

Analýza sloučenin rtuti v tresčích játrech a jejich zdravotní rizika

Bc. Petr Dvořáček

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Petr DVORÁČEK**
Osobní číslo: **T090306**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Analýza sloučenin rtuti v tresčích játrech a jejich zdravotní rizika**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Sloučeniny rtuti v potravinách a životním prostředí.
2. Toxicita rtuti.
3. Metody stanovení rtuti v biologických materiálech.
4. Úprava vzorků před analýzou.

II. Praktická část

1. Aplikace metod při stanovení THg, MeHg.
2. Analýza vzorků.
3. Výsledky a diskuze.
4. Hodnocení zdravotního rizika.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. Klouda P., **Moderní analytické metody**, Pavel Klouda, Ostrava 2003.
2. Bencko V., Cikrt M., Lener J., **Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka**, Grada publishing 1995.
3. Houserová D., Kubáň V., Kráčmar S., Sitko J., **Total mercury and mercury species in birds and fish in an aquatic ecosystems in the Czech Republic**, Environ. Poll. 145, 1, 2007, pp. 185-194.
4. Pitter P., **Hydrochemie**, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze 1999.

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 21. března 2011

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Dvořáček Petr

THAEVP

Příjmení a jméno:

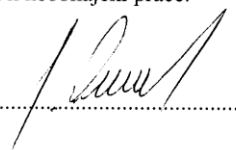
Obor:

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně ...13.5.2011.....



²⁾ 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 nevydělečně 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.

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

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

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

(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

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu celkové rtuti a methylrtuti v konzervovaných tresčích játrech, které jsou volně prodejné v obchodní síti v České republice. K analýze bylo zakoupeno 6 náhodně vybraných vzorků a míra kontaminace byla srovnána s platnou legislativou a bylo provedeno vyhodnocení zdravotního rizika pro spotřebitele. Obsah celkové rtuti byl stanoven na jednoúčelovém atomovém absorpčním spektrofotometru AMA 254 a stanovení methylrtuti bylo provedeno metodou plynové chromatografie s detekcí elektronového záchytu.

Analyzované vzorky vyhovují platné legislativě a zdravotní riziko pro spotřebitele je zanedbatelné.

Klíčová slova: rtuť, methylrtuť, treska, analýza, zdravotní riziko

ABSTRACT

The aim of this diploma is to define the amount of total mercury and methylmercury in canned cod livers that are freely available in supermarkets in the Czech Republic. 6 randomly chosen samples were bought and the level of contamination was compared with current legislative values and an evaluation of the health hazards for consumers was done. The total amount of mercury was determined by a single-purpose atomic absorption spectrophotometer AMA 254 and the methylmercury detection was carried out using the method of gas chromatography with electron capture detection.

The analyzed samples comply with current legislation and the health hazard for consumers is insignificant.

Keywords: mercury, methylmercury, cod, analysis, health risk

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

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 TĚŽKÉ KOVY V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ.....	12
1.1 RTUŤ.....	12
1.1.1 Využití rtuti	12
1.1.2 Sloučeniny rtuti v atmosféře	13
1.1.3 Sloučeniny rtuti ve vodním prostředí	13
1.1.4 Sloučeniny rtuti v půdě	14
1.1.5 Sloučeniny rtuti v živých organismech	14
1.1.6 Cyklus rtuti v ekosystému	15
1.1.7 Methylace rtuti	16
1.1.8 Toxicita rtuti.....	17
1.1.9 Zdravotní rizika konzumace ryb	18
1.1.10 Hygienické limity rtuti pro potraviny	21
2 METODY STANOVENÍ RTUTI V BIOLOGICKÝCH MATERIÁLECH	22
2.1 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU RTUTI	22
2.1.1 Atomová absorpční spektrometrie (AAS).....	22
2.1.1.1 Princip AAS	22
2.1.1.2 Metody AAS	22
2.1.1.3 Technika generování studených par (CV-AAS).....	23
2.1.1.4 Plamenová atomová absorpční spektrometrie (F-AAS)	24
2.1.1.5 AAS s elektrotermickou atomizací (ET-AAS)	24
2.1.1.6 Termooxidační metoda	24
2.1.2 Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)	25
2.1.3 Atomová emisní spektrometrie (AES)	25
2.2 STANOVENÍ OBSAHU METHYLRTUTI MEHG	26
2.2.1 Kapalinová chromatografie	27
2.2.1.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)	27
2.2.2 Plynová chromatografie (GC)	28
2.2.3 Kapilární elektroforéza (CE).....	29
3 CHARAKTERISTIKA RYB.....	30
3.1 ANATOMIE A BIOLOGIE RYB	30
3.2 SLOŽENÍ RYBÍHO MASA	30
3.2.1 Bílkoviny a tuky	31
3.2.2 Vitamíny a minerální látky.....	31
3.3 VÝŽIVOVÁ HODNOTA RYBÍHO MASA	32
4 TRESKOVITÍ.....	33
4.1 TRESKA MERLAN (<i>MERLANGIUS MERLANGUS</i>)	33
4.2 TRESKA TMAVÁ (<i>POLLACHIUS VIRENS</i>)	34
4.3 TRESKA OBECNÁ (<i>GADUS MORHUA</i>).....	34
4.4 TRESKA JEDNOSKVRNNÁ (<i>MELANOGRAMMUS AEGLEFINUS</i>)	35
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	37
5 CÍL PRÁCE	38

6	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU RTUTI	39
6.1	VZORKY	39
6.2	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ.....	46
6.2.1	Jednoúčelový analyzátor AMA 254.....	47
6.2.2	Zpracování vzorku v AMA 254	48
6.2.3	Měřicí cyklus v analyzátoru AMA 254.....	49
7	STANOVENÍ METHYLRTUTI.....	50
7.1	VZORKY	50
7.2	METODIKA PŘI STANOVENÍ METHYLRTUTI V TRESČÍCH JÁTRECH	50
7.3	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ.....	50
7.3.1	Příprava vzorku	51
7.3.2	Analýza na plynovém chromatografu	51
8	VÝSLEDKY.....	53
8.1	OBSAH CELKOVÉ RTUTI VE VZORCÍCH TRESČÍCH JATER	53
8.2	OBSAH METHYLRTUTI VE VZORCÍCH TRESČÍCH JATER.....	56
8.3	HODNOCENÍ ZDRAVOTNÍHO RIZIKA Z KONZUMACE RYB.....	56
8.3.1	Metoda dle Kannana: zdravotní riziko při konzumaci ryb s obsahem celkové rtuti.....	56
8.3.2	Metoda WHO: zdravotní riziko pro MeHg.....	57
	ZÁVĚR	59
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	62
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	65
	SEZNAM OBRÁZKŮ	68
	SEZNAM TABULEK.....	69

ÚVOD

S rozvojem lidské populace a zvyšováním životní úrovně člověka, se do biosféry vlivem antropogenní činnosti dostávají prvky a látky, které negativně ovlivňují životní prostředí a zdraví člověka. Rozvojem průmyslové výroby a spalováním fosilních paliv se do životního prostředí dostávají kovy, mezi které patří i rtuť. Rtuť patří mezi velmi nebezpečný polutant, který se v přírodě vyskytuje v řadě forem, lišící se fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Ve vodním prostředí se rtuť vyskytuje v anorganických reaktivních formách jako Hg^{2+} , HgX_2 , HgX_3^- , HGX_4^- , organických nereaktivních formách jako CH_3Hg^+ , CH_3HgCl , CH_3HgOH a anorganických nereaktivních formách jako HgCN , HgS a Hg^+ , které jsou ve vazbě na síru na humínových látkách. Nejtoxičtější z forem rtuti je methylртуť, která vzniká ve vodním prostředí činností mikroorganismů z anorganické nebo elementární rtuti a má vysokou biokumulační schopnost. Potravním řetězcem se methylртуť dostává přes ryby až k člověku.

Při stanovování celkové rtuti ve vzorcích konzervovaných tresčích jater, která byla zakoupena v běžné obchodní síti, byla použita metoda atomové absorpční spektrometrie a při stanovování methylrtuti ve stejných vzorcích byla použita metoda plynové chromatografie.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 TĚŽKÉ KOVY V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ

Těžké kovy, které se do životního prostředí dostávají přírodními procesy a činností člověka patří mezi znečišťující polutanty, které jsou nebezpečné pro člověka svou toxicitou a ve většině případů i akumulací schopností. Vzhledem k těmto skutečnostem je v zájmu člověka tyto polutanty s použitím nejnovějších vědeckých poznatků z oborů chemie, toxikologie a lékařství sledovat a činit takové kroky, aby nedošlo k ohrožení zdraví a života člověka a nedocházelo k ohrožení životního prostředí.

1.1 Rtuť

Rtuť, chemická značka Hg, je kov, za normální teploty kapalný vysoce toxický. Rtuť patří do skupiny 2b periodického systému, má atomové číslo 80, relativní atomovou hmotnost 200,6, specifickou hmotnost $13,6 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, bod tání $-38,9 \text{ }^\circ\text{C}$, bod varu $356,6 \text{ }^\circ\text{C}$, při teplotě laboratoře je rtuť stříbřitá kapalina s kovovým leskem, oxidační stavy 0, +1, +2 [1]. V elementární formě (Hg^0) se kapalná rtuť vyznačuje značnou těkavostí (tenze par je $2,53 \text{ Pa}$ při $25 \text{ }^\circ\text{C}$) a kromě vzácných plynů je jediným prvkem, jehož páry jsou téměř výhradně jednoatomové [10]. Průměrný obsah rtuti v zemské kůře je asi $0,05 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [5]. Mezi nejvýznamnější sloučeniny patří anorganické reaktivní formy Hg^{2+} , HgX_2 , HgX_3^- , HGX_4^- , organické nereaktivní formy CH_3Hg^+ , CH_3HgCl , CH_3HgOH a anorganické nereaktivní formy HgCN , HgS a Hg^+ , které jsou ve vazbě na síru na huminových látkách. Afinita rtuti k síře a SH-skupinám je hlavním faktorem určujícím biochemické vlastnosti rtuti a jejich sloučenin [1]. Rtuť nepatří mezi biogenní prvky a její výskyt v životním prostředí má negativní důsledky.

1.1.1 Využití rtuti

V dnešní době se rtuť získává pražením sulfidových rud. Celosvětové zásoby se odhadují na 200000 tun, polovina těchto zásob je ve Španělsku [1]. Další velká ložiska se nacházejí v USA, Rusku a Itálii. Jiné formy jako oxidy, chloridy a jodidy jsou vzácnější a pro průmyslové zpracování se nepoužívají. Hlavním zdrojem pro výrobu je rumělka (HgS). Vzniká oxid uhličitý a páry elementární rtuti, které kondenzují na kovovou rtuť [5]. Kovová rtuť je v současnosti nejvíce používána při Castnerově-Kellnerově způsobu výroby chloru a NaOH [10]. Dále se rtuť uplatňuje v elektrochemickém, elektrotechnickém, fotografickém průmyslu, při výrobě barev a laků. Rtuť je součástí zářivek, rtuťových výbojek, které mají vyšší světelnou účinnost než žárovky s wolframovým vláknem. Elementární rtuť

se používá jako náplň do teploměrů, tlakoměrů pro laboratorní použití. V běžném životě se však člověk nejvíce setká se rtutí v zubním lékařství při použití dentálních amalgámů, které jsou slitiny stříbra, mědi a cínu. Sloučeniny rtuti našly uplatnění jako fungicidní přípravky a mořidla osiv, i když se ve vyspělých zemích již nepoužívají

1.1.2 Sloučeniny rtuti v atmosféře

Koncentrace celkové rtuti v atmosféře je $2 \text{ ng} \cdot \text{m}^{-3}$ na severní polokouli a na jižní polokouli je to asi jedna polovina této hodnoty [13]. WHO uvádí následující zastoupení jednotlivých forem rtuti v atmosféře: 75 % elementární rtuť, methylrtuť 25 % a 5 % dvojmocné anorganické sloučeniny rtuti [14]. Rtuť vázaná v částicích se odhaduje na maximálně 10 %, 90 – 90 % je poté v plynném stavu (Hg^0 , Hg^{2+}) [22].

V atmosféře dochází nejčastěji k oxidaci elementární rtuti ozonem, kdy za spolupůsobení hydroxylových radikálů vzniká oxid rtuťnatý. Oxidované formy rtuti (např. Hg^{2+}) jsou z atmosféry odstraněny dešťovými srážkami. Sloučeniny rtuti mohou být dále oxidovány nebo redukovány peroxidem vodíku, chlornanem a organickými peroxy-sloučeninami nebo radikály vyskytujícími se v atmosféře vodou [19]. Rtuť v atmosféře se vlivem větrných proudů dostává daleko od svého zdroje a cykluje na polokouli. Na koncentraci rtuti v atmosféře má vliv průmyslové znečištění v dané oblasti a na množství používání přípravků s přítomností rtuti.

1.1.3 Sloučeniny rtuti ve vodním prostředí

Přirozený obsah celkové rtuti v otevřeném oceánu je $0,5 - 3 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$, v pobřežních vodách potom $2 - 15 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$. V řekách a jezerech je $1 - 3 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$. Speciace rtuti ve vodách závisí na typu vodního ekosystému, nicméně v oceánech převažuje Hg^{2+} ve formě chloridů. Koncentrace methylrtuti závisí na typu vodního ekosystému, nicméně ve sladkovodních ekosystémech se pohybuje v rozmezí 1 – 6 % [14].

Koncentrace rtuti v oceánech stoupá od hladiny směrem ke dnu. Z anorganických rozpuštěných forem rtuti se ve vodě vyskytují především elementární rtuť Hg^0 , dále Hg^{2+} , $[\text{HgOH}]^+$, $[\text{Hg}(\text{OH})_2(\text{aq})]^0$, chlorokomplexy $[\text{HgCl}]^+$ až $[\text{HgCl}_4]^{2-}$ a organokomplexy [2].

Z organických forem se ve vodě vyskytují především methylderiváty a mezi nejvýznamnější patří methylrtuť, která vzniká metylací Hg^{II} za přítomnosti specifických bakterií. Methylrtuť a ostatní organické formy rtuti snadno vstupují do potravního řetězce, neboť jsou pro svou lipofilní povahu snadno vstřebávány a akumulovány v živých organismech.

1.1.4 Sloučeniny rtuti v půdě

Půda a sedimenty vodních toků, moří, oceánů a nádrží patří k těm substrátům, které mají na koloběh rtuti značný význam. Obsah rtuti v sedimentech často poukazuje na celkovou kontaminaci dané lokality lépe než okamžitá koncentrace ve vodě [23].

Průměrný obsah rtuti v půdách se udává mezi $0,02 - 0,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, a závisí na pedogenetických procesech a na množství atmosférických emisí. Obecně se uvádí, že vyšší obsah rtuti je v půdách se zvýšeným obsahem humusu. Zvýšené množství rtuti v půdě lze dále zaznamenat v blízkosti dolů na zpracování rtuti, průmyslových podniků, uhelných elektráren, skládek odpadu a na zemědělských plochách, kde se používají přípravky s obsahem rtuti. V půdách se rtuť vyskytuje ve třech formách. Elementární rtuť Hg, která je těkavá a slabě rozpustná ve vodě. Dvojmocná anorganická forma (Hg^{2+}) se vyznačuje vysokou afinitou k organickým a anorganickým ligandům a methylrtuť (CH_3Hg^+) vyznačující se vysokou perzistencí v životním prostředí. Methylové sloučeniny přítomné v půdách, vzhledem k vyšší tenzi par jsou dobře těkavé a dostávají se do atmosféry a poté se mohou dešťovými srážkami dostávat zpět do půdy a následně do potravního řetězce. Mikrobiální činnost v půdě je ovlivňována různými faktory jako pH, teplota, vlhkost, které následně ovlivňují procesy transformace Hg v půdě.

1.1.5 Sloučeniny rtuti v živých organismech

Tvorba alkylsloučenin rtuti z elementární rtuti a anorganických sloučenin rtuti ve vodách moří i jezer je základním článkem celého potravního řetězce proměny rtuti v přírodě. Methylace probíhá v horních sedimentačních vrstvách dna moří nebo sladkovodních jezer. Vzniklá MeHg je rychle zachycována drobnými vodními živočichy, kteří se v další fázi stávají potravou ryb nebo odumírají a při jejich degradaci se mohou uvolňovat páry dimethylrtuti do vzduchu. V atmosféře může v kyselém prostředí (kyselý déšť) dojít k demethylaci dimethylrtuti při současném vzniku methylrtuti, která může znovu vstoupit do vodního řetězce. V rybím mase dochází ke koncentrování alkylsloučenin rtuti. Ryby jsou významnou složkou potravy především v přímořských oblastech nebo v oblastech velkých jezer. MeHg obsažená v rybím mase tak vstupuje do suchozemského potravního řetězce [1].

Stupeň hromadění rtuti ve tkáních ryb je závislý na koncentraci tohoto prvku v daném prostředí, a to především v sedimentech, na fyzikálně chemických vlastnostech vody, dále na druhu, věku a hmotnosti ryb a na dalších faktorech [4].

Rtuť má jeden z nejvyšších akumulčních koeficientů, který v některých organismech dosahuje hodnot až 10^5 , popř. až 10^6 . Například při otravě rtutí v zálivu Minamata byla zjištěna poměrně nízká koncentrace rtuti v mořské vodě, v rozmezí od 0,1 do 1,0 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, avšak v rybím mase bylo nalezeno rtuti až 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (vtaženo na mokrou hmotnost), což odpovídá akumulčním koeficientům $5 \cdot 10^4$ až $5 \cdot 10^5$ [2].

Mezi nejvíce zasažené lokality v České republice patří vodní nádrž Skalka na Ohři, revír Českého rybářského svazu Ohře 19, č. 431040, kde je v současné době rozhodnutím KHS a Mze ČR zakázána konzumace dravých ryb. Analýza odlovených ryb v tomto revíru v letech 1980 – 1983 poukázala na velmi vysoké hodnoty celkové rtuti ve svalovině, např. u štiky obecné byla naměřena hodnota 7,42 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a hodnoty naměřené u ostatních nedravých i dravých druhů ryb byly rovněž vysoké. Příčinou těchto skutečností bylo vypouštění odpadních vod s přítomností rtuti z továrny na území dřívější SRN do řeky Reslavy, která následně ústí do řeky Ohře na území České republiky a rtuť z odpadních vod se kumulovala ve vodní nádrži Skalka.

1.1.6 Cyklus rtuti v ekosystému

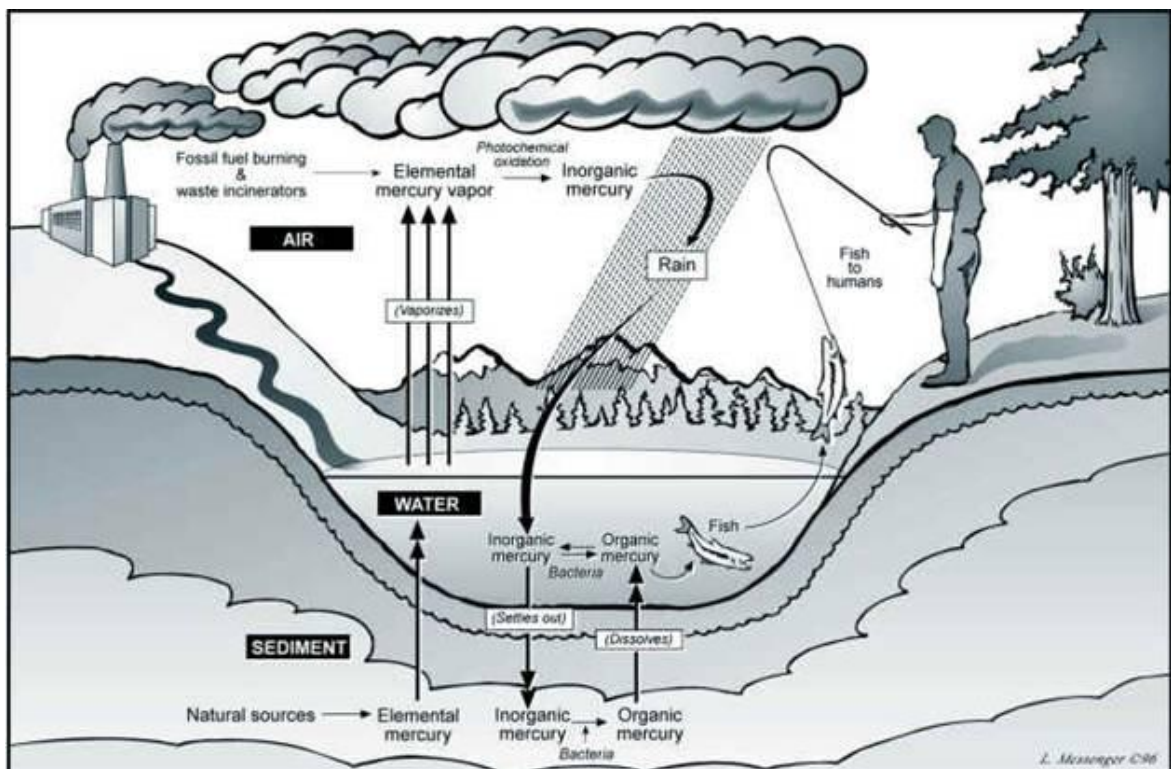
Rtuť se dostává do životního prostředí bez přičinění člověka přírodními procesy jako je vypařování z povrchů vod, půdní erozí a vulkanickou činností. Dalším významným zdrojem je lidská činnost, zejména spalování fosilních paliv, ve kterých se nachází malé množství rtuti.

Hlavní mechanismy koloběhu rtuti v ekosystému představují:

- biologické procesy v půdě a sedimentech, které redukují dvojmocnou rtuť na elementární rtuť
- alkylace, která probíhá v půdě a sedimentech biotickou a abiotickou cestou
- výpar těkavých forem rtuti z oceánů a pevnin do atmosféry
- emise elementárních a dalších forem rtuti lidskou činností
- emise elementárních a dalších forem rtuti z přírodních zdrojů
- rozklad methylrtuti na elementární rtuť v atmosféře
- oxidace elementární formy rtuti na rtuťnatý kationt v atmosféře
- vymytí rtuťnatého kationtu z atmosféry dešťovými srážkami

- suchá depozice jednotlivých forem rtuti z atmosféry na povrch země

Do cyklu rtuti v ekosystému rozvojem civilizace v poslední době velkou měrou zasáhl člověk. Činností člověka se do ekosystému dostává velké množství rtuti, která se stává vzhledem k schopnosti transportu elementární rtuti Hg^0 atmosférou globálním ekologickým problémem. Celkové množství rtuti vstupující do atmosféry se odhaduje na 150000 tun ročně [5].



Obr. č. 1: Schéma cyklu rtuti v přírodě [8].

1.1.7 Methylace rtuti

Rtuť a sloučeniny rtuti ve vodách podléhají chemickým a biochemickým změnám. Mezi tyto změny patří oxidace, redukce a transformace anorganicky vázané rtuti na anorganickou a naopak. Některé mikroorganismy mohou methylovat $Hg(II)$ na sloučeniny methylhydrargyria CH_3Hg^+ a dále až na dimethylhydrargyrium $(CH_3)_2Hg$, které je značně těkavé a může být uvolněno do atmosféry [2]. Methylační pochod je přírodní, biologický pochod biochemicky dobře známý. Methylace rtuti probíhá typicky v anaerobních sedimentech, zaplavených půdách, v mokřinách za přítomnosti velkého množství, převážně methanogenních bakterií rodu *Enterebacter*, *Escherichia*, *Methanobacterium* a sirmých

bakterií rodu *Desulfovibrio* a *Desulfuromonas*. Methylrtuť představuje převažující formu rtuti ve vodních ekosystémech a v tkáních ryb představuje více jak 95 % celkové rtuti [12]. Nejrychleji dochází k methylačním procesům na povrchu sedimentu v kontaktu s vodou, v kyselém prostředí probíhá methylace rychleji.

1.1.8 Toxicita rtuti

Rtuť a její sloučeniny se již dříve používaly jako jedy a měly významné postavení v medicíně. Připomeňme si léčení lues rtuťovými mastmi nebo dezinfekci prováděnou sublimátem (hydrargyrum bichloratum corrovisum, HgCl_2) [7]. Dále docházelo k otravám při těžbě, v hutnictví a při průmyslovém zpracování rtuti. Průmyslové otravy jsou většinou zapříčiněné vdechováním rtuťových par, protože rtuť ve formě páry snadno proniká sliznicemi do plic člověka. Toxicita rtuti je závislá na formě jejích sloučenin a na délce expozice. Rtuť má jeden z nejvyšších akumulčních koeficientů, který v některých organismech dosahuje hodnot až 10^5 , popř. až 10^6 [2].

Anorganické sloučeniny rtuti jsou méně toxické než organické sloučeniny a platí, že jednomocné sloučeniny rtuti jsou méně toxické než dvoumocné sloučeniny rtuti, neboť jsou méně rozpustné ve vodě. Mezi nejtoxičtější patří chlorid rtuťnatý, sublimát, jehož smrtelná dávka je asi 01, až 0,5 g [11].

Nejméně toxická je elementární rtuť, neboť obtížně vniká do organických tkání a po vyloučení z tkání nezanechává obvykle žádné následky. Mnohem nebezpečnější jsou však její výpary, které jsou těžší než vzduch a mohou se hromadit v níže položených špatně větratelných místech. Při akutní otravě dochází ke dráždění nosní a ústní dutiny a plicními alveolami je rtuť transportována do krevního oběhu a orgánů těla. Dále nastávají poruchy trávicího ústrojí, neurologické patologické změny a poruchy močového ústrojí. Při chronických otravách dochází k poškození ledvin s neurologickými změnami. U nemocných lidí se projevuje nervozita, nespavost, třes. Obsah rtuti v krvi se u nezatížených osob pohybuje v Evropě v hodnotách $< 5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, nalezeny však byly i mnohem vyšší hodnoty – např. u lidí, kteří často konzumují ryby, až $40 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [7].

Nejtoxičtější formou rtuti je methylrtuť, která vzniká methylováním anorganických sloučenin rtuti: Vzhledem k tomu, že je rozpustná v tucích dostává se potravním řetězcem přes vodní živočichy až k člověku a během své cesty se akumuluje v živých tkáních. Methylrtuť je živým organismem velmi dobře vstřebávána a má schopnost přecházet přes hematoencefalickou bariéru a placentu. Mezi nejznámější případ otravy methylrtutí po konzumaci

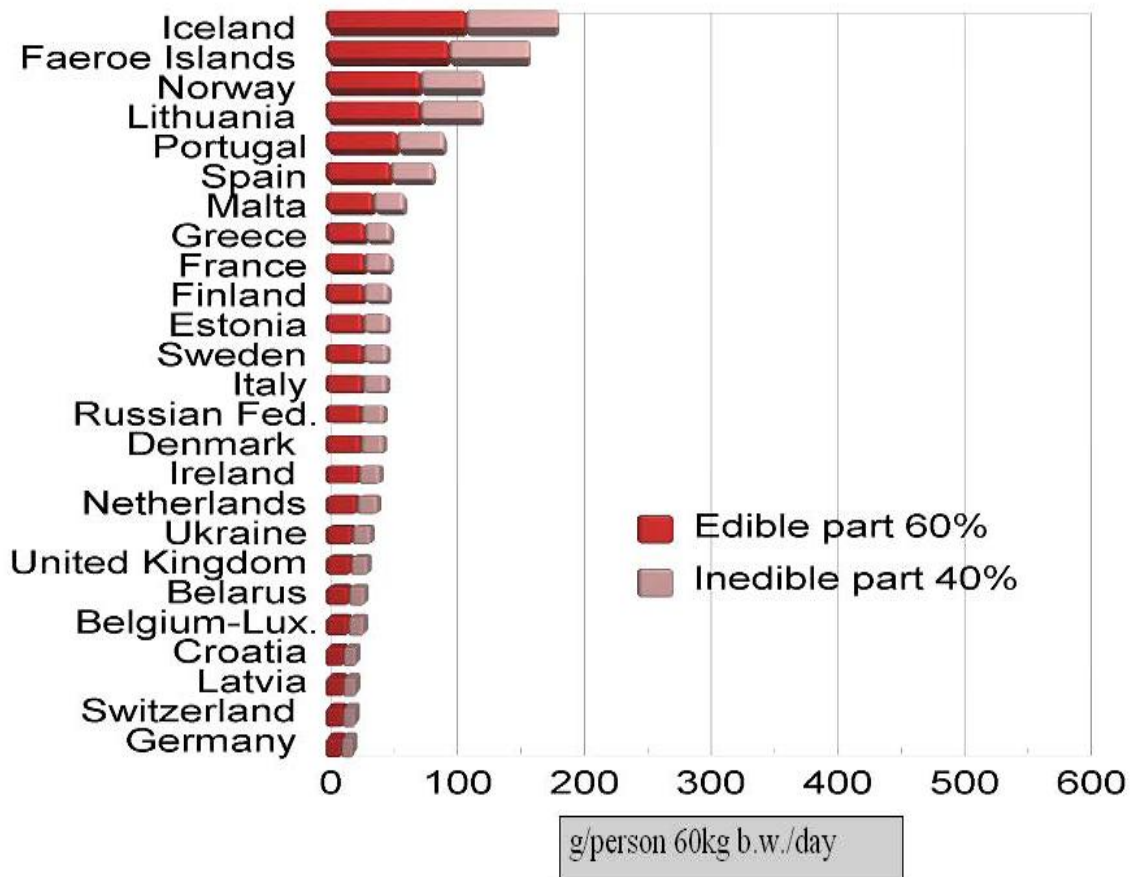
vodních živočichů došlo v polovině 50. let minulého století v Japonsku v zátocě Minamata, kde chemická továrna Chisso Corporation vypouštěla v odpadních vodách do moře rtuť. Nejhůře byli postiženi rybáři, kteří konzumovali vodní živočichy ulovené v zátocě Minamata. U nich se projevovali poruchy nervového systému s těžkým poškozením mozku, postižení mluvili nesrozumitelně a upadali do bezvědomí a u některých nastala smrt.

1.1.9 Zdravotní rizika konzumace ryb

Ryby mají velký význam pro výživu člověka. Jsou významným zdrojem nenasycených mastných kyselin skupiny omega-3, kvalitních živočišných bílkovin, vitamínů A, D a stopových prvků F, Se, I. Vzhledem k tomu, že Česká republika není přímořský stát, tak spotřeba rybího masa je ve srovnání s přímořskými státy malá. Podle zjištění Českého statistického úřadu byla v roce 2008 spotřeba rybího masa v ČR 5,9 kg na obyvatele. V České republice byla zjištěna koncentrace rtuti u kapra $0,01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [5].

Vzhledem k tomu, že kapr je u nás nejvíce chovaných druhem ryby, nepředstavuje jeho konzumace zvýšené riziko pro obyvatelstvo. Obecně je známo, že mořské ryby v sobě kumulují větší množství sloučenin rtuti. V mase tuňáků byla zjištěna koncentrace MeHg $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. V mase ryb žijících ve vodách kontaminovaných rtutí dosahují koncentrace MeHg hodnot vyšších než $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Koncentrace rtuti v mase suchozemských zvířat je nižší, zřídka přesahuje $50 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [1]. V některých přímořských oblastech zatížených kontaminací rtutí může mít větší konzumace ryb zvýšené riziko pro obyvatelstvo.

Tab. č. 1: 25 států Evropy s nejvyšší spotřebou ryb na osobu (podle FAOSTAT, 2004). Pro porovnání jsou uvedeny i hodnoty publikované EU ve zprávě SCOOP. ČR má spotřebu ještě nižší [24].



SCOOP (2003)	Fishmeat
EU	av g/pers/day
Portugal	40
Greece	36
France	30
Finland	53
Sweden	30
Italy	32
Denmark	23
Ireland	20
Netherlands	10
United Kingdom	14
Belgium-Lux.	13
Germany	16

Tab. č. 2: Výsledky analýz vzorků ryb (název odpovídá obecnému popisu v databázi) na obsah rtuti provedené kontrolními organizacemi pro potraviny (SVS, SZPI, OOVZ v posledních 3 letech) [24].

Vzorek	N	Průměrný obsah celkové rtuti v ug·kg ⁻¹	Směrodatná odchylka v ug·kg ⁻¹
bolen	2	593	nd
parma	1	569	nd
ouklej	1	403	nd
plotice	4	179	175
karas	11	118	212
candát	28	109	116
štika	17	100	51
jelec	5	98	53
perlín	1	92	nd
tuňák	52	84	73
lipan	2	61	nd
cejn	82	60	101
platýz	1	59	nd
okoun	23	57	61
tolstolobik	12	56	27
ostroretka	2	55	nd
makrela	60	50	30
lín	106	44	58
marinované ryby	40	44	31
jiné ryby	149	43	48
siven	7	42	20
sleď	36	38	32
konzervy jiné	75	37	29
pstruh	106	36	19
kapr	486	35	41
sardel	1	32	nd
filé	30	32	29
losos	9	29	15
amur	9	24	39
sumec	2	23	nd
sardinky	47	21	24
šproty	15	15	6
mořské plody	7	12	15
tresčí játra	17	11	4
Celkem vzorků		1446	

1.1.10 Hygienické limity rtuti pro potraviny

Hygienické limity rtuti v potravinách upravuje pro státy Evropské unie Nařízení ES 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách.

Pokud jde o rtuť, Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) přijal dne 24. února 2004 stanovisko k obsahu rtuti a methylrtuti v potravinách a schválil prozatímní tolerovatelný týdenní příjem $1,6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti. Methylrtuť je chemická forma, jež působí z hlediska zdraví největší obavy a může tvořit více než 90 % celkového množství rtuti obsažené v rybách a produktech rybolovu. S ohledem na výsledek úkolu vědecké spolupráce dospěl Evropský úřad pro bezpečnost potravin k závěru, že obsah rtuti v jiných potravinách než jsou ryby a produkty rybolovu působí z hlediska zdraví menší obavy. V potravinách s výjimkou ryb a produktů rybolovu se rtuť vyskytuje především v jiných formách než methylrtuť, přičemž tyto jiné formy rtuti jsou považované za méně rizikové [16].

Toto nařízení ES udává jako maximální limit celkové rtuti u produktů rybolovu a svaloviny ryb $0,50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a u vyjmenovaných druhů ryb maximální limit $1,0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

2 METODY STANOVENÍ RTUTI V BIOLOGICKÝCH MATERIÁLECH

2.1 Stanovení celkového obsahu rtuti

K stanovení celkového obsahu rtuti se nejčastěji používá atomová absorpční spektrometrie AAS, atomová emisní spektrometrie AES a atomová fluorescenční spektrometrie AFS. Při vlastním stanovování je nutné převést všechny formy rtuti do stejné, organické se převádějí do stabilní anorganické formy Hg^{2+} , která je pak stanovena přímo, nebo je redukována na atomární rtuť. Chemické formy rtuti se oxidují silnými kyselinami nebo v kyselém prostředí oxidačními činidly.

2.1.1 Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

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

2.1.1.1 Princip AAS

Podstatou metody je absorpce vhodného elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu. Absorbováno bude záření, které splňuje podmínku $E_1 - E_0 = hc/\lambda_1$, $E_2 - E_0 = hc/\lambda_2$ atd., kde E_0 je energie základní hladiny a E_1 , E_2 atd. jsou energie excitovaných hladin. Sleduje se absorbance $\log \Phi_0/\Phi$, která je podle Lambertova-Beerova zákona přímo úměrná koncentraci stanovovaného prvku. S výhodou je možné použít metody kalibrační křivky, která je lineární [9]. AAS je velmi citlivá metoda stanovování kovových prvků nízkých koncentrací.

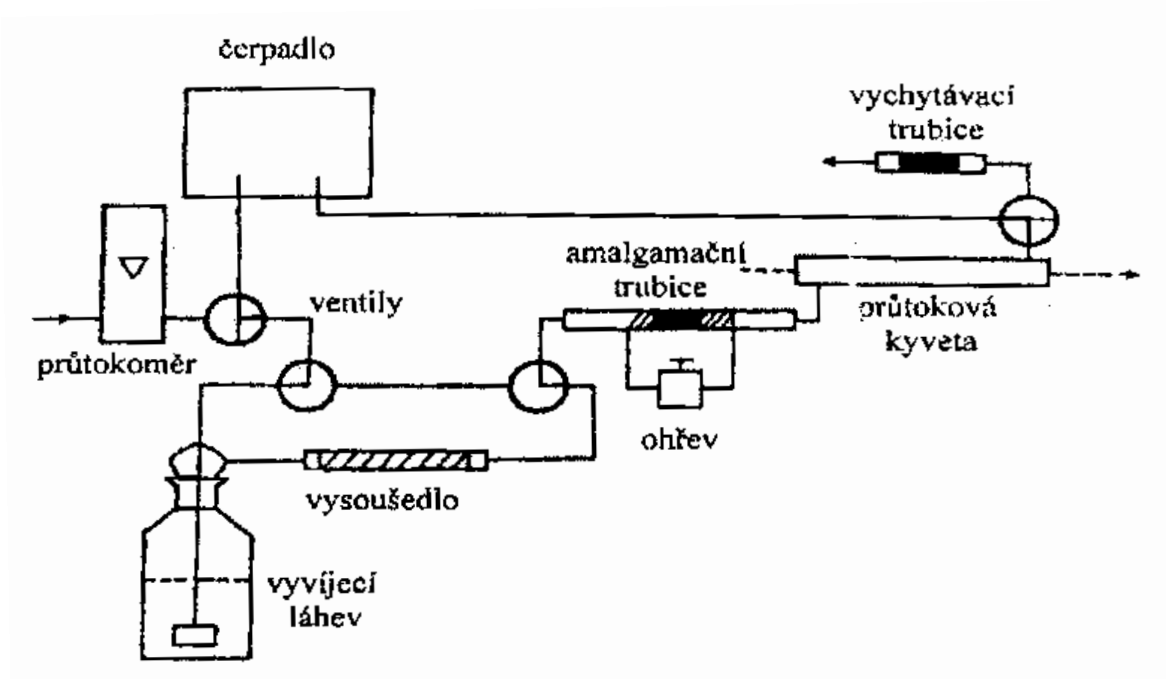
2.1.1.2 Metody AAS

V dnešní době se používá několik variant AAS, které se odlišují technikou provedení a způsobem atomizace stanovovaných prvků. Mezi tyto varianty patří technika generování studených par (CV-AAS), plamenová atomová absorpční spektrometrie (F-AAS), ET-AAS, která využívá elektrotermickou atomizaci prvků a termooxidační metoda.

2.1.1.3 Technika generování studených par (CV-AAS)

Generování plynné elementární rtuti, technika studených par, je umožněné dostatečně vysokou tenzí par elementární rtuti (2,53 Pa při 25°C). Nejprve je veškerá rtuť převedena na Hg^{2+} pomocí směsi HNO_3 a H_2SO_4 , spolu s oxidovadlem, nejčastěji KMnO_4 , případně $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, H_2O_2 nebo chloridem bromným BrCl .

Redukce Hg^{2+} na páry elementární rtuti se provádí chloridem cínatým, v kyselém prostředí, formaldehydem v alkalickém prostředí, kyselinou askorbovou (pH = 11), cínatanem sodným, hydrazinem nebo tetrahydridoboritanem sodným. Vzniklé páry rtuti jsou z reakčního roztoku vypuzeny nosným plynem (vzduch, Ar, N_2) a přes sušící vrstvu ($\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, případně silikagel nebo konc. H_2SO_4) vedeny do speciálně uzavřené průtokové absorpční kyvety, která je umístěna v optické ose spektrometru. V případě velmi nízkých koncentrací lze použít prekoncentraci. Existuje několik používaných způsobů zkoncentrování, zachycení par rtuti v kyselém roztoku KMnO_4 , zachycení na vrstvě aktivního uhlí nebo amalgamací na Au, Ag, Pd, Pt. K amalgamací na Au, Ag dochází při teplotách 20-100 °C, k uvolnění pak při 500-600 °C pro Au a 350 °C pro Ag. Stanovení ruší SO_3^{2-} , S^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Br^- , I^- , SCN^- , soli Pd, Pt, Au, Ag, Cu, a Zn. Uspořádání aparatury může být dávkové, kontinuální nebo lze užít průtokový injekční (FI) systém [20]. CV-AAS je vysoce selektivní metoda s dobrou citlivostí.



Obr. č. 2: Schéma generování studených par rtuti se zkoncentrováním v amalgamační trubici [20].

2.1.1.4 Plamenová atomová absorpční spektrometrie (F-AAS)

Plamená atomová absorpční spektrometrie využívá k atomizaci plamene realizovaného směsí oxidovaadla a paliva. Palivem bývá nejčastěji acetylen, popřípadě vodík, oxidovadlem pak vzduch ($T_{\max} = 2500\text{K}$) nebo oxid dusný ($T_{\max} = 2900\text{K}$). Mezi hlavní nedostatky patří fakt, že je vzorek silně naředěn spalnými plyny (200-400 tisíckrát) a že se pouze nepatrný podíl analyzovaného vzorku skutečně využije pro analýzu [21]. F-AAS, na rozdíl od atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ET-AAS) má poměrně malou citlivost [19].

2.1.1.5 AAS s elektrotermickou atomizací (ET-AAS)

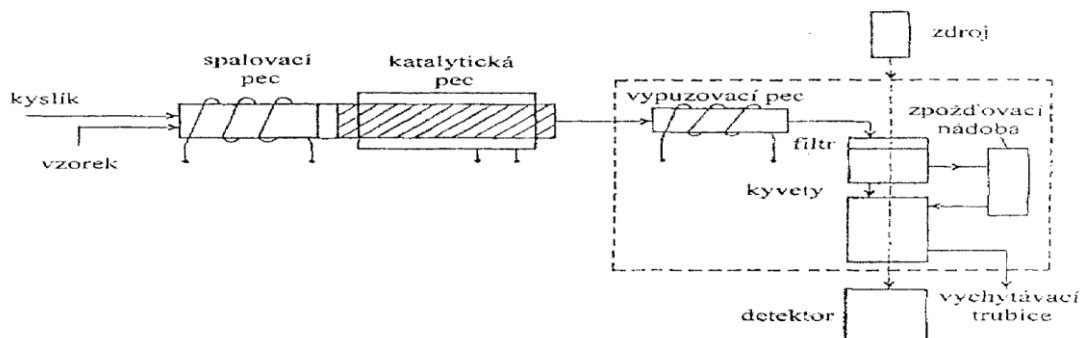
Elektrotermický atomizátor je zařízení vyhřívané na potřebnou teplotu průchodem elektrického proudu. Kromě nejčastěji používaného odporového ohřevu atomizátoru se využívá ohřev indukční a kapacitní [19].

Při dávkování pevných vzorků o hmotnosti od 0,1 do 10 mg se používají speciální lodičky, které se následně zasunují s vzorkem do atomizátoru. Při dávkování kapalných vzorků se v současné době používají automatické dávkovače s teflonovými kapilárami, které umožňují dávkovat i malé objemy vzorků kolem 10 μl . Po zavedení vzorku do atomizátoru dochází průchodem elektrického proudu k atomizaci vzorku a vzniku volných atomů. Teplota atomizace se programuje podle druhu analitu. Vzorek je poté z atomizátoru odváděn konvekcí, nebo difúzí do analyzátoru. Při stanovení rtuti se používají kyvety potažené tenkou vrstvou zlata.

2.1.1.6 Termooxidační metoda

Pro stanovení THg se v České republice používá jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr AMA 254 (Advanced Mercury Analyser). Přístroj je určen pro přímé stanovení obsahu rtuti v pevných a kapalných vzorcích bez potřeby chemické předúpravy vzorku. Tento spektrofotometr využívá principu generování par kovové rtuti s následným zachycením a obohacením na zlatém amalgamátoru. Analyzovaný vzorek, který je umístěn na spalovací lodičce se ve spalovací peci spálí v proudu kyslíku při teplotě 850 až 900 °C. Rozkladné procesy hoření procházejí přes katalyzátor, kde jsou zachycena látky kyselé povahy. Rozkladné produkty jsou vedeny přes amalgamátor, kde je selektivně zachycena rtuť. Po zkoncentrování na amalgamátoru je rtuť vypuzena rychlým ohřevem do tzv. tan-

demových kyvet, kde je měřena absorbance par rtuti. Absorbance rtuti je měřena při vlnové délce 253,65 nm a mez detekce přístroje je 0,01 ng Hg.



Obr. č. 3: Schéma analyzátoru rtuti AMA-254 [20].

2.1.2 Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)

Atomová fluorescenční spektrometrie sleduje emisi záření plynnými atomy, které byly excitovány absorpcí elektromagnetického záření. Fluorescenční spektra jsou velmi jednoduchá, protože excitace čárovým zdrojem je selektivní, detekce nevyžaduje sofistikovaný optický systém [9]. Atomová fluorescence se hodnotí podle velikosti fluorescenčního záření Φ_F , které je závislé na zářivém toku primárního zdroje a na kvantovém výtěžku Φ_F fluorescence. Při analýze rtuti se nejčastěji používá metoda studených par, která je selektivní s nízkou mezí detekce.

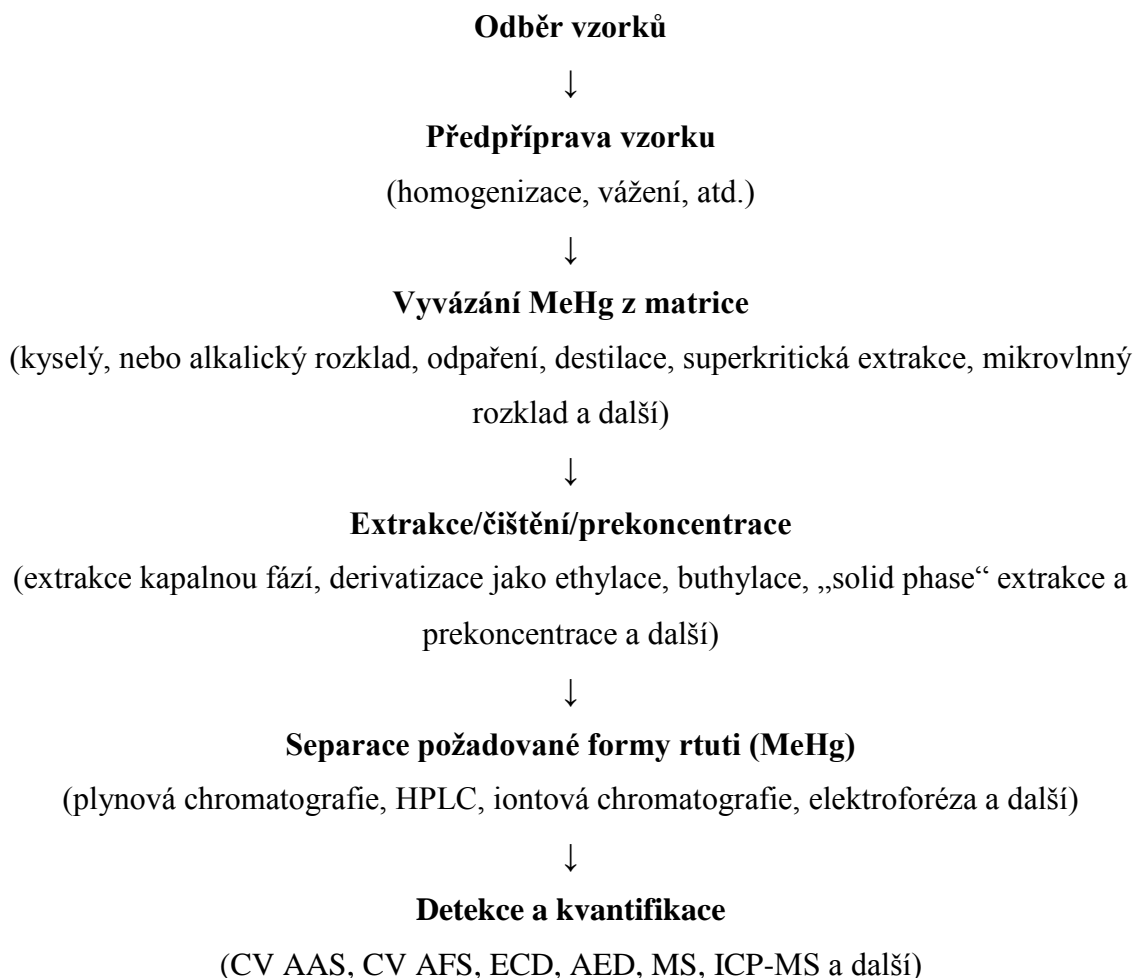
2.1.3 Atomová emisní spektrometrie (AES)

Atomová emisní spektrometrie je založena na sledování emise elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu [9]. Jedná se o velmi citlivou metodu, která detekuje daný vzorek podle molekulových hmotností. Vzhledem k nebezpečí slučování prvků se zavádí kolizní plyn, který slučování prvků ruší. Vzorek se převádí do plynné fáze, ve které nastane atomizace s excitací atomů. Jako budící zdroj se používá jiskrový výboj, kde se dosahuje teplot až 12000 K a používá se hlavně v kvantitativní analýze. Při použití obloukového výboje jako budícího zdroje se dosahuje teplot do 8000 K a pro svou citlivost se používá ke stanovení stopových prvků. Jako poslední budící zdroj se používá indukčně vázaný plazmový výboj (ICP), kde dochází v prostředí argonu k teplotě až 10000 K a vzhledem k tomu, že umožňuje analyzovat velmi malé vzorky s vysokou citlivostí je dnes

nejvíce používaná. Po atomizaci prvků nastává v optickém spektrometru k rozložení budícího zdroje na jednotlivé spektrální čáry a k měření jejich intenzit. AES se používá ke kvalitativní i kvantitativní analýze. Při kvalitativní analýze se srovnávají spektra neznámého vzorku se standardním vzorkem a při kvantitativní analýze se pracuje metodou kalibrační křivky.

2.2 Stanovení obsahu methylrtuti MeHg

Metody stanovení methylrtuti v rybách, ale i dalších environmentálních matricích, jako jsou sedimenty, plankton, voda, atd., jsou poměrně dobře rozpracované a na toto téma byla publikována řada prací. Metody stanovení MeHg spadají do oblasti tzv. speciálních analýz, které se zabývají stanovením jednotlivých forem daných prvků. Speciální analýza ve srovnání se stanovením celkových obsahů kovů s sebou nese zvýšené nároky jak na přípravu vzorků, tak i na samotnou analýzu včetně nároků na sestavu analytické instrumentace. Mezi nejpoužívanější analytické metody pro stanovování methylrtuti patří kapalinová chromatografie, plynová chromatografie a kapilární elektroforéza.



Obr. č. 4: Základní kroky speciální analýzy [14].

2.2.1 Kapalinová chromatografie

V kapalinové chromatografii je mobilní fází kapalina. Na rozdíl od plynové chromatografie rozhodují o separaci složek vzorku nejen jejich interakce se stacionární fází, ale i velmi výrazně i použitá mobilní fáze. Během separace se analyt rozděluje mezi mobilní a stacionární fází. Čas jaký stráví v jedné nebo druhé fází, závisí na afinitě analytu ke každé z nich [9]. Klasická kapalinová chromatografie (nízkotlaká, sloupcová) se stále používá pro separace jednoduchých směsí, pro separaci složitých směsí je tato metoda prakticky nepoužitelná. K těmto účelům se používá vysokoúčinná kapalinová chromatografie HPLC.

2.2.1.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Mezi výhody HPLC patří zejména široká oblast použitelnosti: lze analyzovat ionty, látky polární i nepolární, málo těkavé, tepelně nestabilní i vysokomolekulární [26].

V klasické kapalinové chromatografii velikost částic byla v intervalu od 100 μm do 200 μm , přičemž velikost částic nemusela být přesně definovaná. U HPLC musí být velikost částic přesně definovaná a i když povrchové vlastnosti částic při menších rozměrech závisí na jejich průměru, rozsah velikostí částic musí být nejužší. V praxi se používají chromatografické kolony s velikostí částic 3 μm , 5 μm , 7 μm , 10 μm nebo 20 μm [27].

Hlavní výhodou použití HPLC pro analýzu rtuti je jednodušší příprava vzorku, která nevyžaduje derivatizaci a vlastní separace probíhá při laboratorní teplotě.

Separace chemických forem rtuti se provádí nejčastěji chromatografií s reverzním systémem fází využívající chelatační, případně ion-párových interakcí mezi modifikátorem mobilní fáze a analyty na jedné straně a hydrofobních interakcí mezi modifikátorem mobilní fáze a stacionární fáze na straně druhé. Modifikátory vytváření stabilní komplexu se sloučeninami rtuti a pomáhají tak překonat významné rozdíly v chemických i fyzikálních vlastnostech jednotlivých forem rtuti a tím umožňují stanovit diametrálně odlišné sloučeniny v jednom separačním kroku [19].

Nejpoužívanější chelatační činidla jsou:

- L – cystein
- 2 – sulfanylethanol
- směs 2 - sulfynyletanolu s L – cysteinem

- 1,5-difenyl-3 thikarbazon
- diethyldithiokarbamát sodný DDTC
- pyrrolidin1-yl-dithiokarbamát sodný APDC
- thiomocovina
- sulfosalicylová kyselina

Nejpoužívanější ion-párová činidla jsou směsi tetrabutylamonium-bromidu s NaCl.

Před vlastním HPLC stanovením se často provádí prekoncentrace chemických forem rtuti extrakcí na tuhé fázi (SPE) [19].

2.2.2 Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie je metoda na separaci směsi látek v plynném skupenství na základě různé afinity k nepohyblivé fázi v chromatografické koloně. Separované látky nesmí být termolabilní a musí se nacházet aspoň částečně v plynné fázi při pracovní teplotě chromatografické kolony, což limituje použití plynové chromatografie. Nepohyblivou fází, která je zakotvená na inertním nosiči, může být kapalina s nízkým parciálním tlakem při teplotě separace, nepohyblivou fází může být i absorbent. Pohyblivou fází je nejčastěji dusík, hélium, argon, případně vodík [27]. Plynová chromatografie se používá pro široký rozsah koncentrací od určení hlavních složek až k určení stopových množství.

Stanovení analytů vychází z vyhodnocení elučního profilu. Zatímco výška profilu v kterémkoli okamžiku odpovídá okamžitému množství analytu v detektoru, odpovídá plocha elučního profilu celkovému množství analytu. V analytické metodě plynové chromatografie se využívají parametry výška a plocha ke stanovení, přičemž oba jsou závislé na stupni exponenciální modifikace elučního profilu [27].

Při separaci chemických forem rtuti pomocí GC je důležité převést všechny analyty chemickou derivatizací na formy těkavé a termicky stabilní. Derivatizaci chemických forem rtuti před GC analýzou se provádí těmito činidly:

- alkylací Grignarovými činidly v nevodném prostředí, např. BuMgCl
- alkylací tetraalkylboritany ve vodném prostředí pH 5-6, např. NaBEt_4 , NaBPh_4 , NaPr_4
- tvorbou hydridů s KBH ve vodném prostředí [19].

Jako detektor využívaný při analýze methylrtuti se u plynové chromatografie používá detektor elektronové ionizace MS, neboť je vysoko selektivní a snižuje zbytkové nejistoty

identifikace. Dále se používá detektor elektronového záchytu ECD u kterého se však ne-provádí derivatizace alkylačními činidly.

2.2.3 Kapilární elektroforéza (CE)

Kapilární elektroforéza patří mezi elektromigrační metody, která se používá pro separaci anorganických a organických látek a stanovení iontů, které se liší svou molekulovou hmotností, tvarem a nábojem a proto se používá ke stanovení methylrtuti. Princip spočívá v tom, že kulová částice o poloměru r a náboji z je hnána gradientem elektrického pole mezi dvěma elektrodami směrem k elektrodě s nábojem opačného znaménka a protože se pohybuje v kapalině o viskozitě η , je současně brzděna silou úměrnou koeficientu tření podle Stokesova zákona: $R = 6\pi\eta r$. Mezi elektrody se aplikuje vysoké napětí v rozmezí 10 až 30 kV. Separace látek v CE se provádí v kapiláře z taveného křemene (fused silica capillary), která má vnější průměr 375 μm a vnitřní průměr 25, 50, 75 nebo 100 μm [26]. Kapilára prochází přes fotometrický detektor. Poloha píků určuje kvalitu a plocha nebo výška píků kvantitu. Mezi nejčastěji používané techniky u CE patří MECC a FSCE. MECC je micelární elektrokinetická kapilární chromatografie, která se používá k separaci neutrálních sloučenin a využívá povrchové aktivity micel. FSCE je kapilární elektroforéza ve volném roztoku, založená na rozdílech v náboji analytu.

Při použití CE je u sloučenin rtuti třeba provést komplexi vhodnými ligandy jako cystein, kyselina merkaptooctová a glutathion. Při analýze sloučenin rtuti se obvykle používá UV detektor, nebo pro zlepšení detekčních limitů je aplikována technika „field amplified sample stacking“ nebo SPE prekoncentrace komplexů rtuti a cysteinu na C18 koloně a následnou piezoelektrickou detekcí [19]. Dále se aplikuje detekce ampérometrická s velkou citlivostí na velmi nízké koncentrace.

3 CHARAKTERISTIKA RYB

Ryby patří mezi důležité složky výživy člověka na zemi. V přímořských státech se jedná o snadno dostupný a levný zdroj bílkovin, vitamínů a minerálních látek. Rybí maso je lehce stravitelné a oproti jiným masům hospodářských zvířat obsahuje velké množství nenasycených a polynenasycených mastných kyselin, které mají pozitivní vliv na zdraví člověka. Vlivem nadměrného rybolovu však v některých oblastech dochází k výraznému snížení množství ryb a druhového zastoupení, které může mít za následek ohrožení biodiverzity v mořích a oceánech. Sladkovodní rybářství v Evropě a u nás je závislé především na chovu v rybnících a speciálních chovných zařízeních. Rybníkářství a především chov kapra je u nás na velmi vysoké úrovni a označení Český kapr je registrovaná ochranná známka Rybářského sdružení ČR.

3.1 Anatomie a biologie ryb

Ryby patří zoologicky do třídy paprskoploutví (Actinopterygii), která zahrnuje kolem 28500 druhů. Podle druhu vody kde ryby žijí, je rozdělujeme na mořské, sladkovodní a tažné, které žijí v obou typech vod a ryby brakických vod. Základní tvar těla je vřetenovitý, ale závisí na způsobu života a na druhu vodního prostředí. Tělo je kryté kůží a ve většině případů kůži překrývají šupiny. Kostra je více či méně zkostnatělá. K pohybu používají ryby ploutve, které jsou párové i nepárové. Trávicí soustava začíná ústy, u některých druhů ryb jsou v tlamě vyvinuty zuby. Jako vychlípenina jícnu je vyvinutý plynový měchýř, který slouží rybám k usnadnění pohybu. U kaprovitých ryb není vytvořen anatomicky ani fyziologicky žaludek a trávení probíhá pouze ve střevech. Ryby požívají velmi různou potravu, ryby bentofágní požívají zvířenu dna, ryby planktofágní se živí zooplanktonem nebo fytoplanktonem a ryby dravé požívají jiné druhy ryb, obojživelníky apod. Většina druhů ryb se rozmnožuje jikrami s vnějším oplodněním.

3.2 Složení rybího masa

Mezi základní složky rybího masa stejně jako u masa jiných hospodářských zvířat patří bílkoviny, tuky, vody, minerální látky a vitamíny. Vlastní složení rybího masa závisí na mnoha faktorech, jako je druh ryby, stáří, velikost, pohlaví, roční období a na životním prostředí, kde ryba žije.

3.2.1 Bílkoviny a tuky

Obsah bílkovin ve svalovině ryb se pohybuje v rozmezí 15 – 20 %, které jsou velmi kvalitní. Bílkoviny jsou plnohodnotné a vzhledem k tomu, že obsahují málo pojivových bílkovin a neobsahují elastin, tak jsou lehce stravitelné a snadno kulinářsky upravitelné. Trávicí trakt dokáže strávit rybí bílkovinu do 3 hodin.

Obsah tuku v rybí svalovině je velmi variabilní. Kromě svaloviny se tuk u některých druhů ryb ukládá pod kůži, kde plní termoizolační funkci. Naopak většina málo tučných ryb má zásobu tuku uloženou v játrech, např. játra treskovitých ryb obsahují 40 – 60% tuku [3]. Podle obsahu tuku ve svalovině rozdělujeme ryby na libové, středně tučné a tučné. Ryby libové, do kterých řadíme např. candáta, štika, tresku obsahují ve svalovině méně než 2 % tuku. Ryby středně tučné, do kterých řadíme např. ryby lososovité, většinu kaprovitých ryb a platýsovitých obsahují ve svalovině 2 – 10 % tuku. Ryby tučné, do kterých řadíme např. úhoře, makrelu, sledě, tolstolobika, tolstolobce obsahují ve svalovině více než 10 % tuku. Rybí tuk je velmi ceněný pro své specifické složení. Obsahuje vysoké množství nenasycených a polynenasycených mastných kyselin. Jedná se především o polynenasycené mastné kyseliny řady ω -3, zejména o kyselinu eikosapentaenovou a kyselinu dekosahexaenovou, které patří mezi preventivní látky před kardiovaskulárními onemocněními, chrání srdce a cévy. Množství polynenasycených mastných kyselin v rybách závisí na druhu potravy, neboť rybí organismus tyto kyseliny neumí syntetizovat a přijímá je pouze v potravě. S obsahem tuku nepřímo závisí i obsah vody v rybách. Ryby tučnější obsahují na úkor tuky méně vody a ryby libové obsahují vody více. Podle druhu ryb se obsah vody pohybuje od 50 do 70 %.

3.2.2 Vitamíny a minerální látky

Důležitou součástí rybího masa jsou vitamíny a minerální látky, které představují 1 až 2 % požitelného podílu. V tučích rozpustné jsou v rybím masu obsaženy vitamíny A a D. Zdrojem vitamínu A jsou především rybí játra, ale ukládá se i ve svalovině. Vitamín D se ukládá především ve svalovině. Ze skupiny ve vodě rozpustných vitamínů, jsou v rybím masu obsaženy vitamíny řady B. Jedná se o vitamíny B₂, B₆, B₁₂ a kyselinu nikotinovou.

Z minerálních látek jsou v rybím masu zastoupeny především vápník, draslík, fosfor, jód a selen. Vápník a fosfor se nachází především v kostech ryb, proto se doporučuje konzervované ryby konzumovat i s kostmi. Jód je pro výživu člověka nepostradatelný pro

správnou funkci štítné žlázy a nejvyšší množství se nachází v mořských rybách až 190 mg v 100 g svaloviny, oproti tomu sladkovodní ryby dobrým zdrojem jódu nejsou. Selen se řadí mezi antioxidanty, zvyšuje odolnost lidského organismu, v rybách se vyskytuje v množství od 20 do 50 µg v 100 g svaloviny.

3.3 Výživová hodnota rybího masa

V souvislosti s rozvíjejícím se životním stylem se kontumace rybího masa dostala do popředí s jejími jednoznačnými výhodami před masem hovězím a vepřovým masem, které se u nás konzumuje ve větším množství než maso rybí. Výživová hodnota rybího masa vychází z obsahu bílkovin, tuku, minerálních látek a vitamínů. Specifickou vlastností rybího masa jsou kratší a jemně strukturovaná svalová vlákna s malým množstvím vaziva. Rybí maso je lehce stravitelné a pro nízký obsah tuku má nízkou energetickou hodnotu, která se pohybuje v rozmezí 200 – 500 kJ na 100 g jedlého podílu v závislosti na druhu ryby. Bílkoviny jsou plnohodnotné a obsahují esenciální pro člověka důležité a nepostradatelné aminokyseliny. Rybí maso je však málo údržné a musí se vždy rychle zpracovat. Ryby by se měli konzumovat alespoň 1x týdně a hodí se pro všechny věkové kategorie lidí, mimo dětí do 3 let.

V souvislosti se znečišťováním životního prostředí se však v rybách mohou kumulovat látky, které mohou ohrožovat lidské zdraví. Rybí maso, hlavně z mořských ryb může obsahovat významný alergen histamin.

4 TRESKOVITÍ

Ryby z čeledi treskovití (Gadidea) patří do řádu hrdoploutví (Gadiformes). Ryby z řádu hrdoploutví se vyznačují tím, že plynový měchýř není propojen s jícnem, na povrchu těla jsou drobné cykloidní šupiny, břišní ploutve jsou posunuty před první. Na bradě je často přítomen nepárový vous. Do čeledi treskovití patří hospodářsky významné ryby, které žijí především ve slané vodě. Jedná se o studenomilné ryby s vysokou plodností. Tření probíhá v zimě a na jaře, jikry jsou pelagické. Z treskovitých ryb se využívá kvalitní svalovina, játra bohatá na vitamíny A, D a kůže pro použití v galanterii. U nás se vyskytuje jediný druh z této čeledi a to mník jednovousý (*Lota lota*), který nemá hospodářský význam.

4.1 Treska merlan (*Merlangius merlangus*)

Protáhlé proudnicové tělo s dlouhou zašpičatělou hlavou. Hřbet je šedý až olivově zelený s mosazným leskem. Boky stříbřité se zlatými skvrnami nebo pruhy. Břicho čistě bílé. V severním moři dorůstá délky zřídka přes 40 cm, nejvýše však 70 cm. Potrava jsou korýši a ryby. Rozšíření: Severovýchodní Pacifik od Islandu a severního Norska až po Biskajský záliv [10].

Maso je bílé, specifické chuti a při zpracování se především solí a konzervuje.



Obr. č. 5: Treska merlan (*Merlangius merlangus*) [25].

4.2 Treska tmavá (*Pollachius virens*)

Protáhlé proudnicové tělo s dlouhou a mohutnou hlavou. Hřbet je zelenohnědý až černohnědý. Boky mosazně žluté, břišní strana stříbřitě bílá. Dorůstá nejvýše délky 120 cm. Potravou jsou korýši, rybí plůdek, starší loví ryby, žijící v hejnech. Rozšíření: Severní Atlantik. Na západ od Hudsonova zálivu až po zátoku Chesapeake, na východě od Barentsova moře, Špicberk, Islandu a Britských ostrovů po Biskajský záliv. Severní oblast Severního moře [10].

Maso má tmavší barvu, chutné, prodává se jak čerstvé, tak konzervované v oleji.

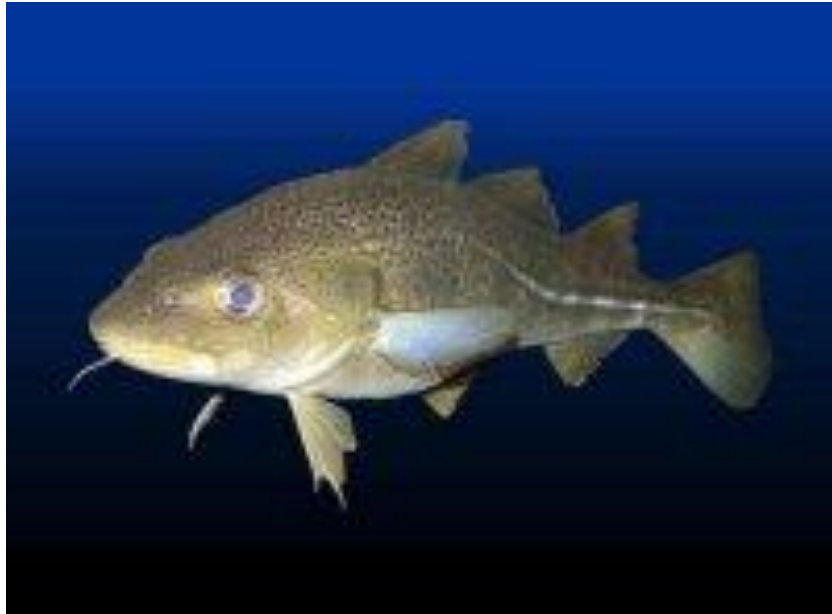


Obr. č. 6: Treska tmavá (Pollachius virens) [25].

4.3 Treska obecná (*Gadus morhua*)

Dlouhé větvenité tělo s dlouhou a mohutnou tlamou. Barva hřbetu většinou zelenavá, světle šedá, hnědavá nebo červenavá, skvrnitá. Břišní strana špinavě bílá. Dorůstá délky nejvýše 200 cm, v Severním moři okolo 80 cm. Potravou jsou živočichové dna a v dospělosti ryby. Rozšíření: Severní Atlantik, na západě od Nového Foundlandu po Severní Karolínu, na východě od Špicberk po Biskajský záliv [10].

Maso velmi chutné, ceněné, bílé pro všestranné zpracování. Játra obsahující hodně vitamínu A a D se zpracovávají do konzerv.



Obr. č. 7: Treska obecná (Gadus morhua) [25].

4.4 Treska jednoskvrnná (*Melanogrammus aeglefinus*)

Podlouhlé proudnicové tělo s dlouhou a mohutnou hlavou. Hřbet tmavě purpurový až černý, někdy i olivově zelený. Boky tmavě stříbřité lesklé. Břišní strana bělavá. Dorůstá nejvyšší délky 100 cm. Potravou jsou živočichové dna, měkkýši, ostnokožci, drobné ryby a rybí jikry. Rozšíření: Severní Atlantik, na západě od Nového Foundlandu po Severní Karolínu, na východě od Bílého, Špicberk, Islandu po Portugalsko. Severní moře, Skagerrak, Kattegat [10].

Maso bílé, chutné, sušší než u tesky obecné a hodí se pro všestranné použití.



Obr. č. 8: Treska jednosvrnná (*Melanogrammus aeglefinus*) [25].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo zjistit celkový obsah rtuti a podíl její organické formy methylrtuti v konzervovaných tresčích játrech, které byly zakoupeny v běžné obchodní síti v České republice. Ke stanovení celkového obsahu rtuti byl použit jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr AMA 254 a ke stanovení methylrtuti byla použita metoda plynové chromatografie s detekcí elektronového záchytu na plynovém chromatografu GC 2010A. Dalším cílem diplomové práce bylo na základě naměřených hodnot rtuti a methylrtuti posoudit zdravotní rizika konzumentů.

6 STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU RTUTI

6.1 Vzorky

K analýze byla použita tresčí játra v konzervě, které byly zakoupeny v běžné obchodní síti ČR. Celkem bylo zakoupeno 6 druhů tresčích jater v konzervě od různých dodavatelů po 5 - ti konzervách. Před vlastní analýzou byla každá konzerva popsána, bylo provedeno zvážení pevného obsahu konzervy, provedeno senzorické hodnocení a byla vytvořena fotografická dokumentace. Vzhledem k tomu, že konzervy obsahují játra od více jedinců, byly z každé konzervy odebrány 3 vzorky pro analýzu celkového obsahu rtuti Hg. Každý vzorek se následně 2x analyzoval s tím, že jakmile rozdíl naměřené hodnoty byl větší než 10%, bylo provedeno 3 měření.



Obr. č. 9: Tresčí játra v konzervě, vzorky A.



Obr. č. 10: Tresčí játra v konzervě, vzorky B.



Obr. č. 11: Tresčí játra v konzervě, vzorky C.



Obr. č. 12: Tresčí játra v konzervě, vzorky D.



Obr. č. 13: Tresčí játra v konzervě, vzorky E.



Obr. č. 14: Tresčí játra v konzervě, vzorky F.

Tab. č. 3: Tresčí játra v konzervě, vzorky A.

	Vzorek A - Tresčí játra ve vlastním oleji
Druh	rybí konzerva
Země původu	Island
Dovozce	HAMÉ s.r.o., Na Drahách 814, Kunovice
MO	115 g
MPP	55 g
PMPP	71 g
Cena	25,90,-Kč
Zakoupeno	Potraviný M. Klvaň, Židlochovice
Konzistence	měkká
Vůně	typická, příjemná
Chuť	typická

Vysvětlivky:

MO - hmotnost obsahu, deklarovaná

MPP - minimální hmotnost pevného obsahu, deklarovaná

PMPP - průměrná hmotnost pevného obsahu po odkapání z 5. konzerv

Tab. č. 4: Tresčí játra v konzervě, vzorky B.

	Vzorek B - Tresčí játra ve vlastním oleji
Druh	rybí konzerva
Země původu	Norsko
Dovozce	GASTON, spol. s r.o., Hluboká 5254, Zlín
MO	115 g
PMPP	66 g
Cena	27,10,-Kč
Zakoupeno	TESCO Hypermarket Brno, Skandinávská 2
Konzistence	tužší, gumová
Vůně	výraznější po rybím tuku
Chuť	typická

Vysvětlivky:

MO - hmotnost tresčích jater před zpracováním, deklarovaná

PMPP - průměrná hmotnost pevného obsahu po odkapání z 5. konzerv

Tab. č. 5: Tresčí játra v konzervě, vzorky C.

	Vzorek C - Uzená tresčí játra ve vlastním oleji
Druh	rybí konzerva
Země původu	Island
Dovozce	Tesco Stores ČR a.s., Vršovická 1527/68b, Praha
MO	120 g
MPP	70 g
PMPP	75 g
Cena	39,90,-Kč
Zakoupeno	TESCO Hypermarket Brno, Vídeňská č. 100
Konzistence	měkká
Vůně	typická, příjemná
Chuť	typická

Vysvětlivky:

MO - hmotnost obsahu, deklarovaná

MPP - minimální hmotnost pevného obsahu, deklarovaná

PMPP - průměrná hmotnost pevného obsahu po odkapání z 5. konzerv

Tab. č. 6: Tresčí játra v konzervě, vzorky D.

	Vzorek D - Tresčí játra ve vlastní šťávě
Druh	rybí konzerva
Země původu	Norsko
Dovozce	VITANA a.s., Mělnická 133, Byšice
MO	121 g
MPP	50%
PMPP	87 g
Cena	43,90,-Kč
Zakoupeno	TESCO Hypermarket Brno, Skandinávská 2
Konzistence	měkká
Vůně	typická, příjemná
Chuť	typická, jemně kořeněná

Vysvětlivky:

MO - hmotnost obsahu, deklarovaná

MPP - deklarovaný pevný podíl v %

PMPP - průměrná hmotnost pevného obsahu po odkapání z 5. konzerv

Tab. č. 7: Tresčí játra v konzervě, vzorky E.

	Vzorek E - Tresčí játra ve vlastním oleji jemně uzená
Druh	rybí konzerva
Země původu	Island
Dovozce	NEKTON-Vrňata, s.r.o., K Lesu 758/49, Praha
MO	115 g
PMPP	64 g
Cena	36,90,-Kč
Zakoupeno	JEDNOTA s.d. Mikulov, prodejna Velké Němčice
Konzistence	měkká
Vůně	typická, příjemná
Chuť	typická

Vysvětlivky:

MO - hmotnost tresčích jater před zpracováním, deklarovaná

PMPP - průměrná hmotnost pevného obsahu po odkapání z 5. konzerv

Tab. č. 8: Tresčí játra v konzervě, vzorky F.

	Vzorek F - Tresčí játra ve vlastním oleji jemně uzená
Druh	rybí konzerva
Země původu	Island
Dovozce	NEKTON-Vrňata, s.r.o., K Lesu 758/49, Praha
MO	120 g
PMPP	71 g
Cena	30,50,-Kč
Zakoupeno	JEDNOTA s.d. Mikulov, prodejna Velké Němčice
Konzistence	měkká
Vůně	typická
Chuť	typická

Vysvětlivky:

MO - hmotnost tresčích jater před zpracováním, deklarovaná

PMPP - průměrná hmotnost pevného obsahu po odkapání z 5. konzerv

6.2 Použité přístroje a vybavení

- Analyzátor rtuti AMA 254
- Analytické váhy PRECISA 125A
- Laboratorní kovová lžička
- Lékařský skalpel
- Filtrační papír



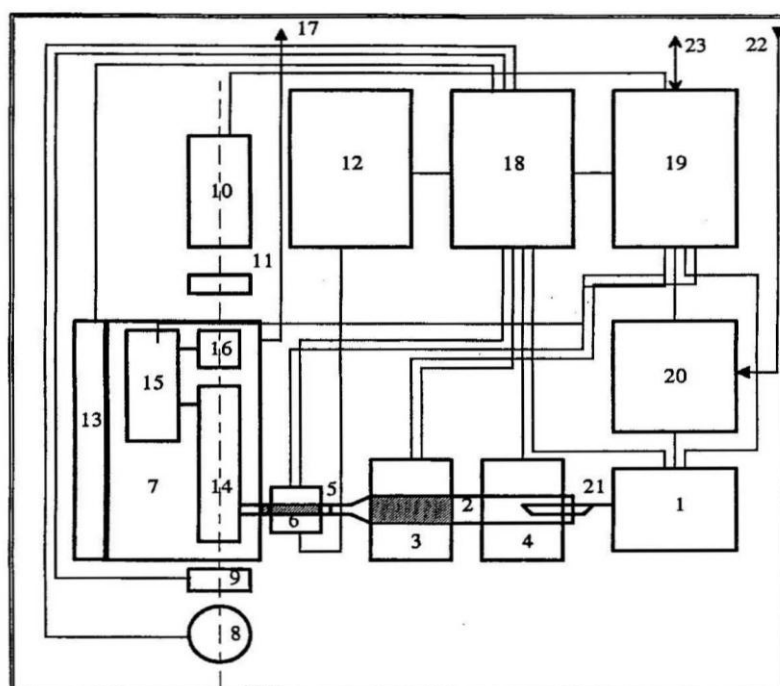
Obr. č. 15: Analyzátor rtuti AMA 254.



Obr. č. 16: Analytická váha PRECISA 125A s naváženým vzorkem.

6.2.1 Jednoúčelový analyzátor AMA 254

Advanced mercury analyser AMA 254 je jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr pro přímé stanovení obsahu rtuti v pevných a kapalných vzorcích, bez potřeby chemické předpravy. Využitím techniky generování par kovové rtuti s následným zachycením a zakoncentrováním na zlatém amalgamátoru se dosahuje mimořádně vysoké citlivosti stanovení a nezávislosti výsledku stanovení na matici vzorku [15].



Obr. č. 17: Schéma analyzátoru AMA 254 [15].

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

6.2.2 Zpracování vzorku v AMA 254

Před vlastním stanovením se vzorek tresčích jater odebraných z konzervy uložil na filtrační papír. Do spalovací lodičky, která byla umístěna v analytické váze, byl navážen vzorek o hmotnosti v rozmezí 50 až 100 mg. Hmotnost vzorku byla před vložením do analyzátoru zapsána do řídicího počítače analyzátoru. Povelům přes řídicí počítač byla poté spalovací lodička zavedena do spalovací trubice. Při manipulaci se spalovací lodičkou nesmí dojít ke kontaktu s jinými částmi přístroje nebo laboratoře, neboť neměřené výsledky by byly zkreslené. Produkty rozkladu vzorku jsou proudem kyslíku unášeny přes katalyzátor do druhé části spalovací trubice. Zde dochází k dokončení oxidace a k zachycení látek kyselého povahy jako halogenů a oxidů dusíku a síry. Rozkladné produkty vzorku jsou ze spalovací trubice dále vedeny do amalgamátoru, kde je selektivně zachycena rtuť. Amalgamátor i blok měřících kyvet jsou temperovány na teplotu 120 °C, aby se zabránilo kondenzaci vody.

Po dokončení rozkladu vzorku a ustálení teploty v amalgamátoru dochází k měření rtuti zachycené na amalgamátoru. Nejprve probíhá cyklus automatického nulování, zahrnující automatické nastavení zisku zesilovače signálu z detektoru, automatickou korekci temného proudu detektoru a offsetu zesilovače a odečtení základního světelného toku pro výpočet absorbcí během vlastního měření. Po ukončení automatického nulování je rtuť z amalgamátoru vypuzena krátkodobým intenzivním ohřevem. Oblak rtuťových par je nosným plynem převeden přes delší měřící kyvetu (měřeno jako 1. pík). Následně se prakticky veškerá rtuť shromáždí ve zpoždovací nádobce (minimum mezi píky) a z ní vystupuje přes kratší měřící kyvetu ven z přístroje. Stejně množství rtuti je tudíž měřeno dvakrát s různou citlivostí. Výsledkem je dynamický rozsah analyzátoru 0,05 – 600 ng Hg v jednom měření. Zároveň s ukončením ohřevu amalgamátoru je spuštěno chladicí čerpadlo, které ochlazuje amalgamátor tak, aby následující měření mohlo být provedeno bez zbytečného prodloužení v další analýze.

Veškerá naměřená data jsou vysílána do počítače, kde dochází ke zpracování do formy přístupné uživateli.

6.2.3 Měřicí cyklus v analyzátoru AMA 254

V přístroji po vložení vzorku probíhají tři základní operace

1. sušení vzorku – po ukončení dávkování je spuštěn program termické úpravy. Nejdříve nastává fáze sušení sloužící k odstranění vlhkosti ze vzorku (u pevných látek) nebo odpaření rozpouštědla (u kapalných látek). Sušení trvá dle nastaveného času.
2. rozklad vzorku – v této fázi je vzorek v proudu kyslíku termicky rozložen (vyžhán nebo spálen, pokud je to materiál schopný hoření). Rozklad trvá dle délky naprogramování.
3. fáze čekání – v této fázi jsou produkty rozkladu vzorku vyplachovány proudem kyslíku ven z přístroje a dochází k ustálení teplotních poměrů v přístroji. Pro-
dleva trvá dle délky nastavení.

7 STANOVENÍ METHYLRTUTI

7.1 Vzorky

K analýze byly použity vzorky uvedené v kapitole 6.1 s tím, že z každé konzervy byl připraven směsný vzorek z celého obsahu.

7.2 Metodika při stanovení methylrtuti v tresčích játrech

Metoda stanovení MeHg patří do tzv. speciální analýzy, která se zabývá stanovením jednotlivých forem daných prvků. Tato analýza má zvýšené nároky na přípravu vzorků na vlastní analýzu, včetně sestavení analytické instrumentace. Při této analýze se spojuje separační technika a selektivní nebo neselektivní detekce v tzv. tandemovou techniku.

MeHg v tresčích játrech byla analyzována metodou plynové chromatografie ve formě chloridu methylrtuti. Směsné vzorky jednotlivých konzerv byly připravovány kyselou digestí a následnou extrakcí do toluenu. Extrakt se poté analyzoval na plynovém chromatografu GC 2010A (Shimadzu Kyoto, Japan), osazený detektorem elektronového záchytu (ECD). Pro analýzu byla použita kapilární kolona DB 608 (30 m x 0.53 mm x 0.83 μ m; J&W Scientific) a pro vyhodnocení dat z GC software GC solution (Shimadzu Kyoto, Japan). Limit detekce (LOD) byl stanoven 18 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ a limit kvantifikace (LOQ) 90 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$.

7.3 Použité přístroje a vybavení

- Plynový chromatograf Shimadzu 2010 detektor ECD
- Kapilární kolona DB 608 od JaW Scientife
- Methylmercury chlorid
- analytické váhy PRECISA 125A
- Aceton
- Toulenu
- HCL
- Kalibrační roztoky: methylmercury chlorid v toluenu v koncentracích 0,2; 5; 10; 20; 80; 200 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$

7.3.1 Příprava vzorku

- vzorek o hmotnosti 0,05 – 0,2 g se homogenizuje a vloží se do zkumavky o objemu 10 ml
- do zkumavky s homogenizovaným vzorkem se nepipetuje 5 ml acetonu a po dobu 30 s se promíchává skleněnou tyčinkou, poté se nechá centrifugovat při 3500 $\text{ot}\cdot\text{min}^{-1}$ po dobu 5 minut
- ze zkumavky se odebere 4 ml acetonu, který se vylije do odpadní láhve
- ke zbytku do stejné zkumavky se nepipetuje 4 ml acetonu a obsah se promíchá a nechá centrifugovat
- ze zkumavky se opět odebere 4 ml acetonu
- do zkumavky ve které zůstal 1 ml acetonu, přidáme 4 ml toluenu, vše se promíchá a centrifuguje a poté se odebere 4 ml toluenu
- do zkumavky ke vzorku nepipetujeme 0,7 ml HCL a mícháme skleněnou tyčinkou do pastovité konzistence, přidáme 4 ml toluenu a celý vzorek opět promícháme a centrifugujeme
- odstraníme 4 ml toluenu do označené zkumavky, ve které jsou 2 g bezvodého síranu sodného (E1)
- přidáme 4 ml toluenu do zbytku po odstředění a provede se ještě jednou extrakce E2
- toluenová fáze se přidá do zkumavky E1
- extrakt se umístí do lednice při 4 °C po dobu 1 hodiny a dá se skladovat 14 dní při -23 °C

7.3.2 Analýza na plynovém chromatografu

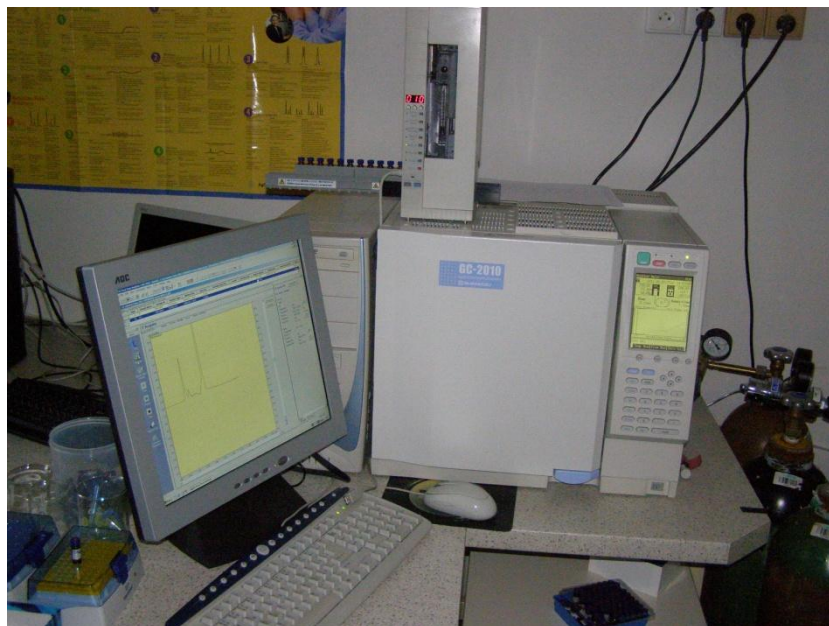
Připravený zkompletovaný extrakt byl analyzován metodou plynové chromatografie na přístroji Shimadzu 2010 za těchto podmínek:

Teplotní režim: 2 minuty 140 °C, gradient 4 °C/min do 160 °C a 2 minuty 160 °C

Injektor: 240 °C

Detektor ECD: 300 °C

Vzorek: 2 μl , nástřik on column



Obr. č. 18: Plynový chromatograf s ECD detekcí.

8 VÝSLEDKY

8.1 Obsah celkové rtuti ve vzorcích tresčích jater

Tab. č. 9: Obsah celkové rtuti ve vzorcích A.

číslo vzorku	1. měření	2. měření	3. měření	průměr
	mg/kg			
1A-1	0,0302	0,0298		0,0300
1A-2	0,0214	0,0228		0,0221
1A-3	0,025	0,0216	0,0265	0,0233
2A-1	0,0273	0,0283		0,0278
2A-2	0,0346	0,03		0,0323
2A-3	0,0271	0,0321	0,0283	0,0296
3A-1	0,017	0,0182		0,0176
3A-2	0,0339	0,0274	0,0294	0,0307
3A-3	0,0176	0,018		0,0178
4A-1	0,0388	0,0284	0,0284	0,0336
4A-2	0,024	0,0232		0,0236
4A-3	0,0399	0,0492	0,0518	0,0446
5A-1	0,0392	0,0425		0,0409
5A-2	0,0301	0,0273		0,0287
5A-3	0,0285	0,0248		0,0267
celkem vz. A				0,0286

Tab. č. 10: Obsah celkové rtuti ve vzorcích B.

číslo vzorku	1. měření	2. měření	3. měření	průměr
	mg/kg			
1B-1	0,0395	0,0423		0,0409
1B-2	0,0338	0,037		0,0354
1B-3	0,0308	0,0324		0,0316
2B-1	0,0567	0,0712	0,0699	0,0640
2B-2	0,0495	0,0504		0,0500
2B-3	0,049	0,0494		0,0492
3B-1	0,0491	0,0552		0,0522
3B-2	0,0365	0,0389		0,0377
3B-3	0,0363	0,0335		0,0349
4B-1	0,0493	0,0651	0,0572	0,0572
4B-2	0,0557	0,053		0,0544
4B-3	0,0411	0,0478		0,0445
5B-1	0,0425	0,0407		0,0416
5B-2	0,0456	0,046		0,0458
5B-3	0,0395	0,0376		0,0386
celkem vz. B				0,0452

Tab. č. 11: Obsah celkové rtuti ve vzorcích C.

číslo vzorku	1. měření	2. měření	3. měření	průměr
	mg/kg			
1C-1	0,052	0,0598		0,0559
1C-2	0,0476	0,0516		0,0496
1C-3	0,082	0,0799		0,0810
2C-1	0,0451	0,0594	0,064	0,0523
2C-2	0,0352	0,0355		0,0354
2C-3	0,0515	0,0574		0,0545
3C-1	0,0486	0,0602	0,0499	0,0544
3C-2	0,0629	0,0659		0,0644
3C-3	0,0861	0,0782		0,0822
4C-1	0,0614	0,0578		0,0596
4C-2	0,0557	0,0596		0,0577
4C-3	0,0652	0,0581		0,0617
5C-1	0,0502	0,041	0,0418	0,0456
5C-2	0,0687	0,0623		0,0655
5C-3	0,0624	0,0716		0,0670
celkem vz. C				0,0591

Tab. č. 12: Obsah celkové rtuti ve vzorcích D.

číslo vzorku	1. měření	2. měření	3. měření	průměr
	mg/kg			
1D-1	0,0480	0,0481		0,0481
1D-2	0,0497	0,0523		0,0510
1D-3	0,0327	0,0333		0,0330
2D-1	0,0682	0,0721		0,0702
2D-2	0,0430	0,0453		0,0442
2D-3	0,0340	0,0297		0,0319
3D-1	0,0352	0,0349		0,0351
3D-2	0,0392	0,0419		0,0406
3D-3	0,0319	0,0299		0,0309
4D-1	0,0456	0,0484		0,0470
4D-2	0,0497	0,0392	0,0382	0,0444
4D-3	0,0369	0,0410		0,0390
5D-1	0,0212	0,0228		0,0220
5D-2	0,0215	0,0261		0,0238
5D-3	0,0190	0,0217		0,0204
celkem vz. D				0,0388

Tab. č. 13: Obsah celkové rtuti ve vzorcích E.

číslo vzorku	1. měření	2. měření	3. měření	průměr
	mg/kg			
1 E-1	0,0366	0,0518	0,0397	0,0427
1 E-2	0,0273	0,0270		0,0272
1 E-3	0,0405	0,0444		0,0424
2 E-1	0,0409	0,0415		0,0412
2 E-2	0,0611	0,0729		0,0670
2 E-3	0,0409	0,0483		0,0446
3 E-1	0,0440	0,0537		0,0488
3 E-2	0,0511	0,0476		0,0493
3 E-3	0,0451	0,0509		0,0480
4 E-1	0,0738	0,0790		0,0764
4 E-2	0,0538	0,0510		0,0524
4 E-3	0,0679	0,0738		0,0709
5 E-1	0,0445	0,0443		0,0444
5 E-2	0,0351	0,0381		0,0366
5 E-3	0,0473	0,0463		0,0468
celkem vz. E				0,0493

Tab. č. 14: Obsah celkové rtuti ve vzorcích F.

číslo vzorku	1. měření	2. měření	3. měření	průměr
	mg/kg			
1 F-1	0,0282	0,0266		0,0274
1 F-2	0,0267	0,0256		0,0261
1 F-3	0,0292	0,0253	0,0242	0,0273
2 F-1	0,0317	0,0520	0,0558	0,0418
2 F-2	0,0426	0,0414		0,0420
2 F-3	0,0491	0,0454		0,0472
3 F-1	0,0418	0,0466		0,0442
3 F-2	0,0388	0,0415		0,0401
3 F-3	0,0514	0,0520		0,0517
4 F -1	0,0550	0,0681		0,0615
4 F-2	0,0421	0,0446		0,0434
4 F-3	0,0509	0,0474		0,0492
5 F-1	0,0354	0,0474		0,0414
5 F-2	0,0390	0,0336		0,0363
5 F-3	0,0448	0,0415		0,0431
celkem vz. F				0,0415

V žádném měřeném vzorku nebylo zjištěno větší množství THg než určuje Nařízení komise ES č. 1881/2006, kde je maximální limit $0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

8.2 Obsah methylrtuti ve vzorcích tresčích jater

Hodnoty methylrtuti u všech 30 směsných vzorků tresčích jater byly pod mezí detekce, která je při použití plynového chromatografu s ECD detekcí $0,05 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

8.3 Hodnocení zdravotního rizika z konzumace ryb

8.3.1 Metoda dle Kannana: zdravotní riziko při konzumaci ryb s obsahem celkové rtuti

Pro hodnocení zdravotních rizik vyplývajících z konzumace ryb s obsahem celkové rtuti byl použit výpočet indexu rizika (H) pro konzumenta o tělesné hmotnosti 70 kg [28]. V případě, že index rizika (H) je menší než 1, nehrozí konzumentovi žádné zdravotní riziko z konzumace ryb. Jestliže index rizika (H) je větší než 1, konzumace ryb představuje zdravotní riziko pro konzumenta.

Pro výpočet indexu rizika byl použit tento vztah:

$$D = c \cdot \frac{I}{W \cdot 1000}$$

$$H = \frac{D}{\text{RfD}}$$

kde:

D odhadovaný denní příjem rtuti ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

c obsah rtuti ve vzorku ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

I spotřeba ryb = 16,16 g za den, pro běžnou spotřebitelskou rodinu

H index rizika

RfD referenční dávka pro rtuť ($0,0003 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti za den), referenční dávka, je odhadovaný denní příjem chemické látky, který nevykazuje žádné riziko, pokud je přijímán po celý život

W průměrná tělesná hmotnost konzumenta (70 kg)

Při výpočtu hodnoty I se vycházelo z průměrného množství zkonsumovaných ryb na osobu v ČR, která v roce 2008 činila 5,9 kg. Za hodnotu c bylo dosazeno nejvyšší průměrné množství THg se všech měřených vzorků, která u vzorků C činila $0,0591 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. V tomto případě činil index rizika pro spotřebitele „H“ hodnotu 0,045.

8.3.2 Metoda WHO: zdravotní riziko pro MeHg

V daném případě, kdyby byly ve vzorcích naměřeny hodnoty methylrtuti nad detekcí, byla by pro určení zdravotního rizika využita metoda WHO s týdenním tolerovaným množstvím methylrtuti $1,6 \text{ } \mu\text{g} / \text{kg}$ živé hmotnosti a pro výpočet počtu porcí, které může člověk konzumovat za týden, by se použil uvedený vztah [13]:

$$D = EL \cdot W$$

$$\text{NTL} = \frac{D}{c}$$

$$\text{PP} = \frac{\text{NTL}}{P}$$

kde:

- D přijatelný týdenní příjem polutantu (mg/osobu)
- EL expoziční limit ($PTWI = 1,6\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ za týden)
- W průměrná tělesná hmotnost konzumenta
- c obsah polutantu ve svalovině ryby
- NTL hmotnost rybí svaloviny pro naplnění toxikologického limitu
- PP počet porcí za týden
- P hmotnost jedné porce

ZÁVĚR

Ryby mají nezastupitelný význam v ekosystému a pro člověka mají velký ekonomický význam. V největší míře slouží pro člověka jako zdroj potravy a dále jsou předmětem chovu pro akvaristiku a v neposlední řadě jsou předmětem sportovního rybolovu. Jako potrava pro člověka jsou ryby zdrojem kvalitních bílkovin a hlavně mořské ryby obsahují polyneenasycené mastné kyseliny ze skupiny omega - 3 a omega - 6 a dále jsou dobrým zdrojem některých minerálních látek. Maso ryb je snadno stravitelné a až na některé tučné druhy dietetické.

Kromě látek příznivých pro organismus člověka mohou ryby obsahovat některé látky, které mají pro člověka negativní vliv. S rozvojem lidské populace, růstem životní úrovně, průmyslovou a zemědělskou činností se do ekosystému celého světa dostávají kontaminanty, které se potravním řetězcem dostávají do ryb a následně mohou ovlivňovat zdraví člověka jako konečného konzumenta. Mezi významné kontaminanty, které se vyskytují v rybách, je rtuť.

Přirozený obsah celkové rtuti v otevřeném oceánu je $0,5 - 3 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$, v pobřežních vodách potom $2 - 15 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$. V řekách a jezerech je $1 - 3 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$. Speciace rtuti ve vodách závisí na typu vodního ekosystému, nicméně v oceánech převažuje Hg^{2+} ve formě chloridů. Koncentrace methylrtuti závisí na typu vodního ekosystému, nicméně ve sladkovodních ekosystémech se pohybuje v rozmezí 1 – 6 % [14].

Rtuť má schopnost se v živých organismech kumulovat a stupeň kumulace závisí na koncentraci v ekosystému, na chemicko-fyzikálních vlastnostech vody, na druhu, stáří organismu, na stupni v potravním řetězci a dalších faktorech. Nejtoxičtější forma rtuti pro člověka je methylrtuť, která ve vodním prostředí vzniká methylocí za přítomnosti velkého množství, převážně methanogenních bakterií rodu *Enterebacter*, *Escherichia*, *Methanobacterium* a sirmých bakterií rodu *Desulfovibrio* a *Desulfuromonas*.

Methylrtuť představuje převažující formu rtuti ve vodních ekosystémech a v tkáních ryb představuje více jak 95 % celkové rtuti [12].

Cílem diplomové práce byla analýza THg a MeHg v konzervovaných tresčích játrech, která byla náhodně zakoupena v běžné obchodní síti České republiky. Obsah THg byl stanoven na jednoúčelovém atomovém absorpčním spektrofotometru AMA 254 a stanovení MeHg bylo provedeno metodou plynové chromatografie s detekcí elektronového záchytu.

Analýzou bylo zjištěno, že žádný vzorek tresčích jater neobsahoval množství THg, které by překračovalo přípustný limit dle Nařízení ES č. 1881/2006, který pro ryby a rybí výrobky byl stanoven na $0,50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s výjimkou vybraných druhů, u kterých byl limit stanoven na $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Vzhledem k tomu, že výrobce konzervovaných tresčích jater neuvádí zoologický druh zpracované tresky, bylo při vyhodnocení přihlíženo k limitu $0,50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, i když pro druh tresky malé (*Trisopterus minutus*) je stanoven limit $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Nejvyšší průměrné množství THg bylo ve vzorku C, ve kterém bylo naměřeno $0,0591 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, což je hluboce pod limitem ES.

Velmi zajímavé je srovnání s obsahem THg u vybraných ryb v údolní nádrži Skalka na Ohři, kde bylo v roce 2007 u cejna velkého naměřena hodnota THg $0,593 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, u cejnka malého $0,654 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, u štiky obecné $1,6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a u bolena dravého dokonce $3,570 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, což jsou hodnoty, které výrazně překračují hygienické limity [17]. Konzumace těchto ryb by měla na rozdíl od konzumace analyzovaných tresčích jater negativní vliv na zdraví člověka.

Na rozdíl od prvního srovnání byla v konzervovaných tresčích játrech z Polska v roce 2009 naměřena velmi nízká koncentrace celkového obsahu rtuti, a to v průměru $0,223 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ [18].

Při posuzování zdravotního rizika při konzumaci analyzovaných tresčích jater s obsahem THg byla použita metoda dle Kannana. Pro občana České republiky s průměrnou roční spotřebou ryb $5,9 \text{ kg}$ nepředstavuje konzumace tresčích jater zdravotní riziko, neboť index rizika „H“ byl $0,045$. To by platilo i pro konzumenty z přímořských států, kde je roční spotřeba ryb daleko vyšší. Např. na Islandu, kde se roční spotřeba ryb na obyvatele pohybuje kolem 70 kg , by činil index rizika pro spotřebitele „H“ $0,54$ a proto by neměla konzumace ryb s hodnotami THg naměřenými v diplomové práci negativní vliv na člověka. V případě, že by však někdo chtěl konzumovat bolena dravého s koncentrací THg $3,570 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ uloveného v údolní nádrži Skalka při roční spotřebě rybiho masa v ČR $5,9 \text{ kg}$ na osobu, činil by index rizika „H“ $2,75$ a vystavoval by se nebezpečí zdravotního rizika.

MeHg nebyla v žádném vzorku naměřena, neboť množství bylo pod mezí detekce, která byla při použití plynové chromatografie s detekcí elektronového záchyty $0,05 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Tato skutečnost se v průběhu analýzy THg dala předpokládat, neboť koncentrace THg byla velmi nízká.

V souvislosti s rozvojem a růstem lidské populace je činěn velký tlak na oceánské a mořské ekosystémy a na rybí populace, které v ekosystémech žijí. Nadměrný rybolov za účelem získání potravy pro člověka snižuje razantně rybí populaci jak po kvantitativní, tak po kvalitativní stránce. Některé druhy ryb, kdysi hojně vyskytující jsou na hraně vymření. Průmyslový mořský rybolov bohužel neřeší otázku udržitelného rozvoje, ale pouze otázku zisku. Je třeba se však zmínit o rybářství v České republice, které je na velmi vysoké úrovni a to platí především o rybníkářství. Vzhledem k tomu, že jsou zvládnuté techniky umělých výtěrů ryb, tak nedochází v rybníkářství k potřebě odlovování ryb z volných vod. Činnostmi především Českého rybářského svazu a Moravského rybářského svazu jsou do volných vod vysazovány rybí násady se snahou udržet populace ryb na odpovídající úrovni.

Spotřeba ryb na osobu v ČR je při porovnání s ostatními zeměmi velmi malá, jako jedna z hlavních příčin je to, že nejsme přímořský stát a nabídka ryb pochopitelně není tak velká, důležitou roli hraje i kulturní a historický aspekt. Vědecké studie dokazují, že konzumace ryb má pozitivní vliv na zdraví člověka a proto se doporučuje zvýšit množství konzumace ryb v ČR.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BENCKO, V., et al. *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka*. 2. vyd, přepracované a doplněné. Praha: Grada Publishing, spol. s r.o., 1995. 288 s.
- [2] PITTER, P. *Hydrochemie*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009. 592 s. ISBN 978-80-7080-701-9
- [3] PIPOVÁ, M., et al. *Hygiena a technológia spracovania sladkovodných a morských rýb*. Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach Veterinárni a farmaceutická univerzita v Brně, 2006. 432 s. ISBN 80-8077-048-4.
- [4] CIBULKA, J., et al. *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. 1. vydání. Praha: Academia, 1991. 432 s. ISBN 80-200-0401-7.
- [5] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Vyd. 1. Tábor: OSSIS, 1999. 328 s. ISBN 80-902391-4-5.
- [6] TEROFAL, FRITZ. *Mořské ryby v evropských vodách*. Vyd. 1. Praha: Ikar, 1996. 287 s. ISBN 80-7202-009-9.
- [7] LÜLLMANN, H.; MOHR, K.; WEHLING, M. *Farmakologie a toxikologie*. Vyd. 1. Praha: Grada Publishing, 2002. 696 s. ISBN 80-7169-976-4.
- [8] Elemental Mercury Vapour, [online]. 2010, [cit. 2011-03-20]. Dostupné z WWW: http://www.mercury.utah.gov/atmospheric_transport.htm.
- [9] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [10] GREENWOOD, N.N; EARNSHAW, A. *Chemie prvků*. Vyd. 1. Praha: Překlad Informatorium, 1993. 1635 s. ISBN 80-85427-38-9.
- [11] HORÁK, J.; LINHART, O.; KLUSOŇ, P. *Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2004. 187 s. ISBN 80-7080-548-X.

[12] MASON, R.P.; REINFELDER, J.R.; MOREL, F.M.N. Biocummulation of mercury and methylmercury. *Water Air Soil Poll* 80. 1995, s. 915-921.

[13] WHO 1990. In *Environmental Healt Criteria*. World Health Organization, Geneva.

[14] MARŠÁLEK, P. Methylrtuť ve vodních ekosystémech. *Bulletin VÚRH Vodňany*. 2006, 42(3), s. 117-121.

[15] Manuál k přístroji AMA 254, 2002, Praha.

[16] Nařízení ES 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, [online]. 20.12.2006, [cit. 2011-05-09]. Dostupné z WWW: <<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:CS:PDF>>.

[17] VELÍŠEK, J.; RANDÁK, T.; ŽLÁBEK, V.: Kontaminace ryb z volných vod. [online]. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech, [cit. 2011-03-25]. Dostupné z WWW: <<http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/monitoring-cizorodnych-latek/kontaminace-ryb-z-volnych-vod-2007.html>>.

[18] SMUTNÁ, M.; KRUŽÍKOVÁ, K.; MARŠÁLEK, P.; KOPŘIVA, V.; SVOBODOVÁ, Z. Fish oil and cod liver as safe and healthy food supplements. *Neuroendocrinol Lett*. 2009, 30,(Suppl 1), pp. 156-162.

[19] HOUSEROVÁ, P.; JANÁK, K.; KUBÁŇ, P.; PAVLÍČKOVÁ, J.; KUBÁŇ, V. Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech - vlastnosti, úroveň, koloběh a stanovení. *Chemické listy* 100, 2006, s. 862-876.

[20] KOMÁREK, J. *Atomová absorpční spektrometrie*. Vyd. 1. Brno: Masarykova univerzita, 2000. 85 s. ISBN 80-2102-500-X.

[21] NĚMCOVÁ, I.; ČERMÁKOVÁ, L.; RYCHLOVSKÝ, P. *Spektrometrické analytické metody I*. Vyd. 2. Praha: Karolinum, 2004. 166 s. ISBN 80-246-0776-X.

[22] XIU, G., et al. Characterization of Size fractionated Particulate Mercury in Shanghai Ambient Air. *Atmospheric Environment*. 2005, 39, pp. 419-427.

[23] ZÁVADSKÁ, M.; ŽEMBERYOVÁ, M. Stanovenie a špeciácia zlúčenín ortuti vo vzorkách životného prostredia technikami metódy AAS. *Chemické listy* 93, 1999, s. 91-98.

[24] Stanovisko vědeckého výboru pro potraviny ve věci: Methylrtuť v rybách a rybích výrobcích. *Vědecký výbor pro potraviny*, Státní zdravotní ústav, Palackého 3a, Brno [online]. 6.10.2004,[cit.2011-03-31]. Dostupné z WWW <http://chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/stanoviska/stan_2004_5_deklas_Hg_rev1.pdf>.

[25] Atlas mořských ryb [online]. 11.11.2005, [cit. 2011-03-31]. Dostupné z WWW: <<http://zivazeme.cz/atlas-ryb.php>>.

[26] ŠTULÍK, K., et al. *Analytické separační metody*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2004. 264 s. ISBN 80-246-0852-9.

[27] LEHOTAY, J. *Separace metody v analytické chemii*. Vyd. 1. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 2009. 235 s. ISBN 978-80-227-3036-5.

[28] KANNAN, K, et al. Distribution of Total Mercury and Methyl Mercury in Water, Sediment, and Fish from South Florida Estuaries. *Archives Environmental Contamination and Toxicology*. 1998, 34, pp. 109-118.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

$(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$	Dimethylhydrargyrium
AAS	Atomová absorpční spektrometrie
AEF	Atomová emisní spektrometrie
AFS	Atomová fluorescenční spektrometrie
Ag	Stříbro
APDC	Pyrrolidin1-yl-dithiokarbamát sodný
Ar	Argon
Au	Zlato
Br^-	Bromný aniont
CE	Kapilární elektroforéza
Cu	Měď
CV-AAS	Atomová absorpční spektrometrie s metodou generování studených par
ČR	Česká republika
DDTC	Diethyldithiokarbamát sodný
ECD	Detektor elektronového záchytu
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
ET-AAS	Atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací prvků
EU	Evropská unie
F-AAS	Plamenová atomová absorpční spektrometrie
FI	Průtokový injekční systém
FOASTAT	Statistika Organizace pro potraviny a zemědělství
FSCE	Kapilární elektroforéza ve volném roztoku
GC	Plynová chromatografie
H_2O_2	Peroxid vodíku

H ₂ SO ₄	Kyselina sírová
HCl	Kyselina chlorovodíková
Hg	Rtuť
Hg(ClO ₄) ₂	Chloristan rtuťnatý
Hg ²⁺	Rtuťnatý iont
HgCl ₂	Chlorid rtuťnatý
HgCN	Kyanid rtuťnatý
HgS	Sulfid rtuťnatý
HNO ₃	Kyselina dusičná
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
CH ₃ Hg ⁺	Kation monomethylrtuť
CH ₃ Hg ⁺	Methylhydrargyrium
CH ₃ HgCl	Chlorid methylrtuť
CH ₃ HgOH	Hydroxid methylrtuť
I ⁻	Jodný aniont
ICP	Vázaný plazmový výboj
K	Kelvin
K ₂ S ₂ O ₈	Peroxodisíran draselný
KHES	Krajská hygienická stanice
KMnO ₄	Manganistan draselný
MECC	Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie
MeHg	Methylrtuť
MZe ČR	Ministerstvo zemědělství České republiky
N ₂	Dusík
NaOH	Hydroxid sodný
PC	Osobní počítač

Pd	Palladium
Pt	Platina
S^{2-}	Sulfidový aniont
$S_2O_3^{2-}$	Thiosíranový aniont
SCN^-	Thiokyanátový aniont
SO_3^{2-}	Siřičitanový aniont
SRN	Spolková republika Německo
SVS	Státní veterinární správa
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
THg	Celkový obsah rtuti
WHO	Světová zdravotnická organizace
Zn	Zinek

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1: Schéma cyklu rtuti v přírodě.....	15
Obr. č. 2: Schéma generování studených par rtuti se zkoncentrováním v amalgační trubici.	23
Obr. č. 3: Schéma analyzátoru rtuti AMA-254.....	25
Obr. č. 4: Základní kroky speciální analýzy.....	26
Obr. č. 5: Treska merlan (<i>Merlangius merlangus</i>).....	33
Obr. č. 6: Treska tmavá (<i>Pollachius virens</i>).....	34
Obr. č. 7: Treska obecná (<i>Gadus morhua</i>).....	35
Obr. č. 8: Treska jednoskvrnná (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>).....	36
Obr. č. 9: Tresčí játra v konzervě, vzorky A.....	39
Obr. č. 10: Tresčí játra v konzervě, vzorky B.....	40
Obr. č. 11: Tresčí játra v konzervě, vzorky C.....	40
Obr. č. 12: Tresčí játra v konzervě, vzorky D.....	41
Obr. č. 13: Tresčí játra v konzervě, vzorky E.....	41
Obr. č. 14: Tresčí játra v konzervě, vzorky F.....	42
Obr. č. 15: Analyzátor rtuti AMA 254.....	46
Obr. č. 16: Analytická váha PRECISA 125A s naváženým vzorkem.....	46
Obr. č. 17: Schéma analyzátoru AMA 254.....	47
Obr. č. 18: Plynový chromatograf s ECD detekcí.....	52

SEZNAM TABULEK

Tab. č. 1: 25 států Evropy s nejvyšší spotřebou ryb na osobu (podle FOASTAT, 2004). Pro porovnání jsou uvedeny i hodnoty publikované EU ve zprávě SCOOP. ČR má spotřebu ještě nižší.....	19
Tab. č. 2: Výsledky analýz vzorků ryb (název odpovídá obecnému popisu v databázi) na obsah rtuti provedené kontrolními organizacemi pro potraviny (SVS, SZPI, OOVZ v posledních 3 letech).....	20
Tab. č. 3: Tresčí játra v konzervě, vzorky A.....	42
Tab. č. 4: Tresčí játra v konzervě, vzorky B.....	43
Tab. č. 5: Tresčí játra v konzervě, vzorky C.....	43
Tab. č. 6: Tresčí játra v konzervě, vzorky D.....	44
Tab. č. 7: Tresčí játra v konzervě, vzorky E.....	44
Tab. č. 8: Tresčí játra v konzervě, vzorky F.....	45
Tab. č. 9: Obsah celkové rtuti ve vzorcích A.....	53
Tab. č. 10: Obsah celkové rtuti ve vzorcích B.....	54
Tab. č. 11: Obsah celkové rtuti ve vzorcích C.....	54
Tab. č. 12: Obsah celkové rtuti ve vzorcích D.....	55
Tab. č. 13: Obsah celkové rtuti ve vzorcích E.....	55
Tab. č. 14: Obsah celkové rtuti ve vzorcích F.....	56