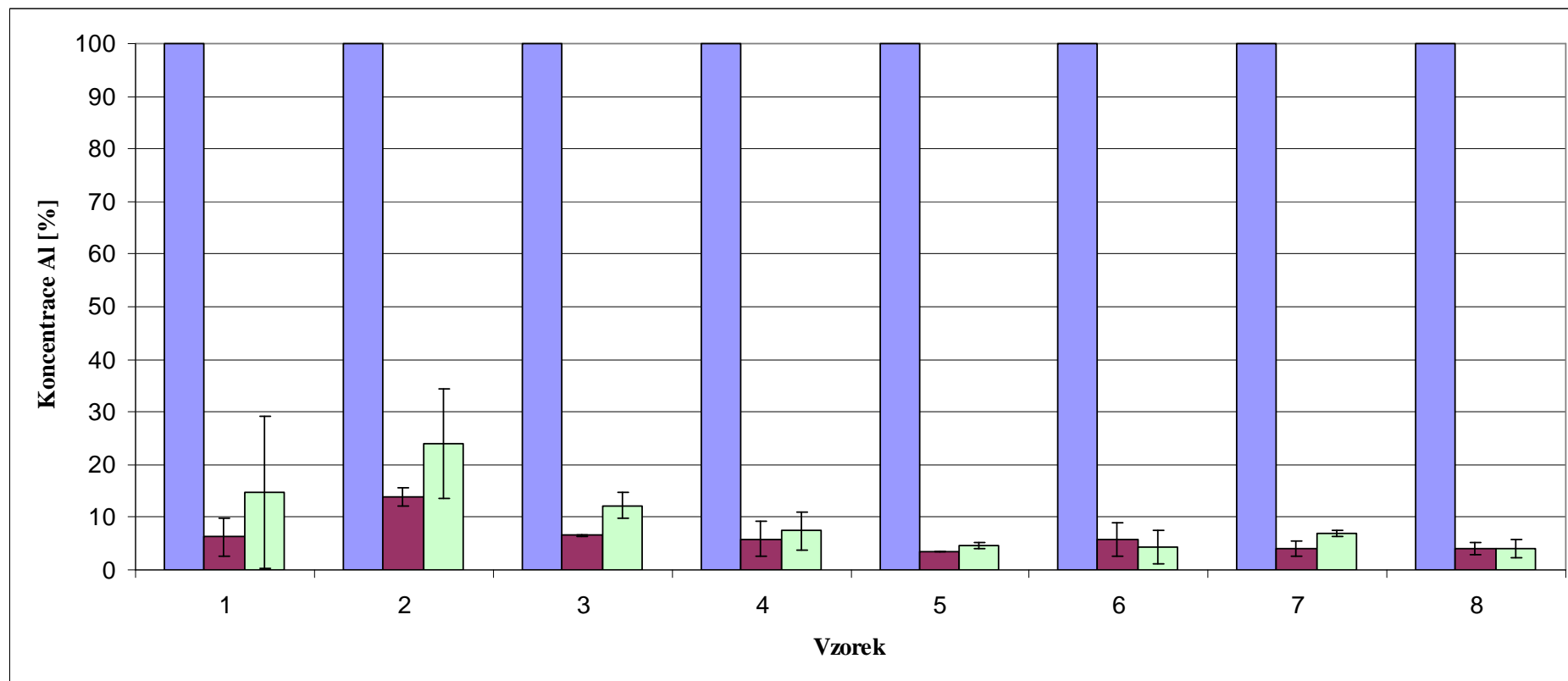
Ze souboru získaných dat byly v programu Microsoft Excel 2003 (Microsoft, USA) vypočteny aritmetické průměry a směrodatné odchylky. Rozdíly mezi jednotlivými vzorky rostlinných matric, nálev a digestát byly hodnoceny pomocí ANOVA testu na zvolené hranici pravděpodobnosti $P(= 0,05)$.

5 Výsledky

Stanovení koncentrace Al v rostlinné matrici květu ibi-ku, odvaru z ní vytvořené a digestátu odvaru bylo provedeno u 8 bylinných a 6 flůr dostupných v tržní síti ČR, jejichž seznam je uveden v tabulce 4 v kap. 4.1.1. Tráveniny nálev byly vytvořeny pomocí aktuální verze simulovaného statického *in vitro* gastrointestinálního trávicího modelu Infogest Working Group. Množství prvku bylo zanalyzováno metodou ICP-OES. Výsledky jsou uvedeny na obrázcích 5 a 6 a jejich statistické zhodnocení v tabulkách 6, 7 a 8.



Obrázek 5: Stanovení koncentrace obsahu Al v rostlinné matrici, nálevu a digestátu aje ze sušeného květu ibišku súdánského (*Hibiscus sabdariffa*). Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 3 paralelních stanovení \pm směrodatná odchylka. rostlinná matrice, nálev, digestát.



Obrázek 6: Poměrné změny koncentrace Al při přípravě nálevu ze sušeného květu ibi-ku súdánského (*Hibiscus sabdariffa*) a průchodu tohoto nálevu simulovaným statickým *in vitro* gastrointestinálním modelem. Výsledky jsou znázorněny jako aritmetický průměr ze 3 paralelních stanovení ± směrodatná odchylka. rostlinná matrice, nálev, digestát.

Tabulka 6: Statistická analýza rozdílů v koncentraci Al mezi rostlinnými matricemi, nálevy a digestáty a je ze sušeného ibi-kového květu. $\alpha = 0,05$. $u = 9,28$.

Rostlinná matrice		Nálev		Digestát	
Pár	u_0	Pár	u_0	Pár	u_0
1-2	2,53 ^b	1-2	241,32 ^a	1-2	53,33 ^a
1-3	4,18 ^b	1-3	11,55 ^a	1-3	15,76 ^a
1-4	1,24 ^b	1-4	10,89 ^a	1-4	49,88 ^a
1-5	2,35 ^b	1-5	73,67 ^a	1-5	71,06 ^a
1-6	2,77 ^b	1-6	3,74 ^b	1-6	62,65 ^a
1-7	1,54 ^b	1-7	55,80 ^a	1-7	55,72 ^a
1-8	3,68 ^b	1-8	39,75 ^a	1-8	72,55 ^a
2-3	24,50 ^a	2-3	481,93 ^a	2-3	94,33 ^a
2-4	4,07 ^b	2-4	262,43 ^a	2-4	148,29 ^a
2-5	5,95 ^b	2-5	362,73 ^a	2-5	182,86 ^a
2-6	8,50 ^b	2-6	61,00 ^a	2-6	144,08 ^a
2-7	10,41 ^a	2-7	317,68 ^a	2-7	164,29 ^a
2-8	10,25 ^a	2-8	196,87 ^a	2-8	177,10 ^a
3-4	2,27 ^b	3-4	27,62 ^a	3-4	60,15 ^a
3-5	1,01 ^b	3-5	124,34 ^a	3-5	106,07 ^a
3-6	1,39 ^b	3-6	6,26 ^b	3-6	70,63 ^a
3-7	7,56 ^b	3-7	91,67 ^a	3-7	77,47 ^a
3-8	0,20 ^b	3-8	52,77 ^a	3-8	100,66 ^a
4-5	1,01 ^b	4-5	63,66 ^a	4-5	60,67 ^a
4-6	1,21 ^b	4-6	0,63 ^b	4-6	31,75 ^a
4-7	0,17 ^b	4-7	45,84 ^a	4-7	12,73 ^a
4-8	2,07 ^b	4-8	32,42 ^a	4-8	56,21 ^a
5-6	0,05 ^b	5-6	16,50 ^a	5-6	3,68 ^b
5-7	1,62 ^b	5-7	15,46 ^a	5-7	108,24 ^a
5-8	0,96 ^b	5-8	10,01 ^a	5-8	12,25 ^a
6-7	2,33 ^b	6-7	12,28 ^a	6-7	28,96 ^a
6-8	1,16 ^b	6-8	11,98 ^a	6-8	2,50 ^b
7-8	3,86 ^b	7-8	0,49 ^b	7-8	64,76 ^a

^astatisticky významný rozdíl na $P () = 0,05$

^bstatisticky nevýznamný rozdíl na $P () = 0,05$

Tabulka 7: Statistická analýza rozdílů v koncentraci Al mezi nálevem a p íslu-ným digestátem aje ze su-eného ibi-kového kv tu. $\alpha = 0,05$. $u = 9,28$.

Vzorek	u_0
1	59,24 ^a
2	96,49 ^a
3	82,43 ^a
4	32,56 ^a
5	36,29 ^a
6	8,90 ^b
7	101,54 ^a
8	0,34 ^b

^astatisticky významný rozdíl na $P () = 0,05$

^bstatisticky nevýznamný rozdíl na $P () = 0,05$

Tabulka 8: Statistická analýza rozdílů v koncentraci Al mezi rostlinou matricí a p íslu-ným nálevem. $\alpha = 0,05$. $u = 9,28$.

Vzorek	u_0
1	132,90 ^a
2	792,89 ^a
3	1167,72 ^a
4	119,67 ^a
5	76,08 ^a
6	40,21 ^a
7	129,83 ^a
8	69,92 ^a

^astatisticky významný rozdíl na $P () = 0,05$

Z výsledků uvedených na obrázcích 5 a 6 je patrné, že nejnižší koncentrace Al (110,7 mg/kg) v rostlinné matrici byla nalezena u vzorku 2 (Sonnetor), nejvyšší (355,3 mg/kg) naopak u analytu 3 (VI ková Helena). Statisticky významné ($p > 0,05$) rozdíly v množství prvku v su-eném ibi-kovém kv tu byly stanoveny mezi aji 2 a 3, 2 a 7 a 2 a 8.

Bylo pozorováno, že nálevy p ípravené z p íslu-ných rostlinných matric obsahovaly mnohem nižší koncentrace Al. Ze su-eného ibi-kového kv tu p e-lo do odvaru vřdy pouze okolo 5 % prvku p ítomného v rostlinné matrici, p í emfl získané rozp tí bylo od 3,5 % pro vzorek 5 (Oxalis) do 6,6 % pro analyt 3 (VI ková Helena). Výjimkou byl pouze produkt 2 (Sonnetor), jehož nálev obsahoval 13,9 % p vodního množství Al ($p > 0,05$). Celkov nejnižší koncentrace prvku (0,021 mg/100 ml, $p > 0,05$ s výjimkou odvaru z výrobku 8) byla zaznamenána v nálevu analytu 7 (Amana) a nejvyšší (0,046 mg/100 ml, $p > 0,05$ s výjimkou odvaru z produktu 6) pak u vzorku 3 (VI ková Helena).

Po průchodu nálev ze sušeného ibi-kového květu simulovaným statickým *in vitro* trávicím modelem byly nejnižší hodnoty obsahu Al (0,026 mg/100 ml, $p > 0,05$ s výjimkou digestátu odvaru z výrobků 5 a 8) získány u vzorku 6 (Great Tea Garden) a nejvyšší (0,086 mg/100 ml, $p > 0,05$) u analytu 3 (Vlčková Helena). Při porovnání množství stanovovaného prvku v odvaru a pískovém digestátu ibi-kového květu bylo pozorováno, že kromě vzorků 6 (Great Tea Garden) a 8 (RE food - orientální potraviny), u nichž byl obsah Al v obou případech srovnatelný, byla koncentrace Al v trávenině nálevu vždy vyšší ($p > 0,05$). Tento nárůst dosahoval od 1,2 % pro digestát odvaru z produktu 5 (Oxalis) do 10,1 % pro tráveninu nálevu z výrobku 2 (Sonnentor).

6 Diskuze

Tato bakalářská práce byla zaměřena na stanovení množství Al, které přejde ze sušené rostlinné matrice květu ibišku súdánského (*Hibiscus sabdariffa*) do nálevu z ní připravené a dále na charakterizaci změny tohoto množství po průchodu odvaru simulovaným statickým *in vitro* gastrointestinálním modelem lidského trávení. Jako materiál bylo použito 8 bylinných čajů běžně dostupných v obchodní síti ČR, které obsahovaly pouze sušený ibiškový květ (viz. tab. 4 v kap. 4.1.1).

Analýzou koncentrace Al v rostlinné matrici čajů bylo zjištěno, že průměrné množství prvku se v této komoditě pohybovalo okolo 275,5 mg/kg. Statisticky významné ($p > 0,05$) rozdíly v jeho obsahu byly stanoveny pouze mezi vzorky s nejnižší a nejvyšší koncentrací Al, tedy analyty 2 (Sonnentor, 110,7 mg/kg) a 3 (VI kovář Helena, 355,3 mg/kg) a dále 2 a 7 (Amana, 262,2 mg/kg) a 2 a 8 (RE food - orientální potraviny, 360,0 mg/kg). Získané výsledky jsou v souladu s výstupy dalších studií, které byly zaměřeny mimo jiné na obsah prvku v rostlinné matrici *Hibiscus sabdariffa* (Malík et al., 2013; Wrobel et al., 2000).

Práce, v níž byla zjišťována koncentrace Al také u bylinných ibiškových čajů z ekologického zemědělství, uvádí široké rozmezí hodnot jeho množství pohybující se od 110 až do 520 mg/kg. Získané výsledky analýzy této rostlinné matrice s jejich výstupy souhlasí (vzorek 2, bio Sonnentor, 110,7 mg/kg). Do diskutovaného intervalu obsahu prvku by se navíc vešly všechny stanovované produkty. Autoři ke rozmezí koncentrace Al komentovali tím, že typ zemědělské produkce (konvenční nebo ekologické) nemá na množství prvku v rostlinách *Hibiscus sabdariffa* statisticky významný vliv. Tonce a kol. (2015) tyto závěry vysvětlují tím, že ekologické zemědělství sice přispívá k okyselení půdy a tím i ke zvýšené koncentraci rozpustných forem Al, jež může být vstřebávána rostlinami, v nich, avšak tento proces je ovlivněn řadou dalších faktorů. Mezi nejvýznamnější patří například zemědělské postupy, organické kyseliny uvolněné ze zbytků rostlin v půdě, i samotná sekrece organických kyselin rostlinou. Nezastupitelnou roli také hraje typ mechanismu tolerance prvku. Ibišek súdánský je zájezden mezi druhy, které kumulují Al ve svých pletivech, kde vytváří komplexy pro rostlinu neškodné. Díky tomuto mechanismu dále neustále neuvolní organické kyseliny do rhizosféry a nepodporují okyselení půdy a tím i pravděpodobnost zvýšení rozpustných a vstřebatelných forem prvku v půdním roztoku. Vzhledem k velmi variabilním hodnotám naměřeným u bio čajů lze tedy uvažovat i o dalších významných faktorech, jako je oblast pěstování a pěstování, koncentrace prvku v půdě dané oblasti a kyselost srážek, které napomáhají uvolnění Al z půdních vrstev do půdního

roztoku. Výsledky, je-li byly získány v této bakalářské práci, statisticky významný vliv ($p < 0,05$) země na množství prvku v produktu nepotvrdily, lze se tedy domnívat, že silnější je tento parametr ovlivněn oblastí, obsahem Al v půdě a kyselostí srážek (Malík et al., 2013; Tonce et al., 2015).

Analýzou koncentrace Al v nálevu bylo zjištěno, že ze sušené rostlinné matrice do jejího odvaru přešlo (s výjimkou vzorku 2, Sonnentor), v průměru pouze okolo 5 %, od 3,5 (analyt 5, Oxalis) do 6,6 % (výrobek 3, VI ková Helena), prvku obsaženého v půdě. Při tom nebyly žádné rozdíly ($p < 0,05$) získány únikem známé filtrace vyluhovaného čaje. Nejmenší množství Al bylo stanoveno v nálevu produktu 7 (Amana, 0,021 mg/100 ml, $p > 0,05$ s výjimkou odvaru z výrobku 8) a nejvyšší pak v nálevu ze vzorku 3 (VI ková Helena, 0,046 mg/100 ml, $p > 0,05$ s výjimkou odvaru z analytu 6). Nebyla zde tedy pozorována významná úroveň mezi množstvím prvku v půdním sušenémibi-kovém květu a v jeho nálevu, což může být způsobeno rozdílnou formou a tedy rozpustností přítomného Al (Mülder and Stein, 1994).

Po průchodu nálevu z rostlinné matrice aktuální verzi simulovaného statického *in vitro* gastrointestinálního modelu lidského trávicího systému Infogest Working Group byl zaznamenán statisticky významný ($p > 0,05$) nárůst koncentrace prvku u celkem 6 vzorků. V případě zbylých 2, produkt 6 (Great Tea Garden) a 8 (RE food - orientální potraviny), obsah Al v tráveninách oproti původním odvarům poklesl, avšak statisticky nevýznamně ($p < 0,05$). Pozorované zvýšení množství prvku v digestátech lze pravděpodobně vysvětlit přechodem nerozpustných sloučenin Al na dobře disociovatelné formy během kyselé gastrické fáze trávení, která probíhá při pH 3. Vzhledem k tomu, že nebyla zjištěna významná úroveň mezi nárůstem koncentrace prvku v nálevu a jeho trávenin (obsah Al vzrostl od 1,2 % u analytu 5 (Oxalis) do 10,1 % u vzorku 2 (Sonnentor)), je možné opatřovat na rozdílnost forem prvku v půdních sušenýchibi-kových květech (Mülder and Stein, 1994).

7 Závěr

Hypotézou bakalářské práce bylo, že koncentrace Al v odvaru a digestátu ibi-kového čaje je závislá na rostlinné matrici, formě obsaženého prvku a přípravě nálevu. Jejím cílem pak bylo stanovit koncentrace prvku v rostlinné hmotě a jeho dostupnost v sušených ibi-kových květech, v jejich nálevu a digestátu pomocí ICP-OES. Stanovení proběhlo u 8 různých produktů dostupných v obchodní síti ČR, které pocházely z konvenčního i ekologického zemědělství. Samotný digestát byl vytvořen pomocí aktuální verze simulovaného statického *in vitro* gastrointestinálního modelu lidského trávení.

Bylo zjištěno, že koncentrace prvku se v rostlinné matrici čaje pohybovala okolo 275,5 mg/kg. Nebyl pozorován žádný vliv ($p < 0,05$) typu zemědělské produkce (konvenční × ekologická) a zeměpisu na tento parametr. Analýzou obsahu Al v nálevech připravených ze sušených ibi-kových květů byly získány hladiny prvku dosahující zhruba 5 % jeho rozpustného množství v rostlinné matrici bez ohledu na typ filtrace. Nebyla zde zaznamenána žádná úroveň ($p < 0,05$) mezi množstvím Al, je-li přidáno ze sušeného ibi-kového květu do jeho odvaru. Lze tedy usuzovat, že tento proces je řízen především formou a tedy rozpustností rozpustného prvku. Po průchodu nálevu simulovaným statickým *in vitro* gastrointestinálním modelem lidského trávicího traktu byl pozorován statisticky významný ($p > 0,05$) nárůst koncentrace Al v množství přibližně 5,7 %. Toto zvýšení může být vysvětleno kyselou gastrickou fází trávení, při níž by mohlo pravděpodobně docházet k uvolnění prvku z nerozpustných forem do dobře disociovatelných sloučenin. Opět zde nebyla zjištěna žádná úroveň ($p < 0,05$) mezi stanoveným obsahem Al v digestátu a jeho rozpustným množstvím v odvaru, což potvrzuje předchozí výsledky naznačující, že se jednotlivé produkty vzájemně lišily nejen koncentrací prvku, ale také zastoupením a vzájemným poměrem jeho forem. Lze tedy říci, že hypotéza práce byla splněna a koncentrace Al v nálevu a digestátu ibi-kového čaje je závislá na typu rostlinné matrice a zejména typu sloučenin, v nichž je obsažen. Nebyl však pozorován vliv ($p < 0,05$) použitých forem filtrace a nálevu na stanovovaný parametr.

Jak již bylo zmíněno v literární rešerši, doporučená denní dávka prvku v pitné vodě je 0,2 mg/l. Čaje připravené ze sušeného ibi-kového květu toto množství sice výrazně nepřekrojují, avšak po jejich průchodu simulovaným statickým *in vitro* gastrointestinálním modelem lidského trávení byly získány až dvojnásobné koncentrace Al. Přijímání a dostupnost prvku se tedy může dále zvyšovat právě díky jeho obsahu v ibi-kovém čaji, který je doporučen mimo jiné díky obsahu vitamínu C, vápníku, železa, antioxidantů a dalších

a absenci kofeinu. Jeho obsah Al by z výše uvedeného do vody neml být pohlížen obzvlášt u lidí s nadměrnou konzumací aj a také u rizikových skupin obyvatelstva (t hotné a kojící ženy, d ti i osoby trpící ledvinovými poruchami).

Na základ získaných výsledk lze tedy uzavít, že hypotéza práce byla splněna. Do budoucna by bylo vhodné, zejména u rizikových látek, stanovovat nejen jejich koncentraci v určité potravinářské matici, ale zamít se také na jejich využitelnost z ní p i pr chodu této matrice gastrointestinálním systémem.

8 Seznam poufíté literatury

Adams, F., Hathcock, B. F. 1984. Aluminium toxicity and calcium deficiency in acid subsoil horizons of two Coastal Plains Soil Series. *Soil Science Society of America Journal*. 48. 1305-1309.

Alberti, G., Biesuz, R., Profumo, A., Pesavento, M. J. 2003. Aluminium toxicity and calcium deficiency in acid subsoil horizons of Coastal Plains soil series. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 97 (1). 79-88.

Ali, B. H., Al Wabel, N., Blunden, G. 2005. Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. *Phytotherapy Research*. 19 (5). 369-375.

Basgel, S., Erdemoglu, S. B. 2006. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. *Science of the Total Environment*. 359. 82-89.

Cabrera-Vique, C., Mesías, M. 2013. Content and bioaccessibility of aluminium in duplicate diets from southern Spain. *Journal of Food Science*. 78 (8). T1307-T1312.

Česko. Zákon č. 110 ze dne 19. května 1997 o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro čaj, kávu a kávoviny. In: sbírka zákonů České republiky. 1997. částka 41. s. 3203-3226. Dostupné také z www.mvcr.cz/soubor/sb070-08-pdf.aspx.

De-Costa-Rocha, I., Pischel, I., Heinrich, M., Bonnlaender, B., Sievers, H. 2014. *Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*. 165. 424 - 443.

Delhaize, E., Ryan, P. R. 1995. Aluminium Toxicity and Tolerance in Plants. *Plant Physiology*. 107. 315-321.

Deng, Z., Coudray, Ch., Gouzoux, L., Mazur, A., Rayssiguier, Y., Pépin, D. 1998. Effect of Oral Aluminium Citrate on Blood Level and Short-Term Tissue Distribution of Aluminium in the Rat. *Biological Trace Element Research*. 1998. 63 (2). 139-147.

DeVoto, E., Yokel, R. A. 1994. The biological speciation and toxicokinetics of aluminum. *Environmental Health Perspectives*. 102 (11). 940-951.

Díaz-Corte, C., Fernández-Martín, J. L., Barreto, S., Gómez, C., Fernández-Coto, T., Braga, S., Cannata, J. B. 2001. Effect of aluminium load on parathyroid hormone synthesis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 16 (4). 742-745.

Domingo, J. L. Aluminium toxicology. 2003. In: Trugo, L., Finglas, P. M., Caballero, B. (eds). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. Academic Press. St. Louis. p. 160-166. ISBN: 978-0-12-227055-0.

- Eastwood, J. B., Levin, G. E., Pazianas, M., Taylor, A. P., Denton, J., Freemont, A. J. 1990. Aluminium deposition in bone after contamination of drinking water supply. *Lancet*. 336. 462-464.
- Edwardson, J. A., Moore, P. B., Ferrier, I. N., Lilley, J. S., Newton, G. W., Barker, J., Templar, J., Day, J. P. 1993. Effect of silicon on gastrointestinal absorption of aluminium. *Lancet* (8865). 211-212.
- Essington, M. E. 2004. *Soil and Water Chemistry: An Integrative Approach*. CRC Press. Boca Raton. p. 656. ISBN: 9781466573154.
- Exley, C., House E. R. 2012. Aluminium in the human brain. In: Linert, W., Kozłowski, H. (eds). *Metal Ions in Neurological Systems*. Wien. p. 95-101.
- Falade, O. S., Otemuyiwa, I. O., Oladipo, A., Oyedapo, O. O., Akinpelu, B. A., Adewusi, S. R. 2005. The chemical composition and membrane stability activity of some herbs used in local therapy for anemia. *Journal of Ethnopharmacology*. 102 (1). 15622.
- Greger, J. L., Powers, C. F. 1993. Assessment of exposure to parenteral and oral aluminium with and without citrate using a desferrioxamine test in rats. *Toxicology*. 76. 119-132.
- Gregory, J. 2006. *Particles in water, properties and processes*. CRC Press. Boca Raton. p. 200. ISBN: 9781587160851.
- Health Canada. *Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document on Aluminium* [online]. November 1998 [cit. 2015-07-03]. Dostupné z: <<http://healthycanadians.gc.ca/publications/healthy-living-vie-saine/water-aluminum-eau/alt/water-aluminum-eau-eng.pdf>>.
- Hue, N. V., Craddock, G. R., Adams, F. 1986. Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. *Soil Science Society of America Journal*. 50. 28-34.
- Infogest Working Group. *Harmonized in vitro digestion protocol* [online]. January 2015. [cit. 2016-03-02]. Dostupné z: <<https://www.dropbox.com/sh/kjjv365egc1be11/AACTCSDQncOwQfUHqRAFQQ8sa/Harmonized%20IVD%20protocol%20template%20option%202.xltx?dl=0>>
- ISO 12020. *Water quality - Determination of aluminium - Atomic absorption spectrometric methods*. 1997. International Organization for Standardization. Geneva. p. 10.
- Ismail, A., Ikram, E. H. K., Nazri, H. S. M. 2008. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds - nutritional composition, protein quality and health benefits. *Food*. 2 (1). 1-16.
- Jeszka-Skowron, M., Krawczyk, M., Zgoń-Grze kowiak, A. 2015. Determination of antioxidant activity, rutin, quercetin, phenolic acids and trace elements in tea infusions: Influence of citric acid addition on extraction of metals. *Journal of Food Composition and Analysis*. 40. 70677.
- Jones, K. C., Bennett, B. G. 1986. Exposure of man to environmental aluminum - An exposure commitment assessment. *Science of the Total Environment*. 52 (1-2). 65-82.

- Kaehny, W. , Hegg, A., Alfrey, A. 1997. Gastrointestinal absorption of aluminium from aluminium containing antacids. *New England Journal of Medicine*. 296. 1389-1390.
- Krajl, B., Kriflaj, I., Bukovec, P. 2005. Speciation of aluminium in tea infusions by use of SEC and FPLC with ICP-OES and ES-MS detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 383. 467-475.
- Krewski, D., Yokel, R. A., Nieboer, E., Borchelt, D., Cohen, J., Harry, J., Kacew, S., Lindsay, J., Mahfouz, A. M., Rondeau, V. 2007. Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B Critical Reviews*. 10. 1-269.
- Kumar, A., Nair, A. G. C., Reddy, A. V. R., Garg, A.N. 2005. Availability of essential elements in Indian and US tea brands. *Food Chemistry*. 89. 441-448.
- Lubkowska, A., Chlubek, D. 2015. Aluminium in the human environment - Absorption and toxicity. *Trace Elements and Electrolytes*. 32 (2). 52-59.
- Malíka, J., Fraňková, A., Drabek, O., Szaková, J., Asha, Ch., Kokoska, L. 2013. Aluminium and other elements in selected herbal tea plant species and their infusions. *Food Chemistry*. 139. 728-734.
- Malluche, H. H. 2002. Aluminium and bone disease in chronic renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2. 21-24.
- Marcus, A., Fisher, A., Ree, G., Hill, J. 1996. Preliminary study using trace element concentrations and a chemometric approach to determine the geological origin of tea. *Journal of Agricultural Atomic Spectroscopy*. 113 (3). 521-525.
- Martin, R. B. 1986. The chemistry of aluminum as related to biology and medicine. *Clinical Chemistry*. 32 (10). 1797-1806.
- Martin, R. B. 1990. Aluminosilicate stabilities under blood plasma conditions. *Polyhedron*. 9. 193-197.
- Matsumoto, H., Hirasawa, E., Morimura, S., Takahashi, E. 1976. Localization of aluminum in tea leaves. *Plant and Cell Physiology*. 17. 627-631.
- McKay, D. L., Chen, C. Y., Saltzman, E., Blumberg, J. B. 2010. Hibiscus sabdariffa L. tea (tisane) lowers blood pressure in prehypertensive and mildly hypertensive adults. *Journal of nutrition*. 140 (2). 298-303.
- McLachlan, D. R. C. 1995. Aluminium and Alzheimer's Disease. *Environmetrics*. 6 (3). 233-275.
- Milani, R. F., Morgano, M. A., Saron, E. S., Silva, F. F., Cadore, S. 2015. Evaluation of Direct Analysis for Trace Elements in Tea and Herbal Beverages by ICP-MS. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 26 (6). 1211-1217.

- Miller, R. G., Kopfler, F. C., Kelty, K. C., Stober, J. A., Ulmer, N. S. 1984. The occurrence of aluminum in drinking water. *Journal of the American Water Works Association*. 76 (1). 84-91.
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., Brodkorb, A. 2014. A standardised static in vitro digestion method suitable for food ó an international consensus. *Food & function*. 5. 1113-1124.
- Mohamed, R., Fernández, J., Pineda, M., Aguilar, M. 2007. Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) seed oil is a rich source of gamma-tocopherol. *Journal of Food Science*. 72 (3). S207-211.
- Müller, M., Anke, M., Illing-Günther, H. 1998. Aluminium in foodstuffs. *Food Chemistry*. 61 (4). 419-428.
- Nowak, P., Brus, R. 1996. Experimental and clinical aspects of the neurotoxic action of aluminium. *Post py Higieny i Medycyny Do wiadczalnej*. 50 (6). 621-633.
- Ozcan, M. M., Unver, A., Ucar, T., Arslan, D. 2008. Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction. *Food Chemistry*. 106. 1120-1127.
- Podda, A. 2001. The adjuvanted influenza vaccines with novel adjuvants: experience with the MF59-adjuvanted vaccine. *Vaccine*. 19 (17-19). 2673-2680.
- Prenci, E., Berto, S., Daniele, P., Toso, S. 2007. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. *Food Chemistry*. 100. 433-438.
- Priest, N. D. 1993. The bioavailability and metabolism of aluminium compounds in man. *Proceedings of the Nutrition Society*. 52. 231-240.
- Ramirez-Rodriguez, M. M., Plaza, M. L., Azeredo, A., Balaban, M. O., Marshall, M. R. 2011. Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Food Science*. 76 (3). C428-435.
- Ranau, J. Oehlenschläger, H. Steinhart. 2001. Aluminum levels of fish fillet baked and grilled in Aluminum foil. *Food Chemistry*. 73. 1-6.
- Reiber, S., Kukull, W., Standish-Lee, P. 1995. Drinking water aluminum and bioavailability. *Journal of American Water Works Association*. 88. 86-100.
- Ross, I. A. 2003. *Hibiscus Sabdariffa*. *Medicinal Plants of the World*. 1. 267-275.
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J., Goñi, I. 2007. Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) Beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55 (19). 7886-7890.

- Shaw, C. A., Tomljenovic, L. 2013. Aluminum in the central nervous system (CNS): toxicity in humans and animals, vaccine adjuvants, and autoimmunity. *Immunologic Research*. 56 (2-3). 304-16.
- Sindi, H. A., Marshall, L. J., Morgan M. R. 2014. Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*. *Food Chemistry*. 164. 23-29.
- Solkiewicz, K. A., Lewandowski, L. 2000. Modern threats of aluminium poisoning. *Stomatologia*. 27. 69-72.
- Stefanovits-Banyai, E., Szentmihalyi, K., Hegedus, A., Koczka, N., Vali, L., Taba, G., Blázovics, A. 2006. Metal ion and antioxidant alterations in leaves between different sexes of *Ginkgo biloba* L. *Life Sciences*. 78. 1049-1056.
- Street, R., Drábek, O., Száková, J., Mládková, L. 2007. Total content and speciation of aluminium in tea leaves and tea infusions. *Food Chemistry*. 104. 1662-1669.
- Strzalkowska, D. 1991. The role of aluminium in the human body. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 45 (3-4). 257-279.
- Valkonen, S., Aitio, A. 1997. Analysis of aluminum in serum and urine for the biomonitoring of occupational exposure. *Science of The Total Environment*. 199. 103-110.
- Vittori, D., Garbossa, G., Lafourcade, C., Pérez, G., Nesse, A. 2002. Human erythroid cells are affected by aluminium. Alteration of membrane band 3 protein. 1558 (2). 142-150.
- WHO. Guidelines for drinking-water quality. 2004. Geneva. p. 515. ISBN: 924154638 7.
- Wrobel, K., Colunga, E. 2000. Determination of Total Aluminum, Chromium, Copper, Iron, Manganese, and Nickel and Their Fractions Leached to the Infusions of Black Tea, Green Tea, *Hibiscus sabdariffa*, and *Ilex paraguariensis* (Mate) by ETA-AAS. *Biological Trace Element Research*. 78 (1-3). 271-280.
- Yalcin Gorgulu, T., Kipcak, A. S., Dere Ozdemir, O., Moroydor Derun, E., Piskin, S. 2014. Examination of the lemon effect on risk elements concentrations in herbal and fruit teas. *Czech Journal of Food Sciences*. 32. 555-562.
- Yokel, R. A., Florence, R. L. 2006. Aluminum bioavailability from the approved food additive leavening agent acidic sodium aluminum phosphate, incorporated into a baked good, is lower than from water. *Toxicology*. 227 (1 - 2). 86-93.
- Yokel, R. A., Florence, R. L. 2008. Aluminium bioavailability from tea infusion. *Food and Chemical Toxicology*. 46. 3659-3663.
- Zatta, P., Ibn-Lkhatat-Idrissi, M., Zambenedetti, P., Kilyen, M., Kiss, T. In vivo and in vitro effects of aluminum on the activity of mouse brain acetylcholinesterase. *The Brain Research Bulletin*. 59 (1). 41-45.

9 Seznam zkratk

ICP-OES - Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

(Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy)

SGF - Simulovaná žaludeční – šťáva (Simulated Gastric Fluid)

SIF - Simulovaná střevní – šťáva (Simulated Intestinal Fluid)

WHO - Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)