

# Stanovení kovů v rostlinných olejích

Bc. Eva Polzerová

---

Diplomová práce  
2014



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky  
akademický rok: 2013/2014

## **ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Eva Polzerová**  
Osobní číslo: **T12416**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů  
a kosmetiky**  
Forma studia: **prezenční**  
Téma práce: **Stanovení kovů v rostlinných olejích**

Zásady pro vypracování:

### **I. Teoretická část**

- 1. Analytické stanovení kovů, instrumentální metody (AES, AAS).**
- 2. Používané metody mineralizace reálných vzorků.**
- 3. Toxické a přirozeně se vyskytující kovy v přírodních olejích a jejich dopady na zdraví člověka.**

### **II. Praktická část**

- 1. Výběr a optimalizace mineralizační metody.**
- 2. Stanovení kovů pomocí AAS.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] AYENIMO, J. G. a A. M. YUSUF. Heavy Metal Exposure from Personal Care Products. Bull Environ Contam Toxicol, 2010. ISBN 978-953-307-921-9.

[2] BOSKOU, Dimitrios. Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions. 2010.

[3] PEHLIVANA, Erol a Gulsin ARSLANDB. Determination of some inorganic metals in edible vegetable oils by inductively. GRASAS Y ACEITES, 2008. ISBN 0017-3495.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Ondřej Rudolf**

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

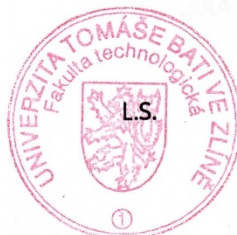
**10. února 2014**

Termín odevzdání diplomové práce:

**26. května 2014**

Ve Zlíně dne 10. února 2014

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
děkan



  
Ing. Martina Černeková, Ph.D.  
ředitel ústavu



Příjmení a jméno: POLŽEROVÁ<sup>1</sup> EVA.....

Obor: TEVTOK.....

## 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<sup>1)</sup>;
- 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<sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60<sup>3)</sup> 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<sup>3)</sup> 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 12.5.2014.....

Polžerová!  
.....

<sup>1)</sup> 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 nevdělečně 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 nahlížení 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.

<sup>2)</sup> 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 vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> 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 teoretické části této práce je zhodnocení rostlinných olejů jako důležité složky lidské výživy. Úkolem je také popsat toxické a přirozeně se vyskytující kovy v rostlinných olejích. Dále je tato část zaměřena na jednotlivé metody a techniky, které lze ke stanovení kovů využít. Praktická část této práce je založena na stanovení koncentrací jednotlivých kovových prvků (Fe, Zn, Cu, Cr, Ni a Hg) ve vzorcích rostlinných olejů a vzájemném porovnání těchto olejů na základě dosažených výsledků. K analýze bylo použito 34 vzorků jedlých rostlinných olejů. Koncentrace kovových iontů byly stanoveny ve dvou opakováních metodou AAS po předchozím rozkladu kyselinou v mikrovlnném poli. K vyhodnocení lineární závislosti mezi absorbancí a koncentrací kovů byla využita metoda kalibrační křivky. Získané výsledky dokazují, že obsah kovů v olejích závisí jak na konkrétním druhu rostliny a jejím původu, tak i na metodě zpracování.

Klíčová slova: rostlinný olej, kov, toxický účinek, mineralizace, spektroskopie.

## **ABSTRACT**

The content of theoretical part of this thesis is to evaluate the vegetable oils as an important component of human nutrition. The aim is to describe toxic and natural metals, which are component of vegetable oils. The theoretical part is also devoted to each methods and techniques of determination metals in vegetable oils. The practical part is focused on determine concentrations of individual metal elements (Fe, Zn, Cu, Cr, Ni a Hg) in the samples of vegetable oils and mutual comparison this oils on the basis of obtained results. In this work, 34 samples of edible vegetable oils were used for their metal content. Metal ion concentrations were determined as two replicates by AAS, prior to use of microwave-assisted acid digestion method. A calibration curve was obtained to see the linear relationship between absorbance and concentration. The results obtained revealed that the contents in metal residues depend on the particular type of oil and this origin, probably due to different processing.

Keywords: vegetable oil, metal, toxic effect, mineralization, spectroscopy.

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu své diplomové práce panu Ing. Ondřeji Rudolfovi za jeho odbornou pomoc, cenné rady a poskytnuté materiály a za veškerý čas věnovaný vedení této diplomové práce. Děkuji také paní Věře Zbrankové za ochotu a odbornou pomoc při laboratorním měření. Ráda bych poděkovala i své rodině, která mě ve studiu podporuje.

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

## OBSAH

<b>ÚVOD .....</b>	<b>9</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>10</b>
<b>1 ROSTLINNÉ OLEJE .....</b>	<b>11</b>
1.1 KOVY V ROSTLINNÝCH OLEJÍCH .....	12
<b>2 KOVY A JEJICH ROZDĚLENÍ.....</b>	<b>15</b>
2.1 FORMY VÝSKYTU KOVŮ, VLIV NA TOXICITU .....	15
2.2 ZDROJE KONTAMINACE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ.....	17
2.3 PŘESTUP KOVŮ DO ROSTLIN .....	19
2.4 VSTUP KOVŮ DO ORGANISMU – VSTŘEBÁVÁNÍ.....	22
2.5 TOXICKÉ ÚČINKY KOVŮ NA ORGANISMUS.....	23
<b>3 PŘÍPRAVA VZORKŮ.....</b>	<b>25</b>
3.1 ROZKLAD NA MOKRÉ CESTĚ.....	25
3.2 ROZKLAD NA SUCHÉ CESTĚ.....	27
<b>4 ANALYTICKÉ STANOVENÍ KOVŮ .....</b>	<b>29</b>
4.1 AAS .....	30
4.1.1 FA–AAS .....	32
4.1.2 AAS s elektrotermickou atomizací.....	33
4.2 OES.....	33
4.2.1 Plamenová fotometrie.....	35
4.3 ICP–MS .....	35
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>40</b>
<b>5 MATERIÁLY A METODY.....</b>	<b>41</b>
5.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE .....	41
5.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A ZAŘÍZENÍ.....	41
5.3 POUŽITÉ VZORKY OLEJŮ .....	42
<b>6 PŘÍPRAVA VZORKŮ.....</b>	<b>44</b>
6.1 MINERALIZACE .....	44
<b>7 STANOVENÍ KOVŮ V OLEJÍCH .....</b>	<b>45</b>
7.1 STANOVENÍ KOVŮ ATOMOVÝM ABSORPČNÍM SPEKTROMETREM GBC 933AA.....	45
7.2 STANOVENÍ RTUTI ANALYZÁTOREM AMA 254 .....	46
<b>8 VÝSLEDKY A DISKUSE.....</b>	<b>48</b>
8.1 VÝPOČET KONCENTRACE KOVŮ V OLEJÍCH .....	48
8.2 VÝSLEDKY STANOVENÍ KOVŮ V OLEJÍCH ATOMOVÝM ABSORPČNÍM SPEKTROMETREM GBC 933AA .....	49
8.2.1 Kalibrační křivky.....	49
8.2.2 Výsledky stanovení koncentrací kovů .....	51
8.3 VÝSLEDKY STANOVENÍ RTUTI ANALYZÁTOREM AMA 254 .....	59
<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>60</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>61</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>67</b>



<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>69</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>70</b>
<b>SEZNAM GRAFŮ</b> .....	<b>72</b>

## ÚVOD

Rostlinné oleje a tuky můžeme definovat jako jedlé tuky získané ze semen, jader nebo plodů olejnatých rostlin. Z chemického hlediska se jedná o triacylglyceroly, neboli estery tří mastných kyselin (nasyčených nebo nenasycených) a glycerolu. Přitom se stoupajícím počtem nenasycených vazeb v řetězci kyseliny se olej stává tekutějším. K dispozici je mnoho druhů těchto olejů a jejich využití je rozsáhlé. Zahrnuje nejen potravinářský průmysl, ale i kosmetický, farmaceutický nebo chemický průmysl.

Převážná většina rostlinných olejů je využívána v potravinářství. Co se zdravé výživy týká, měly by tyto oleje tvořit 2/3 všech přijatých tuků. Jsou bohatým zdrojem vitamínu F a díky nenasyceným mastným kyselinám mají schopnost snižovat hladinu cholesterolu krevního séra.

Další významné uplatnění rostlinných olejů je v kosmetickém průmyslu. Mohou zde být obsaženy ve velkých množstvích, jako hlavní složka kosmetiky, nebo ve velmi malých množstvích, jako podstatná ingredience. Při jejich užívání v kosmetice je důležité znát alkylovou kompozici a podle účelu použití by měly být vybírány vhodné oleje, neboť pocit po použití je určen zejména alkylovým složením a teplotou tání.

Díky dvojným vazbám obsaženým v nenasycených mastných kyselinách jsou rostlinné oleje náchylné k oxidaci a barevným změnám způsobeným světlem, kyslíkem nebo teplem. Významný vliv na kvalitu olejů má také obsah kovů. Ty už ve stopových množstvích mohou ovlivňovat nejen rychlost oxidace, ale také čerstvost, skladovatelnost, toxicitu a celkovou kvalitu olejů. Jejich stanovení je proto velmi důležité a významné vzhledem k řízení jakosti výroby. Díky nízkým koncentracím a vysokému organickému obsahu není stanovení kovů snadné. Pro tyto účely jsou využívány především metody spektrometrické a spektroskopické.

Stanovení těžkých kovů v jedlých olejích je také velmi důležité proto, že mnohé těžké kovy jsou pro rostliny, zvířata i člověka důležitými stopovými prvky. Pokud ale jejich koncentrace překročí určitý limit, stávají se toxickými.

Studie kontaminace olejů těžkými kovy slouží také k indikaci stavu koncentrace kovů v rostlinách a na místě, kde jsou pěstovány

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 ROSTLINNÉ OLEJE

Rostlinné oleje jsou především triacylglyceroly mastných kyselin, jež mohou obsahovat i řadu dalších látek, které jsou přirozenou součástí olejů: volné a vázané stearyny, fosfatidy a vitamíny, dodávající olejům chuť, aroma a barvu. Díky třem esterovým vazbám jsou vysoce polární. Mohou být vyráběny lisováním za studena (surové rostlinné oleje), za horka (panenské oleje) nebo extrakcí organickým rozpouštědlem s následnou rafinací (jedlé rafinované oleje). Rafinační procesy vedou k odstranění nežádoucích látek, jako např. monoacylglyceroly, diacylglyceroly, volné kyseliny, barviva a pigmenty, oxidující složky, aromatické látky, stopové kovy nebo sloučeniny síry. Mohou však vést i k odstranění cenných složek, jako jsou antioxidanty a vitamíny, zejména karoteny a tokoferoly. Proto musí být tyto procesy navrženy tak, aby byly maximálně odstraněny nežádoucí složky a přitom ztráta cenných látek byla minimální. Většina rostlinných olejů se získává z bobů nebo semen, na druhou stranu oleje jako olivový a palmový jsou lisovány z měkké části plodu (endospermu) [1] [2].

V rámci zdrojů, ze kterých jsou rostlinné oleje vyráběny, je možné vyčlenit tři kategorie:

**Oleje jako vedlejší produkt** – příkladem jsou bavlna nebo kukuřice, které jsou pěstovány v první řadě pro vlákna a obilné produkty a olej je zde vedlejším produktem. Stejně tak zde můžeme řadit olej vyrobený ze sóje nebo podzemnice olejné, jejichž plody jsou z větší části využity jako potraviny.

**Oleje z plodů stromů** – palmový, palmojádrový, kokosový nebo olivový olej jsou produkty získané ze stromů. Nějakou dobu trvá, než stromy začnou plodit a poskytují užitečné plody. Po dosažení této fáze však stromy plodí dalších 25–30 let (palmy) nebo i mnohem déle (olivovníky). Tyto rostliny nemohou být každoročně obměňovány.

**Oleje z jednoletých rostlin** – do této kategorie spadají oleje jako slunečnicový, lněný nebo řepkový. Zde záleží na rozhodnutí farmáře nebo zemědělce, kterou rostlinu bude daný rok pěstovat. Volba je obvykle mezi olejnatými semeny a obilninami a je založena jak na zemědělských, tak na ekonomických faktorech [3].

## 1.1 Kovy v rostlinných olejích

Rostlinné oleje jsou široce využívány nejen v gastronomii, ale také v kosmetice, farmaceutickém nebo chemickém průmyslu. Tyto oleje jsou velmi populární a prospěšné díky schopnosti snižovat hladinu cholesterolu [4]. Dále mají zásadní význam pro globální výživu a jsou vyráběny v různé kvalitě, v závislosti na zemi a regionálních podmínkách [5]. Na rozdíl od živočišných tuků, které jsou převážně nasycené, a proto nesnadno reagují s ostatními chemickými látkami, zejména s kyslíkem, jsou nenasycené rostlinné oleje mnohem reaktivnější. Kvalita jedlých olejů, vztahující se k jejich čerstvosti, skladovatelnosti a toxicitě, může být hodnocena také stanovením několika stopových kovů [4]. Je například známo, že obsah těžkých kovů ovlivňuje rychlost oxidace, výživovou hodnotu, zachování vlastností a skladovatelnost. Proto je jejich stanovení v rostlinných olejích velmi důležité z hlediska řízení kvality výroby [6]. Už stopové množství kovových iontů (Cu, Fe, Mn, Co, Cr, Pb, Cd, Ni a Zn) má nepříznivý vliv na oxidační stabilitu jedlých olejů. Přechodné kovy, jako jsou Cu a Fe, katalyzují rozklad peroxidů, což vede k rychlejší tvorbě nežádoucích látek. Bylo dokonce prokázáno, že Cu (pokud je v iontové formě) může velmi výrazně ovlivnit chuťovou stabilitu olejů, a to na úrovni i nižší než 30 ppb [7] [8]. Zatímco obsah jiných kovů, jako například As, Cd a Pb je velmi důležitý vzhledem k jejich toxicitě a metabolické úloze [4]. Na některých kovech jsou rostliny a živočichové závislí (esenciální kovy) a jsou nezbytné pro jejich život. Avšak ve vyšších koncentracích mohou být i tyto toxické. Jsou to zejména Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, V, Ca, W a Zn [9]. Jejich rozdělení podle nezbytnosti a toxicity je uvedeno v Tabulce 1.

Tab. 1: Rozdělení těžkých kovů podle nezbytnosti a toxicity [10]

Prvek	N <sub>R</sub>	N <sub>ž</sub>	T <sub>R</sub>	T <sub>ž</sub>
Cd			•	•
Cu	•	•	•	•
Ni		•	•	
Pb			•	•
Hg			•	•
Zn	•	•	•	•

Kde:

N<sub>R</sub> – nezbytný pro rostliny

N<sub>ž</sub> – nezbytný pro živočichy

T<sub>R</sub> – toxický pro rostliny

T<sub>ž</sub> – toxický pro živočichy



Je velmi důležité stanovovat hladiny těžkých kovů v jedlých olejích a hlásit případné kontaminace, které by mohly představovat riziko pro lidské zdraví. Konzumace potravin byla zhodnocena jako hlavní cesta expozice člověka těžkými kovy, ve srovnání s jinými způsoby, jako jsou inhalace nebo dermální kontakt. Agentura pro ochranu životního prostředí (US EPA), Společný výbor expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva (JECFA) a Institut pro medicínu (IOM) poskytly veškeré pokyny pro příjem stopových prvků ve výživě lidí [4].

Řada rostlinných olejů má také široké využití v kosmetickém průmyslu. Zde jsou oleje vybírány jednak dle oxidační stability, ale také podle toho, jaký je výsledný pocit po jejich použití. Například oleje obsahující nenasycené mastné kyseliny, zejména olejovou, dodávají pokožce hydratovaný pocit. Velmi užitečným indexem pro znalost oxidační stability je jodové číslo. Oleje obsahující kyselinu linolovou, která má tři dvojnásobné vazby a tudíž vyšší jodové číslo, jsou mnohem náchylnější k oxidaci. U olejů s vyšším obsahem kyseliny linolové se proto doporučuje snížení pH nebo přidavek antioxidantů jako je vitamín E nebo lecitin. Je snadné porozumět vlastnostem rostlinných olejů, které pomáhají při navrhování kosmetických formulací, díky jejich klasifikaci na základě délky nasyčeného alkylového řetězce, jodového čísla a distribuce (a obsahu) nenasycených kyselin, jako jsou olejová, linolová a linolenová [2].

Protože nejsou k dispozici téměř žádná omezení týkající se kosmetických prostředků, je velmi obtížné zjistit, zda jsou hodnoty kovů získané v prováděných studiích příliš vysoké nebo příliš nízké [11]. V jakémkoliv množství jsou však v kosmetice zakázány těžké kovy, hlavně Pb, Hg, Cd, Cr a As, které jsou uvedeny ve směrnici č. 76/768/EHS jako látky zakázané v kosmetických prostředcích, a to pod referenčními čísly 289, 221, 68, 97 a 43 v uvedeném pořadí [12] [13]. Dlouhodobé používání kosmetických přípravků, obsahujících tyto prvky, představuje vážné riziko nejen pro lidské zdraví, ale také pro životní prostředí [11]. Přesto se i některé tyto kovy v kosmetice objevují. Například rtuť je přidávána do krémů sloužících k bělení kůže. Přítomnost rtuti v tělových krémech se stala celosvětovým problémem veřejného zdraví. Mnoho takovýchto přípravků je ročně hlášeno do systému RAPEX (Rychlý evropský výstražný informační systém o nebezpečných spotřebitelských výrobcích nepotravinářského charakteru). Sloučeniny rtuti se při lokální aplikaci lehce vstřebávají do kůže a mají tendenci se v těle akumulovat. Způsobují alergické reakce, podráždění kůže nebo neurotoxické projevy [13] [14].

Mnohé kovy jsou však běžnou součástí kosmetických přípravků. Příkladem je zinek. Oxid zinečnatý, který je nerozpustný ve vodě, bývá využíván jako pigment, popř. zahušťovadlo ve výrobcích jako jsou dětské pudry, krémy pro bělení pih, depilační přípravky, pleťové masky, antiperspiranty, ochranné krémy proti slunci, rtěnky, holící krémy nebo bílé oční stíny. Má také adstringentní a antiseptické vlastnosti. Podobně je využíván i oxid titaničitý. Díky svému indexu lomu, UV rezistenci a stálosti je častou přísadou opalovacích krémů. Obvyklou přísadou make-upu bývají zase oxidy železa [13] [15].

Kosmetické právní předpisy EU jsou založeny na již zmiňované směrnici Rady č. 76/768/EHS ze dne 27. července 1976. Podle této směrnice je výrobce nebo dovozce odpovědný za prokázání toho, že kosmetický výrobek je bezpečný pro jeho zamýšlené použití. EU zakázala přibližně 1328 chemických látek v kosmetických přípravcích. Soubor analytických metod zaměřených výhradně na kosmetické přípravky publikovala COLIPA (Evropské sdružení výrobců kosmetiky, parfumerie a toaletních potřeb) ve spolupráci s Ústavem pro referenční materiály a měření (IRMM) a italskou zdravotnickou institucí (ISS). Tyto metody jsou určeny pro identifikaci a kvantitativní stanovení látek uvedených v různých přílohách směrnice EU. Ačkoliv většina z těchto metod není oficiální, existují. Mezi 38 oficiálních metod uvedených v evropských směrnicích patří i metody stanovení některých kovů, a to např. Zn (metoda dle směrnice 80/1335/EEC), Se (metoda dle směrnice 93/73/EEC) a Al, Zr (metoda dle směrnice 83/514/EEC). Ve Spojených státech je kosmetika regulována Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) [14] [16].

Co se zdravotních důsledků týká, jsou široce popsány ty po požití nebo inhalaci těžkých kovů ze vzduchu, potravin nebo nápojů. Informace o expozici kovových toxinů kontaktem s kůží jsou ale mizivé [11]. Je dokázáno, že nepoškozená kůže je dostatečnou bariérou pro vstřebávání ve vodě rozpustných toxických látek, především anorganických elektrolytů, vysokomolekulárních látek a částic. Naopak organické i anorganické sloučeniny kovů, které se rozpouštějí nebo distribuují v tucích, jsou kůží vstřebávány dobře. Vstřebávání kůží se předpokládá nebo bylo potvrzeno pro organické a anorganické sloučeniny rtuti, zinku, mědi, zlata, beryllia, pro kovovou rtuť, sloučeniny thallia, arzenu, kobaltu a niklu. Dobře se kůží vstřebává také tetraethylolovo, tetraethylplumban. Studium rychlosti vstřebávání kovů kůží po aplikaci znesnadňuje lokální iritace pokožky (podrážděnost, zánět, olupování) [17].

## 2 KOVY A JEJICH ROZDĚLENÍ

Z množství prvků vyskytujících se v přírodě (přibližně 90) tvoří převážnou většinu (80) kovy. Ty můžeme dělit mimo jiné dle hustoty na těžké a lehké. Těžké kovy jsou obvykle definovány jako prvky s kovovými vlastnostmi a atomovým číslem vyšším než 20, jejichž hustota je větší než  $5 \text{ g/cm}^3$ . Jiné definice vyčleňují těžké kovy také podle protonového čísla nebo dle jejich toxicity. Kovy, které řadíme mezi těžké, však nemusí být zároveň toxické a naopak. Například beryllium nebo hliník jsou toxické, ale nepatří mezi těžké kovy. Zatímco železo či mangan jsou kovy těžké, avšak ne kovy toxické [18] [19]. Proto se někdy namísto označení těžký kov používá spojení toxický kov. Tato definice je z hlediska působení těchto prvků na rostliny přesnější. V životním prostředí je jejich přirozeným zdrojem zvětrávání mateřské horniny a ve velmi malých dávkách se zde vyskytují přirozeně. Vyšší koncentrace těžkých kovů je většinou způsobena lidskou činností, např. důlní, hutní a chemický průmysl [20].

Z fyziologického hlediska můžeme kovy rozdělit do dvou skupin. Esenciální kovy, které jsou nezbytné pro organismy v přirozených biologických a biochemických procesech. Mohou se ale stát i toxickými, a to když překročí určitou hodnotu koncentrace. Mezi esenciální kovy se zpravidla řadí kobalt, měď, železo, mangan, molybden, nikl, selen, vanad, vápník, wolfram a zinek. Druhou skupinu tvoří kovy toxické, které jsou pro organismus škodlivé. [9]

Toxicita je vyjadřována jako míra škodlivosti (jedovatosti) dané látky na živý organismus, resp. na jeho části. Toxický účinek na organismus závisí na velikosti dávky, organismu, na způsobu vstupu do organismu, délce expozice, metabolismu aj. Jako nejvíce toxické těžké kovy pro člověka jsou nejčastěji označovány arsen, kadmium, olovo a rtuť [21] [22]. V poslední době je také stále více diskutován vliv platinových těžkých kovů (platina, paladium a rhodium), zejména z důvodu jejich intenzivního využívání v automobilovém průmyslu jako součástí katalyzátorů [21].

### 2.1 Formy výskytu kovů, vliv na toxicitu

Kovy se mohou v přírodě vyskytovat v různých formách, např. jako elementární neboli ryzí (tj. například v horninách), jednoduché ionty (např. kationty ve vodě, sloučeniny v rudách) či v celé řadě sraženin nebo nerozpustných sloučenin (oxidy, uhličitany, hydroxidy) nebo jako křemičité minerály.

Velmi důležitý je oxidační stav, ve kterém se kov nachází. Ten výrazně ovlivňuje jeho toxicitu, např. účinky chromu jsou silně závislé na mocenství, zatímco trojmocný chrom je pokládán za převážně prospěšný a je nezbytnou součástí stravy, šestimocný chrom působí negativně a je pokládán za potenciální karcinogen. Dále je toxicita závislá také na biodostupnosti kovu a na jeho koncentraci [18].

Jiné formy výskytu kovů můžeme rozdělit například podle rozpustnosti na formy rozpuštěné a nerozpuštěné. Do první skupiny řadíme neasociované ionty či komplexy s anorganickými nebo organickými ligandy. Druhou skupinu tvoří formy kovů v iontovém stavu (často sírany) či ve vysrážených koloidních částicích (hydroxidů, uhličitánů), které jsou adsorbované na tuhou fázi, jako jsou např. částice jílu u sedimentů ve vodě, aktivované kaly ČOV. Do této skupiny zahrnujeme také kovy začleněné do biomasy živočichů.

Do anorganických a organických forem členíme kovy dle jejich fyzikálně-chemických vlastností. Formy anorganické jsou jako kovy elementární součástí hornin nebo materiálů uměle vyrobených. Vyskytují se také v podobě iontových sloučenin, jejichž kationy mohou rostliny přijímat, např. ve vodě nebo v půdě, a také jako anorganické komplexy. Jedná se o komplexy kovů s anorganickými ligandy jako např.  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{O}^{2-}$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ . Velmi časté jsou i organické formy kovů, zejména komplexy, které s kovy tvoří některé organické látky, mající ke kovům vysokou afinitu. Významnou roli pro organické formy sloučenin kovů hraje působení mikroorganismů, řas nebo bakterií, jejichž působením často dochází k biomethylaci na organokovové sloučeniny (např. u Hg, Pb, As, Sn, Se) [18]. Takovým příkladem může být kontaminace ryb a krabů methylrtutí v zálivu Minamata (Japonsko), která je příčinou tzv. nemoci zálivu Minamata. Ta byla pozorována zejména u rybářů v okolí tohoto zálivu [23].

Zásadní vliv na formu kovu má hodnota pH prostředí. Obecně platí, že při poklesu pH dojde k nárůstu jednoduchých kovových iontů v prostředí, čímž kovy přechází do rozpustné formy, a tím dojde ke zvýšení jejich toxicity. Naopak, v alkalickém prostředí se ve vodě vylučují nerozpustné sraženiny hydroxidů (např.  $\text{Mn}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ,  $\text{Ni}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Pb}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ) [24].

## 2.2 Zdroje kontaminace životního prostředí

Kovy mohou být rozptýleny v půdě, vodě a atmosféře. Ty, které jsou rozptýleny v sedimentech, se rozpouští do povrchových a podzemních vod. Rovněž mohou být přítomny v již zmiňované atmosféře, kde se dostaly přírodními geochemickými procesy či antropogenním vlivem [18].

Rozlišujeme dva pojmy – kontaminace a znečištění, které jsou v různých publikacích definovány odlišně. Definice podle Knoxe a kol. říká, že kontaminovaná půda je taková, jejíž chemický stav se odchyluje od normálního složení, avšak nemá negativní vliv na organismy. Znečištění však nastává v případě, že prvek nebo látka je přítomna ve větší než přirozené (původní) koncentraci jako důsledek lidské činnosti a má škodlivý účinek na životní prostředí a jeho složky. Autor uvedl: „Z hlediska zdraví lidí, zvířat a rostlin nejsou půdy považovány za znečištěné, pokud existuje prahová koncentrace, která začíná ovlivňovat biologické procesy“ [25].

Znečištění zemědělských půd těžkými kovy je významný environmentální problém, který může zhoršit nejenom produktivitu rostlin, ale hlavně ovlivnit bezpečnost rostlinných produktů, zejména potravin a krmiv. Kadmium (Cd), olovo (Pb) a měď (Cu) jsou jedny z nejrozšířenějších těžkých kovů znečišťujících zemědělské půdy. O těchto kovech je známo, že i v relativně nižších koncentracích vyvolávají toxické účinky u rostlin i živočichů [26]. Jednou z nejtoxičtějších látek vyskytujících se ve vodních ekosystémech je rtuť. Výskyt a transport rtuti a jejich sloučenin ve vodních ekosystémech je odlišný od jiných těžkých kovů v důsledku vysoké tenze par kovové rtuti a vysoké reaktivity iontů rtuti se sloučeninami obsahujícími koncové –SH a alkylové skupiny. Vysoké koncentrace rtuti v rybách, které mají celosvětově velký nutriční význam, mohou významně ovlivňovat jak zdraví člověka, tak i piscivorních (rybožravých) ptáků [27].

Rozsah kontaminace půdy v městském prostředí je výrazně vyšší než na venkově. Je možné identifikovat půdu jako městskou nebo venkovskou na základě stanovení několika stopových prvků, které jsou označovány jako typické městské nečistoty. Jsou to Ba, Cd, Pb, Sb, Ti, Zn a v menší míře také Cu [25].

Zvyšování koncentrace toxických kovů v životním prostředí je vážný hygienický problém, jehož rozsah neustále vzrůstá. Činnost vodních a půdních bakterií a plísní způsobuje, že organické látky kontaminující životní prostředí podléhají dříve či později chemickému rozkladu na rozdíl od kovů, které chemické degradaci nemohou podléhat a kumulují se



v povrchových vrstvách půdy. Půdní organismy 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. Proto musí být tyto kovy buď fyzicky odstraněny, nebo převedeny na netoxické sloučeniny, případně imobilizovány. Při zvyšování množství toxických kovů v půdě se v mnoha případech taktéž zvyšuje jejich obsah v poživatinách rostlinného původu a v živočišných produktech, což může mít pro člověka neblahé následky [17] [19].

Osud stopových prvků pocházejících z různých zdrojů, které se dostanou na povrch půdy, závisí na chemických a fyzikálních vlastnostech této půdy. Přetrvávání znečišťujících látek v půdě je mnohem delší, než v jiných částech biosféry a znečištění těžkými kovy se zdá být téměř trvalé. Kovy akumulované v půdě jsou vyčerpávány velmi pomalu, a to například vyluhováním, absorpcí rostlinami, erozí nebo deflací. Poločas rozpadu těžkých kovů v půdách mírného klimatu je odhadován pro Cd 75–380 let, Hg 500–1000 let a pro Ag, Cu, Ni, Pb, Se a Zn 1000–3000 let. V půdách tropických deštných pralesů je rychlost vyluhování prvků mnohem kratší a je vypočtena na cca 40 let. Úplné odstranění kovových nečistot z půdy je prakticky nemožné [25].

Zdrojem kontaminace a znečištění životního prostředí je především výroba kovů a jejich používání v alkylované formě, dále také spalování fosilních paliv, a to především uhlí a v neposlední řadě i automobilová doprava. Dalším odvětvím, které vnáší do životního prostředí nezanedbatelné dávky těžkých kovů je zemědělství, těžké kovy jsou totiž účinnou složkou různých pesticidů, herbicidů, rhodenticidů a jsou obsaženy i v organických i v anorganických hnojivech (těžba chilského ledku) [20] [28].

Obsah těžkých kovů v ovzduší je hodnocen pomocí limitů uvedených v nařízení vlády č. 429/2005 Sb. (zákon o ochraně ovzduší), kterým se stanoví kromě imisních limitů také podmínky a způsob sledování, posuzování, hodnocení a řízení kvality ovzduší. Povolené množství těžkých kovů v půdách je obsaženo ve vyhlášce č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu. Imisní limity pro konkrétní prvky jsou uvedeny v následující tabulce.

Tab. 2: Obsah rizikových prvků v půdách [29]

Obsah rizikových prvků v půdách [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]					
Výluh 2 M $\text{HNO}_3$ (výluh roztokem $\text{HNO}_3$ při poměru půdy k vyluhovačce 1 : 10)			Celkový obsah (rozklad lučavkou královskou)		
Prvky	Maximálně přípustné hodnoty		Prvky	Maximálně přípustné hodnoty	
	Lehké půdy	Ostatní půdy		Lehké půdy	Ostatní půdy
As	4,5	4,5	As	30,0	30,0
Be	2,0	2,0	Be	7,0	7,0
Cd	0,4	1,0	Cd	0,4	1,0
Co	10,0	25,0	Co	25,0	50,0
Cr	40,0	40,0	Cr	100,0	200,0
Cu	30,0	50,0	Cu	60,0	100,0
Hg	–	–	Hg	0,6	0,8
Mo	5,0	5,0	Mo	5,0	5,0
Ni	15,0	25,0	Ni	60,0	80,0
Pb	50,0	70,0	Pb	100,0	140,0
V	20,0	50,0	V	150,0	220,0
Zn	50,0	100,0	Zn	130,0	200,0

### 2.3 Přestup kovů do rostlin

Ve vztahu půda-rostlina dochází neustále ke koloběhu těžkých kovů. Kovy do rostlin vstupují díky kontaminaci, hnojivům či pesticidům a část se ztrácí v důsledku sklizně rostlin, vypařování, vyluhování nebo eroze půdy. Rostliny mají schopnost přijímat kovy stejně jako živiny, zejména svými kořeny. Ty jsou primárním orgánem, jenž přichází do kontaktu s ionty kovů a přijímá je z půdy. Tento příjem může být uskutečněn také jinými rostlinnými částmi, jako např. listy z atmosféry. V případě vodních rostlin jsou kovy přijímány z kontaminované vody [30].

Těžké kovy mají vysokou schopnost tvořit komplexy se složkami, které jsou obsažené v půdě a vodě. Tato schopnost zvyšuje šanci těžkých kovů se dostat do těla rostlin. Obecně se předpokládá, že jsou těžké kovy transportovány ve spojení s nízko i vysoko molekulárními ligandy, které obsahují ve své struktuře S, N a O [31].

Příčinou nadměrných koncentrací kovů v rostlinách je i vyvolání tzv. oxidačního stresu, důsledkem čehož je pak vznik reaktivní formy kyslíku ROS (Reactive Oxygen Species). Do této kategorie řadíme jak volné radikály vytvořené z molekul kyslíku, které obsahují

nepárový elektron (superoxid –  $O_2^{\cdot-}$ , hydroxylový radikál –  $HO^{\cdot}$ , peroxy –  $ROO^{\cdot}$ , alkoxy –  $RO^{\cdot}$ , hydroperoxy –  $HO_2^{\cdot}$ ), tak i látky, které jimi nejsou (peroxid vodíku –  $H_2O_2$ , kys. chlorná –  $HClO$ , ozon –  $O_3$ , singletový kyslík –  $^1O_2$ ). ROS reagují s mastnými kyselinami, lipidy, aminokyselinami, proteiny, mono a polynukleotidy, koenzymy atd. Způsobují oxidační poškození lipidů (lipoperoxidaci), bílkovin a enzymů. To vše vede ke vzniku toxických účinků [32] [33]. Obrannou roli proti ROS hrají antioxidantní enzymy, jako jsou APX (askorbát peroxidasa), GPX (guajakol peroxidasa), CAT (katalasa), SOD (superoxid dismutasa), GR (glutathion reduktasa) a antioxidantní molekuly jako např. GSH (glutathion) nebo ASC (askorbát) [34].

Příjem kovů z půdy je ovlivněn řadou faktorů, mezi které patří obsah kovů v půdě, aktivita a iontový poměr prvků v půdním roztoku, půdní vlastnosti (pH, obsah organických látek, redoxní potenciál atd.), povětrnostní vlivy (teplota, srážky) a preferenční schopnosti rostlin (druhy, odrůdy) [30].

Průměrné obsahy kovů v rostlinách nestoupají ve stejném poměru s obsahy kovů v půdě. Příjem kovu rostlinami není lineárně závislý na celkovém obsahu v půdě, ale na jeho dostupnosti.

Příjem kovů rostlinami může být odlišný jak mezi jednotlivými rostlinami, tak i různými orgány rostlin. Důležitá je hlavně schopnost rostliny přenést molekulu kovu přes rozhraní půda-kořeny. Mezi jednotlivými druhy rostlin existují v příjmu těžkých kovů rozdíly až několik řádů. Nejvyšší obsahy těžkých kovů se vyskytují v kořenech, které často tvoří bariéru. Pouze malá část těchto kovů se dostane z kořenů do stonků a listů a ještě menší podíl do plodů. Koncentrace tedy klesají v řadě: kořeny > listy > stonky > plody > semena [20]. Tyto faktory je třeba brát v úvahu při hodnocení obsahu toxických prvků v rostlinách, neboť pouze některé části vybraných rostlin jsou konzumovány býložravými živočichy a pouze některé části kulturních rostlin jsou následně zpracovávány pro potravinářské nebo krmivářské využití, a tak chemické prvky v nich obsažené vstupují do dalších článků potravinového řetězce [35]. Kritické hodnoty zátěže únosné pro ochranu potravinového řetězce jsou uvedeny v Tabulce 3. Nejvíce dostupné jsou prvky, které jsou v půdním roztoku ve formě iontů nebo rozpustných organických sloučenin. Naopak prvky pevně vázané v krystalických mřížkách minerálů jsou pro rostliny nedostupné [10].

Tab. 3: Kritické hodnoty zátěže pro ochranu potravinového řetězce ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  sušiny) [36]

Produkt/Prvek	As	Cd	Hg	Pb
Zrno obilovin	0,5	0,1	0,03	0,4
Brambory	–	0,1	0,02	0,25
Zelenina	0,2	0,1	0,05	0,25
Ovoce	0,2	0,05	0,03	0,5

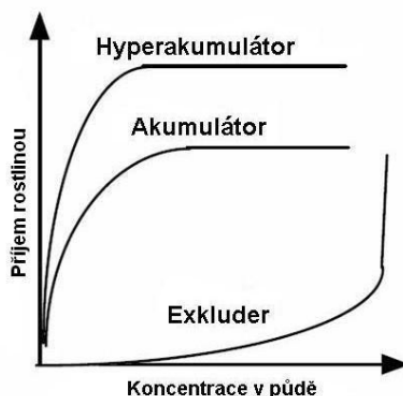
Podle schopnosti kovy přijímat, udržovat v kořenovém systému nebo kumulovat v nadzemních částech můžeme rostliny dělit na několik typů: exkludery, indikátory (akumulátory) a hyperakumulátory (Obr. 1).

*Exkludery* jsou rostliny udržující kovy ve svém kořenovém systému a do nadzemních částí je téměř netransportují (především jednoděložné rostliny jako např. kostřava, čirok)

*Akumulátory* jsou rostliny, u nichž je obsah kovů ekvivalentní k obsahu kovů v půdě (pšenice, oves, kukuřice).

*Hyperakumulátory* jsou rostliny, které dobře hromadí kovy, a to především v listech. Obsah v nadzemních částech vysoce převyšuje obsah kovů v půdě bez negativního vlivu na jejich růst a vývoj. Hyperakumulátory by měly v listech obsahovat kovy nad těmito úrovněmi (v ppm) [25]:

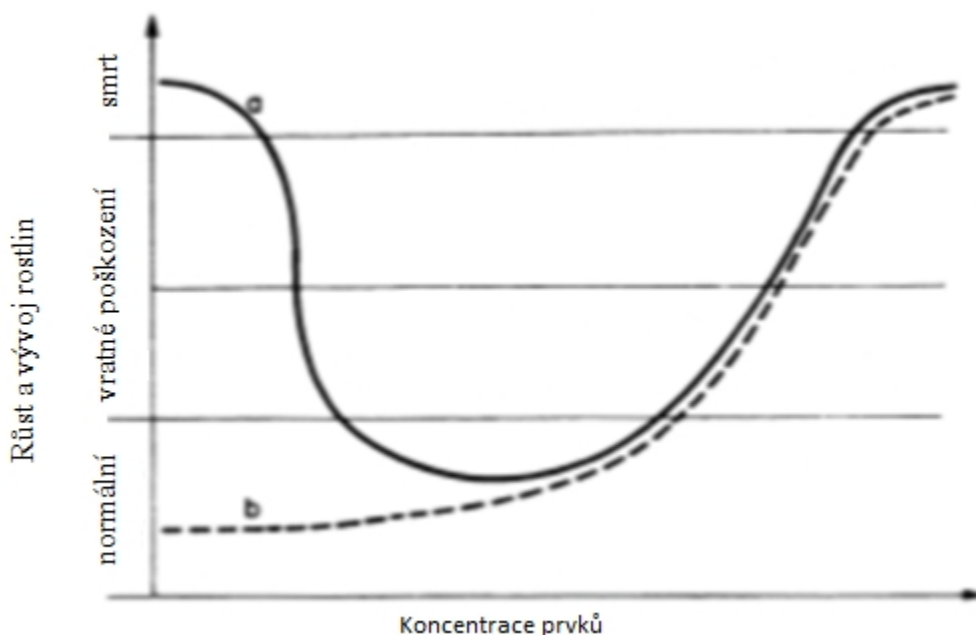
- > 100 — Cd
- > 1000 — Co, Cu, Ni, Pb
- > 10000 — Mn, Zn



Obr. 1: Dělení rostlin podle příjmu kovů [25]

Část těžkých kovů jsou prvky pro rostliny nezbytné (tzv. mikroživiny – Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn), ovšem všechny jsou v nadbytku toxické. V rostlinách mají převážně redoxní a katalytickou funkci [30].

Hypotetické schéma reakcí rostlin na zvyšující se koncentrace esenciálních a neesenciálních prvků je prezentováno na Obrázku 2:



Obr. 2: Schematický diagram reakce rostlin na stres z nedostatku a toxicity stopových prvků: (a) esenciální stopové prvky; (b) neesenciální stopové prvky [25]

Stopové kovy jsou v rostlinách zapojeny do hlavních metabolických úloh, jako je dýchání, fotosyntéza a fixace a vstřebávání některých hlavních živin (např. N, S). Prvky ze skupiny přechodných kovů se podílejí na aktivaci enzymů nebo jsou začleněny do metaloenzymů jako elektron transferové systémy (Cu, Fe, Mn, a Zn). Dále také katalyzují valenční změny substrátu (Cu, Co, Fe a Mo). Jiné kovy hrají rozdílné role zapojením do obranných mechanismů rostlin týkající se odolnosti proti suchu nebo mrazu [25].

## 2.4 Vstup kovů do organismu – vstřebávání

Vstřebávání je definováno jako vstup kovu nebo jeho sloučenin do organismu průnikem přes membrány. Vstup kovů do organismu může proběhnout na různých úrovních, např. perorálně spolu s potravou, ve formě aerosolu dýchacím ústrojím, při kontaktu kovu nebo jeho sloučenin s pokožkou anebo intravenózně většinou při medicínském zákroku. Sloučeniny kovů mohou být zadrženy v místě vstřebávání po dlouhou dobu nebo pronikají



do krve a jsou transportovány na jiná místa v organismu. Nejdůležitějšími branami vstupu kovů do organismu jsou plíce a trávicí ústrojí. Transport přes placentu je významný pro vývoj plodu [17] [21].

Složitější situace je však na buněčné úrovni. Na rozdíl od plynů nemohou kovy samovolně pronikat skrze plazmatickou membránu. Pro transport různých kovových prvků si buňky vyvinuly celou řadu mechanismů. Pro ionty kovů existují v cytoplazmatických membránách různé receptory a speciální přenašeče, které fungují na bázi usnadněného transportu, tedy za spotřeby energie. Transportní mechanismy pro různé kovové prvky se liší napříč periodickou soustavou prvků [21].

## 2.5 Toxické účinky kovů na organismus

Toxické účinky kovů bývají mnohostranné a působí v podstatě na celý organismus. Některé kovy mají silné toxické účinky, a to i v elementární formě. V průběhu toxického účinku dochází k interakci mezi cílovým orgánem a volným iontem. Účinky se projevují různě, od dermatitid, přes zažívací potíže až k selhávání nebo poškození orgánů nebo k nádorovému bujení. U těžkých kovů je také nebezpečná jejich schopnost ukládat se v různých tkáních organismu, tzv. se akumulovat [38] [39]. Jeden z největších akumulčních koeficientů má rtuť – elementární, jednomocná i dvojmocná. Kumuluje se v sedimentech, rybách a rostlinách. Vysoký akumulční koeficient má také olovo, které se ale rychle umísťuje do sedimentů [40]. Nejtoxičtější formy kovů bývají jednoduché iontové formy [38] [39].

Příčinou toxicity některých kovů je jejich schopnost vázat se na  $-SH$ ,  $-COOH$  a  $-NH_2$  skupiny biologických struktur, čímž přeměňují jejich strukturu a tím i funkci. Mohou například deaktivovat různé enzymy, katalyzovat reakce produkující volné radikály, nebo nahrazovat jiné důležité prvky v biomembránách [18]. Typickým protoplazmatickým jedem, který se akumuluje a snižuje aktivitu enzymů s  $-SH$  skupinami, je arzen [23]. Často doprovází fosforečnany (hnojiva) a bývá přítomen i v pracích práscích [40]. Toxické kovy mohou být rovněž kompetitivní s esenciálními kovy a v konečném důsledku tak mohou způsobit jejich následnou náhradu v tkáních (As nahrazuje P; Pb nebo Sr nahrazuje Ca v kostech; Cd nahrazuje Zn v určitých enzymech) [18].

Nedostatek některých kovů v metabolismu živočichů, stejně tak jako jejich vyšší koncentrace mohou vést k vážnému narušení homeostázy. Je známo, že kovy vykazují více

druhů toxického působení. Arsen, chrom a platina působí kancerotoxicky. Zlato, kobalt, chrom, nikl a platina působí imunotoxicky. Rtuť má teratogenní a embryotoxický účinek. Kadmium, olovo a thalium jsou spermiotoxické. Kadmium a uran působí nefrotoxicky a měď, železo, selen a zinek neurotoxicky. Na druhou stranu toxických účinků těchto kovů lze využít i pro léčbu některých nemocí [21]. Příkladem může být stříbro, které již při koncentraci  $25 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  vykazuje baktericidní účinky. Může ale zapříčinit i některá kožní onemocnění [40].

### 3 PŘÍPRAVA VZORKŮ

Velmi důležitým a komplikovaným krokem při stanovení těžkých kovů v rostlinných olejích je příprava vzorku, a to zejména díky vysokému obsahu organických látek [7]. Tento postup vede k rozkladu organické matrice nebo extrakci kovů bez rozkladu matrice. Na druhou stranu, vzorek oleje může být také zředěn ve vhodném rozpouštědle nebo emulgován s vhodným emulgátorem v rychlé předúpravě pro přímé stanovení [41].

Metoda přípravy vzorku, který má být použit k analýze, se řídí nejen povahou a koncentrací analytu, ale také skupenstvím (pevné, kapalné) a typem biologické matrice, velikostí vzorku (množství nebo objem dostupný pro zmlžení) a typem použité instrumentální techniky. Obecně platí, že pevná látka vyžaduje nějakou formu rozložení/rozpuštění. Je však proveditelná i přímá analýza, a to atomovými a X-ray spektroskopickými technikami. Kapaliny mohou být přístupné pro přímou analýzu, ale v mnoha případech vyžaduje interference matrice nějakou formu předčištění vzorku [42].

Mnoho dnes používaných analytických měřicích technik vyžaduje vzorek v kapalné formě a pokud možno s dokonale odstraněnou organickou osnovou. Smyslem takové úpravy vzorku je dosažení jeho vhodnější konzistence, snížení viskozity a zvýšení homogenity (fyzikální hlediska). Ještě důležitější jsou hlediska chemická, především uvolnění analytu z různých vazeb a forem a odstranění složek, které mohou při měření interferovat. Požadavky na stupeň odstranění organické osnovy vzorku se přitom u jednotlivých měřicích technik značně liší [43].

Mezi nejčastěji využívané klasické metody patří rozklad na mokré cestě, rozklad na suché cestě nebo mikrovlnný tlakový rozklad [7].

#### 3.1 Rozklad na mokré cestě

Klasický mokrý rozklad se provádí ve směsi koncentrovaných minerálních kyselin za zvýšené teploty a při atmosférickém tlaku [43]. Při rozkladech kyselinami převádíme vzorek do roztoku tím, že aniont tvořící nerozpustnou sůl nahradíme jiným vhodným aniontem. Použití kyselin má i dvě významné výhody: nadbytek kyseliny se dá odstranit odpařením do sucha, tzv. odkouřením, navíc je celá řada kyselin dostupná ve zvláště vysoké čistotě (suprapur), takže je minimalizována kontaminace vzorku [44]. Během rozkladu je biologická matrice oxidována příslušnými činidly a probíhající chemické reakce lze popsat dvěma kroky. Nejprve je kyselou hydrolyzou rozrušena struktura

matrice. Následuje oxidace jejich meziproductů. Rozklad probíhá za nižších teplot nežli u suchého rozkladu. Důvodem je maximální teplota, která je určena bodem varu oxidačních činidel či jejich směsí. Jako oxidační činidla jsou nejčastěji používána především samotná  $\text{HNO}_3$  a reakční směsi:  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ ,  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$  [43].

$\text{HNO}_3$  má silné oxidační účinky i ve zředěné formě. Je využívána k rozpouštění kovů, slitin a některých rud a k rozkladu organických látek. Ve směsi s  $\text{HCl}$  rozpouští i zlato a platinové kovy – směs koncentrované  $\text{HCl}$  a  $\text{HNO}_3$  v poměru 3 : 1 je nazývána lučavka královská, směs obsahující obrácený poměr kyselin je tzv. obrácená lučavka, resp. lučavka Lefortova [44].  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ve zředěné formě má omezené využití a rozpustnost síranů je problematická. Koncentrovaná má ale oxidační účinky a je důležitá při kjeldahlizaci. Dříve byla nejčastěji využívána  $\text{HCl}$ , a to zejména pro vzorky, kde není potřeba oxidovat. Přebytek se dá odpařit a vzniklé chloridy se povětšinou dobře rozpouštějí [45]. Zdaleka nejúčinnější jsou směsi obsahující  $\text{HClO}_4$  při vyšších teplotách [43]. Zředěná nemá oxidační účinky, je využívána jako náhrada za  $\text{HCl}$  nebo  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Naopak koncentrovaná má velmi silné oxidační účinky (+/-72 %) [45]. Bohužel práce s kyselinou chloristou vyžaduje přísné respektování všech pravidel bezpečné práce s touto kyselinou, což je na většině pracovišť jen obtížně splnitelné. Ve styku s určitými typy látek může dojít až k explozi.

Mokrý rozklad může probíhat:

- A) v otevřeném systému s konvenčním ohřevem v kádinkách a kelímcích (např. kovový blok, topná deska, hnízdo, vodní či písková lázeň) nebo s mikrovlnným ohřevem
- B) v uzavřeném systému v zatavených ampulích nebo speciálních tlakových nádobkách, s konvenčním ohřevem nebo s mikrovlnným ohřevem; zvláště rozšířené jsou mikrovlnné mineralizátory s teflonovými nádobkami

Mokrý rozklad v otevřeném systému pro mineralizaci biologického materiálu používá klasické nádoby (kádinky, Erlenmeyerovy a Kjeldahlovy baňky s kulatým dnem) [43]. Rozklad v otevřeném systému je obtížný, časově náročný a náchylný k systematickým chybám zdroje, tj. kontaminace nebo ztráta analytů [41].

Modernějším a rychlejším způsobem rozkladu je rozklad tlakový, tj. rozklad prováděný v uzavřeném systému (v uzavíratelných teflonových nebo křemenných reakčních

nádobkách umístěných ve vnějším plášti). Mineralizačním činidlem bývá většinou jen  $\text{HNO}_3$ , případně směs  $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ . Ohřev může být realizován konvekcí nebo absorpcí mikrovlnné energie [41] [46]. Výhodou těchto postupů je eliminace ztrát těkavých prvků, menší spotřeba reagensů, minimální kontaminace vzorku z vnějšího prostředí a krátká doba chlazení [41] [47]. V některých případech lze vzorek rozložit a zchladit na laboratorní teplotu již za 20 minut. Vzhledem k menší navážce vzorku se tyto postupy používají zejména ve spojení s vysoce citlivými analytickými metodami, jako jsou AAS s elektrotermickou atomizací, ICP spektrometrie ve spojení s MS, případně metody elektrochemické rozpouštěcí analýzy. Mikrovlnný tlakový rozklad vzorků je ve srovnání s mineralizací za atmosférického tlaku podstatně rychlejší [46].

### 3.2 Rozklad na suché cestě

Obecně platí, že spalovací metody poskytují nižší výtěžky analytu a vykazují horší přesnost v porovnání s metodami kyselinového rozkladu. Olej je rozložen vysokoteplotní suchou cestou, popel je následně rozpuštěn v kyselém vodném médiu a obsah kovu z vodné fáze může být měřen různými detekčními technikami [41].

Klasický rozklad vzorků na suché cestě, který zpravidla trvá několik desítek hodin, spočívá v oxidaci organické matrice atmosférickým kyslíkem za zvýšené teploty (nejčastěji 450–550 °C) a za atmosférického tlaku. Rozklad se provádí v keramických, křemenných, skleněných nebo platinových kelímcích a probíhá ve čtyřech fázích: sušení, zuhelnění, zpopelnění a rozpouštění popela v roztoku minerální kyseliny, nejčastěji  $\text{HCl}$  nebo  $\text{HNO}_3$ . První tři fáze mohou být realizovány buďto v jednom zařízení (teplotně programovatelná elektrická pec) nebo v různých zařízeních (sušárna, infralampa, topná deska, pec). Jako nejkritičtější fáze procesu je označováno zuhelnění. Při tomto procesu může v důsledku průběhu exotermních dějů dojít k přehřátí vzorku. Při vysoké teplotě potom dochází ke ztrátám analytů těkáním. Platí to zejména pro halogenidy zinku, kadmia a olova [46].

Účinnost rozkladu je zvyšována přidáním tzv. pomocných činidel (př.  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{MgNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), jejichž volba je závislá na typu vzorku. Pomocná činidla nejenže zvyšují účinnost rozkladu, ale mohou také potlačovat interakci analytu se stěnami nádoby nebo převést analyty do méně těkavých forem [43].

Hlavní nevýhodou klasického suchého rozkladu jsou ztráty analytů, ke kterým dochází během zuhelnění a zpopelnění. Velikost ztrát je závislá na matici vzorku a na teplotním

režimu. Vhodně zvoleným teplotním programem je možné ztráty omezit. K úplnému rozkladu biologických materiálů bez použití pomocného činidla je nezbytné dosáhnout konečné teploty alespoň 450 °C. Teploty nad 550 °C jsou z hlediska ztrát riskantní [46].

Rozklad na suché cestě má také řadu výhod. Umožňuje rozložit velké množství vzorků současně a zároveň zakoncentrovat analyt díky louhování v kyselinách. Dalším kladem je to, že výsledný popel neobsahuje žádnou organickou matici, která by ovlivňovala některé analytické metody (ICP–MS, ICP–AES) [32] [43].

Pro zpopelnění vzorků potravin s minimálními ztrátami Pb, Cd, Cu, Zn, Mn a Fe je doporučována rychlost nárůstu teploty 50 °C/h nebo dokonce jen 20 °C/h a maximální teplota 450–520 °C [46].

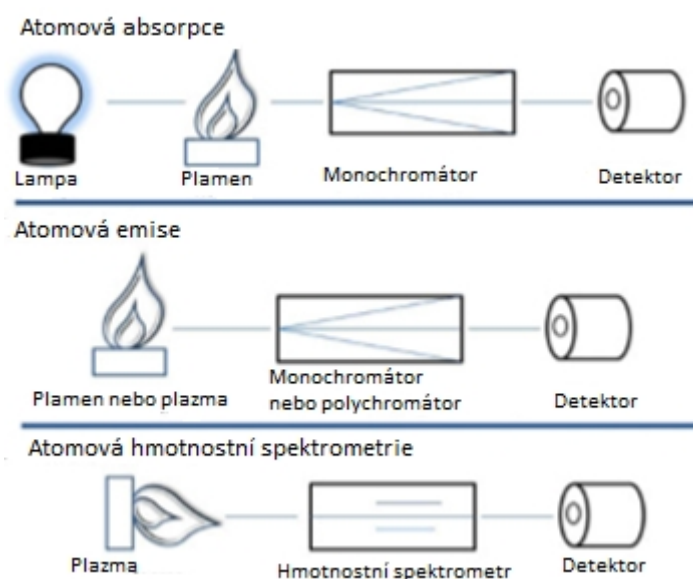
Jednou z řady teplených operací prováděných na suché cestě je i tavení. Tavením se snažíme převést vzorek na rozpustnou formu ve vodě nebo v roztocích minerálních kyselin, případně i hydroxidu. Nejčastěji je k rozpouštění po tavení používána HCl. Tavení můžeme dělit podle charakteru používaných činidel na kyselé, alkalické, oxidační, redukční a jejich kombinace. Kyselým tavením (např. pomocí  $K_2S_2O_7$ ) převedeme do roztoku bazické složky (kovové oxidy), alkalickým tavením (s využitím  $Na_2CO_3$ ,  $K_2CO_3$ , NaOH, KOH,  $Na_2O_2$ ) složky kyselé (sírany, křemičitany). Tavení obvykle probíhá v kelímcích, jejichž materiál je nutno volit podle charakteru činidla. Nejčastěji používaným materiálem je platina. Činidla jsou ke vzorku přidávána ve značném, až desetinásobném nadbytku. To může způsobit kontaminaci vzorku, protože používané chemikálie obvykle nejsou dostupné v dostatečné čistotě [44] [45].

## 4 ANALYTICKÉ STANOVENÍ KOVŮ

Přesné stanovení stopových množství kovů v rostlinných olejích není snadné, a to zejména kvůli jejich nízké koncentraci a také z důvodu vysokého množství organického obsahu. Díky vysokému obsahu organických látek je velmi důležitým a často nezbytným krokem předúprava vzorku.

Stanovením kovů v olejích ve stopovém nebo ultra-stopovém množství užitím spektrometrických a elektrometrických technik se zabývá řada studií. Oleje jsou nejčastěji analyzovány na přítomnost různých kovů za použití atomové absorpční spektrometrie (FAAS – plamenová absorpční spektrometrie a GFAAS – elektrometrická AAS), optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP–OES) a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP–MS). Uvedené detekční techniky mohou být také kombinovány s chromatografickými systémy [41].

Každá technika má nějaké speciální požadavky, výhody a nevýhody. GF–AAS je citlivá metoda, vhodná pro přímé zavedení vzorku oleje ve formě emulze a nevyžaduje velké množství vzorku. FAAS a ICP–MS požadují předčištění vzorku, ICP–MS je citlivější a nákladnější ve srovnání s FAAS. Výhodou ICP–MS je nejen její citlivost, ale i možnost víceprvkové analýzy pro každý jednotlivý vzorek [41] [48]. Rozdílnost instrumentálního uspořádání atomové absorpce, emise a atomové hmotnostní spektrometrie je možné vidět na Obrázku 3.



Obr. 3: Schematické znázornění instrumentálního uspořádání AAS, OES a ICP–MS [57]

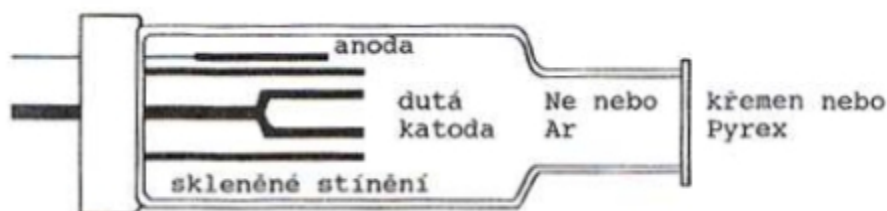
Atomové spektrometry jsou nejpoužívanějším zařízením. Touto metodou lze zachytit koncentrace  $10^{-5} \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  až  $10^{-6} \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Jedná se rovněž o jednu z nejdostupnějších metod. Avšak má i některé nevýhody, jako je snížení stability analytů v roztoku, požadavek organokovových standardů, použití nebezpečných organických rozpouštědel nebo rozklad vzorku pomocí kyselin nebo jejich směsí [41].

Pro stanovení kovů lze také uplatnit metody voltametrické, zejména polarografie se rtuťovou kapkovou elektrodou a diferenční pulzní metoda.

#### 4.1 AAS

Metoda atomové absorpční spektrometrie umožňuje elementární kvantitativní analýzu anorganických prvků v nízkých koncentracích. Principem je měření absorpce charakteristického monochromatického záření volnými atomy určitého prvku, které jsou v plynném stavu. Molekuly mají schopnost pohlcovat (absorbovat) elektromagnetické záření. Tato absorpce přivede molekulu do vyššího, tzv. excitovaného energetického stavu. Protože molekuly mohou excitovat pouze v určitých energetických stavech, absorbují elektromagnetické záření pouze určitých vlnových délek [50] [51].

V klasickém atomovém absorpčním spektrometru jde o měření zeslabení rezonanční spektrální čáry z emisního spektra daného prvku. Zdrojem záření může být výbojka s dutou katodou, bezelektrodová výbojka nebo tzv. Superlampa. Obvykle je využívána výbojka s dutou katodou, která vysílá čárové spektrum prvku, který je analyzován. Katodou je dutý váleček ze stejného kovu, který se stanovuje, anodou je wolframový nebo molybdenový drát [46] [50].



Obr. 4: Schematický řez výbojkou s dutou katodou [50]

V tomto spektru je jedna nebo několik rezonančních čar a dále čáry nerezonanční. Čáry mají šířku několika pikometrů. Intenzita rezonanční spektrální čáry je zeslabena absorpcí volnými atomy daného prvku. Nerezonanční čáry atomovou absorpcí nevykazují.



Atomizace vzorku, tj. převedení vzorku do stavu volných atomů, probíhá za vysoké teploty, které se dosahuje hořením v plameni nebo elektrickým ohřevem. Plamenový nebo jiný (elektrotermický) atomizátor představuje prostředek k převedení vzorku do formy schopné absorbovat vysílané záření zdrojem. Samotná absorpce se v zásadě řídí Lambert-Beerovým zákonem [46]:

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} \cdot b \cdot c \quad (1)$$

Kde:

A – absorbance

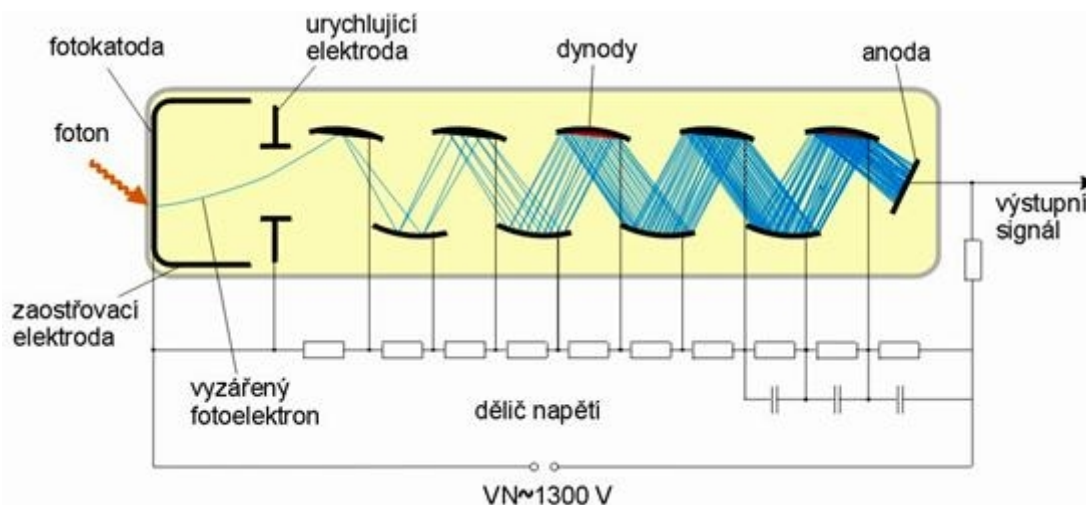
$\varepsilon$  – molární (dekadický) koeficient [ $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ]

b – tloušťka absorbující vrstvy [cm]

c – koncentrace [ $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ]

Sleduje se tedy absorbance  $\log \Phi_0/\Phi$  (tj. logaritmus poměru původní intenzity spektrální čáry k intenzitě po zeslabení), která je podle tohoto zákona při vlnové délce  $\lambda$  přímo úměrná koncentraci stanovovaného prvku. S výhodou je možné použít metodu kalibrační křivky, která je lineární [46] [51].

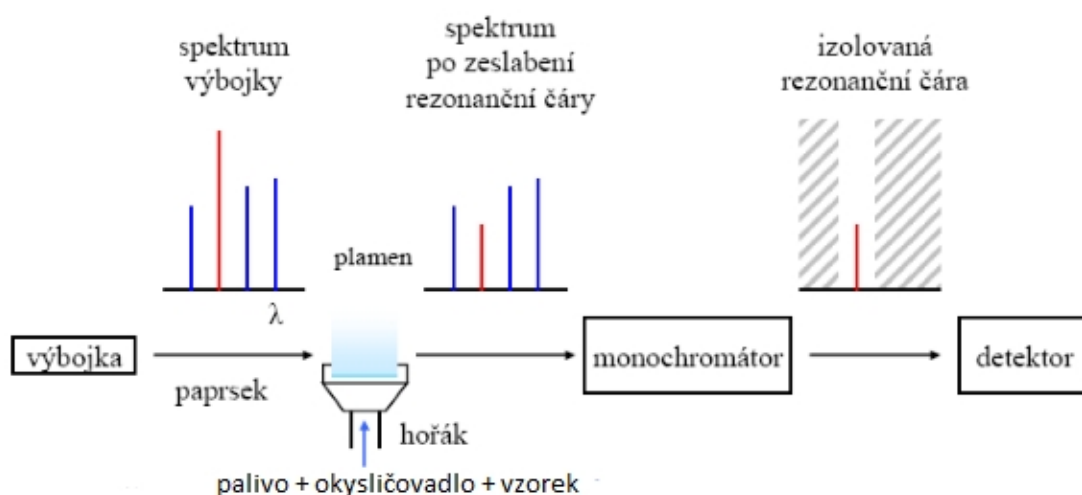
Detektorem v AAS je fotonásobič. Jedná se o evakuovanou baňku ze skla, vstupní okénko bývá z křemene. Skládá se z fotocitlivé katody, vstupní elektronové optiky, dynod v počtu 9–13 a anody, z níž je odebrán výsledný elektrický proud (Obrázek 5). Celý fotonásobič uzavírá světlotěsné pouzdro. Principem je dopad fotonu na světlocitlivou vrstvu, z ní vyrazí elektron, který je urychlen v elektrickém poli a první dynodou přitažen. Tento elektron vyrazí z první dynody další elektrony (max. 4), a ty přitahují další dynody [52].



Obr. 5: Schéma fotonásobiče [54]

#### 4.1.1 FA–AAS

Při plamenové atomizaci se vzorek přivádí do přístroje kontinuálně jako aerosol buď pneumatickým zmlžováním, nebo ultrazvukovým rozprašováním nasávaného kapalného vzorku. Aerosol vzorku je smíšen s topným plynem a oxidovadlem. Po průchodu paprsku atomizátorem (absorpčním prostředím) je rezonanční čára prvku izolována monochromátorem, který vymezí v okolí čáry propustný spektrální interval o šířce nejčastěji 0,2–1 nm. Intenzita spektrální čáry je pak zaznamenána detektorem záření, viz Obrázek 6.



Obr. 6: Zjednodušené schéma měření FA–AAS [46]

V plamenové AAS jsou v dnešní době nejčastěji využívány dva typy plamenů: plamen acetylen/vzduch a plamen acetylen/oxid dusný. Na základě poměru průtoků oxidujícího plynu a paliva může být plamen oxidační (tj. chudý na palivo), stechiometrický nebo redukční (bohatý na palivo). První typ plamenu, tj. plamen acetylen/vzduch mívá obvykle teplotu 2300 °C a používá se při stanovení snadno atomizovatelných prvků (alkalické kovy, Mg, případně i Ca, některé přechodné prvky jako Mn, Fe, Co, Ni, platinové kovy, Cu, Ag, Au, Zn, Cd a nepřechodné kovy jako Pb, Sn a Bi). V plameni acetylen/oxid dusný může být dosaženo vyšší teploty, cca 3000 °C. Ten se proto používá ke stanovení prvků, které tvoří termicky stabilní sloučeniny a obtížně se atomizují. Jde hlavně o nekovy a polokovy (B, Si, Ge, As, Se), kovy alkalických zemin, kovy ze skupiny skandia, titanu, vanadu a chromu, dále lanthanoidy a nepřechodné kovy Al a Ga [46].

Tab. 4: Teploty plamene v plamenovém atomizátoru [51]

Palivo	Oxidovadlo	Teplota/°C
Propan	Vzduch	1900
Acetylen	Vzduch	2300
Acetylen	Kyslík	3100
Acetylen	Oxid dusný	3000
Vodík	Kyslík	2600

Plamenová AAS umožňuje stanovení prvků ve vodných roztocích (případně i v roztocích organických rozpouštědel, vyjma rozpouštědel chlorovaných) nejčastěji v koncentracích v řádu desetin až desítek  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Citlivost stanovení jednotlivých prvků je různá. Rovněž se liší i citlivost měření na různých čarách, a to obvykle velmi významně, pokud je u jednoho prvku k dispozici více rezonančních spektrálních čar [46].

#### 4.1.2 AAS s elektrotermickou atomizací

Atomizace vzorku pomocí elektrotermické atomizace se využívá, protože plamenová AAS nemá dostatečně nízkou mez detekce pro řadu analytických problémů [52].

Elektrotermický atomizátor (ETA) je grafitová trubice vyhřívána elektrickým proudem. Trubicí prochází záření. Vzorek se vnáší pomocí mikropipety (5–50  $\mu\text{l}$ ) na vnitřní stěnu trubice nebo se umístí na nosnou podložku (platformu). Pracuje se v ochranné atmosféře tvořené proudem argonu. Místo grafitu může být použit kov s vysokou teplotou tání, např. wolfram. Zatímco u plamenové atomizace je signál stálý, u elektrotermické atomizace je registrován přechodný signál – pulz [51].

Profesor Vondruška z bývalé Katedry životního prostředí a chemie, Fakulty technologické ve Zlíně aplikoval tuto metodu na stanovení kadmia v několika vzorcích kosmetických olejů cestou vodné emulze. Náročný převod vzorků do roztoku mineralizací byl nahrazen přípravou vodných emulzí těchto olejů pomocí komerčního emulgátoru Triton X–100. Cesta vodné emulze pro AAS analýzu kosmetických olejů se prokázala jako použitelná a navíc nesnižuje ani citlivost tohoto stanovení [53].

## 4.2 OES

Optická emisní spektrometrie je založena na sledování emise elektromagnetického záření volnými atomy látek v plynném stavu. Emise záření vzniká při deexcitaci atomu

z excitovaného stavu, do kterého se dostane přijetím potřebné energie. Základní schéma optického emisního spektrometru je uvedeno na Obrázku 7.



Obr. 7: Základní schéma optického emisního spektrometru [52]

Emisní spektrum má čárový charakter. Jednotlivým přechodům elektronů z vyšší energetické hladiny do nižší odpovídají spektrální čáry, které jsou zaznamenány při daných hodnotách vlnových délek. V praxi se využívá oblast vlnových délek 110–900 nm pro přechody valenčních elektronů, i když se tyto přechody projevují ve větším rozsahu vlnových délek 10–1500 nm [52].

Atomový emisní spektrometr se skládá z budícího zdroje, optického spektrometru a elektroniky s výpočetním systémem. energii potřebnou pro vyvolání emise záření atomy vzorku dodává budící zdroj. Vzorek převádí z tuhé fáze nebo roztoku do fáze plynné, ve které nastane atomizace a excitace elektronů. Budící zdroje lze rozlišovat podle dosahované teploty a jiných parametrů. Jsou využívány různé typy zdrojů:

- Jiskrový výboj – je opakující se krátkodobý vysokonapěťový elektrický výboj. V jiskře se dosahuje teplot více než 12 000 K, proto spektrum obsahuje mnoho čar.
- Obloukový výboj – je trvalý elektrický výboj mezi dvěma elektrodami, z nichž katoda je z kovového vzorku. Dosahuje se teplot 4 000 až 8 000 K. Čar ve spektru je méně, ale jsou díky trvalosti výboje intenzivní.
- Plazmový zdroj – dovoluje analyzovat vzorky v roztoku. Používá se indukčně vázaný plazmový výboj (Inductively Coupled Plasma – ICP). Plazma vniká působením vysokofrekvenčního elektromagnetického pole pomocí indukční cívky v prostředí argonu. Plazmový hořák je z taveného křemene a je chlazen argonem nebo dusíkem. Plazmový zdroj umožňuje analýzu velmi malých množství vzorku i nekovových materiálů s vysokou citlivostí. Je dnes nejrozšířenějším zdrojem [51].

Optický spektrometr rozkládá záření budícího zdroje na jednotlivé spektrální čáry a měří jejich intenzitu. Nároky na oddělení čar jsou vysoké a může být požadováno rozlišení čar vzdálených několik setin nanometrů [51].

Detektorem v OES může být fotografická deska nebo fotoelektrický detektor (fotonásobič, liniový i plošný diodový detektor) [52].

Metody OES lze využít pro kvantitativní i kvalitativní analýzu. V analýze využíváme pouze tzv. analytické čáry. To jsou vybrané nejintenzivnější čáry spektra daného prvku, které jsou minimálně ovlivněny jinými prvky. Pokud koncentrace prvku ve vzorku klesá, mizí ze spektra čáry málo intenzivní. Nakonec zůstávají pouze ty nejintenzivnější čáry, z nichž se volí analytické. Vlnové délky těchto čar jsou tabelovány [51].

Množství prvku ve vzorku lze tedy zjistit z intenzity jednotlivých čar ve spektru. Intenzita spektrální čáry pro danou vlnovou délku závisí na koncentraci prvku ve vzorku úměrně, což popisuje Lomakinův vztah:

$$I_{\lambda} = a \cdot c^b \quad (2)$$

Kde:

$I_{\lambda}$  – intenzita spektrální čáry pro danou vlnovou délku

$a$  – konstanta charakterizující procesy zplynění a buzení

$c$  – koncentrace prvku ve vzorku

$b$  – konstanta závislá na samoabsorpci (tj. opětne absorpci emitovaného záření neexcitovanými atomy téhož prvku)

#### 4.2.1 Plamenová fotometrie

Plamenová fotometrie je modifikací optické emisní spektrometrie, v níž je budícím zdrojem plamen. Do proudu okysličovadla, které se mísí s plynným palivem, je nasáván vzorek ve formě roztoku. Směs hoří v hořáku. Teplota plamene se volí kombinací okysličovadla a paliva a bývá v rozmezí 2 000 až 3 000 °C [51].

Plamenová fotometrie nelezla uplatnění v zemědělství při stanovování základních živin (Ca, Mg, K), při výrobě hnojiv (Ca, Mg, K, Na, Mn) či ve zdravotnictví (Na, K, Li) [52].

### 4.3 ICP–MS

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je analytická metoda spojující ICP (zdroj iontů) a MS (detekce iontů). Tato metoda je aplikována pro kvalitativní i kvantitativní elementární stanovení, zejména ultrastopovou multielementární analýzu [52] [55]. Využití hmotnostní spektrometrie (MS) pro anorganickou analýzu nabízí celou řadu

výhod, především velice jednoduchá spektra, dostačující rozlišovací schopnost a nízké meze detekce, které jsou dosažitelné téměř pro všechny prvky periodické tabulky a jsou v řadě případů i o dva nebo tři řády nižší než u emisní spektrometrie [56].

Existuje několik hlavních konstrukčních částí, vztahujících se k technice ICP–MS, které zasluhují zvláštní pozornost: systém pro vstřikování vzorků, hlavice ICP, interface, hmotnostní separace a detekce. Vstřikovací část se obvykle skládá ze zamlžovače (nejčastěji koncentrického nebo pravoúhlého) a komory, např. dvouplášťové Scottovy mlžné komory. Tato část může být spojena s mnoha druhy přístrojů, včetně LA systému, kapalinové chromatografie a kapilární elektroforézy. Vstřikovací systém je navržen k analýze kapalných vzorků. Pokud je nutné analyzovat pevné vzorky, musí být nejprve rozpuštěny, popřípadě jinak upraveny s využitím extra čisté kyseliny [57].

Plazma je ionizovaný plyn, který se jeví v makroskopickém měřítku neutrální (se stejným počtem pozitivních a negativních částic) a je dobrým elektrickým vodičem [58].

ICP generuje plazmu z argonu, která je udržována pomocí střídavého vysokofrekvenčního magnetického pole. Teplota argonového plazmatu se pohybuje od 6 000 do 10 000 K. V této části je vzorek převeden na proud pozitivních iontů. Obvykle existuje také několik přístrojů k regulaci proudu pozitivních iontů: první kónus (sampler), druhý kónus (skimmer) a iontová optika.

Mezi zdrojem plazmatu a hmotnostním spektrometrem se nachází interface. Ionty, vzniklé v argonovém indukčně vázaném plazmatu jsou přes interface (spojení ICP a MS) vedeny do hmotnostního spektrometru [55]. Proud iontů postupně prochází přes sampler, skimmer a iontovou optikou [57]. Plazma expanduje z atmosféry skrz otvor prvního kónusu (sampleru) do oblasti s tlakem dosahujícím řádově stovek pascalů. Tohoto stupně vakua je dosaženo pomocí mechanické pumpy – tzv. turbopumpy. Centrální oblast toku iontů prochází otvorem druhého kónusu (skimmeru) do vlastního hmotnostního spektrometru a vytvoří iontový paprsek [56]. Funkcí iontové optiky je pomocí fotonové zarážky zabránit fotonům emitovaným z plazmatu vstup na detektor, který je na dopad fotonů citlivý [57].

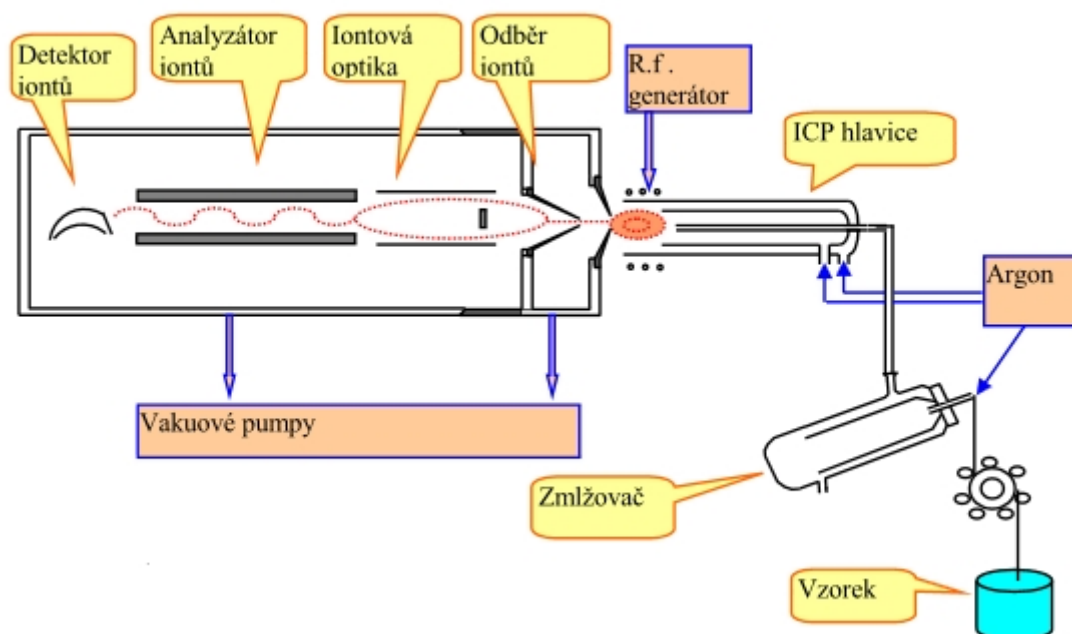
Převod iontů z ICP do MS je komplikován. Plazmový hořák se nachází v horizontální poloze a pracuje za normálního tlaku, zatímco hmotnostní spektrometr pracuje při vysokém vakuu [55]. Stupeň vakua uvnitř hmotnostního spektrometru dosahuje velikosti až  $10^{-4}$  Pa. Odběr iontů z plazmového výboje pracujícího za atmosférického tlaku do vakuové části hmotnostního spektrometru je nejkritičtější částí přístroje ICP–MS. Po

vstupu do vakuové části přístroje ICP–MS je iontový paprsek usměrněn pomocí iontové optiky do iontového filtru [56].

Spojení (interface) zdroje ICP a hmotnostního spektrometru musí vykonávat následující funkce a splňovat tyto požadavky [52]:

- Vzorkovat ionty v místě jejich vzniku, tj. v ICP.
- Převést ionty z oblasti atmosférického tlaku do vakua.
- Snížit teplotu z 6000 K na laboratorní teplotu.
- Zachovat stechiometrii analytů při transportu iontů.

V případě zavádění vzorků využívá ICP–MS stejné metody, jako metoda ICP–OES. Pevné vzorky se většinou rozpouští vhodnou metodou, avšak tyto rozpouštěcí procesy mohou vést ke zničení a případnému následnému zablokování kužele [55].



Obr. 8: Schéma hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem [56]

Hmotnostní analyzátoři (iontové filtry) slouží k separaci iontů získaných z ICP zdroje, a to podle jejich poměru hmotnosti k náboji ( $m/z$ ). Získá se záznam charakterizující daný analyt, který vychází z relativních čísel iontů o různém poměru  $m/z$ . U techniky ICP–MS se používají různé hmotnostní analyzátoři, jako např. kvadrupólový analyzátor, magnetický sektorový analyzátor nebo analyzátor doby letu – TOF [58].

Po výstupu z hmotnostního analyzátoru směřují ionty do detektoru. Mezi nejpoužívanější druhy patří elektronový násobič nebo Faradayova klec [58]. Tyto detektory pracují na stejném principu jako fotonásobiče v optické spektroskopii. Kation dopadající na citlivou vrstvu vyrazí jeden nebo více sekundárních elektronů, jejichž počet je znásoben elektronovým násobičem. Výsledkem je diskrétní pulz obsahující asi  $10^8$  elektronů. Tento pulz je zachycen a zpracován rychlým předzesilovačem, digitalizován a postupuje dále do čítacího obvodu [56].

ICP–MS je sestrojena tak, aby umožňovala analýzu více než 70 prvků; z toho převážnou většinu obvykle tvoří pozitivně nabitě ionty. Některé mohou být nabitě i záporně (halogeny, síra). Pro jednotlivé prvky má ICP–MS různé detekční limity. V Tabulce 5 jsou tyto prvky seskupeny podle společného rozsahu limitů detekce. Jak je z této tabulky patrné, většina prvků (65) může být analyzována v koncentraci, která je nižší než 1 ppt. Pro Be, B a Hg je detekční limit méně, a to 1–100 ppt. Si, P, a S mají detekční limity 0,1–1 ppb, Br a I potom 1–50 ppb [57].

Tab. 5: Skupiny prvků podle jejich meze detekce technikou ICP–MS [57]

Detekční limit	Prvek
< 1 ppt	Li, Na, Mg, Al, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, Cs, Ba, La, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Tl, Pb, Bi, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Th, U
1–100 ppt	Be, B, Hg
0,1–1 ppb	Si, P, S
1–50 ppb	Br, I

V následující tabulce je uvedeno srovnání detekčních limitů a pracovních vlnových délek pro stanovení kovů pomocí jednotlivých popsanych metod [59].



Tab. 6: Srovnání detekčních limitů a pracovních vlnových délek

Prvek	Metoda			
	FAAS	GFAAS	ICP-OES	ICP-MS
<b>Železo</b>	248,33 nm DL 5 µg/l	248,3 nm DL 0,02 µg/l	259,94 nm DL 0,1 µg/l	DL 1–10 ng/l
<b>Nikl</b>	232,0 nm DL 10 µg/l Rozsah 0,3–10 mg/l	232,0 nm DL 1 µg/l Rozsah 5–100 ng/ml	231,604 nm DL 5 µg/l	DL 1–10 ng/l
<b>Měď</b>	324,752 nm DL 1.5 µg/l	324,752 nm DL 0,014 µg/l	324,752 nm DL 0,4 µg/l	DL 1–10 ng/l
<b>Zinek</b>	213,86 nm DL 1,0 µg/l Rozsah 0,05–2 mg/l	213,86 nm DL 0,02 µg/l	213,856 nm DL 0,9 µg/l	DL 1–10 ng/l
<b>Chrom</b>	357,9 nm DL 6 µg/l Rozsah 0,2–10 mg/l	357,9 nm DL 2 µg/l Rozsah 5–100 ng/ml	267,716 nm DL 4 µg/l	DL 1–10 ng/l

DL = detekční limit

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 MATERIÁLY A METODY

### 5.1 Použité chemikálie

#### Kyselina dusičná

- Dodavatel: Sigma-Aldrich®
- Vzorec: HNO<sub>3</sub>
- Určené použití: Laboratorní chemikálie, výroba látek
- Koncentrace: 65 %
- Molekulová hmotnost: 63,01 g/mol
- Relativní hustota: 1,37–1,41 g/cm<sup>3</sup> při 20 °C
- CAS: 7697-37-2
- Popis a čistota podle dodavatele: puriss. p.a., reag. ISO, reag. Ph. Eur., for determinations with dithizone, ≥ 65 %
- Obsah vybraných kovů podle dodavatele:

Cr ≤ 0,02 mg/kg	Fe ≤ 0,1 mg/kg	Ni ≤ 0,02 mg/kg
Cu ≤ 0,01 mg/kg	Hg ≤ 0,01 mg/kg	Zn ≤ 0,05 mg/kg

#### Kalibrační standardy prvků

- Standardy pro: Ni, Cu, Zn, Fe a Cr
- Výrobce: Astasol, Analytika Praha
- Koncentrace: 1 g/l ve 2% HNO<sub>3</sub>
- Čistota: není uvedena

#### Destilovaná voda

### 5.2 Použité přístroje a zařízení

#### Automatická pipeta

- Výrobce: Finnpiquette®
- Rozsah měření: 20–200 µl

#### Mineralizátor Ertec-Magnum II

- Výrobce: Ertec, Wrocław, Polsko
- Princip: Rozklad analytických vzorků
  - za mokra v uzavřené vysokotlaké nádobě
  - s využitím působení mikrovln pro podporu chemických pochodů
- Reakční kelímek: Hostafon (PTFE) o objemu 108 cm<sup>3</sup>
- Software: MAGNUM V2 2.0

## Analyzátor AMA 254 (Advanced Mercury Analysser)

- Princip: Atomová absorpční spektrometrie
- Uspořádání: Jednopaprskový přístroj
  - sériové uspořádání měřicích kyvet
- Zdroj záření: Nízkotlaká rtuťová výbojka
- Detektor: Křemíková UV dioda
- Software: AMA-Analysis A201 40307.003


## Atomový absorpční spektrometr GBC 933AA


- Výrobce: GBC Austrálie
- Součásti: Katodová lampa Photron
  - pro nikl (sériové č. 8582)
  - pro chrom (sériové č. 5758)
  - pro železo (sériové č. 5770)
  - pro zinek (sériové č. 5768)
  - pro měď (sériové č. 5750)
- Software: GBC 906/908/909 AA

**5.3 Použité vzorky olejů**

Ke stanovení kovů metodou AAS byly použity vzorky olejů, získaných z různých rostlinných částí, a to lisováním za studena, za tepla nebo extrakcí superkritickým CO<sub>2</sub>. Tyto oleje jsou využívány jak pro potravinářské, tak pro kosmetické účely. Tyto oleje poskytla firma Nobilis Tilia s.r.o, vyrábějící kosmetické produkty v čisté přírodní kvalitě. Vzorky byly uloženy v chladničce při teplotě cca 4 °C. Pro stanovení bylo použito 30 vzorků olejů. Dále byly použity vzorky olejů zakoupených běžně v obchodní síti. Byly to tyto 4 oleje:

Tab. 7: Přehled olejů zakoupených v obchodní síti

Olej	Charakteristika	Výrobce	
Slunečnicový olej VÉNUSZ	jednodruhový rostlinný olej ze slunečnicových semen	Bunge Lrt Maďarsko	

<b>Olivový olej La Chinata</b>	extra panenský olivový olej v plechovém obalu	La Chinata Španělsko	
<b>Olivový olej X</b>		neznámý	
<b>Olivový olej Y</b>		neznámý	

## 6 PŘÍPRAVA VZORKŮ

### 6.1 Mineralizace

Před vlastním stanovením byla provedena mineralizace vzorku v mikrovlnném rozkladném zařízení Ertec Magnum II. Toto stanovení je založeno na absorpci mikrovlnného záření, díky čemuž dojde k ohřátí reakčního média a v uzavřeném prostoru ke zvýšení tlaku, a tím i teploty. Do mineralizačních rozkladných teflonových patron bylo naváženo na analytických vahách s přesností na čtyři desetinná místa cca 0,5 g vzorku oleje. K navážce byl v digestoři přidán 1 ml H<sub>2</sub>O a 5 ml HNO<sub>3</sub>. Teflonové patроны byly přikryty teflonovými víčky, na víčka byla položena titanová membrána a takto připravené patроны byly vloženy do ocelového pláště rozkladného zařízení. Ten byl následně uzavřen. Následoval rozklad podle programu uvedeného v Tabulce 8. Po skončení rozkladu byl mineralizát kvantitativně převeden destilovanou vodou do odměrné baňky o objemu 20 nebo 25 ml a doplněn po značku. Takovýto vzorek byl připraven k měření. Analogicky byly také připraveny slepé vzorky. Po každé mineralizaci oleje bylo provedeno čištění 5 ml směsí HNO<sub>3</sub> a H<sub>2</sub>O v poměru 1 : 2,5 (Tabulka 9). Touto směsí byly také vyplachovány odměrné baňky.

Tab. 8: Nastavený program rozkladu vzorku

Krok	Čas [min]	Příkon [% max. příkonu]	Horní tlaková mez [bar]	Dolní tlaková mez [bar]	Max. teplota [°C]
1	6	60	20	17	300
2	5	80	33	30	300
3	10	100	45	42	300

Tab. 9: Nastavený program čištění směsí HNO<sub>3</sub> a H<sub>2</sub>O v poměru 1 : 2,5

Krok	Čas [min]	Příkon [% max. příkonu]	Horní tlaková mez [bar]	Dolní tlaková mez [bar]	Max. teplota [°C]
1	6,15	80	33	30	300

## 7 STANOVENÍ KOVŮ V OLEJÍCH

### 7.1 Stanovení kovů atomovým absorpčním spektrometrem GBC 933AA

Po mineralizaci vzorku bylo provedeno vlastní stanovení kovů v olejích atomovým absorpčním spektrometrem GBC 933AA (Obr. 9). Pracovní rozsahy koncentrací této metody spolu s vlnovými délkami, při kterých byly vzorky analyzovány, jsou uvedeny v následující tabulce.

Tab. 10: *Pracovní rozsah koncentrací, pracovní vlnové délky*

Prvek	Prac. rozsah koncentrací [mg·l <sup>-1</sup> ]	Prac. vlnová délka [nm]
Fe	0,05–8	248,3
Ni	0,09–8	232,0
Cu	0,01–4	324,7
Zn	0,005–1,6	213,9
Cr	0,03–10	357,9

Do spektrometru byla nejprve vložena lampa pro stanovovaný prvek. Před dalším nastavováním přístroje bylo nutné dodržet dobu žhavení lampy nejméně 10 minut. Kromě nastavení co nejvyšší odezvy na analyt a průtoky plynů byl přístroj plně řízen počítačem prostřednictvím software. Následně byla pomocí již připravených kalibračních standardů proměřena kalibrační křivka a poté samotné vzorky (vždy dva od každého oleje). Koncentrace připravených standardů se pro jednotlivé prvky lišily a jsou uvedeny v Tabulce 11 spolu s naměřenou absorbancí. Po proměření všech vzorků se lampa nechala zchladnout, poté byla vyměněna za lampu pro další prvek a celý postup se opakoval.

Tab. 11: *Koncentrace kalibračních standardů včetně naměřených absorbcí*

Měď				
Koncentrace [μg·ml <sup>-1</sup> ]	0,05	0,1	0,2	0,5
Absorbance [1]	0,007	0,014	0,027	0,065
Chrom				
Koncentrace [μg·ml <sup>-1</sup> ]	0,05	0,1	0,2	0,5
Absorbance [1]	0,002	0,004	0,01	0,025

Nikl				
Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	0,05	0,1	0,2	0,5
Absorbance [1]	0,005	0,009	0,018	0,045
Zinek				
Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	0,01	0,02	0,05	0,1
Absorbance [1]	0,004	0,008	0,021	0,039
Železo				
Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ]	0,05	0,1	0,2	0,5
Absorbance [1]	0,005	0,009	0,016	0,041



Obr. 9: Atomový absorpční spektrometr GBC 933AA

## 7.2 Stanovení rtuti analyzátozem AMA 254

V další fázi bylo provedeno stanovení rtuti analyzátozem AMA 254 (Obr. 10). Jedná se o jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr pro stanovení rtuti. Využívá techniku generování par kovové rtuti s následným zachycením a koncentrováním na zlatém



amalgamátoru. V první fázi bylo provedeno čištění systému (3×) do dosažení konstantní hodnoty absorbance. Připravený vzorek byl poté v množství 100 µl umístěn na spalovací lodičku a povel z řídicího počítače zaveden do spalovací trubice. Dále byl nastaven teplotní program na hodnoty 60/150/45, tzn. 60 s sušení, 150 s termický rozklad a 45 s doba čekání a byla provedena analýza. Nejprve byl proměřen slepý pokus a následně od každého druhu oleje vždy jeden vzorek.



Obr. 10: *Analyzátor AMA 254*

## 8 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 8.1 Výpočet koncentrace kovů v olejích

Hodnoty koncentrací kovů (Ni, Cu, Zn, Cr a Fe) ve studovaných olejích byly stanovovány výpočtem podle rovnice (3). Hodnota koncentrace  $c_{reg}$  byla vypočtena odvozením z rovnice lineární regrese. Příklady výpočtů koncentrace Ni ve vzorku kaštanového oleje jsou uvedeny níže.

$$c = c_{reg} \cdot \frac{1}{m} \cdot V \quad (3)$$

Kde:

$c$  – koncentrace kovu v oleji [ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ]

$c_{reg}$  – koncentrace získaná výpočtem z regresní rovnice kalibrační křivky [ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ]

$m$  – navážka vzorku [g]

$V$  – objem odměrné baňky [ml]

Příklady výpočtů:

Výpočet hodnoty  $c_{reg}$ :

$$A = 0,0893c_{reg} + 0,0003$$

$$c_{reg} = \frac{0,001 - 0,0003}{0,0893} = 0,0078 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$$

Výpočet hodnoty  $c$ :

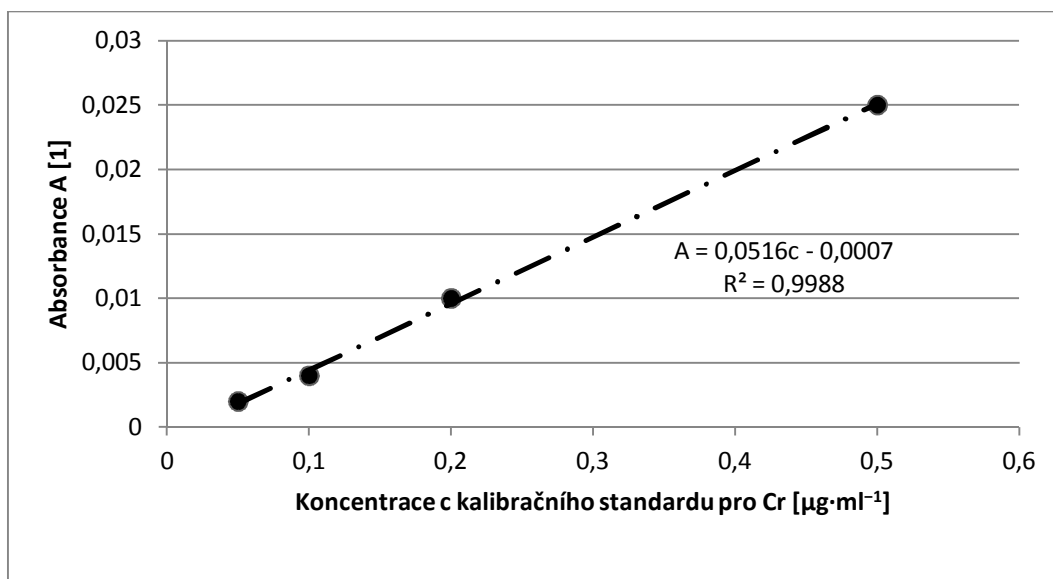
$$c = c_{reg} \cdot \frac{1}{m} \cdot V$$

$$c = 0,0078 \cdot \frac{1}{0,6137} \cdot 25 = 0,319 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$$

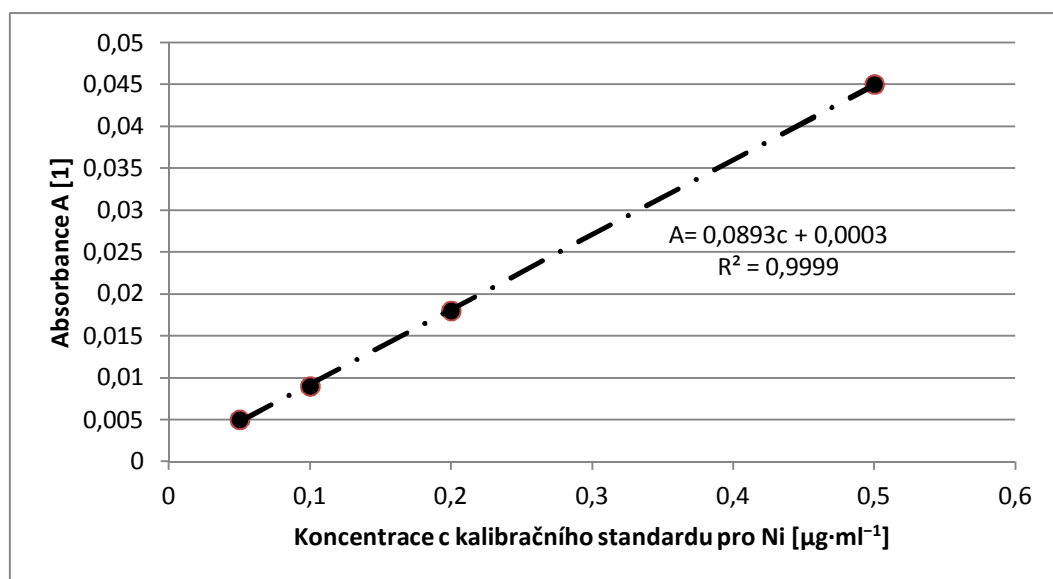
## 8.2 Výsledky stanovení kovů v olejích atomovým absorpčním spektrometrem GBC 933AA

Stanovení probíhalo dle postupu popsaného v kapitole 7.1. Pro jednotlivé stanovované kovy byly nejprve sestaveny kalibrační křivky kalibračních standardů. Ze získaných regresních rovnic byly dále počítány výsledné hodnoty koncentrací.

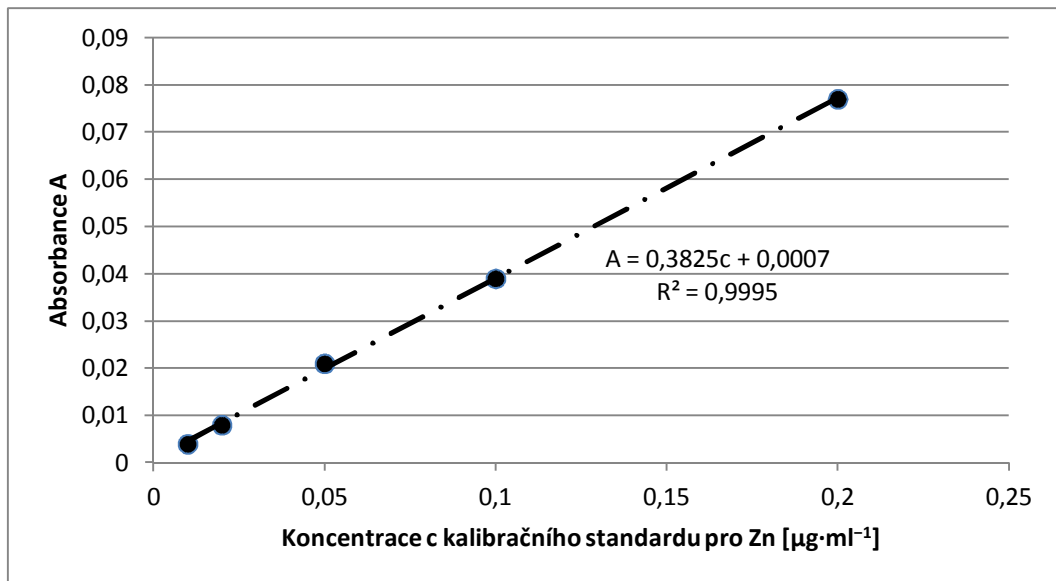
### 8.2.1 Kalibrační křivky



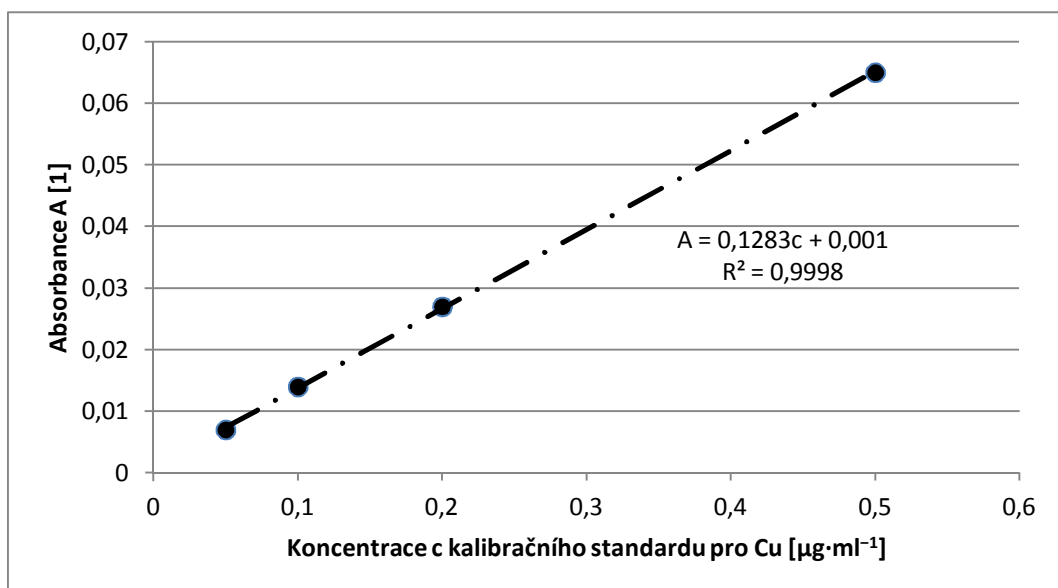
Graf 1: Kalibrační křivka pro stanovení Cr



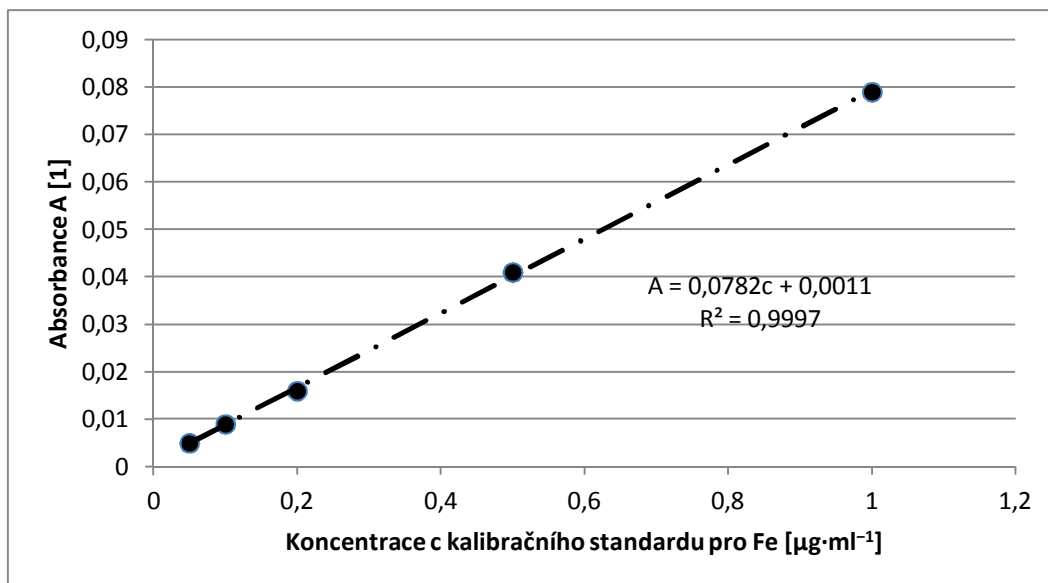
Graf 2: Kalibrační křivka pro stanovení Ni



Graf 3: Kalibrační křivka pro stanovení Zn



Graf 4: Kalibrační křivka pro stanovení Cu



Graf 5: Kalibrační křivka pro stanovení Fe

### 8.2.2 Výsledky stanovení koncentrací kovů

V následujících tabulkách jsou uvedeny jednotlivé rostlinné oleje a příslušné výsledky analýz. Výsledné hodnoty jsou zaokrouhleny na tři desetinná místa.

Tab. 12: Koncentrace kovů stanovených v kaštanovém oleji

Kaštanový olej	Koncentrace [µg·g <sup>-1</sup> ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
Analýza č. 1	0,319	0,000	3,073	0,000	0,990
Analýza č. 2	0,750	0,000	0,957	0,000	3,224

Tab. 13: Koncentrace kovů stanovených ve lněném oleji

Lněný olej	Koncentrace [µg·g <sup>-1</sup> ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
Analýza č. 1	0,366	0,000	2,327	0,000	0,525
Analýza č. 2	0,368	0,000	1,740	0,000	3,472

Tab. 14: Koncentrace kovů stanovených v sojovém oleji

Sojový olej	Koncentrace [µg·g <sup>-1</sup> ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
Analýza č. 1	0,877	0,000	1,120	0,625	0,000
Analýza č. 2	0,705	0,000	0,900	0,502	0,000

Tab. 15: *Koncentrace kovů stanovených v BIO rakytníkovém oleji*

Rakytníkový olej – biokvalita (Německo)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,702	0,000	1,367	0,500	0,511
<b>Analýza č. 2</b>	0,696	0,000	1,823	0,496	2,514

Tab. 16: *Koncentrace kovů stanovených v BIO šípkovém oleji*

Šípkový olej – biokvalita (EU)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	1,590	0,000	1,423	0,520	1,735
<b>Analýza č. 2</b>	1,586	0,000	1,909	0,519	2,132

Tab. 17: *Koncentrace kovů stanovených v avokádovém oleji*

Avokádový olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	1,026	0,000	1,693	0,000	0,115
<b>Analýza č. 2</b>	1,103	0,000	1,353	0,000	0,000

Tab. 18: *Koncentrace kovů stanovených oleji z pšeničných klíčků*

Olej z pšeničných klíčků	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,018	0,000	20,828	0,561	58,695
<b>Analýza č. 2</b>	0,018	0,000	20,979	0,552	57,595
<b>Analýza č. 3</b>	1,166	0,227	20,497	0,710	57,640
<b>Analýza č. 4</b>	0,919	0,248	20,482	0,775	60,686

Tab. 19: *Koncentrace kovů stanovených v ricinovém oleji*

Ricinový olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,469	0,000	2,930	0,561	0,314
<b>Analýza č. 2</b>	0,451	0,000	2,341	0,540	1,369

Tab. 20: *Koncentrace kovů stanovených v BIO olivovém oleji*

Olivový olej – biokvalita (Španělsko)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,017	0,000	2,773	0,531	0,385
<b>Analýza č. 2</b>	0,369	0,000	2,306	0,441	0,974

Tab. 21: *Koncentrace kovů stanovených v BIO dýňovém oleji*

Dýňový olej – biokvalita (Francie)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,000	3,383	0,554	0,492
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,000	3,628	0,460	1,395

Tab. 22: *Koncentrace kovů stanovených v BIO konopném oleji*

Konopný olej – biokvalita (Nový Zéland)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,000	1,977	0,573	0,000
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,000	2,367	0,453	1,149

Tab. 23: *Koncentrace kovů stanovených v makovém oleji*

Makový olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,000	4,271	0,229	3,227
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,000	4,034	0,297	1,175

Tab. 24: *Koncentrace kovů stanovených v oleji z kukuřičných klíčků*

Olej z kukuřičných klíčků	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,000	0,792	0,233	1,331
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,000	1,447	0,852	0,925

Tab. 25: *Koncentrace kovů stanovených v třezalkovém oleji*

Třezalkový olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,000	1,441	0,283	1,417
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,000	2,026	0,895	4,002

Tab. 26: *Koncentrace kovů stanovených v meruňkovém oleji*

Meruňkový olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,000	2,011	0,888	1,172
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,000	2,002	0,707	0,933

Tab. 27: *Koncentrace kovů stanovených v BIO slunečnicovém oleji*

Slunečnicový olej – biokvalita (Německo)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,000	0,000	0,731	0,000
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,000	0,000	0,706	0,107

Tab. 28: *Koncentrace kovů stanovených v oleji z vinných hroznů vyrobeného extrakcí*

Olej z vinných hroznů (extrakce)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,000	0,000	0,714	0,000
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,000	0,000	0,707	2,585

Tab. 29: *Koncentrace kovů stanovených v oleji z vinných hroznů*

Olej z vinných hroznů (lisováno za studena)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,546	0,891	0,681	0,747	2,166
<b>Analýza č. 2</b>	0,209	0,910	0,696	0,764	0,641



Tab. 30: *Koncentrace kovů stanovených v mokřadkovém oleji*

Mokřadkový olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
Analýza č. 1	0,000	0,000	0,000	0,707	0,107
Analýza č. 2	0,000	0,000	1,019	0,900	1,293

Tab. 31: *Koncentrace kovů stanovených v BIO oleji z černého kmínu*

Olej z černého kmínu – biokvalita (Německo)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
Analýza č. 1	0,000	0,000	1,164	0,685	1,625
Analýza č. 2	0,283	0,000	1,590	0,234	2,157

Tab. 32: *Koncentrace kovů stanovených v BIO pupalkovém oleji*

Pupalkový olej – biokvalita (Čína)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
Analýza č. 1	0,000	0,000	0,000	0,710	0,522
Analýza č. 2	0,000	0,000	0,000	0,708	2,256

Tab. 33: *Koncentrace kovů stanovených v mandlovém oleji*

Mandlový olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
Analýza č. 1	0,000	0,000	0,402	0,710	0,522
Analýza č. 2	0,000	0,000	0,000	0,708	1,183

Tab. 34: *Koncentrace kovů stanovených v BIO arganovém oleji*

Arganový olej – biokvalita (Maroko)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
Analýza č. 1	0,000	0,000	0,398	0,703	1,093
Analýza č. 2	0,272	0,000	0,763	0,674	1,597

Tab. 35: Koncentrace kovů stanovených v BIO sezamovém oleji

Sezamový olej – biokvalita (Mexiko)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,207	0,022	0,691	0,000	0,000
<b>Analýza č. 2</b>	0,708	0,028	0,295	0,000	0,000

Tab. 36: Koncentrace kovů stanovených v brusnicovém oleji

Brusnicový olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,000	0,026	0,811	0,000	2,861
<b>Analýza č. 2</b>	0,198	0,021	1,099	0,000	3,928

Tab. 37: Koncentrace kovů stanovených v BIO makadamiovém oleji

Makadamiový olej – biokvalita (Keňa)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,215	0,023	2,151	0,786	1,657
<b>Analýza č. 2</b>	0,256	0,027	2,559	0,936	1,378

Tab. 38: Koncentrace kovů stanovených v hořčičném oleji

Hořčičný olej	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,207	0,022	1,151	0,758	1,836
<b>Analýza č. 2</b>	0,262	0,028	1,453	0,359	1,863

Tab. 39: Koncentrace kovů stanovených v BIO brutnákovém oleji

Brutnákový olej – biokvalita (Čína)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,167	0,027	0,278	0,343	4,535
<b>Analýza č. 2</b>	0,241	0,026	0,802	0,330	1,713

Tab. 40: *Koncentrace kovů stanovených v BIO lískovém oleji*

Lískový olej – biokvalita (Turecko)	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,527	0,231	0,658	0,271	4,264
<b>Analýza č. 2</b>	0,000	0,308	0,293	0,964	1,879

Tab. 41: *Koncentrace kovů stanovených v palmovém oleji Carotino*

Palmový olej Carotino	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,219	0,000	0,728	0,299	6,362
<b>Analýza č. 2</b>	0,273	0,029	0,303	0,374	4,947

Tab. 42: *Koncentrace kovů stanovených v olivovém oleji La Chinata*

Olivový olej La Chinata	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,210	0,000	0,234	0,769	2,595
<b>Analýza č. 2</b>	0,211	0,000	0,704	0,290	2,484

Tab. 43: *Koncentrace kovů stanovených ve slunečnicovém oleji VÉNUSZ*

Slunečnicový olej VÉNUSZ	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,887	0,022	1,136	0,280	15,664
<b>Analýza č. 2</b>	1,213	0,021	0,673	0,277	11,851

Tab. 44: *Koncentrace kovů stanovených v olivovém oleji X*

Olivový olej X	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,208	0,243	0,694	0,762	0,157
<b>Analýza č. 2</b>	0,205	0,239	1,137	0,748	0,865

Tab. 45: *Koncentrace kovů stanovených v olivovém oleji Y*

Olivový olej Y	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]				
	Ni	Cu	Fe	Cr	Zn
<b>Analýza č. 1</b>	0,253	0,296	1,405	0,925	7,220
<b>Analýza č. 2</b>	0,258	0,301	0,860	0,943	0,000

Důvodem hromadění těžkých kovů v rostlinách je to, že mohou být relativně snadno přijímány potravinářskými plodinami, zejména zeleninou. Dalším důvodem může být také absorpce atmosférických usazenin listy. Obecně platí, že na vstřebávání kovů se podílejí dva hlavní mechanismy. Jsou to adsorpce, která se vyznačuje vazbou materiálu na povrch, a absorpce, což znamená pronikání kovu dovnitř matrice. Buď jeden, nebo oba se podílejí na transportu kovu do těla rostliny.

Odlišné druhy rostlin akumulují různé kovy a v různém množství v závislosti na stavu životního prostředí, na druhu a formě kovu a dostupnosti pro rostlinu. Koncentrace kovu nahromaděného v rostlinném oleji závisí taky na místě původu rostliny a vzdálenosti od zdroje znečištění. Výsledky, kterých bylo v této práci dosaženo, to potvrzují. Příkladem mohou být olivové oleje. Byly hodnoceny celkem čtyři olivové oleje (jiný původ, jiný způsob výroby), a obsahy kovů, zejména železa, jsou odlišné. Důkazem, že obsah kovů v oleji může být ovlivněn i způsobem výroby jsou oleje vyrobené z vinných hroznů. U oleje vyrobeného extrakcí byly stanoveny pouze Cr a Zn. Naopak v případě oleje vyrobeného šetrnějším lisováním za studena navíc také Fe, Cu a Ni. Ze všech olejů byl pouze jeden vyroben lisováním za tepla, a to olej sojový. Takový olej ztrácí vlivem vyšších teplot část svých kvalit, ale naopak výtěžnost je vyšší. Takovýto olej je vhodný do teplé kuchyně (smažení, pečení), neboť vlivem vyšších teplot se již teplotně nestabilní látky uvolnily.

Výsledky stanovení, která byla provedena vedle sebe, se v některých případech značně liší. Hlavními důvody jsou například malé množství analyzovaného prvku ve vzorku (malá navážka k mineralizaci) nebo stáří přístroje (20 let) a snížená detekční schopnost. Při vyšších koncentracích byla chyba nižší, jako v případě Fe a Zn v oleji z pšeničných klíčků. I přes použití vysoce čisté kyseliny dusičné by bylo možné některé chyby odstranit využitím speciální kyseliny dusičné pro AAS, avšak z finančních důvodů nebylo možné ji zakoupit. Důvodem odchylky výsledků je také možnost uvolňování kovů ze skla v silně kyselém prostředí.

Tato práce je pouze náhledem do zvolené problematiky, při bližším a přesnějším rozvrhu práce by bylo na místě provést minimálně tři stanovení vedle sebe, lépe pak pět. Z časových a finančních důvodů se toto nepovedlo. Z pouhých dvou měření proto nebyly vypočteny průměry ani směrodatné odchylky.

### **8.3 Výsledky stanovení rtuti analyzátozem AMA 254**

Podle postupu uvedeného v kapitole 7.2 bylo provedeno stanovení rtuti v olejích pomocí atomového absorpčního spektrometru AMA 254. Všechny vzorky byly proměřeny v nejnižším rozsahu kalibrace, a to 0,05–600 ng. V žádném z testovaných olejů nebyla rtuť naměřena. Ve všech případech byla koncentrace rtuti nižší než teoretická mez detekce, jejíž hodnota je 0,1 ppb.

## ZÁVĚR

V této diplomové práci bylo analyzováno množství kovů v různých rostlinných olejích. Bylo analyzováno celkem 34 druhů rostlinných olejů, ve kterých byly stanoveny – měď, zinek, železo, nikl, chrom a rtuť.

Vzorky olejů byly před vlastní analýzou zmineralizovány v mikrovlnném rozkladném zařízení Ertec Magnum II. Pro stanovení obsahu rtuti byl využit jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr AMA 254. Ostatní kovy byly stanoveny atomovým absorpčním spektrometrem GBC 933AA v plameni vzduch/acetylen. Instrumentální parametry a provozní podmínky jsou uvedeny v kapitolách 6 a 7.

Naměřené výsledné hodnoty koncentrací kovů jsou uvedeny v Tabulkách 12–45. Obecně nejvyšší koncentrace kovů byly naměřeny v oleji z pšeničných klíčků. Vysoké byly zejména obsahy zinku ( $60,686 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) a železa ( $20,979 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Z hlediska stability budou tedy tyto oleje pravděpodobně více náchylné k oxidaci. Zinek a železo se zpravidla vyskytovaly ve vyšších koncentracích, než kovy ostatní. V některých olejích však obsaženy nebyly. Zinek nebyl stanoven v BIO sezamovém oleji, železo potom v oleji z vinných hroznů (vyroben extrakcí), v BIO pupalkovém a BIO slunečnicovém oleji. Vyšší obsah zinku byl očekáván také v dýňovém oleji, který je tímto známý. Stanovené koncentrace však byly srovnatelné s ostatními oleji. Koncentrace ostatních kovů byly většinou nižší. Co se týká niklu, jeho nejvyšší koncentrace byly naměřeny v BIO šípkovém oleji ( $1,590 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Velmi podobné hodnoty byly stanoveny také u avokádového oleje a slunečnicového oleje VÉNUSZ. Měď byla naměřena přibližně ve třetině všech testovaných olejů. Nejvyšší koncentrace ( $0,910 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) byla stanovena v oleji z vinných hroznů vyrobeného lisováním za studena. Posledním analyzovaným kovem byl chrom. Jeho nejvyšší koncentrace byla stanovena v olivovém oleji Y ( $0,943 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Přítomnost rtuti nebyla v žádném z hodnocených olejů prokázána.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] RAJKOVIC, M. B. a K. PICURIC - JOVANIVIC. The investigations of quality of vegetable oil delivered as „humanitarian aid“. *Journal of Agricultural Science*. 2001, Vol. 46, s. 149-161 [cit. 2014-03-26]. Dostupné z: [http://www.academia.edu/1315761/The\\_investigations\\_of\\_quality\\_of\\_vegetable\\_oil\\_delivered\\_as\\_Humanitarian\\_aid](http://www.academia.edu/1315761/The_investigations_of_quality_of_vegetable_oil_delivered_as_Humanitarian_aid)
- [2] IWATA, H. a K. SHIMADA. *Formulas, ingredients and production of cosmetics: technology of skin- and hair-care products in Japan*. New York: Springer, c2013, xii, p. 25-27. ISBN 44-315-4060-1.
- [3] GUNSTONE, F. *Vegetable oils in food technology: composition, properties, and uses*. Boca Raton: CRC Press, c2002. s. 1-7. ISBN 18-412-7331-7.
- [4] ZHU, F., W. FAN a X. WANG. *Food and chemical toxicology: Health risk assessment of eight heavy metals in nine varieties of edible vegetable oils consumed in China* [online]. 2011. s. 3081-3085. [cit. 2014-02-11]. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2011.09.019>
- [5] LLORENT - MARTÍNEZ, E. J., P. ORTEGA-BARRALES a M. L. FERNÁNDEZ-DE CÓRDOVA. Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain. *Food Chemistry* [online]. 2011, vol. 127, issue 3, s. 1257-1262 [cit. 2014-02-13]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.01.064.
- [6] ANSARI, R., T. G. KAZI, M. K. JAMALI, M. B. ARAIN. Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of multivariate technique. *Food Chemistry* [online]. 2009, vol. 115, issue 1, s. 318-323 [cit. 2014-02-11]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.051. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608014027>
- [7] PEHLIVANA, E. a G. ARSLANDB. *Determination of some inorganic metals in edible vegetable oils by inductively*. GRASAS Y ACEITES, 2008. s. 239-243. ISBN 0017-3495.
- [8] LIST, G. R., C. D. EVANS a W. F. KWOLWK. Copper in edible oils: Trace amounts determined by atomic absorption spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 1971, Vol. 48, s. 438-441 [cit. 2014-03-26]. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02544656>

- [9] DEGTYRENKO, K. *Bioinorganic motifs: towards functional classification of metalloproteins*. Bioinformatics review [online]. 2000, s. 851-864 [cit. 2014-02-10]. Dostupné z: <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/16/10/851>
- [10] MERIAN, E., M. ANKE, M. IHNAT a M. STOEPLER. *Elements and their compounds in the environment: occurrence, analysis and biological relevance*. 2nd completely rev. and enl. ed. / . Weinheim: Wiley-VCH, 2004, 3 v. (xxxi, 1773 p.). s. 1438. ISBN 35273045923-
- [11] AYENIMO, J. G. a A. M. YUSUF. *Heavy Metal Exposure from Personal Care Products*. Bull Environ Contam Toxicol, 2010. s 8-12. ISBN 978-953-307-921-9.
- [12] EU. Směrnice Rady 76/768/EHS ze dne 27. července 1976 o sblížení právních předpisů členských států týkajících se kosmetických prostředků ve znění pozdějších předpisů (Směrnice 76/768/EHS). In Úřední věstník Evropské unie L 262. 1976, L 262, s. 31.
- [13] ZABLOUDILOVÁ, S. *Analýza rizika chemických kontaminantů kosmetických výrobků hlášených v systému RAPEX 2005 až 2009*. Ostrava, 2010. s. 40-68. Diplomová práce. Ostravská univerzita v Ostravě, Fakulta zdravotnických studií. Vedoucí práce MVDr. Hana Šuchmová.
- [14] SAHU, R. a SAXENA, P. Centre for Science and Environment. *Heavy Metals in Cosmetics*. p. 5-7 [online]. [cit. 2014-04-18]. Dostupné z: [http://www.cseindia.org/userfiles/Heavy\\_Metals\\_in\\_Cosmetics\\_Report.pdf](http://www.cseindia.org/userfiles/Heavy_Metals_in_Cosmetics_Report.pdf)
- [15] WINTER, R. *A consumer's dictionary of cosmetic ingredients*. 6th ed., completely rev. and updated. New York: Three Rivers Press, c2005, 563 p. ISBN 14-000-5233-5.
- [16] SALVADOR, A. a A. CHISVERT. *Analysis of cosmetic products*. 1st ed. London: Elsevier, 2007, xvii, 487 p. (33-37) ISBN 04-445-2260-3.
- [17] BENCKO, Vladimír, M. CIKRT a J. LENER. *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka*. 2. přepr. a dopl.vyd. Praha: Grada Publishing, 1995. ISBN 80-716-9150-X.
- [18] NOVÁK, L. *Toxicita, biodostupnost a relativní nebezpečnost kovů*. Olomouc, 2012. s. 8-13 Dostupné z: <http://www.theses.cz/id/8tq68c?info=1;isshlret=toxicity%3B;zpet=%2Fvyhledavani>



- %2F%3Fsearch%3Dtoxicita,%20biodostupnost%26start%3D1. Bakalářská práce. Vedoucí práce Mgr. Alena Klanicová, Ph.D.
- [19] TANGAHU, B. V., S. R. SHEIKH ABDULLAH a H. BASRI. *International Journal of Chemical Engineering* [online]. 2011, vol. 2011, s. 1-31 [cit. 2014-04-02]. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/ijce/2011/939161/>
- [20] NOVOTNÁ, M. *Modely přestupu těžkých kovů do rostlin* [online]. Brno, 2012. s 33-42. [cit. 2014-02-10]. Dostupné z: [http://is.muni.cz/th/270122/prif\\_m/dp\\_MarketaNovotna.pdf?info=1;zpet=https:%2F%2Ftheses.cz%2Fvyhledavani%2F%3Fsearch%3Dmodly%20p%C5%99estupu%20t%C4%9B%C5%BEk%C3%BDch%20kov%C5%AF%26start%3D1](http://is.muni.cz/th/270122/prif_m/dp_MarketaNovotna.pdf?info=1;zpet=https:%2F%2Ftheses.cz%2Fvyhledavani%2F%3Fsearch%3Dmodly%20p%C5%99estupu%20t%C4%9B%C5%BEk%C3%BDch%20kov%C5%AF%26start%3D1). Diplomová práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce Mgr. Klára Komprdová, Ph.D.
- [21] ZÍTKA, O. *Multiinstrumentální sledování interakce iontu těžkého kovu s volnými aminokyselinami* [online]. Brno, 2010. s. 13-18 [cit. 2014-02-10]. Dostupné z: <http://www.theses.cz/id/yfnl2r?info=1;isshlret=Interakce%3B;zpet=%2Fvyhledavani%2F%3Fsearch%3Dmultiinstrument%C3%A1ln%C3%AD%20sledov%C3%A1n%C3%AD%20interak%C3%AD%26start%3D1>. Diplomová práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce doc. Ing.,Ph.D. René Kizek
- [22] VOET, D. *Biochemie*. 1. vyd. Praha: VICTORIA PUBLISHING, 1995, 1325 s. ISBN 80-856-0544-9.
- [23] BLAŽEJ, A. *Chemické aspekty životního prostředí*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1981, 595 s.
- [24] HRUŠKA, J., V. MAJER a D. FOTTOVÁ. *Vliv kyselé depozice na chemismus povrchových vod*. Opera Concorctica: Krkonošské práce [online]. 1997, roč. 2006, č. 43, s. 95-100, 2007-05-07 [cit. 2014-02-10]. Dostupné z: <http://opera.krnep.cz/clanky/clanek.php?clanek=6&cislo=43&lng=cz>
- [25] KABATA-PENDIAS, A. a H. PENDIAS. *Trace elements in soils and plants*. 3rd ed. Boca Raton, Fla.: CRC Press, c2001. s 10-25. ISBN 08-493-1575-1.
- [26] ZHELJAZKOV, V. D., L. E. CRAKER a B. XING. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. *Environmental and Experimental Botany* [online]. 2006, vol. 58, 1-3, s. 9-16 [cit. 2014-03-06]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098847205001012>

- [27] HOUSEROVÁ, P., K. JANÁK, P. KUBÁŇ, J. PAVLÍČKOVÁ a V. KUBÁŇ. *Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech - vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení*. Chemické listy 100, str. 862–876, 2006
- [28] KAFKA, Z. a J. PUNČOCHÁŘOVÁ. *Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita*. Chemické listy 96, str. 611-617, 2002
- [29] Česká republika. Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 13 ze dne 29. prosince 1993, kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu. In: *Sbírka zákonů*. částka 4. Dostupné z: [http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=13/1994&typeLaw=zakon&what=Cislo\\_zakona\\_smlouvy](http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=13/1994&typeLaw=zakon&what=Cislo_zakona_smlouvy)
- [30] ALLOWAY, B. J. *Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability*. 3rd ed. New York: Springer, c2013, xviii, 613 p. Environmental pollution, v. 22, p. 339. ISBN 978-940-0744-707.
- [31] BABULA, P. et al. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. In *Environmental Chemistry Letters*. 2008. Vol. 6, no. 4, s. 189-213.
- [32] KUČEROVÁ, P. *Stanovení rozložení prvků v rostlinném materiálu pomocí metod laserové spektrometrie*. Brno, 2012. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Mgr. Karel Novotný, PhD.
- [33] LEDVINA, M., A. STOKLASOVÁ a J. CERMAN. *Biochemie pro studující medicíny*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2004, 274 s. (s. 81-84). ISBN 80-246-0851-0.
- [34] OTRADOVCOVÁ, M. *Fytoremediace: Strukturální charakteristiky rostlin pod vlivem těžkých kovů*. Praha, 2010. s. 8-11. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze.
- [35] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 623 s. (s. 328). ISBN 978-80-86659-17-6.
- [36] NĚMEČEK, M., R. VÁCHA. *Hodnocení kontaminace půd v ČR*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, 2010, 3 v. (xxxii, 1773 s.) s. 148. ISBN 80-873-6116-4.
- [37] Petr Soudek – osobní stránky. *Fytoremediace*. [online]. [cit. 2014-04-10]. Dostupné z: <http://www.petrsoudek.eu/fytoremediace.html>

- [38] TOMAŠTÍK, M. *Pohyb těžkých kovů v environmentu*. Zlín, 2010. s. 11-13. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Ing. Roman Slavík, Ph.D.
- [39] WANG K. L., *Heavy metals in the environment*, CRC PRESS, ISBN 978-1-4200-7316-4
- [40] TÖLGYESSY, J. *Chémia, biológia a toxikológia vody a ovzdušia*. 2. vyd. Bratislava: Veda, 1989, 530 s. ISBN 80-224-0034-3.
- [41] BAGDAT, S., E. KSE a M. ALK. Metal Determinations in Olive Oil. *Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions* [online]. InTech, 2012-02-01 [cit. 2014-02-11]. s. 89-96. DOI: 10.5772/29286. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/olive-oil-constituents-quality-health-properties-and-bioconversions/metal-determinations-in-olive-oil>
- [42] SUBRAMANIAN, K. S. Determination of metals in biofluids and tissues: sample preparation methods for atomic spectroscopic techniques. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 1996, vol. 51, issue 3, s. 291-319 [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/058485479501425X>
- [43] MADER, P. a E. ČURDOVÁ. *Eurochem - Professional Chemistry Guide: Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků* [online]. [cit. 2014-02-13]. Dostupné z: [http://www.eurochem.cz/polavolt/anorg/priprava\\_vzorku/mader\\_curdova.htm](http://www.eurochem.cz/polavolt/anorg/priprava_vzorku/mader_curdova.htm)
- [44] RENGGER, F. *Analytická chemie I*. 2. vyd. Pardubice: VŠCHT, 1991, 215 s. (s. 18-29). ISBN 80-851-1336-8.
- [45] HOLZBECHER, Z. *Analytická chemie*. Vyd. 1. Praha: SNTL, 1968, 478 s.
- [46] KOPLÍK, R. *Laboratoř analýzy potravin a přírodních produktů* [online]. Praha [cit. 2014-02-13]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/~kohoutkj/> Rozklad na mokré cestě
- [47] HOENIG, M. Preparation steps in environmental trace element analysis - facts and traps. In *Talanta*. 2001. Vol. 54, no. 6, s. 1021-38.
- [48] BENINCASA, C., J. LEWIS, E. PERRI, G. SINDONA a A. TAGARELLI. Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2007, vol. 585, issue 2, s. 366-370 [cit. 2014-03-06]. DOI:

- 10.1016/j.aca.2006.12.040. Dostupné z:  
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267006024561>
- [49] Stanovení kovů ve vzorcích vod a sedimentů. Univerzita Palackého v Olomouci: *Hydrobiologie* [online]. [cit. 2014-04-10]. Dostupné z:  
[http://hydrobiologie.upol.cz/uploads/files/05\\_metody\\_stanoveni\\_obsahu\\_kovu.pdf](http://hydrobiologie.upol.cz/uploads/files/05_metody_stanoveni_obsahu_kovu.pdf)
- [50] BOHUNSKÁ, J. *Atomová spektrometrie v archeologii*. Olomouc, 2011. s. 11-28. Bakalářská práce. Univerzita Palackého v Olomouci.
- [51] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.
- [52] ČERNOHORSKÝ, T. *Atomová spektroskopie*. 1. vyd. Univerzita Pardubice, 1997, 218 s. ISBN 80-719-4114-X.
- [53] VONDRUŠKA, M. Chemické listy. *AAS stanovení toxických kovů v kosmetických olejích cestou vodné emulze*. 1995, č. 89, 383 - 386.
- [54] Encyklopedie fyziky. *Fotonásobič*. [online]. [cit. 2014-04-17]. Dostupné z:  
<http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/747-fotonasobic>
- [55] LAJUNEN, L. H. *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1992, 241 s. ISBN 08-518-6873-8.
- [56] MESTEK, O. *Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*. Pracovní text pro Podzemní výukové středisko JOSEF. Praha: VŠCHT, 2010, 34 s. (s. 1-8)
- [57] HA, Y., O. G. TSAY a D. G. CHURCHILL. A tutorial and mini-review of the ICP-MS technique for determinations of transition metal ion and main group element concentration in the neurodegenerative and brain sciences. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* [online]. 2011, vol. 142, issue 4, s. 385-398 [cit. 2014-03-26]. DOI: 10.1007/s00706-010-0438-6. Dostupné z:  
<http://link.springer.com/10.1007/s00706-010-0438-6>
- [58] HILL, S. J. *Inductively coupled plasma spectrometry and its applications*. 2. ed. Editor Steve J Hill. Oxford: Blackwell, c2007, xviii, 427 s. Analytical chemistry. ISBN 978-1-4051-3594-8.
- [59] BOBROWSKA-GRZESIK, E. *Chemical elements: compendium*. 1st pub. Český Těšín: 2 Theta, 2013, 223 s. ISBN 978-80-86380-66-7.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AAS	Atomová absorpční spektrometrie.
COLIPA	Evropské sdružení výrobců kosmetiky, parfumerie a toaletních potřeb.
ČOV	Čistírny odpadních vod.
DL	Detekční limit.
ETA	Elektrotermický atomizátor.
FAAS	Plamenová absorpční spektrometrie.
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství (Food and Agriculture Organization).
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration).
GFAAS	Elektrometrická spektrometrie.
ICP–MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.
ICP–OES	Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.
IOM	Institut medicíny (Institute of Medicine).
IRRM	Ústav pro referenční materiály a měření (The Institute for Reference Materials and Measurements).
ISS	Italská zdravotnická instituce (Istituto Superiore di Sanita).
JECFA	Společný výbor expertů FAO/WHO pro potravinářská aditiva (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives).
LA systém	Systém s laserovou ablací.
OES	Optická emisní spektrometrie.
ppb	Miliardtina z celku (Parts Per Billion) ppb = $\mu\text{g}/\text{kg}$ = $\text{ng}/\text{g}$
ppm	Miliontina z celku (Parts Per Million) ppm = $\text{mg}/\text{kg}$ = $\mu\text{g}/\text{g}$
ppt	Biliontina z celku (Parts Per Trillion) ppt = $\text{ng}/\text{kg}$ = $\text{pg}/\text{g}$
RAPEX	Rychlý evropský výstražný informační systém o nebezpečných spotřebitelských výrobcích nepotravinářského charakteru.
ROS	Reaktivní forma kyslíku.

TOF Analyzátor doby letu.

US EPA Agentura pro ochranu životního prostředí (US Environmental Protection Agency).

WHO Světová zdravotnická organizace (World Health Organisation).

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1: Dělení rostlin podle příjmu kovů [25] .....	21
Obr. 2: Schematický diagram reakce rostlin na stres z nedostatku a toxicity stopových prvků: (a) esenciální stopové prvky; (b) neesenciální stopové prvky [25] .....	22
Obr. 3: Schematické znázornění instrumentálního uspořádání AAS, OES a ICP–MS [57] .....	29
Obr. 4: Schematický řez výbojkou s dutou katodou [50] .....	30
Obr. 5: Schéma fotonásobiče [54] .....	31
Obr. 6: Zjednodušené schéma měření FA–AAS [46] .....	32
Obr. 7: Základní schéma optického emisního spektrometru [52] .....	34
Obr. 8: Schéma hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem [56] .....	37
Obr. 9: Atomový absorpční spektrometr GBC 933AA .....	46
Obr. 10: Analyzátor AMA 254 .....	47

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1: Rozdělení těžkých kovů podle nezbytnosti a toxicity [10].....	12
Tab. 2: Obsah rizikových prvků v půdách [29].....	19
Tab. 3: Kritické hodnoty zátěže pro ochranu potravinového řetězce ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny) [36].....	21
Tab. 4: Teploty plamene v plamenovém atomizátoru [51] .....	33
Tab. 5: Skupiny prvků podle jejich meze detekce technikou ICP–MS [57] .....	38
Tab. 6: Srovnání detekčních limitů a pracovních vlnových délek.....	39
Tab. 7: Přehled olejů zakoupených v obchodní síti.....	42
Tab. 8: Nastavený program rozkladu vzorku .....	44
Tab. 9: Nastavený program čištění směsí $\text{HNO}_3$ a $\text{H}_2\text{O}$ v poměru 1 : 2,5.....	44
Tab. 10: Pracovní rozsah koncentrací, pracovní vlnové délky.....	45
Tab. 11: Koncentrace kalibračních standardů včetně naměřených absorbancí.....	45
Tab. 12: Koncentrace kovů stanovených v kaštanovém oleji .....	51
Tab. 13: Koncentrace kovů stanovených ve lněném oleji.....	51
Tab. 14: Koncentrace kovů stanovených v sojovém oleji .....	51
Tab. 15: Koncentrace kovů stanovených v BIO rakytníkovém oleji.....	52
Tab. 16: Koncentrace kovů stanovených v BIO šípkovém oleji .....	52
Tab. 17: Koncentrace kovů stanovených v avokádovém oleji .....	52
Tab. 18: Koncentrace kovů stanovených oleji z pšeničných klíčků.....	52
Tab. 19: Koncentrace kovů stanovených v ricinovém oleji .....	52
Tab. 20: Koncentrace kovů stanovených v BIO olivovém oleji .....	53
Tab. 21: Koncentrace kovů stanovených v BIO dýňovém oleji.....	53
Tab. 22: Koncentrace kovů stanovených v BIO konopném oleji .....	53
Tab. 23: Koncentrace kovů stanovených v makovém oleji .....	53
Tab. 24: Koncentrace kovů stanovených v oleji z kukuřičných klíčků .....	53
Tab. 25: Koncentrace kovů stanovených v třezalkovém oleji .....	54
Tab. 26: Koncentrace kovů stanovených v meruňkovém oleji .....	54
Tab. 27: Koncentrace kovů stanovených v BIO slunečnicovém oleji.....	54
Tab. 28: Koncentrace kovů stanovených v oleji z vinných hroznů vyrobeného extrakcí ....	54
Tab. 29: Koncentrace kovů stanovených v oleji z vinných hroznů.....	54
Tab. 30: Koncentrace kovů stanovených v mokřadkovém oleji .....	55
Tab. 31: Koncentrace kovů stanovených v BIO oleji z černého kmínu .....	55



---

Tab. 32: <i>Koncentrace kovů stanovených v BIO pupalkovém oleji</i> .....	55
Tab. 33: <i>Koncentrace kovů stanovených v mandlovém oleji</i> .....	55
Tab. 34: <i>Koncentrace kovů stanovených v BIO arganovém oleji</i> .....	55
Tab. 35: <i>Koncentrace kovů stanovených v BIO sezamovém oleji</i> .....	56
Tab. 36: <i>Koncentrace kovů stanovených v brusnicovém oleji</i> .....	56
Tab. 37: <i>Koncentrace kovů stanovených v BIO makadamiovém oleji</i> .....	56
Tab. 38: <i>Koncentrace kovů stanovených v hořčičném oleji</i> .....	56
Tab. 39: <i>Koncentrace kovů stanovených v BIO brutnákovém oleji</i> .....	56
Tab. 40: <i>Koncentrace kovů stanovených v BIO lískovém oleji</i> .....	57
Tab. 41: <i>Koncentrace kovů stanovených v palmovém oleji Carotino</i> .....	57
Tab. 42: <i>Koncentrace kovů stanovených v olivovém oleji La Chinata</i> .....	57
Tab. 43: <i>Koncentrace kovů stanovených ve slunečnicovém oleji VÉNUSZ</i> .....	57
Tab. 44: <i>Koncentrace kovů stanovených v olivovém oleji X</i> .....	57
Tab. 45: <i>Koncentrace kovů stanovených v olivovém oleji Y</i> .....	58

**SEZNAM GRAFŮ**

Graf 1: <i>Kalibrační křivka pro stanovení Cr</i> .....	49
Graf 2: <i>Kalibrační křivka pro stanovení Ni</i> .....	49
Graf 3: <i>Kalibrační křivka pro stanovení Zn</i> .....	50
Graf 4: <i>Kalibrační křivka pro stanovení Cu</i> .....	50
Graf 5: <i>Kalibrační křivka pro stanovení Fe</i> .....	51