Obsah těžkých kovů v rybím mase.

Bc. Petra Prokopová

Diplomová práce
2010

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Bc. Petra PROKOPOVÁ**
Osobní číslo:	**T080512**
Studijní program:	**N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Téma práce:	**Obsah těžkých kovů v rybím mase.**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. **Těžké kovy v potravinách.**
2. **Charakteristika těžkých kovů u ryb.**
3. **Metody stanovení těžkých kovů v biologických materiálech.**
4. **Způsoby úpravy vzorků před analýzou.**
5. **Cíl práce**

II. Praktická část

1. **Vybrané metody stanovení těžkých kovů v rybách.**
2. **Analýza jednotlivých vzorků.**
3. **Výsledky a diskuze.**
4. **Závěr.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] ČERNOHORSKÝ, T., JANDERA, P. Atomová emisní spektrometrie, Univerzita Palackého, 1997.

[2] GREENWOOD, N. N., EARNSHAW, A. Chemie prvků, Praha 1993.

[3] KOPLÍK, R. a kol. Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech, chemické listy, 1997

[4] SKOOG, D. A. Analytical chemistry an introduction, Seventh Edition, 2007.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.**
Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání diplomové práce: **4. ledna 2010**

Termín odevzdání diplomové práce: **19. května 2010**

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan

L.S.

UNIVERZITA TOMÁŠE BATI VE ZLÍNĚ
Fakulta technologická

prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Prokopová Petra Obor: THEVP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby [1)];
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 [2)];
- beru na vědomí, že podle § 60 [3)] odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 [3)] odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 11. 5. 2010

Prokopová Petra

[1)] *zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:*

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlédnutí veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy

nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

[2)] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

[3)] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Obsahem diplomové práce je stanoveni zastoupení těžkých kovů ve svalovině vybraných druhů ryb. Jejím hlavním cílem bylo stanovení obsahu jednotlivých kovů a vyhodnotit míru kontaminace rybího masa těmito látkami a srovnání s legislativnou. Ke stanovení rtuti bylo použito jednoúčelového atomového absorpčního spektrofotometru AMA 254 a ke stanovení (As, Cr, Pb, Cd) byl použit ICP-OES spektrometr IRIS Intrepid II.

Výše uvedené téma je velmi aktuální, neboť zátěž životního prostředí těžkými kovy se stává stále věším problémem pro naší společnost a není to problém pouze lokální ale stává se problémem globálním.

Klíčová slova: těžké kovy, arsen, kadmium, olovo, chrom, rtuť, rybí maso, ICP-OES

ABSTRACT

Content of the thesis is to determine the representation of heavy metals in muscle of selected fish species. Its main objective was to determine the content of metals and to assess the degree of contamination of fish and these substances compared with the legislative. To determine the mercury was used atomic absorption spectrophotometer dedicated AMA 254 and to determine the (As, Cr, Pb, Cd) was used ICP-OES spectrometerIRISIntrepid II.

The above topic is very timely, since the environmental burden of heavy metals is becoming increasingly hang my problem to our society and not just a local problem but is becoming a global problem.

Keywords: Heavy metals, Arsenic, Cadmium, Lead, Chromium, Mercury, Fish, ICP-OES

Chtěla bych poděkovat doc. Ing. Miroslavu Fišerovi CSc., vedoucí mé diplomové práce, za odborné vedení, cenné rady a připomínky k tématu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD **11**

I TEORETICKÁ ČÁST **12**

1 TĚŽKÉ KOVY **13**

1.1 FORMY TĚŽKÝCH KOVŮ VE VODNÍM PROSTŘEDÍ 13

1.2 ARSEN 14

1.2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti arsenu 14
1.2.2 Formy arsenu v přírodě 14
1.2.3 Využití arsenu 14
1.2.4 Toxikologické vlastnosti arzenu 14
1.2.5 Zdroje znečištění 15
1.2.6 Arsen v potravinách 15

1.3 KADMIUM 15

1.3.1 Fyzikální a chemické vlastnosti 15
1.3.2 Formy kadmia v přírodě 16
1.3.3 Využití kadmia 16
1.3.4 Toxikologické vlastnosti kadmia 16
1.3.5 Zdroje znečištění 17
1.3.6 Kadmium v potravinách 17

1.4 OLOVO 18

1.4.1 Fyzikální vlastnosti olova 18
1.4.2 Formy olova v přírodě 18
1.4.3 Využití olova 18
1.4.4 Toxikologické vlastnosti olova 19
1.4.5 Zdroje znečištění 19
1.4.6 Olovo v potravinách 19

1.5 CHROM 19

1.5.1 Fyzikální vlastnosti chrómu 20
1.5.2 Formy chrómu v přírodě 20
1.5.3 Využití chrómu 20
1.5.4 Toxické vlastnosti chrómu 21
1.5.5 Zdroje znečištění 21
1.5.6 Chróm v potravinách 21

1.6 RTUŤ 21

1.6.1 Fyzikální vlastnosti rtuti 21
1.6.2 Formy rtuti v přírodě 22
1.6.3 Využití rtuti 22
1.6.4 Toxikologické vlastnosti rtuti 23
1.6.5 Cyklus rtuti v přírodě 23
1.6.6 Průběh methylace rtuti 24
1.6.7 Oxidačně-redukční reakce rtuti v přírodě 25
1.6.8 Obsah rtuti u vodních organismů 25

2 METODY STANOVENÍ TĚŽKÝCH KOVŮ **27**

2.1 STANOVENÍ TK (AS, CD, PB, CR) 27
2.1.1 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) 27
2.1.2 Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-OES 28
2.2 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU RTUTI 29
2.2.1 Atomová absorpční spektrometrie AAS 29
2.2.1.1 Princip atomové absorpční spektrometrie (AAS) 29
2.2.1.2 Metoda F-AAS 29
2.2.1.3 Metoda ET-AAS 30
2.2.1.4 Metoda studených par (CV-AAS) 30
2.2.1.5 Termooxidační metoda 32
2.2.2 Atomová fluorescenční spektrometrie AFS 33
2.2.3 Optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-OES 34
2.2.4 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) 35
3 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA RYB 36
3.1 ANATOMIE RYB 36
3.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ RYBÍHO MASA 37
3.2.1 Obsah vody 37
3.2.2 Obsah bílkovin 37
3.2.3 Obsah minerálních látek 38
3.3 NUTRIČNÍ HODNOTA RYBÍHO MASA 39
4 DRUHY SLEDOVANÝCH RYB 41
4.1 PANGASIUS DOLNOOKÝ 41
4.2 PRAŽMA MODRAVÁ 41
4.3 SLEĎ OBECNÝ 42
4.4 ŠTIKOZUBEC OBECNÝ 42
4.5 ŽRALOK 43
4.6 LOSOS 43
II PRAKTICKÁ ČÁST 45
5 CÍL PRÁCE 46
6 STANOVEMÍ TĚŽKÝCH KOVŮ (AS, CR, PB, CD) 47
6.1 VZORKY RYB 47
6.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE 47
6.2.1 Slepý roztok 48
6.2.2 Zásobní roztok pro kalibraci a kontrolu 48
6.3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ 48
6.3.1 ICP-OES spektrometr IRIS Intrepid II 48
6.4 ÚPRAVA VZORKŮ PŘED VLASTNÍM STANOVENÍM 49
6.4.1 Příprava spikovaného vzorku 50

6.5 VLASTNÍ MĚŘENÍ NA PŘÍSTROJI ICP-OES 50
6.5.1 Stanovení sušiny 51
6.6 VÝPOČET OBSAHU TĚŽKÝCH KOVŮ 51
7 PRACOVNÍ POSTUP STANOVENÍ RTUTI (HG) 53
7.1 VZORKY RYB 53
7.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE 53
7.3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ 53
7.3.1 Analyzátor rtuti AMA 254 54
7.4 PRACOVNÍ POSTUP STANOVENÍ RTUTI 55
7.4.1 Příprava spikovaného vzorku 56
7.5 VÝPOČET OBSAHU RTUTI 56
8 VÝSLEDKY A DISKUZE 58
8.1 VÝTĚŽNOST ANALYTICKÝCH POSTUPŮ 58
8.2 STANOVENÍ OBSAHU TĚŽKÝCH KOVŮ V RYBÍM MASE 60
ZÁVĚR 67
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 68
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK 71
SEZNAM OBRÁZKŮ 72
SEZNAM TABULEK 73

ÚVOD

Kvalita vody je hlavní faktor, který ovlivňuje zdraví lidí i zvířat. Kvalita povrchové vody v různých oblastech je ovlivněna, jak přírodními vlivy, tak i antropogenními vlivy. Městskou, průmyslovou, zemědělskou činností a zvyšujícím se využívání vodních zdrojů [20].

S rozvojem moderní techniky roste velmi rychle produkce a spotřeba kovů a metaloidů. Zvláště to platí pro neželezné kovy, z nichž některé byly donedávna produkovány v nesrovnatelně menším množství, a to často jen v poloprovozním nebo laboratorním měřítku (beryllium, titan, germanium, gallium, vadan, selen, molybden, wolfram). Roste také produkce klasických barevných kovů, které postupně nacházejí i nové druhy uplatnění. Platí to zejména pro hliník, olovo, měď, nikl, chróm, antimon a rtuť.

Zvyšování koncentrace výše uvedených kovů v životním prostředí člověka (v ovzduší, vodě, půdě, a poživatinách) je vážný hygienický problém, jehož rozsah neustále vzrůstá. Kovy nepodléhají chemické degradaci a hromadí se v povrchových vrstvách půdy Půdní mikroorganismy i vodní mikroflóra dokonce způsobují, že část toxických kovů vstupuje do vazby s organickými látkami, čímž se v řadě případů znásobuje nebo významně mění jejich toxicita.

Při zvyšování obsahu toxických kovů ve vodě se v mnoha případech zvyšuje jejich obsah v živočišných produktech, např. rybách, což může mít pro člověka neblahé následky [1].

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 TĚŽKÉ KOVY

Těžké kovy patří mezi hlavní skupinu znečisťujících látek. Jde o rozsáhlou skupinu kontaminantů, které se vyznačují rozdílnými vlastnostmi a účinky. Mezi těžké kovy se počítá 37 kovů z periodické soustavy prvků.

Nejdůležitější těžké prvky, které se mohou vyskytovat v rybím mase jsou olovo (Pb), kadmium (Cd), rtuť (Hg), arzen (As) a chrom (Cr). Riziko plynoucí z těchto prvků v potravinách je v současné době velice nízké [2]. Některé z nich působí negativně na sensorické vlastnosti potravin a konsument pozoruje zhoršení vzhledu (změna barvy, vznik zákalu). Jiné urychlují oxidaci a snižují tak nutriční hodnotu potravin [3].

Pro olovo, kadmium, rtuť i arsen jsou stanovena nejvyšší přípustná množství v potravinách

všeobecně i konkrétně v jednotlivých skupinách. Výskyt toxických prvků v potravinách je popsán ve vyhlášce 305/2004 Sb. ze dne 6. května 2004, kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách. Dále v nařízení Komise ES 466/2001 Sb. ze dne 8. března 2001, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách [4].

Velmi škodlivé mohou být i další prvky, které jsou v malém množství i v půdách, rostlinách potřebné, ale když se nahromadí ve velkém množství, mohou působit ještě toxičtěji, než výše uvedené prvky, jsou to např. Zn, As, Cu, Ni, a další [2].

1.1 Formy těžkých kovů ve vodním prostředí

Ve vodním prostředí jsou těžké kovy přítomny ve formě rozpuštěných iontů a komplexů, koloidní ionty se vyskytují v kalech a sedimentech vodních toků. Koncentrace těchto iontů kovů jsou závislé na řadě faktorů, jako jsou: biologické procesy, redoxní potenciál, iontová síla, pH. Vodní organismy přítomné v každém ekosystému jsou potenciálně užitečné jako biomarkery toxických kovů. Obsah těžkých kovů v rybím mase je ukazatel znečištění vodních systémů [5]

1.2 Arsen

Patří mezi nejstarší lidstvu známé prvky. Vlastnosti sulfidu arsenitého a odvozených sloučenin byly známy od 5. století př. Kr. Izolování arsenu je připisováno Albertu Magnusovi, který jej získal zahříváním auripigmentu (As2S3) s mýdlem kolem roku 1200 [2].

1.2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti arsenu

- Chemická značka As
- Atomové číslo 33
- Relativní atomová hmotnost 74,11
- Hustota 5,727g/cm^3 [1]

1.2.2 Formy arsenu v přírodě

Nejvíce je přítomen v arsenopyritu (FeSAs), ze kterého po zahřátí sublimuje. As_2O_3 se ve velkém množství získává jako létavý prach odpadající při tavení Cu a Pb, což představuje nejdůležitější průmyslový zdroj arsenu. Mořská voda obsahuje obvykle 0,006-0,03μg As.g^{-1}, ale podstatně vyšší koncentrace byly nalezeny v okolí vyústění kanalizací drénující průmyslové oblasti, např. okolí britských ostrovů [2].

1.2.3 Využití arsenu

Používá se ve slitinách s olovem a mědí pro zlepšení jejich vlastností (tvrdost a slévatelnost). Arsen a jeho sloučeniny jsou jedovaté, některé jsou užívané v zemědělství jako insekticidy a jedy. Existuje v několika alotropických modifikacích, z nichž nejběžnější je ocelově šedá, velmi křehká, krystalická modifikace. Na vzduchu zmatní a po zahřátí rychle oxiduje na As_4O_6, který páchne po česneku [2].

1.2.4 Toxikologické vlastnosti arzenu

Sloučeniny arsenu jsou vysoce jedovaté, a to jak akutně, tak chronicky. Některé jsou též prokázanými mutageny, karcinogeny a teratogeny. Za netoxický bývá považován kovový arsen, který je však v organismu přeměněn ve své toxické sloučeniny. Sloučeniny trojmoc-

ného arsenu jsou všeobecně jedovatější než sloučeniny arsenu pětimocného. Mezi nejjedovatější sloučeniny arsenu patří oxid arsenitý As_2O_3 (arsenik, otrušík), chlorid arsenitý $AsCl_3$, dále arsan AsH_3, z organických sloučenin je nejvýznamnější bojový lewisit[3].

1.2.5 Zdroje znečištění

Největší zdroj znečištění je v souvislosti s používáním arzenových pesticidních preparátů. Dále pak odpadní vody továren na výrobu cínu. Častěji jsou však vody kontaminované arzenem v okolí dolů, hald a hutí.

1.2.6 Arsen v potravinách

V některých potravinách se nacházíme i v přirozených podmínkách větší množství arzenu. Nejvíce ho obsahují obvykle a z méně exotických produktů nejvíce oves. Víno a vinné mošty mohou příležitostně obsahovat větší množství arzenu v důsledku používání arzenových pesticidů. Arzen je silně redukován v průběhu zpracování, protože je kumulováno kvasinkami.

Zdrojem zvýšeného příjmu arsenu z potravy jsou obvykle mořské ryby z lokalit, kdy dochází ke zvýšené koncentraci tohoto prvku ve vodě. Příčinou bývá obvykle lidská aktivita (vypouštění závadných odpadních vod do moře), ale může to být i podmořská vulkanická činnost [1].

1.3 Kadmium

1.3.1 Fyzikální a chemické vlastnosti

- Chemická značka Cd
- Atomové číslo 48
- Relativní atomová hmotnost 112,4
- Hustota 8,65 g/cm^3

Přirozeně se vyskytuje spolu se zinkem a olovem.[1]

1.3.2 Formy kadmia v přírodě

Důležitým zdrojem znečištění prostředí kadmiem je spalování pohonných hmot a olejů, v zemědělství používání fosfátů přirozeného původu a pesticidů obsahujících tento prvek. Kadmium emitované do ovzduší se nakonec hromadí v půdě a vodě a vstupuje takto do potravinových řetězců. Na základě analýz jednotlivých složek potravy a výsledků spotřebních studií bylo prokázáno, že denní příjem ve většině zemí se pohybuje v průměru kolem 50 g Cd [1].

Kadmium se vyskytuje v řadě anorganických i organických sloučenin jako dvojmocný kation. S ogranickými sloučeninami (např. thiokarbamáty) tvoří komplexy a tato jeho vlastnost je základem pro některé analytické metody jeho stanovení. Vzhledem k chemické podobnosti se kadmium vyskytuje v rudách a půdě společně se zinkem v poměru 1:100 až 1:1000 [1].

1.3.3 Využití kadmia

Kadmium je pro své vlastnosti chránit železo před korozí používáno při výrobě plechů, zejména v automobilovém průmyslu. Pro svou schopnost zlepšovat mechanicko-chemické vlastnosti dalších kovů je přidáváno zejména do slitin na bázi mědi. Důležité je jeho využití jako součásti elektrod v alkalických akumulátorech. Kadmium se vyskytuje v některých součástkách s PCB, jako jsou rezistory a povrchově montované čipy, infračervené detektory a polovodiče. Rovněž malé množství se nachází v plátovaných kontaktech a spínačích a velmi malé množství kadmia se může používat jako stabilizátor v PVC izolacích pro dráty využívané při konstrukci počítačů. Dobíjecí nikl-kadmiové baterie se používají hlavně v přenosných počítačích [8].

1.3.4 Toxikologické vlastnosti kadmia

Pouze malá část kadmia požitého v potravě je v organismu kumulována Rozsah retence se liší v závislosti na druhu a způsobu stravování, např. mléčná dieta výrazně zvyšuje vstřebávání kadmia [9].

Dalším rizikovým faktorem u kadmia je skutečnost, že se jedná o mimořádně kumulativní jed. Přijaté kadmium se z organizmu vylučuje jen velmi pozvolna a obtížně, jeho většina se přitom koncentruje především v ledvinách a v menší míře i v játrech. Bylo prokázáno, že

kadmium může v ledvinách setrvat až desítky let. Právě ty jsou při chronické otravě kadmiem nejvíce ohroženy. Hlavními zdravotními projevy dlouhodobé (chronické) otravy kadmiem jsou kromě poškození ledvin a jater také osteoporóza a anémie zvyšuje se i riziko srdečních a cévních onemocnění. Vyšší obsah kadmia totiž působí na metabolizmus vápníku a způsobuje jeho zvýšené vylučování z organizmu s následkem zeslabení kostní hmoty. Kadmium je také prokazatelně karcinogenní a jeho vysoký obsah v organizmu zvyšuje riziko vzniku rakovinného bujení [10]. Požití potravy nebo nápoje kontaminované kadmiem vyvolávají akutní poruchy trávicího ústrojí. Hlavní symptomy akutní otravy kadmiem křeče trávicího ústrojí, bolesti hlavy [1].

Do organizmu se kadmium dostává dvěma cestami – v potravě a dýcháním. Z potravin jsou rizikovým faktorem především vnitřnosti (játra, ledviny) nebo ryby, které byly kontaminovány kadmiem při svém růstu. Rizikové mohou být i zemědělské plodiny, pěstované na kadmiem kontaminované půdě, ryby, houby [10].

1.3.5 Zdroje znečištění

Kontaminace životního prostředí kadmiem je v poslední době vyvolána zejména jeho rostoucím používáním v průmyslu. Na tomto procesu se podílejí slévárny kovů a průmyslu barviv, výroba plastů a výroba akumulátorů. Důležitým zdrojem znečištění prostředí kadmiem je také spalování pohonných hmot a olejů, v zemědělství používání fosfátů přirozeného původu a pesticidů obsahujících tento prvek.

Kadmium emitované do ovzduší se nakonec hromadí v půdě a ve vodě a vstupuje takto do potravinových řetězců [11].

1.3.6 Kadmium v potravinách

Do organizmu se kadmium dostává dvěma cestami – v potravě a dýcháním. Z potravin jsou rizikovým faktorem především vnitřnosti (játra, ledviny) nebo ryby, které byly kontaminovány kadmiem při svém růstu. Rizikové mohou být i zemědělské plodiny, pěstované na kadmiem kontaminované půdě [1].

1.4 Olovo

Olovo je nejrozšířenější z těžkých kovů. Vyskytuje se v půdě, vodách i v atmosférických komponentách biosféry [1]. Průměrný obsah olova v zemské kůře je 13 $mg.kg^{-1}$. V přírodě se vyskytuje především v sulfidových (PbS) a karbonátových rudách. V posledních desetiletích dochází ke zvýšenému zamoření životního prostředí sloučeninami olova (antidetonační přídavky do benzinů, hutní průmysl, výroba olovnatého skla, akumulátorů, polygrafický průmysl a jiné) [13].

1.4.1 Fyzikální vlastnosti olova

- Chemická značka Pb
- Atomové číslo 82
- Relativní atomová hmotnost 207,2
- Hustota 11,34 g/cm^3[1]

1.4.2 Formy olova v přírodě

Obsah olova se v zemské kůře postupně zvyšuje. V mořské vodě činí jeho koncentrace pouze 0,03 mikrogramu v jednom litru.

Elementární olovo se v přírodě vyskytuje pouze vzácně. Nejběžnějším minerálem a zároveň olověnou rudou je sulfid olovnatý, galenit PbS. Dalšími méně běžnými minerály olova jsou cerusit, uhličitan olovnatý $PbCO_3$ a anglesit, síran olovnatý $PbSO_4$. Dále se olovo často vyskytuje jako doprovodný prvek v rudách zinku a stříbra [13].

1.4.3 Využití olova

Jedním z největších zpracovatelů olova je do současné doby průmysl, vyrábějící elektrické akumulátory. Pro tyto účely je využívána přibližně polovina světové produkce olova. Dále je olovo využíváno pro výrobu alkylsloučenin olova (antidetonačních přísad v benzínu), při výrobě kabelů, barviv, slitin, střeliva a to především pro svoji vysokou specifickou hmotnost, která poskytuje olověné střele vysokou průraznost [1,14].

1.4.4 Toxikologické vlastnosti olova

Toxicita olova je zvláště významná pro dětský organismus. Trvalá expozice dětského organismu i nízkými dávkami olova je příčinou zpomalení duševního vývoje a nepříznivých změn v chování. Olovo se po vniknutí do organismu ukládá hlavně v kostech a v určitém množství se nachází v krvi. Typickými příznaky otravy olovem jsou bledost obličeje a rtů, zácpa a nechuť k jídlu, kolika, anémie, bolesti hlavy, křeče, chronická nefritida ledvin, poškození mozku a poruchy centrálního mozkového systému. I stopy olova v okolním prostředí a potravě mohou vést při trvalém přísunu do organismu k následným těžkým onemocněním, protože olovo se v těle kumuluje a vylučuje se jen obtížně [14].

1.4.5 Zdroje znečištění

V současné době jsou nejvýznamnějšími zdroji kontaminace prostředí olovem těžba a zpracování rud, výroba baterií a spalovaní benzínu obsahujícího tetraetylolovo. Udává se, že z olova obsaženého v benzínu se výfukovými plyny dostává do ovzduší 8-80% podle druhu a režimu práce motoru [1].

1.4.6 Olovo v potravinách

Nejvyšší povolený obsah olova v potravinách je u nás 1 $mg.kg^{-1}$, v nápojích 0,3 $mg.dm^{-3}$. Tato hodnota platí také pro mléko. Povrchová kontaminace ovoce a zeleniny pěstovaných v okolí významných zdrojů emisí olova může výrazně zvýšit expozici populace, přestože tuto kontaminaci lze odstranit mytím [1].

Při dodržení předpisů je vyloučeno, aby obsah olova v hotovém výrobku dosáhl větších, než stopových množství. V konzervárenských výrobcích se připouštějí tato množství olova: dětská výživa 0,1 $mg.kg^{-1}$, konzervy v plechu 2 $mg.kg^{-1}$, rajčatový protlak 3 $mg.kg^{-1}$, sušená zelenina 10 $mg.kg^{-1}$ [15].

1.5 Chrom

Volný chrom byl nalezen v meteoritech, jinak se v přírodě vyskytuje výhradně ve sloučeninách. V trojmocné formě je biogenním prvkem, který se významným způsobem podílí na metabolismu cukrů. Toxické vlastnosti jsou přičítány především jeho šestimocné formě [1].

1.5.1 Fyzikální vlastnosti chrómu

- Chemická značka Cr
- Atomové číslo 24
- Relativní atomová hmotnost 51,9961
- Hustota 7,15 g/cm^3

1.5.2 Formy chrómu v přírodě

Chrom patří mezi prvky s poměrně značným zastoupením na Zemi i ve vesmíru. V zemské kůře činí průměrný obsah chrómu kolem 0,1 – 0,2 g/kg. V mořské vodě se jeho koncentrace pohybuje pouze na úrovni 0,05 mikrogramů v jednom litru.

Ve sloučeninách se chrom vyskytuje v mocenství Cr^{+2}, Cr^{+3} a Cr^{+6}, výjimečně se setkáme i se sloučeninami Cr^{+4} a Cr^{+5}.

Sloučeniny dvojmocného chrómu jsou silná redukční činidla, působením vzdušného kyslíku se samovolně oxidují za vzniku Cr^{+3}. Významné a stálé jsou chromnaté soli chlorid chromnatý $CrCl_2$ lépe Cr_2Cl_4 a síran chromnatý $CrSO_4$ a jeho podvojné soli.

Sloučeniny trojmocného chrómu jsou neomezeně stálé a mají obvykle zelenou barvu. Soli trojmocného chrómu slouží také ve sklářském průmyslu k barvení skla a kožedělném průmyslu při činění kůží [16].

1.5.3 Využití chrómu

Největší podíl světové produkce chrómu najde jednoznačně využití v metalurgickém průmyslu především při výrobě vysoce kvalitních ocelí. Obsah chrómu ve slitině určuje především její tvrdost a mechanickou odolnost. V každodenním životě se s chromem setkáme spíše jako s materiálem, chránícím kovové povrchy před korozí za současné zvýšení jejich estetického vzhledu. Klasickým příkladem je chromování chirurgických nástrojů i jiných zařízení používaných v medicíně [16].

1.5.4 Toxické vlastnosti chrómu

V trávicím ústrojí člověka se vstřebává méně než 1% trojmocného chrómu a kolem 2% šestimocného chrómu. Vstřebávání z trávicího ústrojí však nezávisí pouze na valenčním stavu chrómu, ale také na funkčním stavu, který může ovlivnit rovnováhu mezi trojmocným a šestimocným chrómem. Pro ryby je naopak trojmocný chróm za určitých okolností jedovatější než Cr(VI). Letální koncentrace pro různé druhy ryb se pohybují v rozmezí 0,2-5 mg/l.

Lokálně působí především chróm šestimocný způsobující toxický zánět kůže vyúsťující v tzv. chronické vředy a akutní iritativní dermatitida. Chróm je ve formě Cr(VI) alergen a způsobuje průduškové astma. Chróm je karcinogenní [1].

1.5.5 Zdroje znečištění

Mezi největší zdroje znečištění patří galvanizovny, koželužny a produkce cementu. S rostoucím používáním sloučenin chrómu jako antikorozní přísady v chladících systémech např. velkoelektráren, které mohou přispívat i ke znečišťování volného ovzduší [1].

1.5.6 Chróm v potravinách

Nejvýznamnějším zdrojem chrómu pro člověka je za normálních podmínek potrava. Nejbohatším zdrojem jsou vnitřnosti, maso, měkkýši, raci, zelenina a nerafinovaný cukr. Ryby v jedlých částech, rostlinné oleje a ovoce obsahují menší množství chrómu [1].

1.6 Rtuť

Rtuť je těžký, stříbrobílý, vysoce toxický, za normální teploty kapalný (teplota tání – 38,9°C, teplota varu 357°C) kov. V elementární formě (Hg^0) se kapalná rtuť vyznačuje značnou těkavostí (tenze par je 2,53 Pa při 25°C) a kromě vzácných plynů je jediným prvkem, jehož páry jsou téměř výhradně jednoatomové [6].

1.6.1 Fyzikální vlastnosti rtuti

- Chemická značka Hg
- Atomové číslo 80

- Relativní atomová hmotnost 200,59
- Hustota 13,534 g/cm^3[1]

1.6.2 Formy rtuti v přírodě

Rtuť je běžně se v přírodě vyskytující prvek, který je možno nalézt ve vzduchu, vodách i v půdě a sedimentech. Vyskytuje se jak ve formě elementární, tak v anorganických a organických sloučeninách. Ve vodách převažují formy dvojmocné anorganické rtuti, ve slabě kyselém prostředí jsou to již při nízkých koncentracích chloridových iontů chlorokomplexy $HgCl^+$, nedisociované $HgCl_2$, a $HgCl_3$ [17].

Světová moře jsou ročně zatížena 10000 tunami rtuti, která nepatří do přirozeného koloběhu, velká část pochází z průmyslových a zemědělských zdrojů. Spalováním uhlí se ročně dostane do vzduchu asi 5000 tun rtuti. Při výrobě tuny chloru unikne 200-300 g rtuti [16].

V mořské vodě tvoří hlavní anorganickou formu $HgCl_4^{2-}$. Ionty Hg^{2+} však již při pH 2-6 hydrolyzují na $HgOH^+$ a $Hg(OH)_2$. V alkalickém prostředí převládá forma $Hg(OH)_2$, v neutrálních vodách se střední salinitou pak HgOHCl. Nerozpustné sloučeniny jako sulfid rtuťnatý HgS a sloučeniny jednomocné rtuti je možné nalézt v sedimentech a horninách. Cinnabarit (rumělka) HgS je nejvýznamnější rudou rtuti, ze které se rtuť průmyslově získává [2].

Dalšími minerály obsahující rtuť jsou tiemanit (HgSe), coloradoit (HgTe) nebo kalomel (Hg_2Cl_2). Hlavními organickými složkami rtuti ve vodách jsou za pomoci mikroorganismů tvořené CH_3HgOH ve sladkých a CH_3HgCl v mořských vodách. Dalšími přírodními organokovovými sloučeninami rtuti jsou fenylmethylrtuť $PhCH_3Hg$ a dimethylrtuť $(CH_3)_2Hg$ [17].

1.6.3 Využití rtuti

Nejvýznamnější uplatnění v praxi má rtuť ve formě svých slitin s jinými kovy – amalgámy. Ochotně je vytváří s Au, Ag, Cu, Zn, Cd, Na, naopak s železnými kovy jako jsou Fe, Ni a Co nevznikají vůbec [19].

1.6.4 Toxikologické vlastnosti rtuti

Toxicita rtuti závisí na její chemické formě a tzn. na způsobu vystavení organismu jejímu účinku. Elementární rtuť (Hg^0) je nebezpečná převážně ve formě par, protože je snadno absorbována skrze plíce, následně poměrně rychle překračuje hematoencefalickou bariéru a dostává se do mozku [20].

Methylrtuť je nejtoxičtější formou. Ovlivňuje imunitní systém, enzymové systémy, poškozuje nervové systémy, schopnost koordinace, hmat, chuť a zrak. Methylrtuť je obzvlště nebezpečný pro vyvíjející se embrya, které jsou na její účinek 5 až 10krát citlivější než dospělí [21].

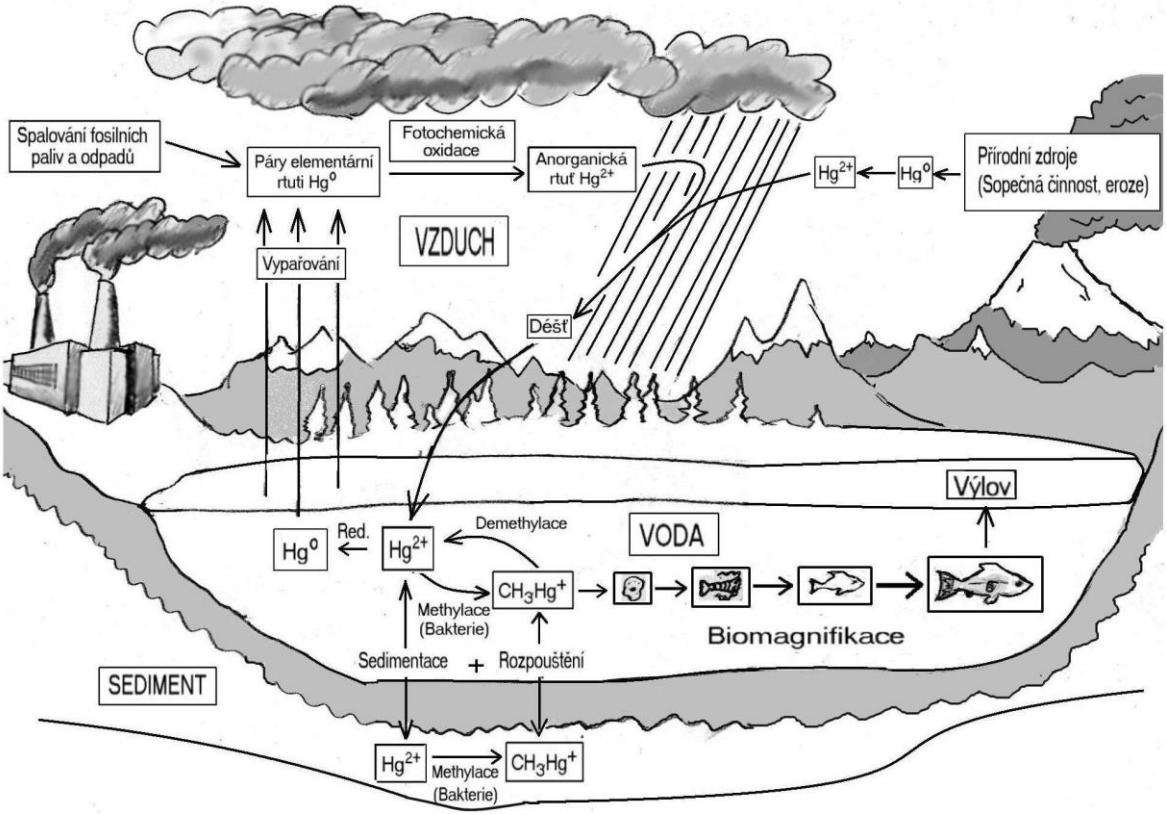
Methylrtuť se obvykle dostává do organismu spolu s potravou, a je absorbovánatrávicím traktem snadněji a vylučována z těla pomaleji než jiné formy rtuti. V organismu methylrtuť i dimethylrtuť podléhají demethylaci a poskytují Hg^0 nebo jsou přímo oxidovány na Hg^{2+}. $MeHg^+$ i Hg^{2+} tvoří kovalentní komplexy se sírou glutathionu a cysteinu a tak působí jako inhibitory celé řady enzymů. Komplex methylrtuti s cysteinem byl identifikován v rybí tkáni, přičemž tento komplex je odpovědný za přenos rtuti do mozkových buněk prostřednictví přenašečů aminokyselin

Ostatní formy rtuti jako například $HgCl_2$, který poškozuje trávicí trakt a způsobuje selhání ledvin, nejsou z toxikologického hlediska významné, protože jejich požití je velmi nepravděpodobné [20].

1.6.5 Cyklus rtuti v přírodě

Rtuť se dostává do atmosféry přírodními procesy jako je vypařování z povrchů vod, půdní eroze nebo emisemi z vulkánů. Další významným zdrojem je činnost člověka, zejména pak spalování uhlí a ostatních fosilních paliv, ve kterých je rtuť v malém množství obsažena. Tepelné elektrárny jsou považovány za jeden z největších zdrojů emisí rtuti do atmosféry.

Rtuť je ze vzduchu vymývána srážkami a dostává se do půd a vod, kde je pak buďto přeměněna na nerozpustné sulfid rtuťnatý, nebo může být mikroorganismy přeměněna na vysoce toxickou methylrtuť, který je dle bioakumulována v potravním řetězci (obr. 1). V cyklu rtuti v přírodě hraje významnou roli dva typy reakcí, které přeměňují jednotlivé formy rtuti mezi sebou, a to oxidačně-redukční děje a methylace spolu s demethylací [21].



Obr.č. 1: *Schéma cyklu rtuti v přírodě.*

1.6.6 Průběh methylace rtuti

Anorganická rtuť, která je methylována v sedimentech bez obsahu kyslíku (anoxických) pomocí bakterie redukující síran (SRB) je ve formě vodného roztoku HgS (nenabitá specie, která může beze změny prostoupit buněčnou membránou bakterie). Specie rtuti obsahující polysulfidy nejsou pro methylaci vhodné. Podle provedených pokusů bylo zjištěno, že vysoká koncentrace rozpuštěných sulfidů zpomaluje tvorbu $MeHg^+$ v důsledku vzniku komplexu HgS nebo precipitace rtuti na pevný HgS. Tvrzení o methylaci rtuti pomocí SRB je založeno na experimentech pozorujících methylaci rtuti současně s redukcí síranů a zjištění, že inhibitory SRB tvorbu $MeHg^+$ zpomalují. Ze sedimentů difunduje $MeHg^+$ do přilehlých vod. Novější studie uvádějí v sedimentech tvorbu $MeHg^+$, která je demethylována oxyhydroxidy železa ve svrchních vrstvách sedimentu a tudíž nedifunduje do vod. $MeHg^+$ je v sedimentech dlouho uchovávána díky pomalému procesu demethylace [22].

1.6.7 Oxidačně-redukční reakce rtuti v přírodě

Během oxidačně redukčních reakcí je rtuť buďto oxidována z poměrně inertní Hg^0 na více-reaktivní Hg^{2+}, nebo je rtuť Hg^{2+} redukována zpět na Hg^0. Oxidace rtuti v atmosféře hraje významnou roli v ukládání rtuti v půdách a vodách. Elementární rtuť Hg^0 se díky své těkavosti snadno vypařuje do atmosféry, kde pak může setrvávat rok nebo i déle, je unášena větrnými proudy a nakonec se znovu usadí v prostředí. Naproti tomu, Hg^{2+} díky své rozpustnosti ve vodě, nízké těkavosti a vyšší reaktivitě nezůstává v atmosféře déle než 2 týdny Takže, jakmile je Hg^0 přeměněna na Hg^{2+}, Hg^{2+} je velmi rychle z atmosféry vymyta v dešťových srážkách, sněhu, nebo je adsorbována na drobné částečky (prach, pyl, atd.) a následně uložena v prostředí [21].

1.6.8 Obsah rtuti u vodních organismů

Vodní organismy silně akumulují rtuť přímo z vody. Nejvyšší biokoncentrační faktory byly

zjištěny u bezobratlých živočichů (10^5), nižší u sladkovodních ryb (6.10^4) a mořských ryb (1.10^4). Asi 90 % rtuti obsažené v rybách je methylováno [23].

V mase tuňáků byla zjištěna koncentrace methylrtuti 1 $mg.kg^{-1}$ hmotnosti. V mase ryb žijících ve vodách kontaminovanýchrtutí dosahují koncentrace methylrtuti hodnot vyšších než 10 $mg.kg^{-1}$. Koncentracertuti v mase suchozemských zvířat je nižší, zřídka přesahuje 50 $\mu g.kg^{-1}$ [1].

Zajímavý je vysoký obsah sloučenin rtuti v těle mečounů, který dosahuje až 2 ppm, 90% mečounů má obsah rtuti vyšší než 0,5 ppm. Ukazuje to na zvyšující se koncentraci rtuti v planktonu a menších rybách [24].

***Tab. č. 1**: Výsledky analýz některých mořských ryb na trhu v ČR [25].*

Trh ČR v roce 2004		
Ryba/mořské plody	**Počet zkoumaných vzorků**	**Průměrný obsah rtuti v µg / kg**
Žralok	3	994
Mečoun	2	493
Tuňák	3	383
Úhoř mořský	1	252
Okoun mořský	3	139
Halibut	2	137
Pražma	2	85
Platýz	3	81
Losos	3	31
Ančovičky	3	24
Mušle slávka	3	18
Chobotnice	3	14
Ústřice	3	12
Krevety	3	10
Sépie	3	6

2 METODY STANOVENÍ TĚŽKÝCH KOVŮ

Na stanovení těžkých kovů (As, Cd, Pb, Cr) se používají nejrůznější metody atomové a molekulové spektrometrie. Jednou z nejefektivnějších, z hlediska multielementarity a dosahování relativně nízkých mezí stanovitelností, je stanovení metodou atomové emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) je využíváno v chemické prvkové analýze již téměř po čtyři desítiletí. Výboj ICP byl nejdříve používán jako budicí zdroj pro atomovou emisní spektrometrii (ICP-AES), označovanou také jako ICP-OES (optická emisní spektrometrie s ICP), avšak od počátku 80. let je využíván také jako zdroj iontů pro hmotnostní spektrometrii (ICP-MS).

- ICP-MS neboli hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je ultrastopová analytická metoda sloužící ke stanovení obsahu stopových množství jednotlivých prvků v analyzovaném vzorku. Tato metoda umožňuje analyzovat téměř všechny prvky od lithia po uran s citlivostí až jednotek ppt po stovky ppm.
- ICP-OES, neboli emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, je stopová analytická metoda sloužící ke stanovení obsahu stopových i významných koncentrací jednotlivých prvků v analyzovaném vzorku. Tato metoda umožňuje analyzovat téměř všechny prvky periodické tabulky, které je možno převést do roztoku citlivostí od jednotek ppb po stovky ppm.

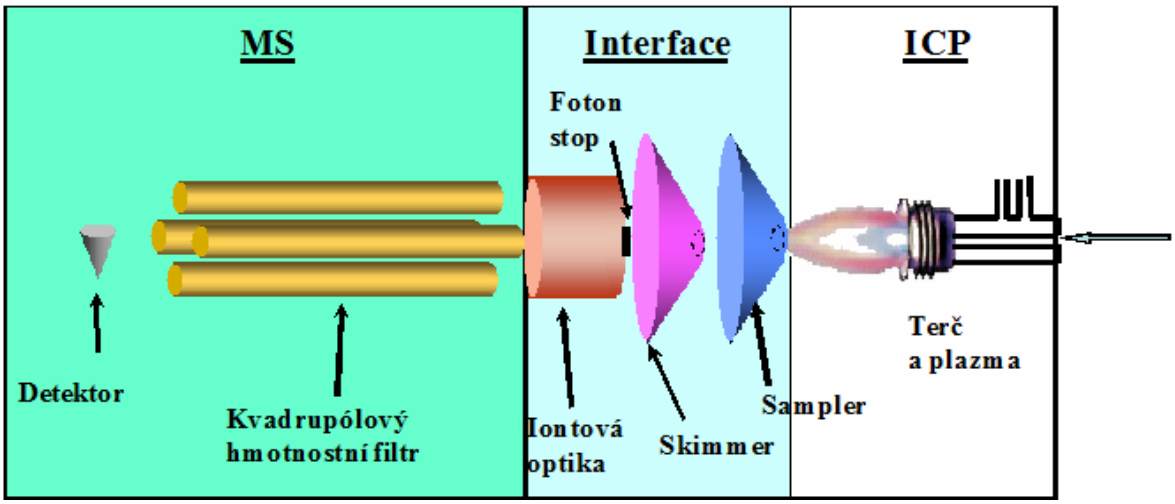
Pro stanovení rtuti se v současnosti používá zejména atomová absorpční spektrometrie (AAS), atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) [26].

2.1 Stanovení TK (As, Cd, Pb, Cr)

2.1.1 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) je analytická spektrální technika, kombinující indukčně vázané plazma jako zdroj kladně nabitých částic (např. Na^+, Pb^+) a hmotnostní spektrometrii, která tyto částice detekuje. V iontovém zdroji dojde k atomizaci a následné ionizaci vzorku. Vznikle ionty jsou separovány na základě svých efektivních hmotnosti a následně detekovaný detektorem. Získáme tak hmotnostní spektrum, ve kterém dané efektivní hmotnosti odpovídá příslušný izotop prvku. Výhodou

ICP MS jsou nízké detekční meze, dobrá rozlišovací schopnost stanoveni, široký lineární rozsah koncentrací a nízká selektivita [26].



Obr.č. 2: *Schéma uspořádání ICP-MS (se svolením převzato od Dr Christophe Pécheyran (CNRS Pau UMR5254)).*

2.1.2 Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP–OES

Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) se v praxi používá převážně pro roztokovou analýzu. K buzení vzorku je zde využíváno indukčně vázané plazma, která vzniká ionizaci vysokofrekvenčním jiskrovým výbojem. Analyzovaný vzorek je peristaltickým čerpadlem nasáván do zmlžovače, který jej rozpráší a vznikly aerosol je unášen nosným plynem do indukčně vázaného plazmatu. Výhodou ICP-OES jsou vynikající analytické vlastnosti, což způsobilo značné rozšíření této metody. Metoda má velice nízkou detekční mez pro značný počet prvků. Je velice dobře reprodukovatelná. Pomoci ni je možno stanovit i nekovové prvky (S, P, N, Cl, I, Br). Nevýhodu ICP-OES je značná spotřeba argonu, takže analýza je ekonomická pouze pro větši série vzorků. Typickou oblasti je analýza odpadů, půdy, biologických materiálů a dalších složek životního prostředí, kde se většinou jedna o multielementární analýzu vzorků s velkou variabilitou matric [27].

2.2 Stanovení celkového obsahu rtuti

Celkové množství rtuti ve vzorcích půd a sedimentů je stanovováno metodou atomové absorpční spektrometrie (AAS) s generováním studených par rtuti (CV AAS) nebo termooxidační metody AAS [27].

2.2.1 Atomová absorpční spektrometrie AAS

Atomová absorpční spektrometrie je optická metoda využívající měření absorpce elektromagnetického záření volnými atomy prvků. Při stanovení rtuti je využíváno absorpce záření na rezonanční čáře 253,65 nm [1].

2.2.1.1 Princip atomové absorpční spektrometrie (AAS)

Podstatou metody je absorpce vhodného elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu. Absorbováno bude záření, které splňuje podmínku E_1-E_0 = h.c/λ_1, kde E_0 je energie základní hladiny a E_1 je energie excitované hladiny. Sleduje se absorbance, která je přímo úměrná koncentraci stanovovaného prvku. AAS s metodou generování studených par rtuti (CV AAS) se vyznačuje dobrou citlivostí a vysokou selektivitou. Monoatomická pára rtuti, získaná redukcí Hg^{2+} v roztoku, je proudem vzduchu, argonu nebo dusíku transportována do absorpční průtokové kyvety. Před vlastním měřením absorpce v průtokové kyvetě je většinou zařazena fokusace zóny rtuti na amalgamátoru[28]. Při termooxidační metodě AAS je vzorek spálen v proudu kyslíku a páry rtuti jsou zachyceny na amalgamátoru. Další varianty AAS (F-AAS) – plamenová atomová absorpční spektrometrie a (ET-AAS)- využívající elektrotermické atomizace vzorku [29].

2.2.1.2 Metoda F-AAS

Plamenová atomová absorpční spektrometrie využívá k atomizaci plamene realizovaného směsí paliva a oxidovadla. Palivem bývá nejčastěji acetylen, případně vodík, oxidovadlem pak vzduch (Tmax = 2500 K) nebo oxid dusný (Tmax = 2900 K). Mezi hlavní nedostatky patří fakt, že je vzorek silně naředěn spalnými plyny (200-400 tisíckrát) a že se pouze nepatrný podíl analyzovaného vzorku skutečně využije pro analýzu [29]. Pro stanovení rtuti

není FAAS ve většině případů použitelná díky poměrně vysoké mezi detekce, která činí pro plamen acetylen-vzduch 0,5 $mg.l^{-1}$ a pro plamen acetylen – oxid dusný 12 $mg.l^{-1}$ [27].

2.2.1.3 Metoda ET-AAS

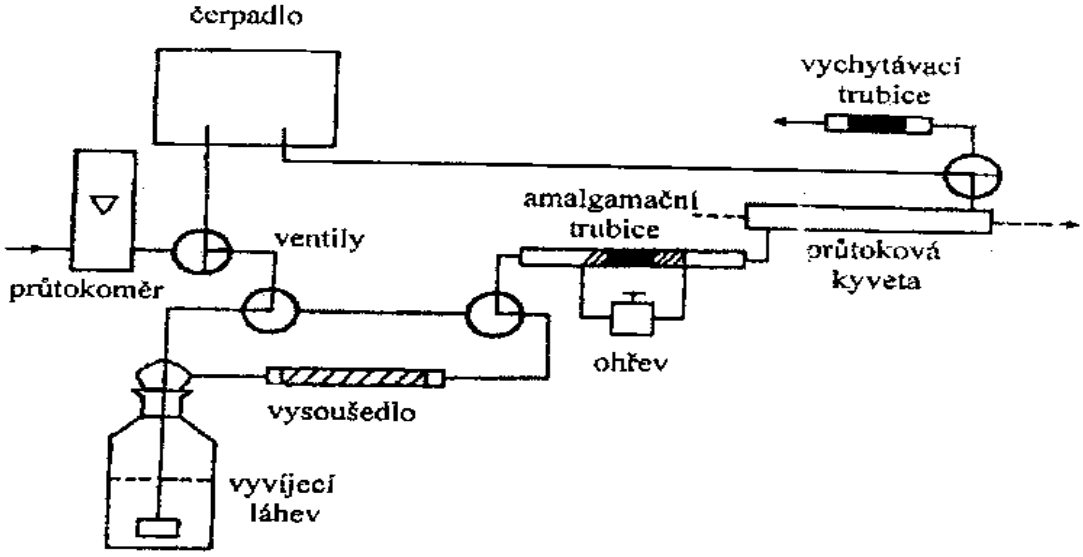
Pro elektrotermickou atomizaci je dávkováno velmi malé množství vzorku (10 až 40µl) do speciání miniaturní odporově vyhřívané kyvety, která je umístněna v optické ose spektrometru. Tyto kyvety musí být vyrobeny z elektricky vodivého materiálu a musí být mechanicky i chemicky stálé při vysokých teplotách. K atomizaci vzorku dochází postupným ohřevem kyvety průchodem elektrického proudu. Pro stanovení rtuti touto metodou je výhodné provádět atomizaci z kyvety potažené tenkou vrstvičkou zlata, po vytvoření amalgámy. Naopak nejsou vhodné kyvety grafitové, neboť již za laboratorní teploty dochází k redukci Hg^{2+} na Hg^0 uhlíkem a dochází k vziku par rtuti z atomizátoru. Omezit tuto redukci a tím i zvýšit citlivost metody lze přídavkem oxidačního činidla nebo látky tvořící s Hg^{2+} sraženinu s nízkým součinem rozpustnosti (H_2O_2, $(NH_4)_2S$, Na_2S, $KMnO_4$, $K_2Cr_2O_7$). Touto metodou lze dosáhnout charakteristické koncentrace rtuti 5 $\mu g.l^{-1}$ [13].

2.2.1.4 Metoda studených par (CV-AAS)

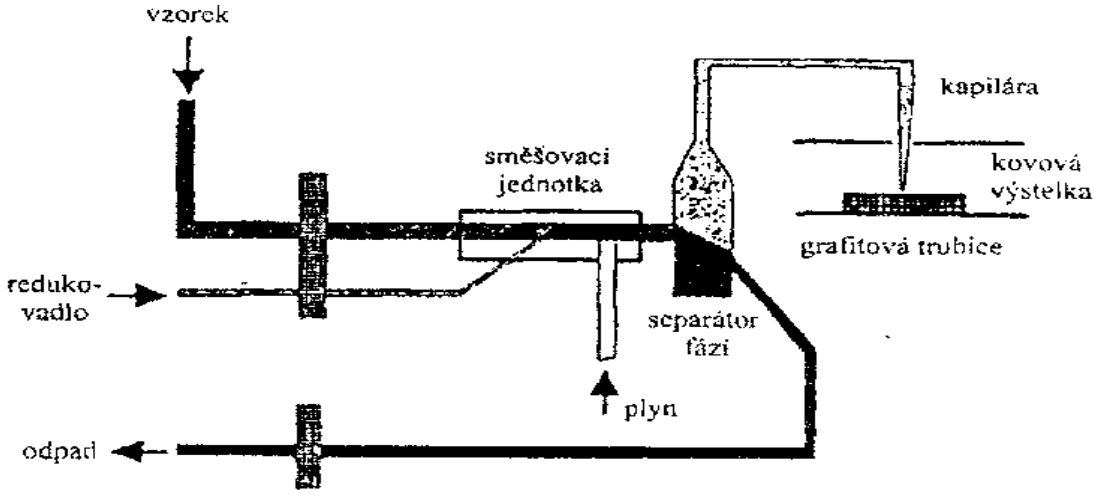
Generovaní plynné elementární rtuti, technika studených par, je umožněné dostatečně vysokou tenzí par elementární rtuti (2,53 Pa při 25−C). Nejprve je veškerá rtuť převedena na Hg^{2+} pomocí směsi HNO_3 a H_2SO_4, spolu s oxidovadlem, nejčastěji KMnO4, případně $K_2S_2O_8$, H2O2 nebo chloridem bromným BrCl.

Redukce Hg2+ na páry elementární rtuti se provádí chloridem cínatým m v kyselém prostředí, formaldehydem v alkalickém prostředí, kyselinou askorbovou (pH = 11), cínatanem sodným, hydrazinem nebo tetrahydridoboritanem sodným. Vzniklé páry rtuti jsou z reagenčního roztoku vypuzeny nosným plynem (vzduch, Ar, N2) a přes sušící vrstvu (Mg(ClO4)2, případně silikagel nebo konc. H2SO4) vedeny do speciálně uzavřené průtokové absorpční kyvety, která je umístěna v optické ose spektrometru. V případě velmi nízkých koncentrací lze použít prekoncenrace. Existuje několik používaných způsobů zkoncentrování - zachycení par rtuti v kyselém roztoku KMnO4, zachycení na vrstvě aktivního uhlí nebo amalgamací (obr.4) na Au, Ag, Pd, Pt. K amalgamaci na Au, Ag dochází při teplotách 20-100−C, k uvolnění pak při 500-600−C pro Au a 350 °C pro Ag .

Stanovení ruší $SO3^{2-}$, S^{2-}, $S2O3^{2-}$, Br^-, I^-, SCN^-, soli Pd, Pt, Au, Ag, Cu, a Zn. Uspořádání aparatury může být dávkové, kontinuální nebo lze užít průtokové injekční (FI) systém [30].



Obr.č. 3: Schéma generování studených par rtuti se zakoncentrováním v amalgamační trubici. Převzato z [30].



Obr.č. 4: Schéma FI systému generování studených par se zachycením v elektrotermickém atomizátoru. Převzato z [30].

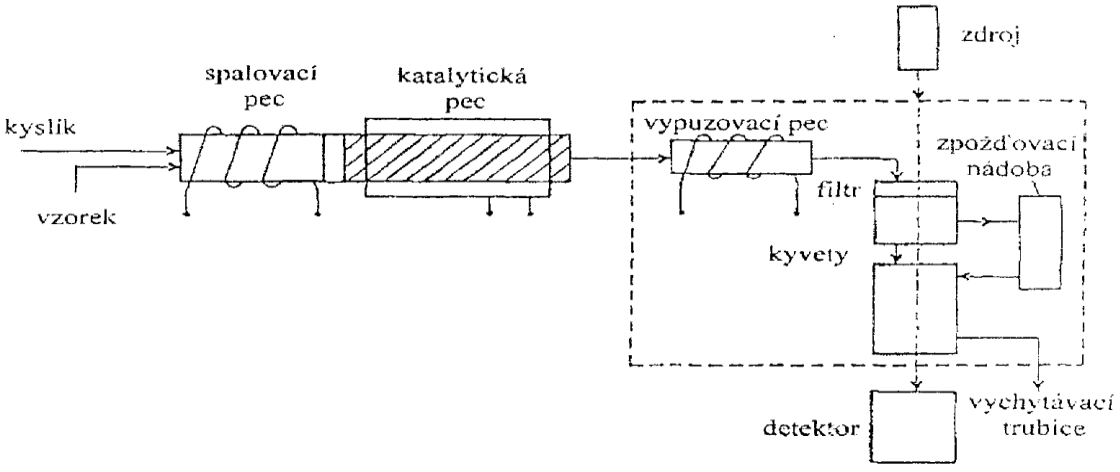
2.2.1.5 Termooxidační metoda

V běžné praxi se pro stanovení rtuti často využívá automatických analyzátorů jako jsou TMA 254, DMA 80 nebo AMA 254, pracujících na principu termooxidačního rozkladu vzorku s následným zakoncentrováním rtuti v amalgamátoru. Vzorek, ať už kapalný nebo pevný, je spalován v lodičce z niklu, případně platiny, v proudu kyslíku při teplotě 850 – 900 °C. Plynné produkty spalování jsou unášeny proudem kyslíku do katalytické pece, ve které je dokončena oxidace spalin a jsou zachyceny oxidy dusíku a síry. V další části přístroje – amalgamátoru tvořeném nejčastěji zlatem na křemenným nosiči dochází k selektivnímu zachycení rtuti, která snadno tvoří se zlatem amalgám. Po nahromadění je rtuť z amalgámu vypuzena rychlým ohřevem do tzv. tandemových kyvet, ve kterých je měřena absorbance par rtuti. Kyvety jsou během měření vytemperovány na teplotu zamezující kondenzaci vody. Stanovení rtuti touto metodou je vysoce citlivá a výsledek je nezávislý na typu matrice.

AMA 254 (Advanced Mercury Analyser) je jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr pro stanovení rtuti. Tento přístroj je určen pro přímé stanovení obsahu rtuti

v pevných a kapalných vzorcích bez potřeby chemické předúpravy vzorku. Přístroj dosahuje vysoké citlivosti stanovení nezávisle na typu matrice s mezí detekce 0,01 ng Hg.

K automatizaci slouží automatické dávkovače ALS 254 a ASS 254 [30].

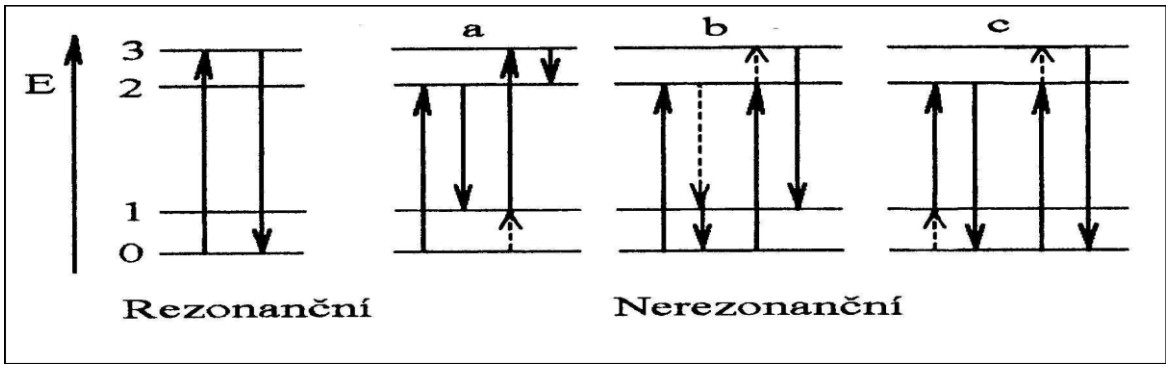


Obr. č. 5: Schéma přístroje TMA 254 založeném na termooxidačním spalování [30].

2.2.2 Atomová fluorescenční spektrometrie AFS

Při absorpci kvanta elektromagnetického záření o vhodné energii dochází k excitaci elektronů ze základní na vyšší energetické hladiny. Absorpcí vzniklý excitovaný atom je nestabilní a během 10^{-8} až 10^{-9} s se deaktivuje jednak nezářivými přechody, především srážkami s ostatními atomy, jednak v mnohem menší míře složitější mechanismem vyzáření energie ve formě fotonu – tento jev se nazývá ‧ atomová fluorescence a je využívána atomovou fluorescenční spektrometrií.

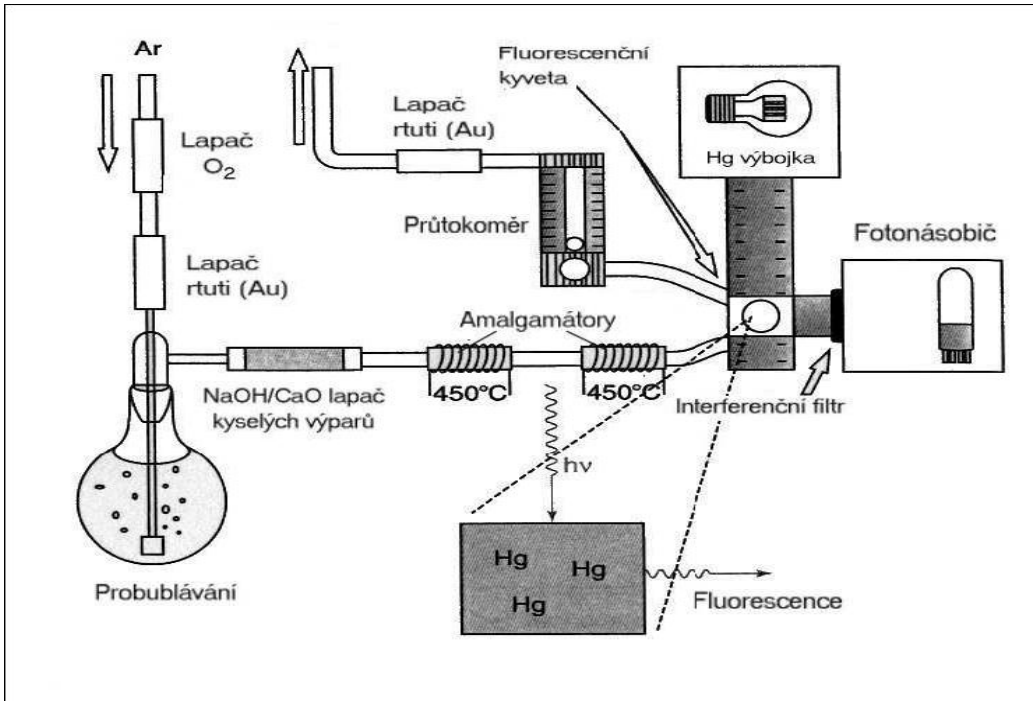
Oproti excitačnímu záření může mít fluorescenční záření vysílané atomy stejnou, větší a ojediněle i menší vlnovou délku. Lze tak rozlišovat fluorescenci rezonanční (vlnové délky excitační i emitované jsou si rovny; $\lambda exc = \lambda fl$) od nerezonanční (obr.6) V případě nerezonanční fluorescence lze rozlišit několik mechanismů jejího průběhu. Jedná se o fluorescenci přímou, kdy mají excitující i fluorescenční čára elektronového přechodu společnou horní hladinu. K postupné fluorescenci dochází jsou-li hladiny o vyšší energii pro excitační a fluorescenční čáru různé V obou těchto případech je $\lambda exc < \lambda fl$ (Stokesovská fluorescence), narozdíl od fluorescence anti-Stokesovské kdy se buzení účastní též energie termické [31].



Obr.č. 6: Elektronové přechody atomové fluorescence: rezonanční; nerezonanční:
a) přímá; b) postupná; c) anti-Stokesovská; Termické přechody jsou vyznačeny tečkovanou čarou. Převzato z [12]

Intenzita fluorescence roste s rostoucím zářivým tokem budícího záření, až dosáhne své limitní hodnoty, tzv. nasycené fluorescence [31]. S použití vysokovýkonných zdrojů, jakými jsou například laditelné lasery, tak lze dosáhnou značného snížení limitů detekce. AFS ve spojení s metodou studených par (obr.7) je v posledních letech stále častěji používána

pro stanovení rtuti v matricích jako jsou vody, půdy a biologické vzorky. Pro většinu vzorků životního prostředí existují automatické AFS přístroje pro digesci i analýzu. Studené páry rtuti sou generovány výše popsaným způsobem a vedeny do fluorescenční kyvety. Intenzita fluorescence je silně ovlivněna plynnými nečistotami, které mohou zhášet emisi rtuti. Mez stanovitelnosti je 0,5 ng.l -1. Měření tak malých množství vyžaduje vyjímečnou pečlivost ve všech krocích analýzy, aby bylo zabráněno kontaminací [25].



Obr. č. 7: Schéma CV-AFS analyzátoru[25].

2.2.3 Optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-OES

Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) se v praxi používá převážně pro roztokovou analýzu. K buzení vzorku je zde využíváno indukčně vázané plazma, která vzniká ionizaci vysokofrekvenčním jiskrovým výbojem. Analyzovaný vzorek je peristaltickým čerpadlem nasáván do zmlžovače, který jej rozpráší a vznikly aerosol je unášen nosným plynem do indukčně vázaného plazmatu. Výhodou ICP-OES jsou vynikající analytické vlastnosti, což způsobilo značné rozšíření této metody. Metoda má velice nízkou detekční mez pro značný počet prvků. Je velice dobře reprodukovatelná. Pomoci ni je možno stanovit i nekovové prvky (S, P, N, Cl, I, Br). Nevýhodu ICP-OES je značná spotřeba argonu, takže analýza je ekonomická pouze pro větši série vzorků. Typickou oblasti

je analýza odpadů, půdy, biologických materiálů a dalších složek životního prostředí, kde se většinou jedna o multielementární analýzu vzorků s velkou variabilitou matric [32].

2.2.4 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

Na stanovení celkové rtuti touto metodou nemá prakticky žádný vliv forma (HgS, $HgCl^2$, $HgCH_3Cl$), ve které se rtuť ve vzorku nachází.

Jinou vysoce citlivou metodou pro stanovení rtuti hmotnostní spektrometrií je ID-CV-ICP-MS (Isotope Dilution Cold Vapour ICP-MS). Ke vzorku je přidán izotop rtuti 201Hg, který slouží jako vnitřní standard. Následně je veškeré Hg^{2+} redukována chloridem cínatým $SnCl_2$ a vzniklé plyny elementární rtuti jsou zachyceny v amalgamátoru. Rtuť je termicky vypuzena a vedena nosným plynem do ICP-MS. Touto metodou bylo dosaženo limitu detekce 0,14 $ng.l^{-1}$, což spolu s přesností typickou pro izotopové zřeďování poskytuje výsledky, které předčí CVAAS i CVAFS [33].

3 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA RYB

Maso ryb z hlediska výživy v mnohém předčí maso jatečných zvířat, a to zejména obsahem nerostných látek, jako draslíku, fosforu, hořčíku, síry, sodíku, vápníku, železa a vitamínů skupiny B a vitaminů A, D. Pro obsah plnohodnotných bílkovin a tuků přidružuje se rybí maso k stejně hodnotnému masu jatečných zvířat. V poslední době se hovoří o tom, že vyšší konzum rybího masa má příznivý vliv na omezení nemocnosti a úmrtnosti na cévní sklerózu a stává se tak určitou prevencí před chorobami srdce a cév.

Velký význam hraje eikosapentaenová kyselina. Nenasycená mastná kyselina, která se nalézá v tuku především mořských ryb, ale obsahují ji i sladkovodní ryby. Podle nejnovejších informací se vyšší dávky této kyseliny osvědčily i v léčení některých poruch ledvin, při zvýšeném krevním tlaku, zánětech a podobně.

Mořské ryby jsou v naší výživě zvlášť ceněny pro obsah jódu a tučné mořské ryby i pro obsah důležitého vitamínu B_{12}.

Ryby sladkovodní i mořské mají jemné (krátkovláknité) maso a jsou velmi lehce stravitelným masem. Použitelné jsou i některé vnitřnosti z ryb, zejména jikry jeseterovitých ryb, z nichž se připravuje kaviár, který je nejen bohatý na množství hodnotných bílkovin, ale také na tuk a vitamíny.

Jakost rybího masa nezávisí jen na druhu ryby, ale mají na ni vliv mnozí jiní činitelé, jako je: potrava ryby, druh vody a prostředí, v němž žije, roční období a tření. Důležité je také stáří, velikost a zdraví ryb [34].

3.1 Anatomie ryb

Ryby mají dvě vrstvy kůže: tenkou vnější vrstvu známou jako epiderm, pokožka, a silnější vnitřní vrstvu, derm, škáru. Ve většině případů je tělo ryb pokryto šupinami. Tyto překrývající se destičky, které vyrůstají z kůže, poskytují aerodynamické vlastnosti a chrání před zraněním. Šupiny jsou pokryty tenkou vrstvou slizu, který chrání před parazity a snižuje tření při pohybu.

Ploutve ryb jsou výrůstky, které jsou srostlé s tkání; tyto výrůstky mohou být "tvrdé" nebo "měkké". Pomocí nevelkých svalů se ploutve mohou stahovat a roztahovat.

Hřbetní a řitní ploutev udržují rybu ve vzpřímené poloze, fungují jako lodní kýl. U některých ryb je řitní ploutve modifikována a napomáhá při kladení jiker.

Ocasní ploutev se stará o většinu pohybu - protlačí rybu vodou. Energie se tvoří ve svalech řadou silných vlnitých pohybů podél těla.

Tuková ploutev je nepárovou malou ploutví a nachází se mezi ploutví hřbetní a ploutví ocasní. Její tuková tkáň není členěná a zdá se, že neslouží žádnému zjevnému účelu [35].

3.2 Chemické složení rybího masa

Základními složkami tělních tkání ryb a zejména rybí svaloviny jsou voda, bílkoviny, tuky a dále v nepatrném množství sacharidy, minerální látky a vitaminy. Složení rybího těla a jeho tkání je ovlivněno mnoha faktory, z nichž nejvýznamnější jsou druh ryby, prostředí v němž ryba žije, věk a pohlaví. Základní složky rybího těla kolísají v rozmezí: voda 50–83%, bílkoviny 15–20 %, tuk 1–35% [36].

3.2.1 Obsah vody

Obsah vody v rybím těle je nepřímo závislý na obsahu tuku. Libové ryby, např. treska, obsahují průměrně 80% vody, tučné ryby kolem 70%, např. sleď obsahuje 65% vody, úhoř obsahuje do 50 % vody. Obsah vody je rozdílný v jednotlivých partiích svaloviny téže ryby. Během života se obvykle obsah vody v těle zvyšuje s blížící se dobou tření. Množství vody ovlivňuje jakost a údržnost rybího masa, vodnaté maso bývá současně i velmi měkké a snadno podléhá mikrobiálnímu kažení [36].

3.2.2 Obsah bílkovin

Obsah bílkovin v rybí svalovině kolísá nejčastěji mezi 15-20%, ale u některých druhů ryb jsou zjišťovány výjimečně i hodnoty pod 15 a nad 20%. Bílkoviny rybího masa obsahují výhodné podíly všech esenciálních aminokyselin. Pro rybí maso je typické, že obsahuje mezi svalovými vlákny málo vaziva a bílkovina elastin v něm není obsažena vůbec. To umožňuje snadnou a rychlou tepelnou úpravu rybího masa [36].

Obsah tuku v rybích tělech je velmi rozdílný a tak se podle něj ryby rozdělují na ryb:

- Libové
- Středně
- Tučné

Libové ryby obsahují tuku méně než 2% a řadí se k nim většina ryb treskovitých, ze sladkovodních štika, candát a okoun. Středně tučné ryby obsahují 2-10% tuku a patří k nim ryby platýzovité, losos, pstruh, kapr, sumec a další. K tučným rybám, obsahujícím více než 10% tuku, náleží sleď, makrela, šprot, úhoř a další.

Složení rybích tuků je velmi specifické a je dáno jeho funkcí v rybím těle, teplotou prostředí, v němž ryba žije, složením potravy a dalšími vlivy. Lipidy ryb se vyznačují vysokým stupněm nenasycenosti a zastoupením polyenových mastných kyselin. Vysoká nenasycenost rybích lipidů je výhodou nutriční, současně jsou rybí tuky velmi náchylné k oxidačnímu žluknutí, které má za následek nepříjemný pach. Vyšší zastoupení polyenových mastných kyselin řady ω-3 je v lipidech mořských ryb, ale ani u sladkovodních ryb není jejich po díl nevýznamný.

Tuk je u některých druhů ryb soustředěn v játrech, která jsou veliká a jsou zásobárnou energie. K takovým druhům patří treska, jejíž játra obsahují 40 – 65 % tuku, zatímco svalová tkáň je na tuk chudá a neobsahuje jej více než 0,4%. Jiné ryby mají vyšší obsah tuku ve svalovině: sleď 8-12%, sardinky 10-18%, losos 13%, některé části tuňáka 23%, úhoř 7-30% a játra těchto ryb jsou malá. Svalovina kapra obsahuje 2-4% tuku [36].

3.2.3 Obsah minerálních látek

Obsah minerálních látek představuje 1 až 2% poživatelného podílu. Jsou obsaženy zejména v kostech, které obsahují hlavně vápník a fosfor. Drobné kosti se v průběhu technologických procesů změkčují, jsou konzumovány jako součást masa a jsou tak cenným zdrojem vápníku a fosforu. Mořské ryby jsou nejbohatším zdrojem jódu v lidské výživě. Ve 100 g poživatelného podílu je obsaženo až 190 mg jódu, kdežto ve sladkovodních rybách jen asi

4 mg. Ryby jsou významným zdrojem sodíku, takže se mohou uplatnit v příslušných dietách.

Obsah vitaminu v rybách je pro člověka nutričně významným zejména v případě lipofilních vitaminů A a D a z hydrofilních některými vitaminy B komplexu. Význam lipofilních vitaminů převládá a rybí jaterní tuk byl podáván nemocným a rekonvalescentům

dávno před tím, než byly tyto vitaminy poznány.

Významným zdrojem vitaminu A jsou tuňák a úhoř, ale i kapr a pstruh, při vhodné návaznosti na jejich výživu. Vitamin A se ukládá především v rybích játrech. Naproti tomu vitamin D se ukládá hlavně v lipidech svaloviny a jeho hlavním zdrojem jsou tučné ryby-sleď, makrela, tuňák, úhoř, losos. Chrupavčité ryby mají mnohem méně vitaminu D, než ryby kostnaté.

Z vitaminů skupiny B je v rybách obsažen zejména vitamin B_{12}, hlavně v mase sleďů a makrel. Ryby jsou dále bohatým zdrojem vitaminy B_6 – sledě, makrely, tuňák, pstruh, losos. Kyselina pantotenová je značně zastoupena mase lososů a pstruhů, vitamin B_2 v mase sleďů a makrel. Kyselina nikotinová je zastoupena více v mase tučných ryb [36].

3.3 Nutriční hodnota rybího masa

Nutriční (výživová) hodnota rybího masa se odvozuje z jeho chemického složení a je tedy daná v něm obsaženými živinami, především bílkovinami, tukem, minerálními látkami a vitamíny. Jednotlivé výživové faktory jsou pro lidský organismus lehce stravitelné a dobře využitelné. Energetická (kalorická) hodnota rybího masa u ryb s nízkým obsahem tuku ve svalovině za podmínky šetrné kulinární úpravy (dušení, vaření) je velmi nízká a dosahuje hodnot cca 200 - 300 kJ/100 g jedlého podílu.

Biologická hodnota bílkovin rybího masa je vysoká. Je daná přítomností plnohodnotných bílkovin, které obsahují příznivé zastoupení jednotlivých esenciálních aminokyselin, a nízkým obsahem neplnohodnotných kolagenních bílkovin vazivových tkání na jedné straně a jejich lehkou stravitelností a dobrou využitelností lidským organismem na straně druhé.

Vysokou výživovou hodnotu mají také rybí tuky (především mořských ryb) obsažené ve svalovině ryb nebo jejich játrech (tresky), neboť jsou významným zdrojem vysoce nenasy-

cených esenciálních mastných kyselin (EPA, DHA) a také zdrojem liposolubilních vitaminů A a D.

Ryby jsou pro lidský organismus hodnotným zdrojem minerálních látek (především Ca a P) a nejvýznamnějším zdrojem J (především mořské ryby). Výhodné je také vzájemné zastoupení K a Na v rybí svalovině, kdy K je v rybách mnoho a Na naopak velmi málo [36].

4 DRUHY SLEDOVANÝCH RYB

4.1 Pangasius dolnooký

Pangasius dolnooký (*Pangasius hypopthalmus)* je sladkovodní ryba, celým názvem pangasius dolnooký**.** Chová se převážně ve Vietnamu na řece Mekong. Pangasius je ryba z čeledi sumcovitých, která může dorůst až do délky tří metrů a dosáhnout hmotnosti 300 kg. Ale do Čech přichází mnohem menší sumeček žraločí (1,30 m a 15 kg) z kontrolovaného chovu.

Tato někdy i více než metrová ryba má maso plné kvalitních bílkovin a je téměř tuků. Zpracovává se ručně a barva filetů hodně napoví o kvalitě ryby. Nejžádanější jsou bílé a růžové filety, naopak nejméně žádoucí je nažloutlé maso, které většinou skončí v asijské kuchyni [37].

Obr.č. 8: *Pangasius dolnooký.*

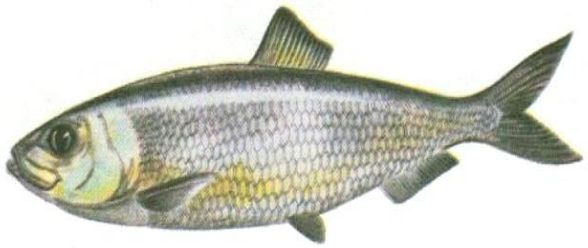
4.2 Pražma modravá

Pražma neboli doráda (*Argyrops spinifer*) je menší mořská ryba. Má bílé pevné maso s malými kostičkami. Rozlišujeme tři druhy. Pražma královská je stříbrná a má mezi očima zlatavé místo. Loví ve Středozemním moři a má nejchutnější jemné šťavnaté maso. Pražma růžová z Atlantiku je nazlátlá s růžovými ploutvemi a má o něco méně chutné maso. Pražma šedá je nejmenší, loví se spíše v Atlantiku, ale i ve Středozemí, je šedá a její maso je nejméně jemné ze všech tří druhů [37].

Obr.č. 9: *Pražma modravá.*

4.3 Sleď obecný

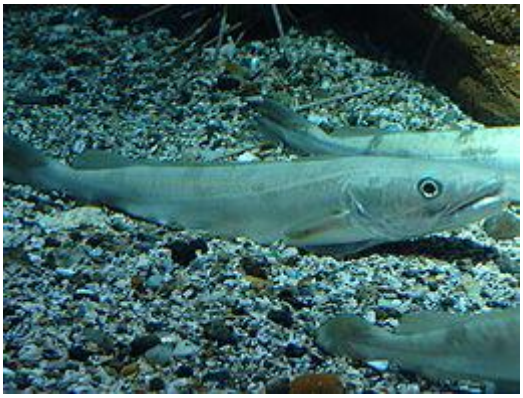
Sleď obecný (*Clupea harengus*) je nejhojnější rybou na naší planetě, navíc je rybou hospodářky významnou. v obrovských hejnech. Sleď obecný se vyskytuje v severovýchodním Atlantiku, od Severního ledového oceánu až po kanál La Mance a Balt. Pohybuje se v obrovských hejnech. Má standardní délku 45 cm. Hmotnost takto vzrostlého jedince se pohybuje kolem 0,5 kilogramu [37].



Obr.č. 10: *Sleď obecný.*

4.4 Štikozubec obecný

Štikozubec obecný (*Merluccius merluccius*), zvaný též hejk nebo mořská štika, je dravá ryba z čeledi štikozubcovitých, která žije v severovýchodním Atlantiku, Středozemním a Černém moři. Má chutné, málo tučné bílé maso, je proto intenzivně lovena komerčními rybáři a její populace trpí nadměrným rybolovem. Štikozubci mohou dosahovat hmotnosti přes 10 kg, samice je větší než samec, může dorůst až do jednoho metru, samci jsou menší a dorůstají asi 80 cm [37].



Obr.č. 11: *Štikozubec obecný.*

4.5 Žralok

Žraloci jsou obvykle považováni za nadřád (*Selachimorpha*) třídy příčnoústých (Elasmobranchii). Jsou to především mořští predátoři a obývají většinu rozlohy moří a oceánů. Někteří z nich se vyskytují i v brakických vodách při ústí řek a pronikají do jejich dolních toků, vyskytlo se i několik málo druhů, které se adaptovaly na život ve větších sladkých jezerech [37].

Obr.č. 12: *Žralok.*

4.6 Losos

Losos obecný či losos atlantský (*Salmo salar*) je dravá tažná ryba z čeledi lososovitých, která žije většinu života v moři v oblasti Kanady, Islandu, Norsku, Švédsko, Finsko. V době tření vyráží proti proudu řek hluboko do vnitrozemí kontinentů, aby v rodných řekách vyvedla další generaci. Losos je v současnosti hojně loven, a to jak průmyslově, tak i sportovními rybáři. Jeho maso je velmi ceněno a má typickou oranžovočervenou barvu za syrova, která se po uvaření mění do růžova. Vedle rybolovu v přírodě je značná část lososího

masa získávána na lososích farmách, kde jsou jedinci chováni pro maso. Na farmách se někdy k přibarvení masa přidává do potravy barviva, např. kantaxantin [37].

Obr.č. 13.: *Losos obecný*

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

V této diplomové práci byl měřen obsah těžkých kovů ve svalovině (Hg, Pb, As, Cr, Cd) vybraných druhů ryb. Dle obsahu těchto kovů, byla dle legislativy vyhodnocena míra kontaminace rybího masa těmito látkami. Ke stanovení rtuti byl použit přístroj AMA 252 a ke stanovení zbývajících prvků (Pb, As, Cr, Cd) byl použit ICP-OES spektrometr IRIS Intrepid II. Analyzována byla pouze čistá svalovina zmražených ryb.

Dále byly vedle reálných vzorků měřeny vzorky spikované (se známým přídavkem standardu) a na základě výsledků byla stanovena výtěžnost dané metody.

6 STANOVEMÍ TĚŽKÝCH KOVŮ (As, Cr, Pb, Cd)

6.1 Vzorky ryb

Zmražené vzorky ryb:

- ✓ Pražma modravá
- ✓ Pangasius dolnooký
- ✓ Sleď obecný
- ✓ Štika mořská
- ✓ Žralok
- ✓ Losos

Vzorky byly naporcované, balené a zmražené. Byly zakoupeny od výrobců Nowaco a Kimbex- Ostrava v obchodní síti Albert, Billa a Tesco.

6.2 Použité chemikálie

- ✓ konc. kyselina dusičná p. a. +., Analytika
- ✓ konc. kyselina fluorovodíková p. a. +., Analytika
- ✓ konc. kyselina chlorovodíková p. a. +, Analytika
- ✓ peroxid vodíku p.a. +, Merck
- ✓ destilovaná voda
- ✓ Certifikované standardy jednotlivých kovů byly dodány od firmy Analytika o koncentraci 1000,00 $\pm$ xz mg/l. jako zásobní kalibrační roztoky. Ze zásobních roztoků pro kalibraci byly připraveny kalibrační roztoky v nejvyšší koncentraci bodu kalibrační křivky (tato informace je uložena v každé metodě softwaru přístroje). Kontrolní roztoky, kterými se ověřují kalibrační závislosti se připravují v koncentracích přibližně odpovídajících měřeným vzorkům. Ke kontrole kalibrační závislosti se používají kontrolní roztoky z certifikovaného referenčního materiálu. Byl použit takový a takový (název) CRM od firmy Merck.

6.2.1 Slepý roztok

Z důvodu korekce na obsahy kovů přítomných v použitých chemikáliích se připravuje tzv. slepý roztok. Ten byl připraven následujícím způsobem. Do 2 l odměrné baňky bylo odměřeno (8 ± 0,1) ml kyseliny dusičné a objem byl doplněn po rysku deionizovanou vodou.

6.2.2 Zásobní roztok pro kalibraci a kontrolu

Zásobní roztok pro kalibraci a kontrolu obsahoval následující prvky: Al, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe,, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr, V, Zn. Koncentrace těchto prvků v roztoku byla 10 mg/l. Připravily se pipetováním (10±0,10) ml každého jednotlivého standardu do 1000 ml odměrné baňky a doplněním slepým roztokem.

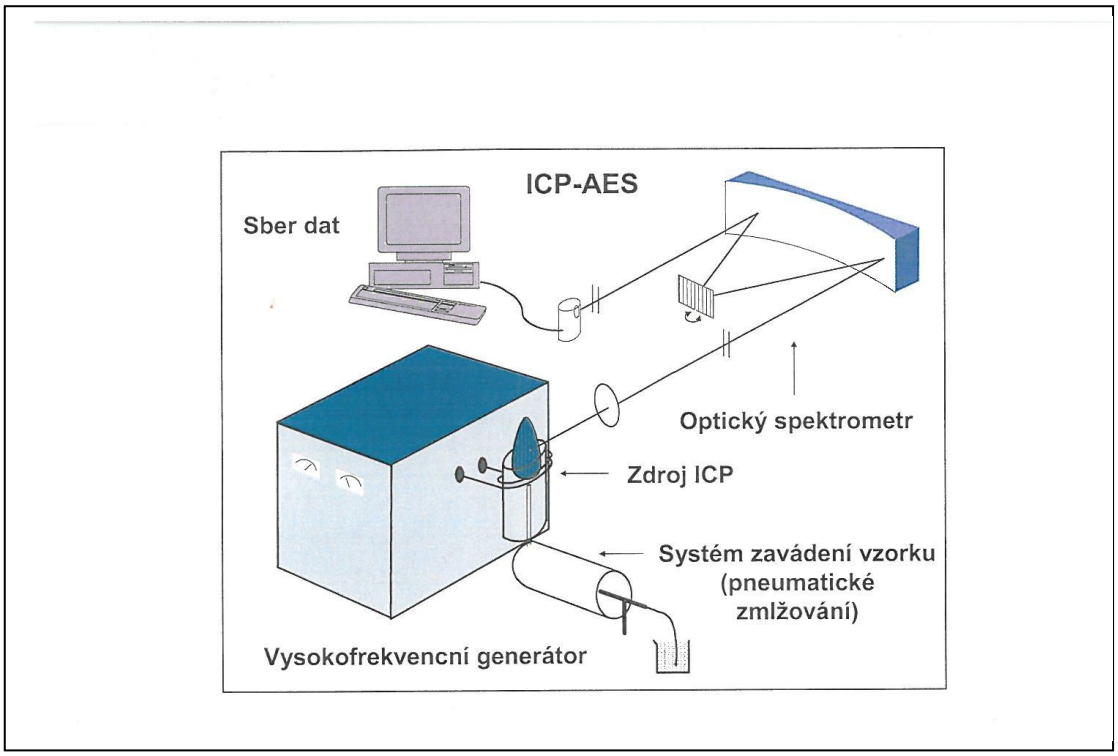
6.3 Přístroje a vybavení

- ✓ Zdroj plynného argonu – kontejner s kapalným Ar, Linde
- ✓ Mikrovlnná pec Milestone MLS 1200Mega, Microsynt
- ✓ Topná deska s možností regulace teploty – Altec, Ceran 500
- ✓ Autosampler – přídavné zařízení na automatické dávkování vzorků, dle metod vložených do programu pro řízení ICP – OES, Thermo
- ✓ Simultánní ICP - OES spektrometr s možností nastavení axiálního i radiálního pozorování plazmatu - model IRIS Intrepid II (výrobce Thermo Jarrell Ash USA)

6.3.1 ICP-OES spektrometr IRIS Intrepid II

Základem metody je měření atomové emise jednotlivých prvků. Vzorky se zmlžují ve zmlžovašči a vznikající aerosol je veden k plazmovému nosiči, kde dochází k excitaci. Použité plazma bylo tzv.quasineutrální. Charakteristická atomová čárová emisní spektra jsou buzena radiofrekvenčním indukčně vázaným plazmatem a následně zpracována mřížkovým spektrometrem s Echelle uspořádáním optického systému. Intenzity čar zaznamenává detektor (CID) na principu měření přenosu náboje. Signály jednotlivých fotocitlivých

elementů zpracovává a řídí počítačový systém. Proměnlivý podíl úrovně pozadí při stanovení stopových prvků se kompenzuje softwarově.



Obr.č. 14: *Schéma optického indukčního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem. Převzato z* [40].

6.4 Úprava vzorků před vlastním stanovením

Vzorky rybí svaloviny se musely před vlastním stanovením totálně rozložit, byl použít tzv. mokrý rozklad.

Na hliníkovou misku bylo naváženo asi 5 g zhomogenizovaného vzorku a byl sušen na topné desce při teplotě 70 – 80 °C po dobu cca 30 minut. Vysušený vzorek byl rozmělněn v třecí misce. Na analytických vahách bylo naváženo do nádobky rotoru kolem 0,5 g (přesně) vysušeného vzorku.

Dále byla do nádobek napipetována činidla v tomto pořadí: (3±0,1) ml kyseliny dusičné, (1,5±0,1) ml kyseliny chlorovodíková. Po odeznění reakce bylo napipetováno (0,5±0,1) ml peroxidu vodíku. Při každé sérii vzorků byl připraven slepý pokus a kontrolní vzorek

z certifikovaného materiálu se stejným složením a množstvím činidel jako u reálných vzorků Pomocí referenčního materiálu byl připraven spikovaný vzorek, z důvodu ověření účinnosti metody. Rotor byl vložen do mikrovlnné pece.

Na rozklad byl zvolen program mikrovlnné pece číslo 2, který má 6 fází:

- ✓ 2 min při 250W
- ✓ 2 min při 0W
- ✓ 5 min při 250W
- ✓ 5 min při 400W
- ✓ 5 min při 500W
- ✓ 5 min ventilace

Po ukončení rozkladu byl rotor se vzorky ochlazen (vložen do studené vody). Po půl hodině chlazení byly nádobky uvolněny a objem nádobky byl kvantitativně převeden do skleněné odměrné baňky (50 ml) a doplněn po rysku destilovanou vodou. Tímto byl vzorek připraven k měření na ICP-OES.

6.4.1 Příprava spikovaného vzorku

Na 5 g vysušeného vzorku rybí svaloviny bylo napipetováno 5 ml kalibračního roztoku o koncentraci sledovaných těžkých kovů (As, Cd, Pb, Cr)1 mg/l. Vzorek byl důkladně zhomogenizován a vysušen na topné desce při teplotě 70-80°C. V takto připraveném vzorku byla koncentrace všech sledovaných kovů zvýšena o 1 mg/kg. Dále se při stanovení pokračovalo jako u reálných vzorků.

6.5 Vlastní měření na přístroji ICP-OES

Při nastavení přístroje a jeho kalibraci a standardizaci byla v programu zvolena odpovídající metoda, vlnová délka a čas pro měření požadovaného prvku.

Byly nastaveny tyto vlnové délky pro jednotlivé kovy: As – 189,042 nm, 2 min

Cd – 214,438 nm, 2 min

Pb – 220,353 nm, 2 min

Cr – 205,552 nm, 2 min

Vzorky byly nasávány peristaltickou pumpou do zmlžovače. Vznikající aerosol byl dále veden k plazmovému nosiči, kde docházelo k excitaci. Charakteristická atomová čárová emisní spektra byla buzena radiofrekvenčním indukčně vázaným plazmatem a dále zpracována mřížkovým spektrometrem s Echelle uspořádáním. Intenzity čar byly zaznamenány detektorem. Jednotlivé signálové odezvy fotocitlivých elementů byly zpracovány počítačovým programem. Proměnlivý podíl úrovně pozadí při stanovení stopových prvků byl kompenzován softwarově. Pro správné uvádění konečných výsledků bylo potřeba před vlastní analýzou stanovit sušinu rybí svaloviny.

6.5.1 Stanovení sušiny

Metoda je založena na vážení vzorku před a po vysoušení při 105°C do konstantní hmotnosti. 5 g vzorku bylo naváženo na hliníkové misky sušící váhy. Po skončení měření se odečítá přímo hmotnostní podíl sušiny v %.

6.6 Výpočet obsahu těžkých kovů

Výsledná koncentrace stanovovaného analytu se odečte z lineární nebo nelineární kalibrační křivky, která je uložena v programu pod názvem metody. Do programu se zadává navážka vzorku, což umožňuje přepočet přímo na mg/kg vzorku.

$$c\left[\frac{mg}{kg}\right] = \frac{\left(\left(CAL1\left[\frac{mg}{l}\right] - CAL0\left[\frac{mg}{l}\right]\right) * \frac{V[ml]}{1000\left[\frac{ml}{l}\right]}\right) * D[-]}{\frac{m_V[g]}{1000\left[\frac{g}{kg}\right]}} * \frac{100[\%]}{S[\%]} * \frac{100[\%]}{REC[\%]} * \frac{100[\%]}{100[\%] - Z[\%]}$$

c – koncentrace analytu ve vzorku

CAL1 – koncentrace odečtená z kalibrační křivky pro vodné matrice-vzorek

CAL0 – koncentrace odečtená z kalibrační křivky pro slepé stanovení

V – objem, na který se doplňuje roztok vzniklý mikrovlnným rozkladem (standardně 50 ml)

D – ředění (standardně 1)

m_V – navážka vzorku suché zeminy

S – sušina (předpokládá se po vysušení 100% sušina)

REC – výtěžnost (účinnost) mikrovlnného rozkladu

Z – ztráta analytu způsobená nedokonalým rozkladem (standardně 0)

7 PRACOVNÍ POSTUP STANOVENÍ RTUTI (Hg)

7.1 Vzorky ryb

Vzorky ryb byly zpracovány stejným postupem, jako je uveden v kapitole 6.1.

7.2 Použité chemikálie

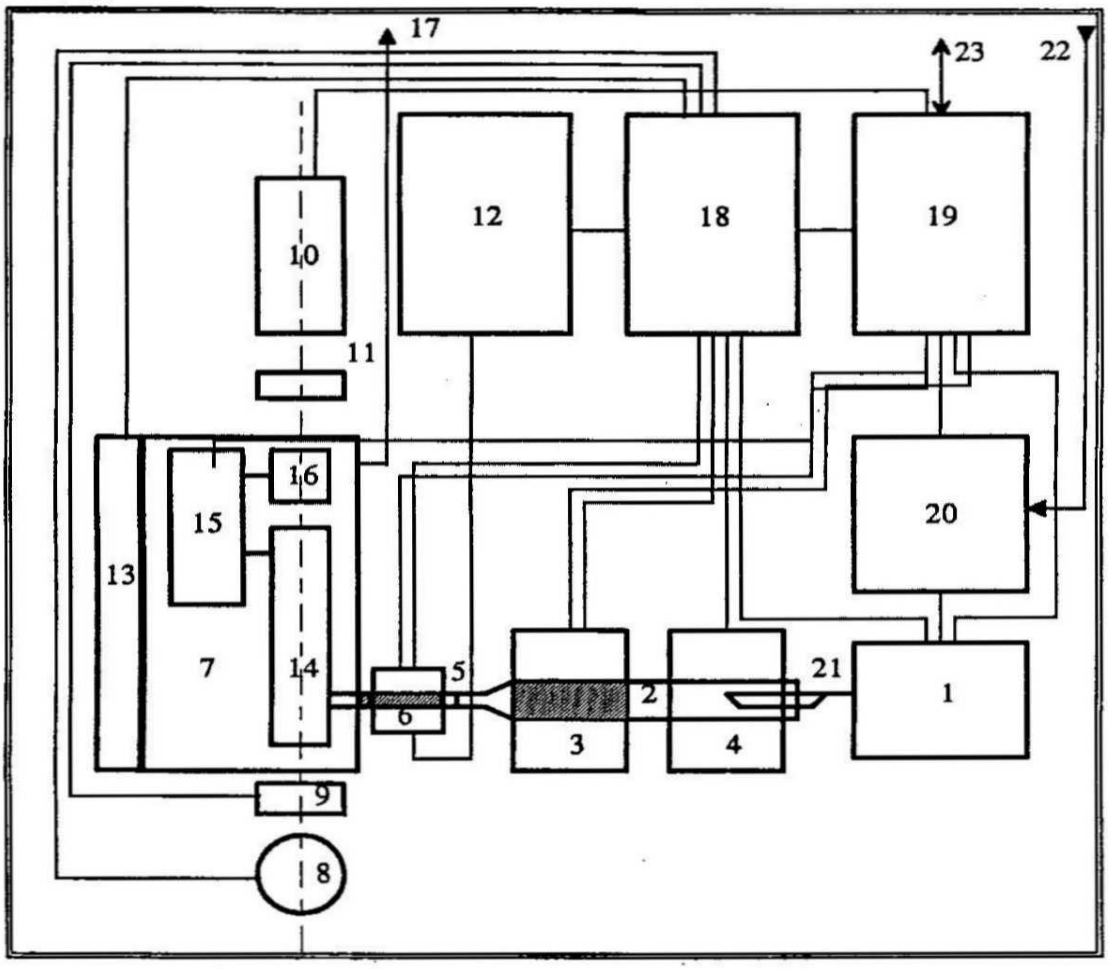
- ✓ referenční materiál (matricový CRM, tkáň ryb) 1 mg/ml Hg, Merck
- ✓ referenční materiál (matricový CRM, tkáň ryb) Astasol 1 mg/ml Hg (Analytika, Praha)
- ✓ konc. kyselina dusičná, Analpure
- ✓ konc. kyselina chlorovodíková, Analpure,
- ✓ referenční materiál (pevné matrice No. 7002, tkáň ryb), 1mg/kg Hg Analytika Praha
- ✓ destilovaná voda
- ✓ konzervační roztok: v 50 ml kyselině dusičné bylo rozpuštěno 5 g dichromanu draselného a tento roztok se zředí vodou na 1000ml (pro účely konzervace kalibračního roztoku)
- ✓ kyslík medicinální čistoty, nosný plyn pro přístroj
- ✓ zásobní roztok pro kalibraci, připraven následným ředěním referenčního roztoku o koncentraci 1 $\pm$ 0,01 mg/l (dodavatel Merk Brno) na požadovanou koncentraci
- ✓ kontrolní vzorek, připraven následným ředěním referenčního materiálu Astasol na požadovanou koncentraci 10µg/L

7.3 Přístroje a vybavení

- ✓ Analyzátor rtuti AMA 254, Altec
- ✓ Analytické váhy OHAUS Discovery, Pion
- ✓ Sušící váhy SCALTEC, Altec

7.3.1 Analyzátor rtuti AMA 254

Na obr. 9 je zobrazeno blokové schéma přístroje. Dávkovací zařízení 1 spolu s dávkovací lodičkou 21 zavádí vzorek do přístroje. Vstupní část spalovací trubice 2 je určena pro termický rozklad vzorku pomocí spalovací pece 4. Zadní část spalovací trubice je vyplněna katalyzátorem, vyhříváním na konstantní teplotu (550°C) pomocí katalytické pece 3. Amalgamátor 5 zachycuje rtuť z proudu plynných produktů vyniklých při rozkladu vzorku. Amalgám je následně rozložen a zachycen - rtuť je uvolněna ohřevem pomocí vypuzovací pece 6. Blok měřících kyvet tvořené dvěma sériově uspořádanými kyvetami je vyhřívá na 120 °C pomocí topného elementu 13, aby bylo v tomto prostoru zabráněno kondenzaci vody. Díky první14 a druhé kyvety 16 jsou v poměru 10 : 1. Mezi těmito dvěma kyvetami je zapojena zpožďovací nádobka 15, umístněná mimo optickou osu přístroje. Objem zpožďovací nádobky je větší než objem delší měřící kyvety 14. Jako zdroj záření slouží nízkotlaká rtuťová výbojka 8. Může být zastíněna clonkou 9. Interferenční filtr 11, který izoluje čáru 253,65 nm, je součástí detektoru 10. Chladící čerpadlo 12 urychluje chladnutí amalgamátoru po vypuzení rtuti. Analogová elektronika 18 obsahuje zdroj pro rtuťovou výbojku, napájecí zdroje pro digitální část a výkonné spínače pro pece a ostatní akční členy. Digitální část s mikroprocesorem 8051 19 obsahuje kromě číslicových obvodů tak ⋅ dvanáctibitový A/D převodník a měřící zesilovače detektoru a čidel. Sériová komunikace 23 umožňuje komunikaci s PC. Celkem přístrojem trvale protéká kyslík (od vstupu 22 až po výstup 17), jehož průtok je udržován na konstantní hodnotě pomocíregulátoru průtoku 20 [39].



Obr.č. 15: Blokové schéma přístroje AMA 254. Převzato z [39].

Schéma analyzátoru AMA 254. 1 – dávkovací zařízení, 2 – vstupní část spalovací trubice, 3 – katalytická pec, 4 – spalovací pec, 5 – amalgamátor, 6 – vypuzovací pec, 7 – měřící kyvety, 8 – nízkotlaká rtuťová výbojka, 9 – clonka, 10 – detektor, 11 – interferenční filtr, 12 – chladicí čerpadlo, 13 – topný element, 14 – první kyveta, 15 – zpožďovací nádobka, 16 – druhá kyveta, 17 – výstup kyslíku, 18 – analogová elektronika, 19 – digitální část, 20 – regulátor průtoku, 21 – dávkovací lodička, 22 – vstup kyslíku, 23 – sériová komunikace s počítačem. Převzato z [39].

7.4 Pracovní postup stanovení rtuti

Na dávkovací lodičku bylo naváženo 0,5-1 g vzorku Vzorek o známé navážce byl zaveden do spalovací trubice, kde je vysušen a následně spálen. Rozkladné produkty byly vedeny přes katalyzátor, kde je dokončena jejich oxidace a jsou zachyceny látky kyselé povahy

(halogeny, oxidy síry atd.). Produkty byly dále vedeny přes amalgamátor, kde byla zachycena rtuť. Kondenzaci vody během měření v kyvetách bylo zabráněno vyhříváním celého bloku měřících kyvet na 120 °C. Dále bylo změřeno zachycené množství rtuti - rtuť byla uvolněna z amalgamátoru krátkodobým ohřevem a rtuťové páry byly unášeny přes měřící kyvetu (měřeno jako 1. pík). Potom se všechna rtuť shromáždila ve zpožďovací nádobce (minimum mezi píky) a z ní vstupoval do další měřících nádobky (2. pík). Tato měření se odlišují svou citlivostí (poměr citlivosti první a druhé kyvety je 15:1) [39]. Naměřené hodnoty byly zpracovány řídícím počítačem.

7.4.1 Příprava spikovaného vzorku

K 10 g vysušeného vzorku bylo naváženo 10g referenčního materiálu Analytika Praha o koncentraci 1 mg/kg. Koncentrace Hg v takto připraveném vzorku byla 1mg/kg. Dále byl vzorek analyzován jako zbývající reálné vzorky. Viz. kap. 7.4.

7.5 Výpočet obsahu rtuti

$$c\left[\frac{ng}{mg}=\frac{mg}{kg}\right]=\frac{CAL[ng]}{m[mg]}*\frac{100[\%]}{REC[\%]}*\frac{100[\%]}{S[\%]}*F$$

c – koncentrace analytu ve vzorku

CAL1 – koncentrace odečtená z kalibrační křivky pro vodné matrice-vzorek

CAL0 – koncentrace odečtená z kalibrační křivky pro slepé stanovení

V – objem, na který se doplňuje roztok vzniklý mikrovlnným rozkladem (standardně 50 ml)

D – ředění (standardně 1)

m_V – navážka vzorku suché zeminy

S – sušina (předpokládá se po vysušení 100% sušina)

REC – výtěžnost (účinnost) mikrovlnného rozkladu

Z – ztráta analytu způsobená nedokonalým rozkladem (standardně 0)

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

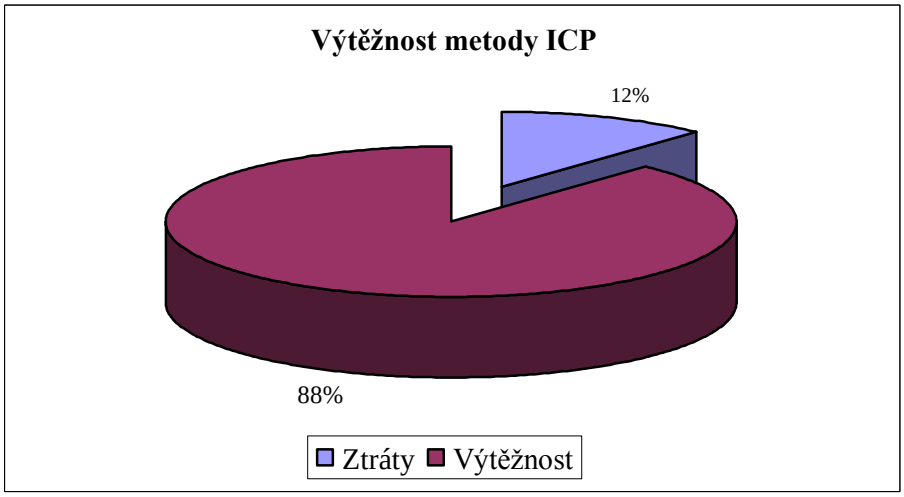
8.1 Výtěžnost analytických postupů

Vedle reálných vzorků byly měřeny spikované (nabohacené) vzorky, připravené přídavkem referenčního materiálu o známé koncentraci těžkých kovů, viz. kap. 6.4.1 a 7.4.1 Dle výsledků analýz viz. tab. č.3, byla vypočítána výtěžnost daného analytického postupu. Stanovení výtěžnosti je důležité pro správný přepočet výsledků.

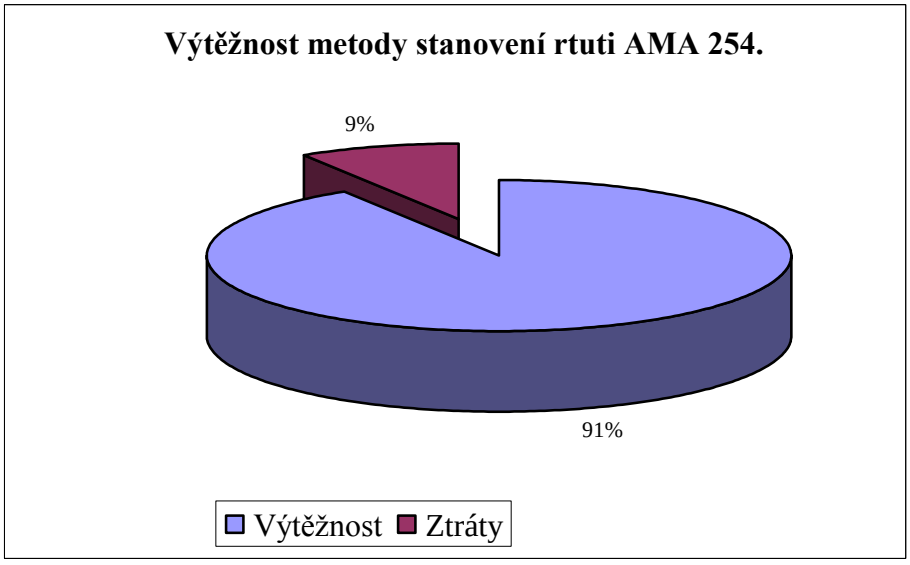
U metody ICP-OES, kterou byly stanoveny As, Cr, Cd, Pb byla výtěžnost stanovena na 88% a u metody AMA 254 byla výtěžnost 91%. Viz graf č. 6 a 7.

Tab.č. 2: *Průměrné naměřené hodnoty těžkých kovů v reálných a spikovaných vzorcích rybího masa.*

Druhy rybího masa	Průměrné hodnoty těžkých kovů v mg/kg.									
	As		Cd		Cr		Pb		Hg	
	Reálný vzorek	Spik. vzorek	Reálný vzorek	Spik. Vzorek	Reálný vzorek	Spik. vzorek	Reálný vzorek	Spik. vzorek	Reálný vzorek	Spik. vzorek
Pražma modrá	9,02	9,89	0,07	1,05	2,68	3,50	0,68	1,51	0,45	1,33
Pangasius dolnooky	0,47	1,29	0,03	0,91	3,60	4,41	0,39	1,20	0,02	0,95
Sleď obecný	8,74	9,61	0,03	1,00	5,25	6,11	0,23	1,11	0,26	0,99
Štika mořská	9,74	10,53	0,04	0,91	3,79	4,61	0,39	1,26	0,12	0,95
Žralok	37,81	38,70	0,05	0,90	4,75	5,69	0,44	1,37	4,38	5,18
Losos obecný	1,01	2,00	0,02	0,90	3,83	4,71	0,39	1,30	0,10	1,01



Graf č. 1: *Výtěžnost metody stanovení těžkých kovů přístrojem ICP-OES.*



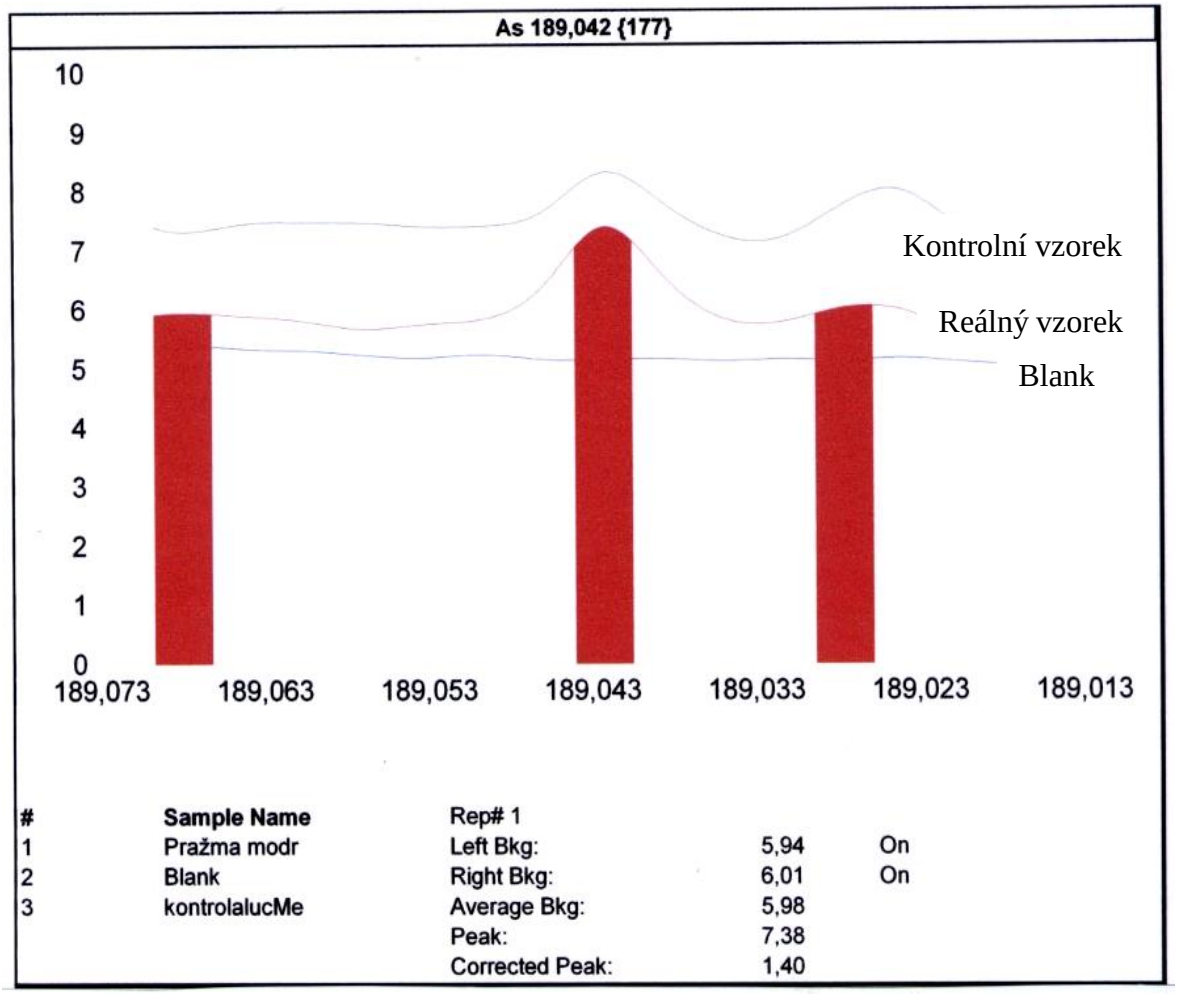
Graf č. 2: *Výtěžnost metody stanovení rtuti přístrojem AMA 254.*

Dle naměřených hodnot reálných a spikovaných vzorků byla vypočítaná výtěžnost analytického postupu. U stanovení těžkých kovů (As, Cd, Cr, Pb) metodou ICP-OES byla výtěžnost vypočítaná na 88% a u metody na stanovení rtuti přístrojem AMA 254 na 91%. Všechny naměřené výsledky těžkých kovů musely být přepočítány danou výtěžností.

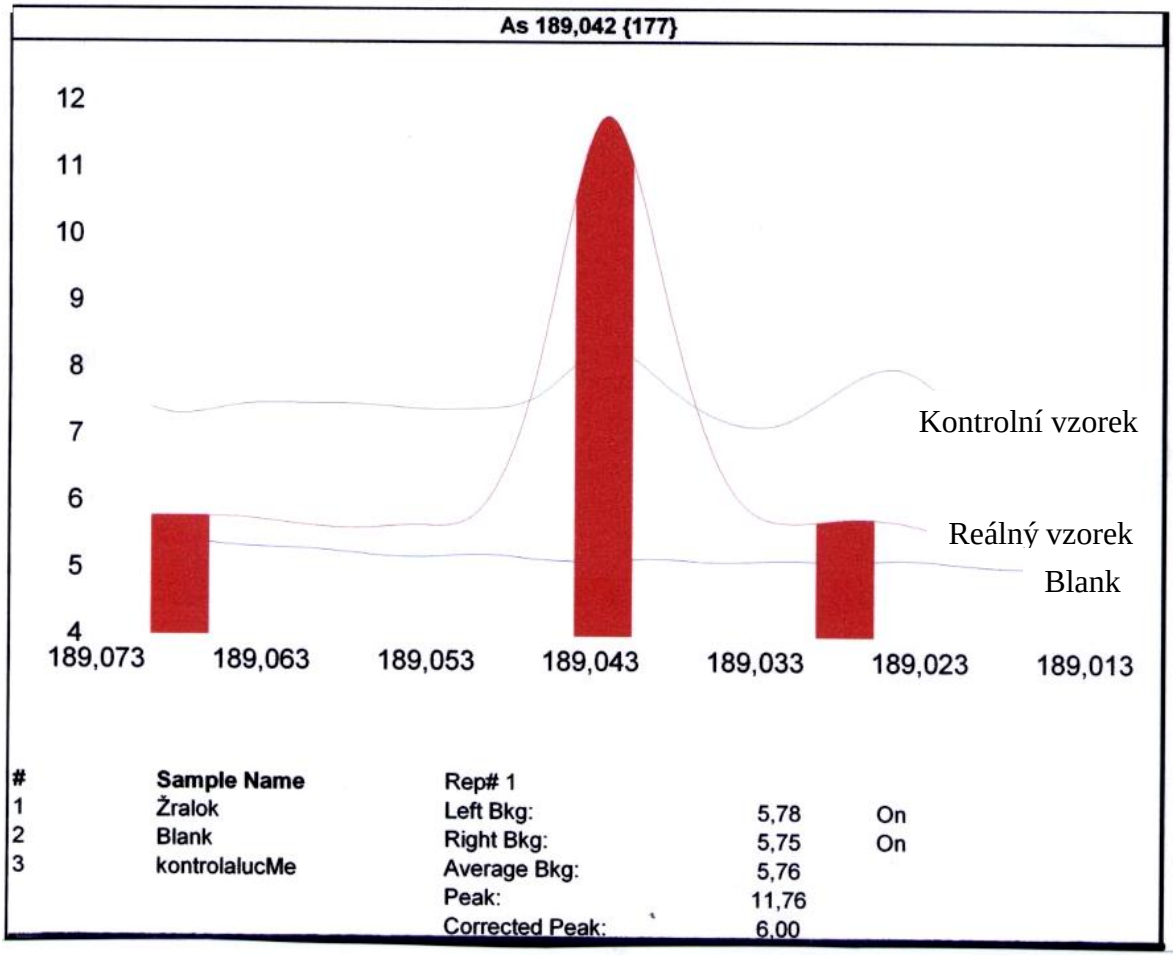
8.2 Stanovení obsahu těžkých kovů v rybím mase

Měření těžkých kovů bylo provedeno pouze z rybí svaloviny bez kůže. Všechna měření byla opakována 3krat. V každé sérii měření byl změřen reálný a kontrolní vzorek o známé koncentraci z důvodu ověření správnosti analytického postupu dané metody viz. odrázek Vzorky rybího masa byly mražené, od dvou různých dodavatelů Nowaco a Kimbex. Naměřené hodnoty byly porovnány s legislativou a byla stanovena míra kontaminace.

Naměřené hodnoty těžkých kovů spolu se směrodatnými odchylkami (RSD) jsou uvedeny v tabulce č.3.



Orb.č. 16: *Grafické znázornění naměřených signálů při stanovení As metodou ICP-OES ve svalovině Pražmy modré.*



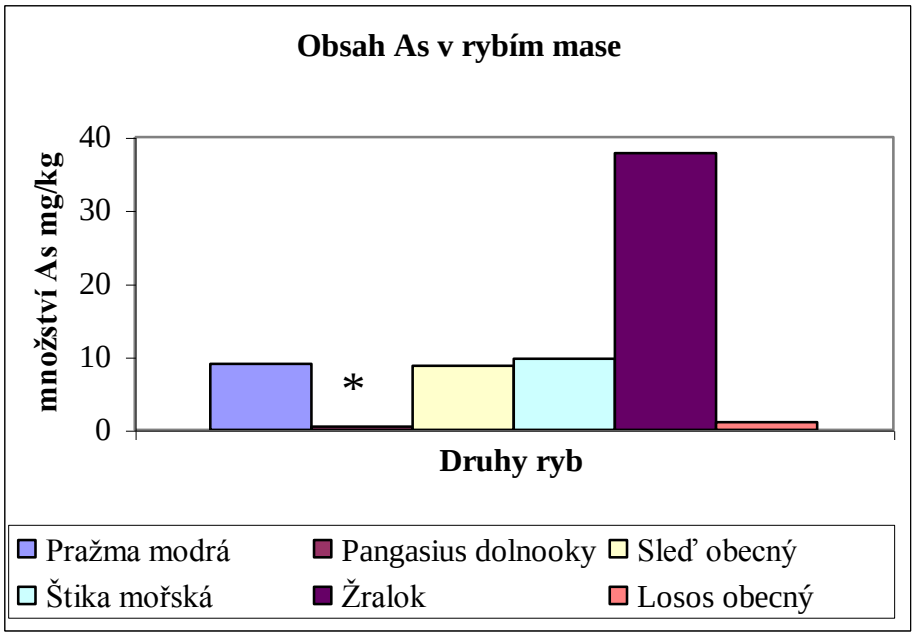
Orb.č. 17: *Grafické znázornění naměřených signálů při stanovení As metodou ICP-OES ve svalovině Žraloka.*

***Tab.č. 3*:** *Průměrné hodnoty zastoupení jednotlivých těžkých kovů v reálných vzorcích rybího masa naměřených metodou ICP-OES.*

Druhy rybího masa	Průměrné hodnoty naměřených těžkých kovů v reálném vzorku rybího masa v mg/kg.									
	As		Cd		Cr		Pb		Hg	
	Reálný vzorek	RSD	Reálný vzorek	RSD	Reálný vzorek	RSD	Reálný vzorek	RSD	Reálný vzorek	RSD
Pražma modrá	9,02	± 1,10	0,07 *	± 0,02	2,68 *	± 0,01	0,68	± 0,50	0,45 *	± 0,08
Pangasius dolnooky	0,47 *	± 0,11	0,03 *	± 0,03	3,60 *	± 0,01	0,39 *	± 0,06	0,02 *	± 0,01
Sleď obecný	8,74	± 2,16	0,03 *	± 0,02	5,25 *	± 0,01	0,23 *	± 0,09	0,26 *	± 0,09
Štika mořská	9,74	± 3,04	0,04 *	± 0,04	3,79 *	± 0,01	0,39 *	± 0,07	0,12 *	± 0,02
Žralok	37,81	± 6,10	0,05 *	± 0,04	4,75 *	± 0,01	0,44	± 0,07	4,38	± 1,39
Losos obecný	1,01	± 0,21	0,02 *	± 0,01	3,83 *	± 0,01	0,39 *	± 0,06	0,10 *	± 0,02

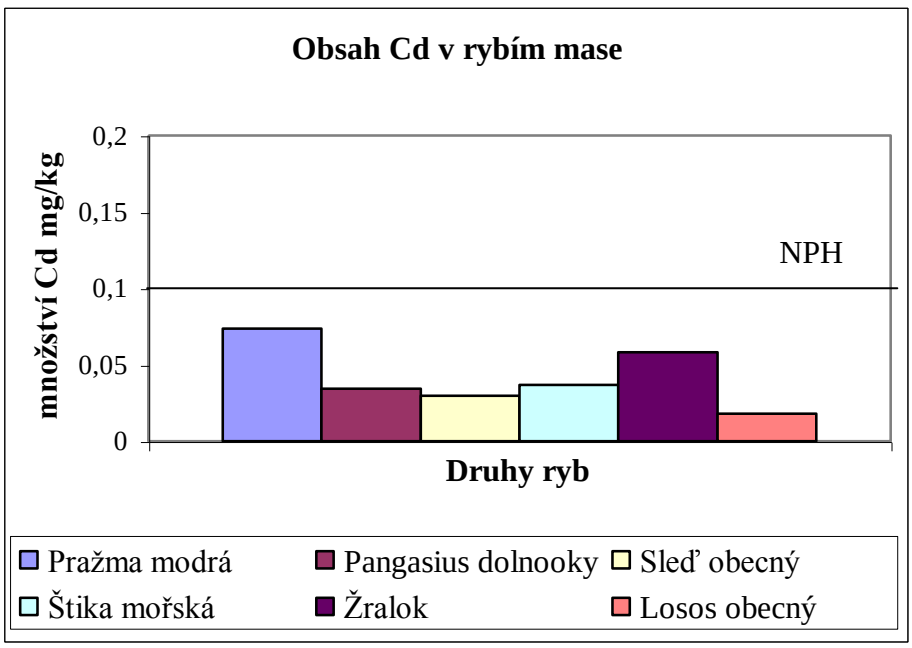
RSD - směrodatná odchylka

* - vzorek rybího masa splňuje maximální mezní limity ES 466/2001 na množství těžkých kovů

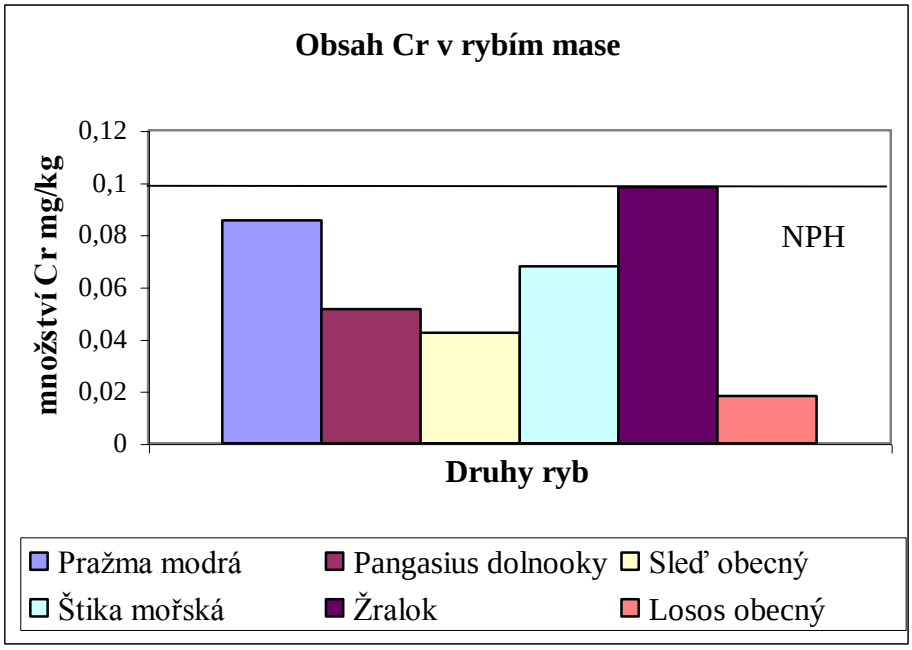


Graf č. 3: *Obsah arsenu v rybím mase.*

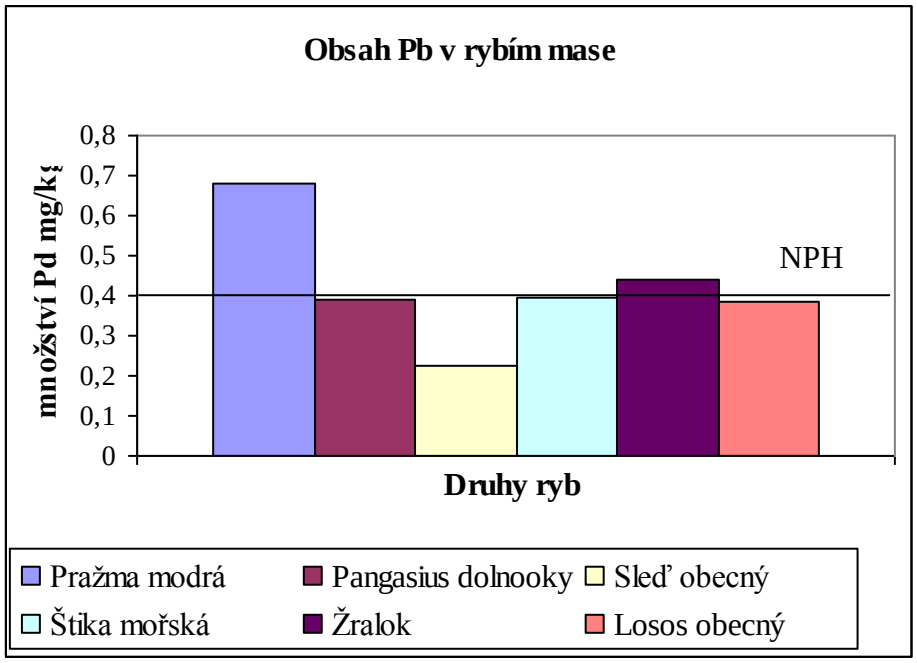
* - vzorek splňuje limity ES



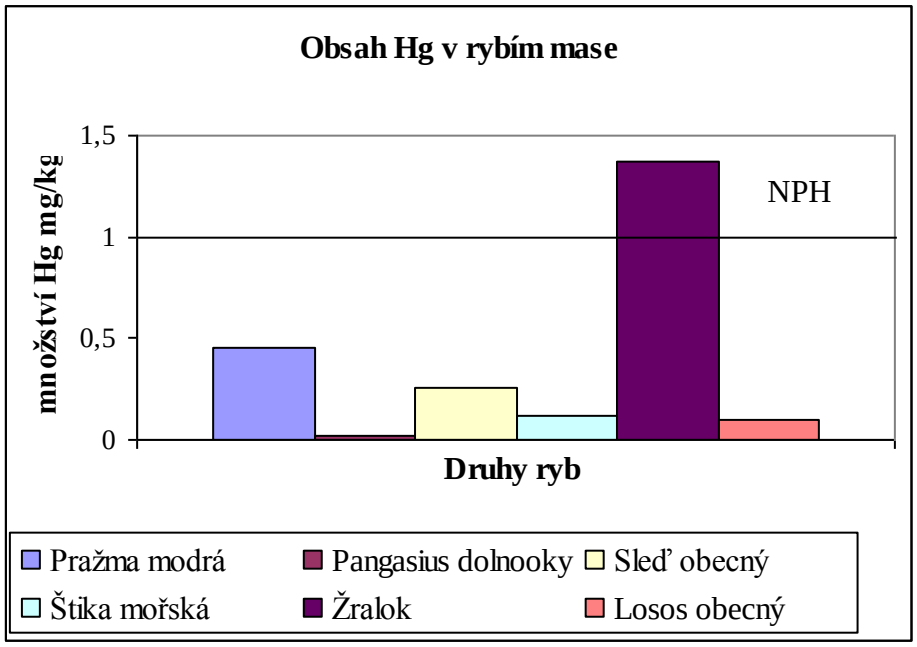
Graf č. 4: *Obsah kadmia v rybím mase.*



Graf č. 5: *Obsah chrómu v rybím mase.*



Graf č. 6: *Obsah olova v rybím mase.*



Graf č. 7: *Obsah rtuti v rybím mase.*

Dle naměřených hodnot, překračuje maso žraloka maximální limity uvedené v ES 466/2001 u třech sledovaných těžkých kovů, a to u arsenu, olova a rtuti. Nejvíce byly překročeny limity arzenu. ES udává nejvyšší maximální hodnotu tohoto kovu v rybím mase 1mg/kg. Naměřené hodnoty u tohoto kovu byly 37krát vyšší než udává ES. Dále pak rtuť, jehož průměr naměřených hodnot u žraločího masa byl překročen čtyřnásobně. U olova naměřené hodnoty překročily maximální limity ES jen nepatrně, průměr naměřených hodnot byl 0,44 mg/kg a ES udává maximálně 0,4mg/kg. Hodnoty kadmia a chrómu vyhovují limitům ES.

Maso pražmy modré obsahovalo 9,02 mg/kg arsenu, což je 9krát vyšší koncentrace, než udává legislativa. Nepatrně byl zvýšen obsah olova, maximální hodnotu tohoto kovu u rybího masa je 0,4 mg/kg a naměřené hodnota byla 0,68 mg/kg. Ostatní hodnoty těžkých kovů (Cd, Cr, Hg) splňovaly limity.

V mase sledě obecného naměřené hodnoty arzenu překračují maximální limity 9krát. Ostatní sledované těžké kovy splňují limity ES.

Obsah arzenu v rybím mase byl také překročen u štiky mořské a to 9krát. Ostatní sledované těžké kovy opět splňovaly limity. Maso lososa obecného mělo pouze nepatrně zvýšen obsah arsenu. Průměr naměřených hodnot byl jen o 1,5% vyšší než maximální limity udávají-

cí ES. Maso pangasiuse dolnookého plně vyhovovalo ES ve všech sledovaných parametrech

Grafické znázornění obsahu jednotlivých kovů viz.graf č. 3-7.

ZÁVĚR

V této diplomové práci byly vyvinuty metody na stanovení těžkých kovů (As, Cd, Cr, Pb a Hg) ve svalovině rybího masa na přístrojích AMA 254 pro Hg a ICP – OES , IRIS Intrepid II. pro ostatní prvky. Dále postupy rozkladu mikrovlnou pecí Milestone MLS 1200 Mega a stanovení výtěžnosti celého pracovního postupu dané metody.

Byl stanoven obsah těžkých kovů arsenu, kadmia, chrómu, olova a rtuti ve svalovině rybího masa šesti druhů ryb od dvou různých dodavatelů Noowaco a Kimbex.
Naměřené hodnoty se shodují s postavením ryb v potravním řetězci, kde jako dravec má výsadní postavení žralok. V jeho svalovině byly naměřeny nejvyšší koncentrace rtuti, arsenu a olova. Druhým, nejvíce kontaminovaným vzorkem, byl vzorek masa pražmy modré, kde u arsenu a olova byly naměřeny nadlimitní hodnoty. V mase štiky mořské a sledě obecného byly nadlimitní hodnoty naměřeny pouze u arzenu. Naopak maso lososa obecného a pangasiuse dolnookého splňovalo limity ES na obsah sledovaných těžkých kovů.

Největší kontaminant rybího masa je arsen, jehož naměřené hodnoty překročily maximální limity ES u čtyř druhů rybího masa. Dalším významným kontaminantem rybího masa je rtuť, která byla ve větší míře nalezena ve žraločím mase. Naopak u kadmia a chrómu naměřené hodnoty nepřekročily v žádném ze sledovaných vzorků tyto limity.

Z výsledků analýz je zřejmé, že na kontaminaci rybího masa těžkými kovy má největší vliv prostředí a postavení ryby v potravním řetězci. V mase lososa žijícího v oblasti severní Ameriky, Finska, Norska, kde znečištění těmito látkami je podstatně nižší než v Atlantském oceánu, nepřekročily naměřené hodnoty maximální limity. V mase žraloka, který žije v Atlantském oceánu a je na vrcholu potravního řetězce, byly hodnoty zastoupení těžkých kovů ve svalovině překročeny mnohonásobně.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] BENCKO, V. a spol. Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka, 1. vydání, 1995, Praha

[2] KOMPRDA, T. Obecná hygiena potravin. 1. vydání. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2004. 148 stran. ISBN 978-80-7157-757-7

[3] LANGMAIER, F. Nauka o zboží. 1. vydání. Brno: VUT Brno, 1999. ISBN 80-214-1502-9

[4] ES 466/2001, na maximální limity určitých kontaminujících látek v potravinách.

[5] http://www.sciencedirect.com/science, 14.12.2009

[6] GREENWOD, N.N., EARNSHAW, A.. Chemie prvků, překlad Informatorium, 1993,Praha

[7] JEWETT S.C., DUFFY L.K. Mercury in fishes of Alaska, with emphasis on subsistence species. 2007, Science of the Total Environment 387,

[8] KŘIŠTOFOVÁ, D. Kovy a životní prostředí. Environmentálně nebezpečné složky elektroodpadu. 1. vydání. , Ostrava: VŠB-Technická univerzita Ostrava, . ISBN 80-248-0740-8

[9] KELLO, D., KOSTIAL, K. Toxicol. Appl. Pharmacol, (1979)

[10] http://cs.wikipedia.org/wiki/kadmium

[11] LAUWERYS, R. Evalution of the impact of cadmium on the hearth of man,1977, Luxembourg

[12] TICHÝ, M. Toxikologie pro chemiky. Toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa. 2.vydání. 2004, Praha: Univerzita Karlova v Praze ISBN 80-246-0566-X

[13] http://cs.wikipedia.org/wiki/Rtut, 15.4.2010

[14] http://cs.wikipedia.org/wiki/Olovo, 15.4.2010

[15] BALAŠTÍK, J. Konzervace ovoce a zeleniny. 1.vydání.:Nakladatelství technické literatury, 1975, Praha Typové číslo L18-B2-IV-31/81875

[16] http://cs.wikipedia.org/wiki/Chrom, 15.4.2010

[17] KOPLÍK R., ČURDOVÁ E., MESTEK O. Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech, 1997, Chem. listy 91

[18] VELÍŠEK, J. Chemie potravin 2. 1. vydání. 2001 , Pelhřimov: OSSIS, 1999. 328 stran.ISBN 80-902391-4-5

[19] http://cs.wikipedia.org/wiki/Rtut, 25.4.2010

[20] http://biotox.cz , 21.10.2004

[21] http://toxicodiary.com/2007/02/26/mercury-forms-and-lifecycle/, 1.5.2008

[22] GOULET R. R., HOLMES J., a spol. Mercury transformations and fluxes in sediments of a riverine wetland. Geochimica et Cosmochimica Acta 71. (2007)

[23] ALTMANN-BREWE, J. Amalgám. Časovaná bomba. 1.vydání. Olomouc:

[24] http://.elsevier.com/locate/chemosphere 12.3.2010

[25] HARRIS, D.C. Quantitative Chemical Analysis. Seventh Edition (2007).

[26] DĚDINA, J. a kol. Vybrané metody analytické atomové spektrometrie, 1987, Praha

[27] POPL, M., ČŮTA, F. Instrumentální analýza, SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1986, Praha

[28] HOUSEROVÁ , P . a spol. Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech – vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení. Chemické Listy *100*, 826 (2006).

[29] ŠTĚPANKOVÁ, Z. Stanovení rtuti atomovou absorpční spektrometrie (bakalářská práce), 2004, MU Brno

[30] KOMÁREK, J. Atomová absorpční spektrometrie, 2000, MU Brno

[31] NĚMCOVÁ, I. A spol. Spektroskopické analytické metody I,Univerzita Karlova, 2004, Praha

[32] ČERNOHORSKÝ, T., JANDERA, P. Atomová spektroskopie, Chemicko-technologická fakulta, 1997, Univerzita Pardubice

[33] MANN J., L. a spol. Determination of mercury contend in shallow firn core from Greenland by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry. Water, Air, and Soil Pollution 163, 19-32, (2005)

[34] DOLEŽEL, V. Zvěřina, ryby, mořští živočichové, 35. publikace, 1993, České Budějovice : Dona,. ISBN 80-85463-23-7

[35] http://www.ceskykapr.cz/maso/maso_2.html, 10.4.2010

[36] INGR, I. Jakost a zpracování ryb, 1. vydání, 2004, Mendlova zemědělská a lesnická UNI v Brně

[37] http://zivazeme.cz/atlas-ryba, 12.3.2010

[38] Manuál k přístroji IRIS Intrepid II.

[39] Manuál k přístroji AMA 254, 2002, Praha

[40] OTRUBA, V. 4. Kurz ICP spektrometrie, Spektrometrická společnost Jana Marka Marci, 2008, Brno

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

TK	Těžké kovy
RSD	Směrodatná odchylka
ES	Evropská směrnice
NPH	Nejvyšší přípustná hodnota
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
As	Arsen
Pb	Olovo
Cd	Kadmium
Cr	Chrom
Hg	Rtuť

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr.č. 1: Schéma cyklu rtuti v přírodě……...25

Obr.č. 2: Schéma detekční techniky ICP-MS, se svolením převzato od Dr Christophe Pécheyran (CNRS Pau UMR5254)…….…….29

Obr.č. 3: Schéma generování studených par rtuti se zakoncentrováním v amalgamační trubici……...32

Obr.č. 4: Schéma FI systému generování studených par se zachycením v elektrotermickém atomizátoru……..32

Obr.č. 5: Schéma přístroje TMA 254 založeném na termooxidačním spalování…… .33

Obr.č. 6: Elektronové přechody atomové fluorescence: rezonanční; nerezonanční: a) přímá; b) postupná; c) anti-Stokesovská; Termické přechody jsou vyznačeny tečkovanou čarou……34

Obr.č. 7: Schéma CV-AFS analyzátoru…….35

Obr.č. 8: Pangasius dolnooký……42

Obr.č. 9: Pražma modravá……..43

Obr.č. 10: Sleď obecný……...43

Obr.č. 11: Štikozubec obecný……44

Obr.č. 12: Žralok…….44

Obr.č. 13: Losos obecný……..45

Obr.č. 14: Schéma optického indukčního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem…….……..46

Obr.č. 15: Blokové schéma přístroje AMA 254. ……...57

Orb.č. 16: Grafické znázornění průběhu píků při měření As metodou ICP-OES ve svalovině Pražmy modré……..62

Orb.č. 17: Grafické znázornění průběhu píků při měření As metodou ICP-OES ve svalovině žraloka……63

SEZNAM TABULEK

Tab. č. 1: Výsledky analýz některých mořských ryb na trhu v ČR ……27

Tab.č. 2: Průměrné naměřené hodnoty těžkých kovů v reálných a spikovaných vzorcích rybího masa……60

Tab.č. 3: Průměrné naměřené hodnoty jednotlivých těžkých kovů v reálných vzorcích rybího masa……...64