

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Petra Adámková

PRVKOVÁ ANALÝZA VYBRANÝCH DRUHŮ BYLINNÝCH ČAJŮ

Element Analysis of Selected Types of Herbal Teas

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha 2022

Prohlášení

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

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze, 23. srpna 2022.

Abstrakt

V této bakalářské práci byly stanovovány koncentrace hořčíku, draslíku, manganu, zinku, mědi, chromu, kadmia a olova ve vybraných bylinných čajích a jejich nálevech. Pro analýzu byly vybrány čaje od dvou konkurenčních výrobců na českém farmaceutickém trhu. Cílem této práce bylo vzájemné porovnání vybraných vzorků čajů z hlediska jejich prvkového obsahu. Byla provedena orientační studie vlivu teploty vody a doby louhování pro uvolnění prvků do roztoku při přípravě nálevu. V použité metodice byly zahrnuty rozklad v mikrovlnném zařízení za přítomnosti kyseliny dusičné a analýza složení připravených roztoků pomocí techniky hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Ve výsledcích bylo prokázáno, že obsahy prvků se liší podle druhu rostliny i podle výrobce. Dále bylo prokázáno, že na uvolnění prvků do roztoku má větší vliv doba louhování než teplota vody. V této práci bylo také ověřeno, že použitá metoda hmotnostní spektrometrie byla díky nízkým limitům detekce vhodná pro stanovení koncentrací všech vybraných kovů.

Klíčová slova

Hmotnostní spektrometrie, indukčně vázané plazma, bylinné čaje, kovy, mikrovlnný rozklad

Abstract

In this bachelor thesis the concentrations of magnesium, potassium, manganese, zinc, copper, chromium, cadmium and lead in selected herbal teas and their infusions were determined. Teas from two competing producers on the Czech pharmaceutical market were selected for analysis. The aim of this work was a mutual comparison of selected tea samples in terms of their elemental content. An indicative study of the effect of water temperature and leaching time on the release of elements into the solution during the preparation of the pickle was carried out. The applied method included the decomposition of samples in a microwave device in the presence of concentrated nitric acid and analysis of the composition of the prepared solutions using ICP-MS. The results showed that the element contents differ according to the type of plant and according to the producer. Furthermore, it was proven that the leaching time has a greater influence on the release of elements into the solution than the water temperature. In this work, it was also verified that the ICP-MS method was suitable for determining the concentrations of all selected metals due to low detection limits.

Key words

Mass spectrometry, inductively coupled plasma, herbal teas, metals, microwave decomposition

Poděkování

Ráda bych chtěla poděkovat svému školiteli RNDr. Jakubovi Hraníčkoví, Ph.D. za cenné rady, trpělivost a přátelský přístup při vedení této bakalářské práce. Také děkuji rodině a přátelům za veškerou podporu, které se mi od nich během celého studia dostávalo.

Obsah

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Úvod | 8 |
| 1.1 | Cíl práce | 8 |
| 2 | Teoretická část | 9 |
| 2.1 | Bylinný čaj | 9 |
| 2.1.1 | Heřmánkový čaj..... | 9 |
| 2.1.2 | Mátový čaj..... | 10 |
| 2.1.3 | Meduňkový čaj | 10 |
| 2.1.4 | Šalvějový čaj | 10 |
| 2.2 | Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem..... | 10 |
| 2.3 | Mikrovlnný rozklad | 11 |
| 2.4 | Význam stanovovaných prvků pro lidský organismus | 11 |
| 2.5 | Analýza prvků v bylinných čajích a léčivých rostlinách | 13 |
| 3 | Experimentální část | 18 |
| 3.1 | Analyzované vzorky bylinných čajů..... | 18 |
| 3.2 | Použité chemikálie | 19 |
| 3.3 | Použité přístroje a pomůcky | 19 |
| 3.4 | Příprava vzorků..... | 20 |
| 3.5 | Analýza vzorků..... | 21 |
| 3.6 | Statistické zpracování dat..... | 23 |
| 4 | Výsledková část a diskuse | 25 |
| 4.1 | Vyhodnocení výsledků stanovení ICP-MS | 25 |
| 4.2 | Analýza celkového zastoupení prvků v bylině..... | 27 |
| 4.3 | Analýza prvků ve výluhu | 29 |
| 4.4 | Závislost teploty vody a doby louhování | 31 |
| 5 | Závěr..... | 33 |

Použité symboly a zkratky

| | |
|---------|---|
| AAS | atomová absorpční spektrometrie |
| c | koncentrace [$\mu\text{g g}^{-1}$, mg g^{-1}] |
| CPS | počet pulsů za sekundu |
| ICP-MS | hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem |
| ICP-OES | optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem |
| LOD | mez detekce |
| m | hmotnost [g] |
| p | tlak [bar] |
| P | výkon magnetronu [%] |
| PTFE | polytetrafluorethylen |
| RSD | relativní směrodatná odchylka |
| SD | směrodatná odchylka |
| t_1 | doba pro dosažení teploty T [$^{\circ}\text{C}$] |
| t_2 | doba udržování teploty T [$^{\circ}\text{C}$] |
| V | objem [l] |

1 Úvod

Bylinné čaje jsou používány po celém světě pro své příznivé účinky na lidský organismus. V této práci byly ve vybraných vzorcích bylinných čajů stanovovány prvky, které se přirozeně v rostlinách vyskytují, a tedy jejich přítomnost byla očekávána. Vybranými prvky byly hořčík, draslík, mangan, měď a zinek. Dále byly stanovovány prvky, které se v rostlinách mohou vyskytovat vlivem znečištění prostředí. Vybranými prvky byly chrom, kadmium a olovo. Byly stanovovány koncentrace prvků na hmotnost sušiny a dále jejich uvolnění do nálevu za standardních podmínek a s pozměněnými parametry.

1.1 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit celkové zastoupení vybraných prvků v bylinných čajích a stanovit jejich množství v nálevech po uplynutí výrobcem doporučené době louhování. Pro analýzu byly vybrány čtyři druhy jednosložkových bylinných čajů – heřmánkový, šalvějový, mátový a meduňkový, které patří mezi nejprodávanější na českém farmaceutickém trhu. Pro analýzu byly použity bylinné čaje od dvou českých konkurenčních výrobců čajů dostupných na farmaceutickém trhu – Megafyt Pharma a Leros. Výsledky měření byly následně mezi sebou porovnány.

2 Teoretická část

2.1 Bylinný čaj

Bylinný čaj je definován jako nálev, který se připravuje přelitím bylin horkou vodou a následným louhováním po dobu nutnou k přenesení aromatických látek, chutí a zdraví prospěšných látek z bylin do nálevu. Doba louhování se pohybuje většinou od 5 do 15 minut. Bylinné čaje jsou často připravovány pro jejich přirozenou specifickou chuť, absenci kofeinu a příznivé účinky na naše zdraví. Užití bylinných čajů je nejen vnitřní, ale i zevní, například ve formě kloktadla či zábalu [1].

Kvalitu bylinného čaje ovlivňuje technika jeho sběru a sušení a především samotné složení čaje. Nesmí být obsaženy žádné pomocné látky a důležitým faktorem kvality je část byliny, která byla k výrobě čaje použita. Nejvyšší kvalita je kvalita lékopisná, s předepsanými parametry, která se používá u čajů schválených jako léčivý přípravek. Vhodnou stabilizací a standardizací se dosáhlo toho, že na farmaceutickém trhu se objevují kvalitní bylinné čaje [1, 2].

2.1.1 Heřmánkový čaj

Heřmánek pravý, také heřmánek lékařský (*Matricaria chamomilla*), známý již ve starém Egyptě, měl v českém lidovém léčitelství a doposud má své nezastupitelné místo. K přípravě čaje se používá heřmánkový květ (*Matricariae flos*).

Heřmánek kromě temně modré silice (až 1,5 %) s hlavní složkou chamazulenem obsahuje účinný bisabolol, matricin, flavonové glykosidy, kumarinové látky, apigenin a další. Díky svým obsahovým látkám působí protizánětlivě, dezinfekčně, uvolňuje křeče a zvyšuje pocení. Vnitřně se užívá jako karminativum, při střevních a žaludečních potížích a křečích trávicího traktu. Zevně se užívá například v obkladech na špatně hojící se rány při kožních vyrážkách a při ošetřování spálenin. Urychluje reparativní procesy, brání tvoření jizev, užívá se také jako kloktadlo dutiny ústní a hrtanu [2, 3].

2.1.2 Mátový čaj

Máta peprná (*Mentha piperita*) patří k tradičním léčivým rostlinám používaných od pradávna. K přípravě čaje se používá nať (*Menthae piperitae herba*).

Listy máty peprné obsahují především silici s hlavní složkou mentholem, který dodává čaji silně aromatickou chuť a vůni. Vnitřně v nálevu se užívá jako cholagogum, karminativum, spasmolytikum při bolestivých křečích zažívacího traktu a nadýmání. Příznivě také působí inhalace par při rýmě a zánětu průdušek [2, 3].

2.1.3 Meduňkový čaj

Meduňka lékařská (*Melissa officinalis*) má v lidovém léčitelství dlouhou tradici. Pro svou medovou chuť dostala rostlina své české jméno. Na přípravu čaje se používá nať z meduňky (*Melissae herba*).

Listy meduňky jsou bohaté jednak na silici s hlavními složkami citralem, citronelalem a geraniolem, jednak na třísloviny. Čaj se tradičně užívá k léčbě mírných zažívacích potíží, jako uklidňující prostředek při bušení srdce, nespavosti či psychickém vypětí [2, 4].

2.1.4 Šalvějový čaj

Léčivé účinky šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) jsou spojeny s mnoholetou tradicí sahající do starověké Persie, Číny nebo Egyptu. Pro přípravu čaje se používá nať (*Salviae herba*).

Silice šalvěje obsahuje především thujon, salviol, cineol a třísloviny. Siličná složka v malých dávkách snižuje vylučování potu, působí protizánětlivě, baktericidně a mírně diuretický. Vnitřně se užívá při mírných trávicích potížích, pálení žáhy a nadýmání. Zevně se používá ve formě kloktadla při zánětech dutiny ústní a hrtanu, ve formě obkladů v kožním lékařství. Vzhledem ke značnému obsahu jedovatého thujonu je nutné nepřekračovat dávkování a neužívat dlouhodobě [2, 5].

2.2 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Pro analýzu vybraných vzorků čajů byla zvolena hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) vzhledem k velice nízkým limitům detekce dosažitelných téměř pro všechny prvky periodické tabulky a možnosti stanovení více prvků ve vzorku současně. Tato metoda umožňuje zároveň kvalitativní a kvantitativní stanovení [6, 7].

Nadávkovaný vzorek je nejprve nutno pomocí zmlžovače převést do formy aerosolu, který je následně transportován plazmovým plynem (nejčastěji argonem) k plazmové hlavici. Ta je tvořena třemi koncentrickými křemennými trubicemi. Plazma argonu dosahuje teplot 6 000–10 000 K. Energie je do argonového plazmatu předávána prostřednictvím elektromagnetického pole, které je generováno radiofrekvenční cívkou [7].

V plazmové hlavici dochází k atomizaci a ionizaci atomů obsažených ve vzorku. Ionty vyprodukované v plazmatu jsou následně usměrněny iontovou optikou a přiváděny do hmotnostního kvadrupólového analyzátoru. Spojení hmotnostního spektrometru pracujícího ve vakuu a iontového zdroje pracujícího za atmosférického tlaku zajišťuje interface. Úlohou interface je rovněž oddělení iontů vzorku od stínícího plynu argonu. Ionty jsou v hmotnostním analyzátoru separovány na základě poměru hmotnosti a náboje a následně detegovány [6, 8].

2.3 Mikrovlnný rozklad

K převedení pevných vzorků do kapalného stavu se často používá mikrovlnný mineralizační systém.

Mikrovlnný rozkladný proces probíhá při teplotě až 260 °C a do tlaků 100 bar v závislosti na použité rozkladné nádobě a povahy vzorku. Měřicí jednotkou teploty uvnitř rozkladných teplot a na povrchu nádob a měřicí jednotkou tlaku v rozkladné patroně s nejvyšší navázkou vzorku je monitorován průběh celého mineralizačního rozkladu [9].

Rozklad se provádí v teflonových nebo křemenných nádobách o různém vnitřním objemu. K naváženému vzorku v rozkladné patroně se přidává kyselina (např. kyselina dusičná) nebo směs kyselin (např. kyselina dusičná/chlorovodíková/fluorovodíková), případně směs kyseliny a peroxidu vodíku. Při mikrovlnném procesu dochází k rozkladu organických látek a rozpuštění anorganických složek vzorku. Následně výsledný roztok musí zchladnout a být odvětrán od oxidů dusíku vzniklých rozkladem kyseliny dusičné [7].

2.4 Význam stanovovaných prvků pro lidský organismus

Draslík je hlavní intracelulární kation. Významně se podílí na udržení osmotického tlaku buňky a stabilitě vnitřního prostředí. Draslík je potřeba pro správnou funkci nervového a svalového systému. Regulace draslíku v séru je zajištěna především ledvinami. Nedostatek

draslíku v séru se projevuje nespecificky na úrovni kosterní svaloviny a zažívacího traktu zvýšeným výskytem poruch motility. Objevují se bolesti hlavy, ospalost, slabost nebo svalové křeče či nepravidelný srdeční rytmus. Doporučená denní dávka pro dospělého člověka je 2 g [10].

Hořčík je druhým nejvýznamnějším intracelulárním kationtem. Ovlivňuje aktivitu mnoha buněčných enzymů, podílí se na modulování signálu na postsynaptické membráně, má důležité funkce ve vztahu k DNA či integritě buňky. Nedostatek hořčíku se může projevovat například třesem, svalovými křečemi, bušením srdce, migrénami, nespavostí či nervozitou. Doporučená denní dávka pro dospělého člověka se udává okolo 365 mg [11].

Mangan je prvkem důležitým pro krvetvorbu a podílí se na správném vývoji mezibuněčné hmoty, kostí a chrupavek. Pomáhá také hlídat hladinu cholesterolu v krvi. Mangan rovněž ovlivňuje růst lidského plodu, vývoj jeho orgánů a správnou funkci vnitřního ucha důležitého pro udržování rovnováhy [12].

Měď je kofaktorem řady enzymů, podílí se na stavbě kostí, činnosti centrálního nervového systému či tvorbě melaninu v kůži. Měď je součástí bílkoviny kolagenu, která je podstatnou částí kůže, kostí a pojivových tkání. Denní doporučená dávka se pohybuje mezi 2–5 mg [13].

Zinek je součástí mnoha enzymů a ovlivňuje celý imunitní systém. Zinek je důležitý antioxidant, který chrání tělo před volnými kyslíkovými radikály. Jeho dostatek je významný i jako prevence proti chřipce a nachlazení. Dále se podílí na hojení ran, například při popáleninách pro obnovu tkání. Doporučená denní dávka se pohybuje v rozmezí 8–15 mg v závislosti na pohlaví a věku [14].

Kadmium a olovo jsou prvky pro člověka toxické. Kadmium se v lidském těle hromadí převážně v játrech a ledvinách. Kadmium je schopné vytěsnit zinek z různých enzymů, a tím porušit průběh některých metabolických reakcí. Nejzávažnějším účinkem kadmia je jeho teratogenita a při dlouhotrvajícím příjmu ohrožení reprodukčních orgánů člověka. Olovo ovlivňuje zejména krvetvorbu, činnost nervové soustavy, imunitní systém, trávení a reprodukci. Při vysokých dávkách olova dochází k nevratnému poškození nervové soustavy, křečím, případně i smrti. Olovo je v organismu ukládáno v ledvinové, jaterní a především kostní tkáni. Olovo je považováno za možný lidský karcinogen [15, 16]

2.5 Analýza prvků v bylinných čajích a léčivých rostlinách

Analýzou prvků člověku prospěšných a analýzou prvků pro člověka toxických přítomných v bylinných čajích a léčivých rostlinách se zabývala řada světových studií. Níže jsou uvedeny vybrané z nich.

Analýza minerálních a stopových prvků v léčivých rostlinách a jejich nálevech

Cílem této studie bylo stanovit třináct prvků (Al, B, Ba, Fe, Zn, Mn, Mg, K, Na, P, Cu, Sr a Ca) ve vybraných bylinách včetně heřmánku, máty, meduňky i šalvěže a jejich nálevech. Vzorky bylin byly zakoupeny od dvou výrobců, jednoho tradičního a jednoho méně známého, dostupného na trzích [17].

Usušené vzorky o hmotnosti 1 g byly v křemenných kelímcích mineralizovány v muflové peci při teplotě 350 °C po dobu 10 hodin. Po ochlazení bylo ke zbytku přidáno 5 ml 20% kyseliny chlorovodíkové a vzorek byl zahříván do rozpuštění (asi 30 minut). Vzniklý roztok byl zředěn na asi 10 ml deionizovanou vodou, zfiltrován a doplněn na objem 25 ml. Pro stanovení koncentrace prvků v nálevech byl sáček (2 g) zalit 200 ml horké vody. Po deseti minutách (doba doporučená od výrobce) a třiceti minutách chladnutí byl sáček vyjmut a roztok byl odpařen téměř do sucha. K pevnému zbytku bylo přidáno 5 ml koncentrované kyseliny dusičné a 5 ml 30% peroxidu vodíku a vzorky byly opět odpařeny téměř do sucha. Zbýlý obsah byl rozpuštěn v 10 ml horké vody, přefiltrován a doplněn na objem 25 ml vodou. Měření byla provedena pomocí ICP-OES [17].

Koncentrace prvků v závislosti na výrobcu se u šalvěže, máty, meduňky a heřmánku výrazně nelišily. Většina vzorků zakoupených u méně známého výrobce byly pouze o něco chudší na draslík a hořčík. Výsledky měření prvků v bylinách jsou shrnuty v tab. 2.1 a 2.2. Obsahy prvků po desetiminutovém louhování čajů od tradičního výrobce jsou shrnuty v tab. 2.3, obsahy prvků po třicetiminutovém louhování se významně neměnily [17].

Tab. 2.1 Celkový obsah prvků v listech bylin v jednotkách $\mu\text{g/g}$ (od tradičního výrobce)

| prvek | šalvěj | máta | meduňka | heřmánek |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| K | 1541 ± 6 | 2257 ± 4 | 2354 ± 7 | 2085 ± 8 |
| Mg | 442 ± 1 | 337 ± 1 | 366 ± 2 | 279 ± 1 |
| Mn | $10,5 \pm 0,1$ | $6,18 \pm 0,03$ | $11,0 \pm 0,1$ | $7,55 \pm 0,02$ |
| Zn | $60,4 \pm 0,2$ | $60,4 \pm 0,2$ | $64,0 \pm 0,5$ | $75,5 \pm 0,3$ |
| Cu | $1,15 \pm 0,04$ | $1,49 \pm 0,02$ | $1,42 \pm 0,02$ | $1,55 \pm 0,03$ |

Tab. 2.2 Celkový obsah prvků v listech bylin v jednotkách $\mu\text{g/g}$ (od méně známého výrobce)

| prvek | šalvěj | máta | meduňka | heřmánek |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| K | 1223 ± 6 | 2106 ± 8 | 2022 ± 32 | 2524 ± 4 |
| Mg | 331 ± 2 | 422 ± 2 | 270 ± 2 | 218 ± 1 |
| Mn | $8,98 \pm 0,08$ | $12,0 \pm 0,1$ | $7,58 \pm 0,08$ | $13,8 \pm 0,1$ |
| Zn | $56,6 \pm 0,2$ | $75,3 \pm 0,1$ | $66,3 \pm 1,4$ | $88,8 \pm 0,5$ |
| Cu | $1,67 \pm 0,04$ | $1,75 \pm 0,02$ | $1,57 \pm 0,01$ | $1,38 \pm 0,01$ |

Tab. 2.3 Obsahy prvků v $\mu\text{g/g}$ sušiny po desetiminutovém louhování (od tradičního výrobce)

| prvek | šalvěj | máta | meduňka | heřmánek |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| K | 1162 ± 5 | 1445 ± 6 | 2650 ± 74 | 868 ± 14 |
| Mg | 271 ± 2 | $87,3 \pm 1,2$ | 198 ± 5 | $55,2 \pm 0,4$ |
| Mn | $2,48 \pm 0,14$ | $1,17 \pm 0,02$ | $2,02 \pm 0,03$ | $1,00 \pm 0,01$ |
| Zn | $11,2 \pm 0,1$ | $5,24 \pm 0,26$ | $11,5 \pm 0,2$ | $12,7 \pm 0,2$ |
| Cu | $0,417 \pm 0,019$ | $0,241 \pm 0,007$ | $0,787 \pm 0,022$ | $0,682 \pm 0,003$ |

Stanovení vybraných prvků v bylinných čajích a hodnocení rizik pro spotřebitele

Pro tuto studii bylo použito celkem 220 vzorků bylinných čajů, které byly zakoupeny na různých prodejních místech (supermarkety, pouliční trh a obchod s bylinkami). Bylo shromážděno celkem dvanáct bylinných druhů včetně máty, šalvěže a heřmánku. Cílem studie bylo stanovit hladiny devíti prvků (Fe, Mn, Cu, Zn, As, Hg, Pb, Cr, Cd), porovnat výsledky s přípustnými hodnotami dostupnými v literatuře a posoudit potenciální zdravotní riziko konzumace bylinných čajů na lidský organismus [18].

Přibližně 0,5 g vzorku bylo mikrovlnně rozkládáno v uzavřené křemenné nádobě po dobu 30 minut v prostředí směsi kyseliny dusičné (4 ml), peroxidu vodíku (2 ml) a kyseliny chlorovodíkové (1 ml). Analýza byla provedena pomocí AAS. Pro stanovení Mn, Zn a Cu byl použit plamen, pro Cd, Cr, Pb byla použita grafitová pec [18].

Hladiny těžkých kovů v převážné většině studovaných bylinných čajů byly v souladu s maximálními přípustnými limity stanovenými WHO a Evropským lékopisem. Příjem těžkých kovů prostřednictvím bylinných čajů nepředstavoval pro spotřebitele žádné zdravotní riziko. Obsahy jednotlivých prvků se výrazně lišily v závislosti na místě, kde byly byliny zakoupeny [18].

Minerální obsah vybraných bylin, bylinných čajů a odvarů

Cílem této studie bylo zjistit obsah minerálních látek ve vybraných bylinách a koření a stanovit optimální dobu přípravy nálevu nebo odvaru potřebnou pro uvolnění minerálů do vody [19].

Asi 0,5 g sušené rostliny bylo vloženo do žíhacího kelímku a bylo přidáno 15 ml koncentrované kyseliny dusičné. Vzorky byly rozloženy mikrovlnným rozkladem při teplotě 200 °C a výsledný obsah byl zředěn 100 ml vody. Koncentrace prvků byly stanoveny pomocí ICP-OES [19].

Součástí studie byla příprava nálevu. Asi 2 g sušené rostliny byly zality 98 ml destilované vody a přivedeny k varu po dobu 5, 10 a 15 minut. Následně byl roztok přefiltrován přes kvantitativní filtrační papír. Filtrát (25 ml) byl zředěn 25 ml destilované vody a následně přímo vstříkovan do přístroje ICP-OES [19].

Nejvíce kadmia obsahovala šalvěj ($0,41 \pm 0,10$ ppm), oproti tomu v mátě nebyla naměřena žádná koncentrace kadmia. Nejvíce olova obsahovala meduňka ($1,65 \pm 0,97$ ppm), oproti tomu v mátě byla situace podobná, jako v případě kadmia. Nejvyšší hodnoty chromu ($11,19 \pm 2,93$ ppm), draslíku ($27497,8 \pm 7828,6$ ppm), zinku ($26,00 \pm 6,28$ ppm) a mědi ($7,40 \pm 1,78$ ppm) byly naměřeny u heřmánku. Nejvyšší hodnoty hořčiku ($3178,7 \pm 227,4$ ppm) byly naměřeny u meduňky. Nejvíce manganu obsahovala máta ($43,50 \pm 3,09$ ppm). Výsledky všech měření jsou shrnuty v tab. 2.4. Bylo zjištěno, že desetiminutová doba louhování je dostačující pro transport člověku prospěšných minerálů do vody [19].

Tab. 2.4 Výsledky stanovení prvků v usušených bylinách v jednotkách ppm

| prvek | šalvěj | máta | meduňka | heřmánek |
|-------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Cr | $2,77 \pm 0,17$ | $6,28 \pm 1,61$ | $6,46 \pm 1,06$ | $11,19 \pm 2,93$ |
| Cd | $0,41 \pm 0,10$ | $0,02 \pm 0,02$ | $0,13 \pm 0,12$ | $0,19 \pm 0,01$ |
| K | $10967,3 \pm 1948,6$ | $18496,2 \pm 1169,53$ | $20704,7 \pm 2373,7$ | $27497,8 \pm 7828,6$ |
| Mg | $2391,0 \pm 417,8$ | $2316,6 \pm 136,29$ | $3178,7 \pm 227,4$ | $2164,9 \pm 270,9$ |
| Mn | $22,50 \pm 5,91$ | $43,50 \pm 3,09$ | $36,33 \pm 8,59$ | $24,30 \pm 5,64$ |
| Pb | $1,15 \pm 0,63$ | $0,00 \pm 0,00$ | $1,65 \pm 0,97$ | $1,31 \pm 1,29$ |
| Zn | $12,35 \pm 4,99$ | $10,79 \pm 0,19$ | $21,74 \pm 3,94$ | $26,00 \pm 6,28$ |
| Cu | $2,83 \pm 0,90$ | $6,45 \pm 0,41$ | $7,88 \pm 0,95$ | $7,40 \pm 1,78$ |

Stopová analýza prvků v rostlinách rodu *Salvia*

Ve studii bylo analyzováno pět druhů rostlin rodu *Salvia*. Celkem dvacet stopových prvků (Li, Be, V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, Hg, Tl, Pb, U) byly stanovovány pomocí ICP-MS. Vzorky byly podle částí rostliny rozděleny do skupin semena, kořeny, listy, květy a jejich směsi [20].

Vzorky byly omyty deionizovanou vodou a následně sušeny při 70 °C po dobu 48 hodin. Po usušení byl vzorek rozdrcen a 200 mg sušiny bylo umístěno do rozkladné nádoby z PTFE. K vzorku bylo přidáno 6 ml kyseliny dusičné a 2 ml peroxidu vodíku. Vzorek byl rozložen v mikrovlnném rozkladném zařízení a poté přenesen do zkumavky o objemu 25 ml. Zkumavka byla doplněna deionizovanou vodou po rysku a umístěna k analýze do přístroje ICP-MS [20].

Obsah chromu byl zjištěn v rozmezí 0,53–10,09 mg kg⁻¹. Obsah zinku byl zjištěn v rozmezí 0,52–9,13 mg kg⁻¹. Obsah mědi byl zjištěn v rozmezí 2,94–24,74 mg kg⁻¹. Nejvyšší nalezená koncentrace mědi byla 24,74 mg kg⁻¹ a nejvyšší nalezená koncentrace olova byla 5,21 mg kg⁻¹. Obsah kadmia byl stanoven v rozmezí 4,40–64,80 µg kg⁻¹. Ve srovnání s jinými částmi rostliny byl pozorován větší obsah kadmia právě v kořenových částech všech druhů šalvěje [20].

Stanovení stopových prvků v bylinných čajích

Tato studie se zabývala stanovením koncentrace As, Ba, Cd, Co, Cu, Cr, Ni, Pb, Se, V, Zn ve dvaceti osmi vzorcích rostlin včetně heřmánku a šalvěje. Vzorky byly zakoupeny u různých bylinkářů, v sáčcích nebo v sypané formě. Vzorky byly pro analýzu připravovány dvěma metodami, mikrovlnnou digescí a ředěním kyselinou [21].

Bylo naváženo asi 0,2 g vzorku a přeneseno do nádoby pro mikrovlnný rozklad. K vzorku bylo přidáno 6 ml koncentrované kyseliny dusičné a 2 ml peroxidu vodíku. Rozklad probíhal od 80 °C do 150 °C po dobu 5 minut, poté 15 minut při 225 °C, následovalo chlazení 10 minut při 70 °C. Nakonec byly vzorky zředěny na objem 25 ml deionizovanou vodou. Pro přípravu ředěním kyselinou byly vzorky louhovány po dobu 10 minut ve vroucí pitné vodě. Následně byly vzniklé roztoky filtrovány a ke každému byla přidána 2% kyselina dusičná. Analýza byla provedena pomocí ICP-MS [21].

Mez detekce byla zjištěna pro všechny prvky v rozmezí 0,50 až 5,55 µg L⁻¹. Naměřené hodnoty jsou shrnuty v tab. 2.5 a 2.6. Obsahy stopových prvků, včetně toxických prvků, byly mnohem vyšší ve vzorcích ošetřených mikrovlnným rozkladem ve srovnání s ředěním kyselinou. Olovo a kadmium po louhování nebyly detekovány. Po mikrovlnném rozkladu

nejvyšší naměřená hodnota pro olovo byla $522 \mu\text{g kg}^{-1}$ a pro kadmium $131 \mu\text{g kg}^{-1}$. Rozdílné výsledky mohly být způsobené odlišným rostlinným druhem a jeho schopností prvky absorbovat, minerálním složením půdy nebo klimatickými podmínkami, ve kterých byla rostlina pěstována [21].

Tab. 2.5 Výsledky měření vzorků připravených infuzí a ředěním kyselinou v $\mu\text{g kg}^{-1}$

| | Cr | Pb | Cd | Zn | Cu |
|---------------------|----------------|---------------|------|----------------|----------------|
| <i>sáček</i> | | | | | |
| heřmánek | $3,0 \pm 0,1$ | <LOD | <LOD | $34,0 \pm 1,6$ | $20,0 \pm 0,5$ |
| šalvěj | $16,0 \pm 0,3$ | $7,0 \pm 0,2$ | <LOD | 218 ± 4 | $32,0 \pm 0,6$ |
| <i>sypaná forma</i> | | | | | |
| heřmánek | $4,0 \pm 0,5$ | <LOD | <LOD | $65,0 \pm 7,1$ | $27,0 \pm 2,4$ |
| | $7,0 \pm 0,1$ | <LOD | <LOD | $53,0 \pm 1,5$ | $27,0 \pm 0,3$ |
| šalvěj | $6,0 \pm 3,0$ | <LOD | <LOD | $42,0 \pm 1,2$ | $13,0 \pm 0,1$ |
| | $5,0 \pm 0,1$ | <LOD | <LOD | $20,0 \pm 0,3$ | $5,0 \pm 0,1$ |
| | $5,0 \pm 0,08$ | <LOD | <LOD | $27,0 \pm 0,6$ | $19,0 \pm 0,5$ |

Tab. 2.6 Výsledky měření vzorků připravených mikrovlnným rozkladem v $\mu\text{g kg}^{-1}$

| | Cr | Pb | Cd | Zn | Cu |
|---------------------|---------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| <i>sáček</i> | | | | | |
| heřmánek | 484 ± 18 | 215 ± 9 | $50,0 \pm 0,1$ | 18155 ± 19 | 10608 ± 128 |
| šalvěj | 1411 ± 26 | 522 ± 1 | <LOD | 28021 ± 14 | 4989 ± 52 |
| <i>sypaná forma</i> | | | | | |
| heřmánek | 2543 ± 26 | 361 ± 3 | $48,0 \pm 0,2$ | 22355 ± 18 | 13321 ± 98 |
| | 3723 ± 42 | 220 ± 4 | $131,0 \pm 0,3$ | 20477 ± 6 | 8358 ± 59 |
| šalvěj | 3065 ± 30 | 50 ± 3 | <LOD | 15634 ± 4 | 7861 ± 32 |
| | 3231 ± 26 | $63,0 \pm 0,7$ | <LOD | $8310 \pm 0,4$ | 4527 ± 21 |
| | 1800 ± 20 | <LOD | <LOD | 10537 ± 1 | 7445 ± 46 |

3 Experimentální část

3.1 Analyzované vzorky bylinných čajů

Pro stanovení obsahu vybraných prvků bylo použito celkem osm vzorků bylinných čajů, a to čtyři různé druhy od dvou různých výrobců – Megafyt Pharma (U Elektrárny 516, 252 46, Vrané nad Vltavou, Česká republika) a Leros (U Národní galerie 470, 156 00, Praha 5-Zbraslav, Česká republika). Dostupné informace od výrobce o daném čaji jsou shrnuty v tab. 3.1 a tab. 3.2. V tabulkách byly použity zkratky MP pro výrobce Megafyt Pharma a L pro výrobce Leros.

Tab. 3.1 Dostupné informace od výrobce čajů

| Číslo vzorku | Název | Výrobce | hmotnost sáčku/dávky [g] | Doporučený objem vody [ml] | Doporučená doba louhování [min] |
|--------------|----------------|---------|--------------------------|----------------------------|---------------------------------|
| 1 | Heřmánkový čaj | MP | 1,5 | 150 | 15 |
| 2 | Šalvějový čaj | MP | 1,5 | 250 | 15 |
| 3 | Meduňkový čaj | MP | 1,5 | 250 | 15 |
| 4 | Mátový čaj | MP | 2,0 | 250 | 15 |
| 5 | Heřmánkový čaj | L | 1,0 | 250 | 15 |
| 6 | Šalvějový čaj | L | 2,5 | 250 | 10-15 |
| 7 | Meduňkový čaj | L | 1,0 | 250 | 5-10 |
| 8 | Mátový čaj | L | 1,5 | 250 | 5-7 |

Tab. 3.2 Dostupné informace od výrobce čajů (číslo šarže, minimální trvanlivost)

| Číslo vzorku | Název | Výrobce | Číslo šarže | Minimální trvanlivost |
|--------------|----------------|---------|-------------|-----------------------|
| 1 | Heřmánkový čaj | MP | 212102021 | 12. 10. 2023 |
| 2 | Šalvějový čaj | MP | 214102021 | 14. 10. 2023 |
| 3 | Meduňkový čaj | MP | 218082021 | 18. 08. 2023 |
| 4 | Mátový čaj | MP | 214092021 | 14. 09. 2023 |
| 5 | Heřmánkový čaj | L | L271021 | 102023 |
| 6 | Šalvějový čaj | L | L271221 | 122023 |
| 7 | Meduňkový čaj | L | L011121 | 112023 |
| 8 | Mátový čaj | L | L101121 | 112023 |

Nálevové sáčky byly balené v papírových krabičkách, od firmy Megafyt Pharma byl navíc každý sáček zabalen v plastovém obalu. Pouze vzorek šalvějového čaje od firmy Leros byl použit v sypané formě.

3.2 Použité chemikálie

Deionizovaná voda (0,07 μ S a 0,055 μ S)

Kyselina chlorovodíková (34–37%), p.a., šarže 2020 (Analytika, Česká republika)

Kyselina dusičná ($\geq 65\%$), semiconductor grade, šarže L2720 (Honeywell, Německo)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL AN9094MFN (As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, Tl, V, Zn; koncentrace všech prvků 100 mg/l), šarže 0004 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL INTMIX01 (Bi, In, Sc, Tb, Y; koncentrace všech prvků 10 mg/l), šarže 1014 (Analytika, Česká republika)

Tuning solution for ICP-MS (Ce, Co, Li, Mg, Ti, Y; koncentrace všech prvků 1 μ g/l), 5185-5959 (Agilent Technologies, USA)

Certifikovaný referenční materiál CertiPUR (Mg 999 \pm 2 mg/l), šarže HC12273 (Merck, Německo)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL ANS228 (K 10000 \pm 50 mg/l), šarže 1001 (Analytika, Česká republika)

3.3 Použité přístroje a pomůcky

Rozkladné zařízení Speedwave Xpert, rozkladné patrony DAP60 (Berghof, Německo)

Hmotnostní spektrometr Agilent 7900 ICP-MS (Agilent Technologies, USA)

Analytické váhy (Sartorius, Česká republika)

Zdroj deionizované vody o vodivosti 0,055 μ S Milli-Qplus (Millipore, USA)

Automatické pipety (Thermo Fisher Scientific, USA)

Teploměr

Veškeré odměrné sklo bylo před použitím opláchnuto deionizovanou vodou (0,07 μ S).

3.4 Příprava vzorků

Mikrovlnný rozklad vzorků pro stanovení celkového obsahu prvků

Před samotným rozkladem vzorků čajů bylo provedeno čištění teflonových rozkladných patron. Do patron byl odměřen 1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a 9 ml koncentrované kyseliny dusičné a byl spuštěn čistící cyklus podle předvoleného programu (Tab. 3.3).

Tab. 3.3 Program čištění patron

| Číslo kroku | T [°C] | p [bar] | t_1 [min] | t_2 [min] | P [%] |
|-------------|----------|-----------|-------------|-------------|---------|
| 1 | 170 | 35 | 5 | 5 | 90 |
| 2 | 200 | 35 | 1 | 15 | 90 |
| 3 | 50 | 35 | 1 | 10 | 0 |
| 4 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 |

t_1 – doba pro dosažení teploty T , t_2 – doba udržování teploty T , P – maximální výkon magnetronu

Po dokončení čistícího cyklu byl obsah patron zlikvidován a patrony byly vypláchnuty deionizovanou vodou (0,055 μ S) a vysušeny.

Od každého druhu čaje bylo zváženo celkem šest nálevových sáčků. Následně byl každý sáček rozstříhnut, byl zvážen jak samotný obal, tak obsah sáčku. Ten byl dále přesypán do označené zkumavky. Před odebráním vzorku byl obsah šesti sáčků důkladně promíchán.

Tab. 3.4 Navážky jednotlivých vzorků v duplikátech

| patrona | vzorek | hmotnost [g] | patrona | vzorek | hmotnost [g] |
|---------|--------|--------------|---------|--------|--------------|
| 1B | M_HE | 0,24540 | 1A | M_HE | 0,25673 |
| 2B | M_ŠA | 0,25463 | 2A | M_ŠA | 0,25494 |
| 3B | M_MA | 0,26825 | 3A | M_MA | 0,26564 |
| 4B | M_ME | 0,24900 | 4A | M_ME | 0,25408 |
| 5B | L_HE | 0,26080 | 5A | L_HE | 0,25798 |
| 6B | L_ŠA | 0,25267 | 6A | L_ŠA | 0,25019 |
| 7B | L_MA | 0,26298 | 7A | L_MA | 0,25317 |
| 8B | L_ME | 0,26638 | 8A | L_ME | 0,25130 |

M – Megaphyt Pharma, L – Leros, HE – heřmánkový čaj, ŠA – šalvějový čaj,

MA – mátový čaj, ME – meduňkový čaj

Na analytických vahách bylo od každého vzorku diferenčně naváženo přibližně přesně 0,25 g do čistých a suchých rozkladných patron (Tab. 3.4) a bylo přidáno 5 ml koncentrované kyseliny dusičné. Případné ulpívající části bylin na stěnách patron byly spláchnuty kyselinou, aby nedošlo při rozkladu k nevratnému poškození patron.

Patrony byly ponechány otevřené v digestoři přes noc, aby došlo k řádnému smočení vzorků v kyselině dusičné. Následující den byl proveden mikrovlnný rozklad v mikrovlnném mineralizačním zařízení dle zvoleného programu (Tab. 3.5). Rozklad byl proveden ve dvou sériích.

Tab. 3.5 Program mikrovlnného rozkladu

| Číslo kroku | T [°C] | p [bar] | t_1 [min] | t_2 [min] | P [%] |
|-------------|----------|-----------|-------------|-------------|---------|
| 1 | 150 | 30 | 5 | 10 | 70 |
| 2 | 200 | 35 | 2 | 20 | 80 |
| 3 | 50 | 20 | 1 | 10 | 0 |

t_1 – doba pro dosažení teploty T , t_2 – doba udržování teploty T , P – maximální výkon magnetronu

Po ukončení rozkladného cyklu byly patrony ponechány v zařízení stát 20 minut, aby došlo k pozvolnému snížení teploty a tlaku. Poté byl obsah patron přelit do 50 ml centrifugačních zkumavek. Byla provedena vizuální kontrola, zda byly vzorky zcela rozloženy. Následně byly patrony dvakrát propláchnuty deionizovanou vodou (0,055 μS). Zkumavky se vzorky byly doplněny deionizovanou vodou po rysku. Patrony byly přes noc ponechány louhovat 5% kyselinou dusičnou, poté dvakrát vypláchnuty deionizovanou vodou a připraveny tak k dalšímu použití.

3.5 Analýza vzorků

Analýza byla provedena pomocí hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem. Nejprve byly připraveny roztoky pro kalibraci. Ze zásobního roztoku víceprvkového certifikovaného referenčního materiálu AN9094MFN o koncentraci 100 mg L⁻¹ byly ředěním připraveny roztoky analytů o koncentracích 1,6; 8,0; 40; 200 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pro stanovení hořčíku a draslíku byly z jednoprvkových zásobních roztoků certifikovaných referenčních materiálů ředěním připraveny kalibrační roztoky o koncentracích 0,032; 0,16; 0,8; 4 a 20 mg L⁻¹. Byl připraven směsný roztok interních standardů (Bi, In, Sc, Tb, Y, Ge a Te)

o koncentraci 0,05 mg L⁻¹. Připravené roztoky vzorků byly vždy přelity z 250 ml odměrných baněk do 50 ml centrifugačních zkumavek a umístěny do automatického dávkovače.

Pro vyhodnocení koncentrací prvků ve vzorku byl použit vždy jeden izotop stanovovaného prvku (Tab. 3.6).

Tab. 3.6 Analyzované prvky a jejich izotop použitý pro vyhodnocení analýzy

| Analyt | Izotop | Analyt | Izotop |
|---------|------------------|---------|-------------------|
| hořčík | ²⁴ Mg | měď | ⁶³ Cu |
| draslík | ³⁹ K | zinek | ⁶⁶ Zn |
| chrom | ⁵² Cr | kadmium | ¹¹¹ Cd |
| mangan | ⁵⁵ Mn | olovo | ²⁰⁸ Pb |

Po uvedení přístroje do režimu měření bylo provedeno automatické ladění. Není-li uvedeno jinak, byly u všech měření použity následující experimentální podmínky (Tab. 3.7).

Tab. 3.7 Experimentální podmínky ICP-MS

| | |
|----------------------------------|--|
| Průtok argonu v plazmatu [l/min] | 15,0 |
| Průtok argonu zmlžovačem [l/min] | 1,05 |
| Pomocný plyn [l/min] | 0,90 |
| Otáčky peristaltické pumpy [RPS] | 0,10 |
| Hloubka vzorkování [mm] | 10,0 |
| Teplota mlžné komory [°C] | 2 |
| Interní standardy | ⁴⁵ Sc, ¹¹⁵ In, ²⁰⁹ Bi |
| Plasma mode | general purpose |

Analýza celkového zastoupení prvků v bylině

Nejprve byly změřeny kalibrační roztoky, poté byly analyzovány roztoky rozložených vzorků. K analýze byly použity neředěné roztoky, pouze pro analýzu hořčíku a draslíku byly použity 30x ředěné roztoky 2% kyselinou dusičnou. Analýza byla provedena bez reakčního plynu.

Analýza prvků ve výluhu

Sáčky čajů byly zality asi 250 ml vroucí vody a ponechány louhovat 7–15 minut dle doporučení od výrobce (Tab. 3.1, str. 18). Poté byly sáčky vyjmuty, vzorek šalvěje přefiltrován (sypaná forma) a výsledné roztoky byly ponechány stát do ochlazení na

laboratorní teplotu. Poté byl obsah kádinek přelit do 250 ml odměrných baněk, před doplněním na celkový objem byl roztok okyselen 7,7 ml koncentrované kyseliny dusičné.

Nejprve byly změřeny kalibrační roztoky, poté byly analyzovány roztoky vzorků. K analýze byly použity roztoky neředěné a 15x ředěné 2% kyselinou dusičnou. Analýza byla provedena v héliovém módu i v módu bez reakčního plynu.

Stanovení prvků ve výluhu v závislosti na době louhování

Pro stanovení byl zvolen heřmánkový čaj výrobce Leros vzhledem k tomu, že v předchozím měření obsahoval většinu vybraných prvků ve vyšších koncentracích v porovnání s ostatními čaji. Sáčky byly zality 250 ml vroucí vody, bez míchání ponechány stát a následně byly sáčky vyjmuty v intervalech po 1 minutě; 2,5; 5; 10; 30 a 60 minutách. Výluhy byly přelity do 250 ml odměrných baněk a před doplněním na celkový objem byly okyseleny 7,7 ml koncentrované kyseliny dusičné.

Nejprve byly změřeny kalibrační roztoky, poté byly analyzovány roztoky vzorků. K analýze byly použity roztoky neředěné a 15x ředěné 2% kyselinou dusičnou. Analýza byla provedena pouze v módu bez reakčního plynu.

Stanovení prvků ve výluhu v závislosti na teplotě vody

Pro stanovení byl zvolen mátový čaj výrobce Megafyt Pharma. Sáčky byly postupně zality vodou o laboratorní teplotě, vodou ohřátou na 50 °C, 70 °C, 80 °C, 90 °C a 100 °C. Obsah kádinek byl bez míchání ponechán stát a jednotlivé sáčky byly vyjmuty vždy po 15 minutách. Následně byly výluhy přelity do 250 ml odměrných baněk a před doplněním na celkový objem okyseleny 7,7 ml koncentrované kyseliny dusičné.

Nejprve byly změřeny kalibrační roztoky, poté byly analyzovány roztoky vzorků. K analýze byly použity roztoky neředěné a 15x ředěné 2% kyselinou dusičnou. Analýza byla provedena pouze v módu bez reakčního plynu.

3.6 Statistické zpracování dat

Ke zpracování dat a sestavení grafů byly použity programy OriginPro (Microcal Software, USA) a Microsoft Excel pro Microsoft 365 (Microsoft Corporation, USA).

Měření byla provedena třikrát. Výsledky stanovení prvků byly prezentovány jako medián s relativní směrodatnou odchylkou. Byl vypočten konfidenční interval (CI) jako

násobek směrodatné odchylky při zvolené hladině významnosti 0,95 dělený druhou odmocninou z počtu měření.

Medián je prostřední hodnota výsledků seřazených podle velikosti nebo aritmetický průměr prostředních dvou hodnot, je-li počet výsledků sudé číslo. Směrodatná odchylka (SD) je mírou preciznosti souboru všech dat, vydělením střední hodnotou souboru výsledků je vypočítána relativní směrodatná odchylka (RSD). Mez detekce (LOD) je nejmenší koncentrace analytu ve vzorku, kterou můžeme danou analytickou metodou detegovat. Opakovatelnost byla vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka 10ti měření dané koncentrace.

Pro výpočty byly použity vzorce:

$$m = c \cdot V$$

$$c = \frac{m_{\text{analyt}}}{m_{\text{vzorek}}}$$

$$SD = \frac{c}{100} \cdot RSD$$

4 Výsledková část a diskuse

V následující části jsou uvedeny a diskutovány veškeré dosažené výsledky. V první části práce byla pozornost věnována samotné metodě stanovení vybraných prvků pomocí přístroje ICP-MS. Před vlastním měření byly provedeny automatické i ruční ladící sekvence pro nastavení optimálních parametrů měření. Optimalizace byly provedeny pro všechny stanovované prvky. Výsledky automatických ladících sekvencí již byly uvedeny v tab. 3.7. Měření všech prvků probíhalo v režimu s/bez kolizního plynu (He). Protože se v naprosté většině výsledky z obou režimů téměř rovnaly, bylo v celé práci přistoupeno pro vyhodnocení výsledků pouze z režimu bez reakčního plynu.

4.1 Vyhodnocení výsledků stanovení ICP-MS

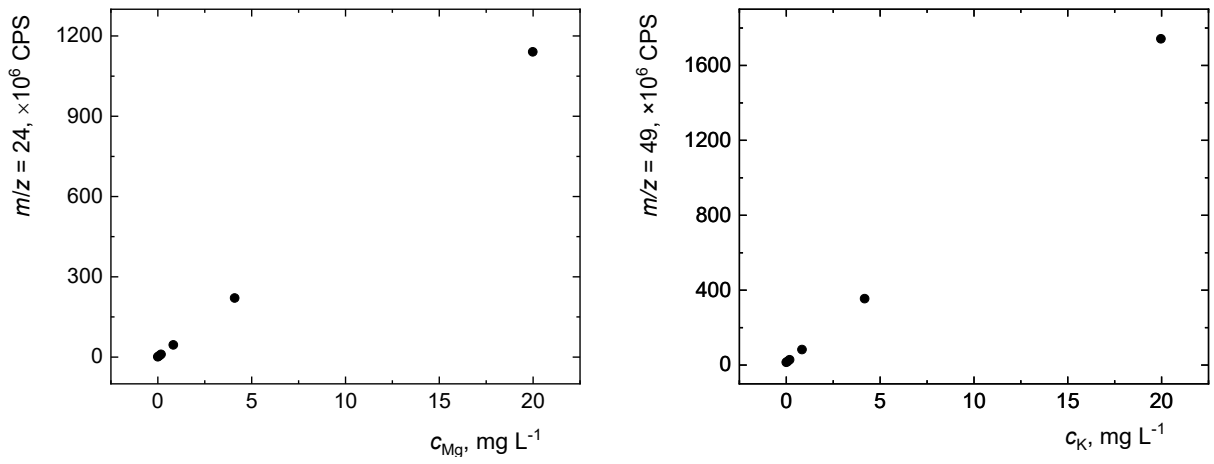
Po ukončení základního ladícího kroku (optimalizaci), bylo přistoupeno k měření kalibračních závislostí a zjištění základních charakteristik stanovení vybraných prvků. V tabulkách 4.1 a 4.2 jsou shrnuty údaje z kalibrační závislosti jednotlivých prvků určené přístrojem, jejichž grafické znázornění je na obr. 4.1 až 4.3. Lineární dynamický rozsah nebyl z podstaty principu hmotnostní detekce zjišťován. Opakovatelnost byla zjišťována vždy pro předposlední nejvyšší kalibrační roztok.

Tab. 4.1 Základní charakteristiky stanovení Mg a K metodou ICP-MS

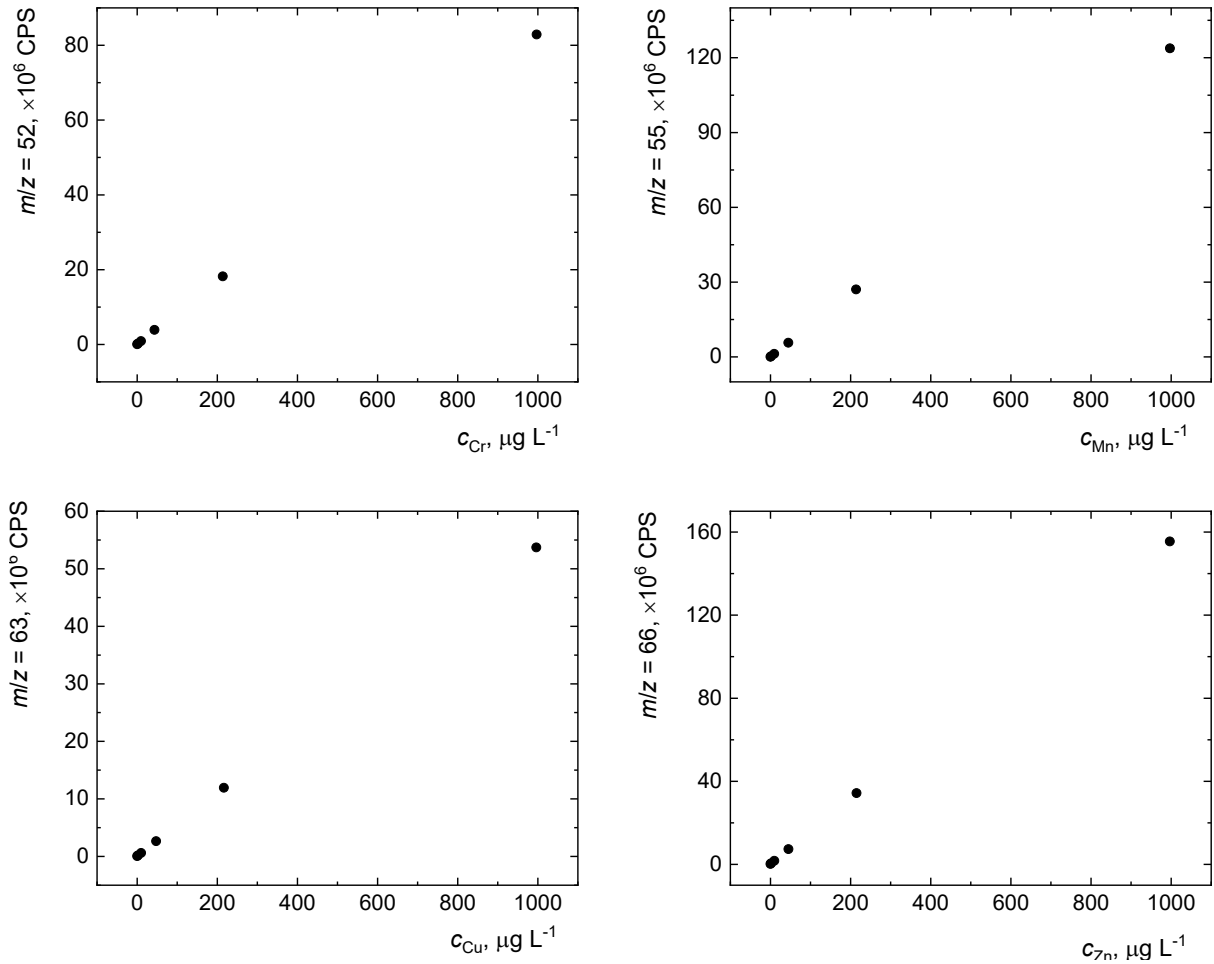
| prvek | rovnice regresní přímky | R ² | LOD [mg L ⁻¹] | opakovatelnost [%] |
|-------|--------------------------|----------------|---------------------------|--------------------|
| Mg | $y = 33,5436x + 0,6662$ | 1,0000 | 0,000335 | 2,0 |
| K | $y = 51,8433x + 10,9028$ | 1,0000 | 0,002848 | 2,2 |

Tab. 4.2 Základní charakteristiky stanovení Cr, Mn, Cu, Zn, Cd a Pb metodou ICP-MS

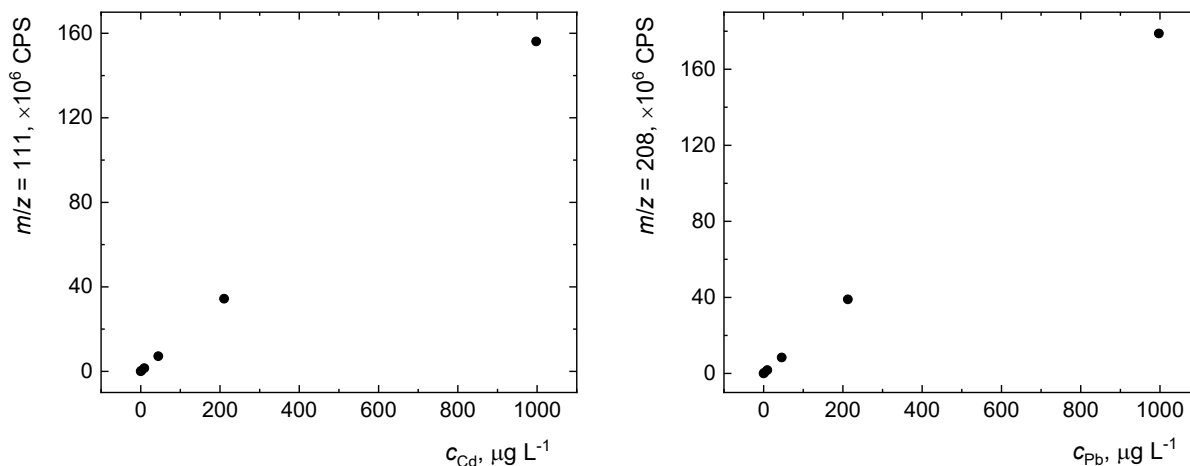
| prvek | rovnice regresní přímky | R ² | LOD [μg L ⁻¹] | opakovatelnost [%] |
|-------|--------------------------|----------------|---------------------------|--------------------|
| Cr | $y = 0,0553x + 0,0391$ | 0,9999 | 0,0427 | 0,5 |
| Mn | $y = 0,0828x + 0,0329$ | 0,9999 | 0,02026 | 1,4 |
| Cu | $y = 0,0366x + 0,0382$ | 0,9999 | 0,07222 | 0,9 |
| Zn | $y = 0,0108x + 0,0218$ | 0,9999 | 0,2391 | 0,5 |
| Cd | $y = 0,0064x + 0,000829$ | 1,0000 | 0,04037 | 1,4 |
| Pb | $y = 0,0824x + 0,0084$ | 0,9999 | 0,009538 | 0,7 |



Obr. 4. 1 Grafy kalibrační závislosti pro stanovení hořčíku (²⁴Mg) a draslíku (³⁹K)



Obr. 4. 2 Grafy kalibrační závislosti pro stanovení chromu (⁵²Cr), manganu (⁵⁵Mn), mědi (⁶³Cu) a zinku (⁶⁶Zn)



Obr. 4. 3 Grafy kalibrační závislosti pro stanovení kadmia (^{111}Cd) a olova (^{208}Pb)

4.2 Analýza celkového zastoupení prvků v bylině

V další části práce bylo úkolem stanovit celkové zastoupení prvků ve vybraných vzorcích čajů. Koncentrace jednotlivých prvků v každém vzorku byly měřeny ve dvou sériích, výsledná uváděná hodnota je průměrná hodnota opatřená konfidenčním intervalem. Koncentrace naměřené přístrojem ICP-MS byly násobeny příslušným ředícím faktorem. Koncentrace jednotlivých prvků byly přepočteny na gram sušiny. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách 4.3–4.5.

Tab. 4.3 Výsledné koncentrace hořčíku a draslíku ve vzorku v mg g^{-1}

| vzorek | $c(\text{Mg}) [\text{mg g}^{-1}]$ | $c(\text{K}) [\text{mg g}^{-1}]$ |
|--------|-----------------------------------|----------------------------------|
| M_HE | $3,53 \pm 0,016$ | $33,0 \pm 0,12$ |
| M_SA | $4,27 \pm 0,205$ | $14,4 \pm 0,77$ |
| M_MA | $6,12 \pm 0,030$ | $20,2 \pm 0,07$ |
| M_ME | $6,98 \pm 0,001$ | $13,5 \pm 0,06$ |
| L_HE | $4,18 \pm 0,004$ | $30,3 \pm 0,05$ |
| L_SA | $5,39 \pm 0,011$ | $27,7 \pm 0,05$ |
| L_MA | $4,09 \pm 0,454$ | $21,9 \pm 2,11$ |
| L_ME | $3,53 \pm 0,568$ | $20,4 \pm 2,86$ |

M – Megaphyt Pharma, L – Leros, HE – heřmánkový čaj, ŠA – šalvějový čaj,

MA – mátový čaj, ME – meduňkový čaj

Tab. 4.4 Výsledné koncentrace manganu, mědi a zinku ve vzorku v $\mu\text{g g}^{-1}$

| vzorek | $c(\text{Mn}) [\mu\text{g g}^{-1}]$ | $c(\text{Cu}) [\mu\text{g g}^{-1}]$ | $c(\text{Zn}) [\mu\text{g g}^{-1}]$ |
|--------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| M_HE | $71,9 \pm 0,46$ | $8,86 \pm 0,040$ | $36,1 \pm 0,05$ |
| M_SA | $34,8 \pm 0,24$ | $6,55 \pm 0,084$ | $39,7 \pm 0,32$ |
| M_MA | $62,9 \pm 0,70$ | $7,15 \pm 0,119$ | $24,3 \pm 0,25$ |
| M_ME | $54,4 \pm 0,06$ | $6,31 \pm 0,134$ | $24,8 \pm 0,34$ |
| L_HE | $134 \pm 4,1$ | $6,76 \pm 0,073$ | $45,4 \pm 0,90$ |
| L_SA | $35,4 \pm 0,10$ | $7,26 \pm 0,152$ | $27,9 \pm 0,17$ |
| L_MA | $79,7 \pm 1,40$ | $8,37 \pm 0,105$ | $27,0 \pm 0,19$ |
| L_ME | $69,0 \pm 0,27$ | $7,86 \pm 0,012$ | $24,0 \pm 0,27$ |

M – Megaphyt Pharma, L – Leros, HE – heřmánkový čaj, ŠA – šalvějový čaj, MA – máťový čaj, ME – meduňkový čaj

Tab. 4.5 Výsledné koncentrace chromu, kadmia a olova ve vzorku v $\mu\text{g g}^{-1}$

| vzorek | $c(\text{Cr}) [\mu\text{g g}^{-1}]$ | $c(\text{Cd}) [\mu\text{g g}^{-1}]$ | $c(\text{Pb}) [\mu\text{g g}^{-1}]$ |
|--------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| M_HE | $0,560 \pm 0,0101$ | $0,270 \pm 0,006$ | $0,155 \pm 0,003$ |
| M_SA | $0,747 \pm 0,0001$ | $0,0495 \pm 0,0024$ | $0,391 \pm 0,001$ |
| M_MA | $0,639 \pm 0,0143$ | $0,0419 \pm 0,0035$ | $0,482 \pm 0,003$ |
| M_ME | $0,940 \pm 0,0091$ | $0,00375 \pm 0,0004$ | $0,300 \pm 0,0002$ |
| L_HE | $4,81 \pm 0,087$ | $0,298 \pm 0,001$ | $2,20 \pm 0,07$ |
| L_SA | $1,32 \pm 0,021$ | $0,0101 \pm 0,0028$ | $0,978 \pm 0,002$ |
| L_MA | $4,49 \pm 0,047$ | $0,123 \pm 0,017$ | $3,08 \pm 0,06$ |
| L_ME | $1,65 \pm 0,014$ | $0,0418 \pm 0,0021$ | $0,591 \pm 0,002$ |

M – Megaphyt Pharma, L – Leros, HE – heřmánkový čaj, ŠA – šalvějový čaj, MA – máťový čaj, ME – meduňkový čaj

Postup přípravy vzorků smočením přibližně přesně 0,25 g vzorku 5 ml koncentrované kyseliny dusičné byl zvolen vhodně. Nedocházelo k nadnášení vzorků a vzorky byly dostatečně smočeny. Rychlá metodika rozkladu s minimálními ztrátami byla docílena pomocí mikrovlnného rozkladu za zvýšené teploty a tlaku.

Nejvyšší koncentrace hořčíku $6,98 \pm 0,001 \text{ mg g}^{-1}$ byla naměřena u vzorku M_ME, naopak nejnižší koncentrace hořčíku $3,53 \pm 0,568 \text{ mg g}^{-1}$ byla naměřena u vzorku L_ME. Nejvyšší koncentrace draslíku $33,0 \pm 0,12 \text{ mg g}^{-1}$ byla naměřena u M_HE, naopak nejnižší koncentrace $13,5 \pm 0,06 \text{ mg g}^{-1}$ byla naměřena u vzorku M_ME.

Nejvyšší koncentrace manganu a zinku byly nalezeny ve vzorku L_HE. Koncentrace manganu byla $134 \pm 4,1 \mu\text{g g}^{-1}$, koncentrace zinku byla $45,4 \pm 0,90 \mu\text{g g}^{-1}$. Koncentrace mědi ve vzorcích se významně nelišily a byly naměřeny v rozmezí $6,31\text{--}8,86 \mu\text{g g}^{-1}$.

Nejvyšší koncentrace chromu a kadmia byly nalezeny ve vzorku L_HE. Koncentrace chromu byla $4,81 \pm 0,087 \mu\text{g g}^{-1}$, koncentrace kadmia byla $0,298 \pm 0,001 \mu\text{g g}^{-1}$. Nejvyšší koncentrace olova ($3,08 \pm 0,06 \mu\text{g g}^{-1}$) byla nalezena ve vzorku L_MA. Světová zdravotnická organizace doporučuje limity 10 mg kg^{-1} pro olovo a $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ kadmium. Evropským lékopisem byly navrženy limity pro olovo (5 mg kg^{-1}) a kadmium ($0,5 \text{ mg kg}^{-1}$).

Výsledky vykazují, že koncentrace prvků se liší podle druhu rostliny i podle výrobce. Výsledné koncentrace pro člověka toxických prvků byly ve většině vzorků nižší v porovnání se světovými studii. Vyšší koncentrace pro člověka toxických prvků byly nalezeny u firmy Leros. Na koncentrace prvků v bylinném čaji mohou mít vliv podmínky pěstování a sklizně, nebo také jaké části rostliny byly k výrobě čaje použity.

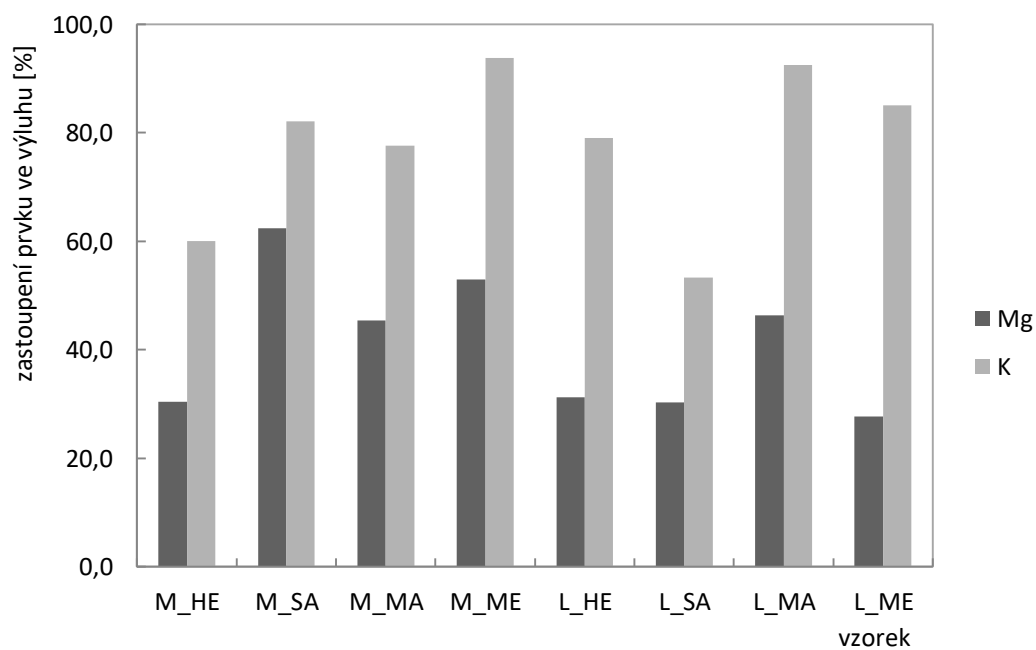
4.3 Analýza prvků ve výluhu

Cílem tohoto experimentu bylo stanovit, v jakém množství se prvky uvolnily do výluhu při dodržení podmínek přípravy doporučených výrobcem. Výsledné koncentrace byly přepočteny na gram sušiny a z těchto hodnot bylo vypočteno procentuální množství prvku, které za danou dobu přešlo do výluhu. Koncentrace naměřené přístrojem ICP-MS byly násobeny příslušným ředícím faktorem. Získané a vypočtené výsledky jsou uvedeny na obr. 4.4–4.6.

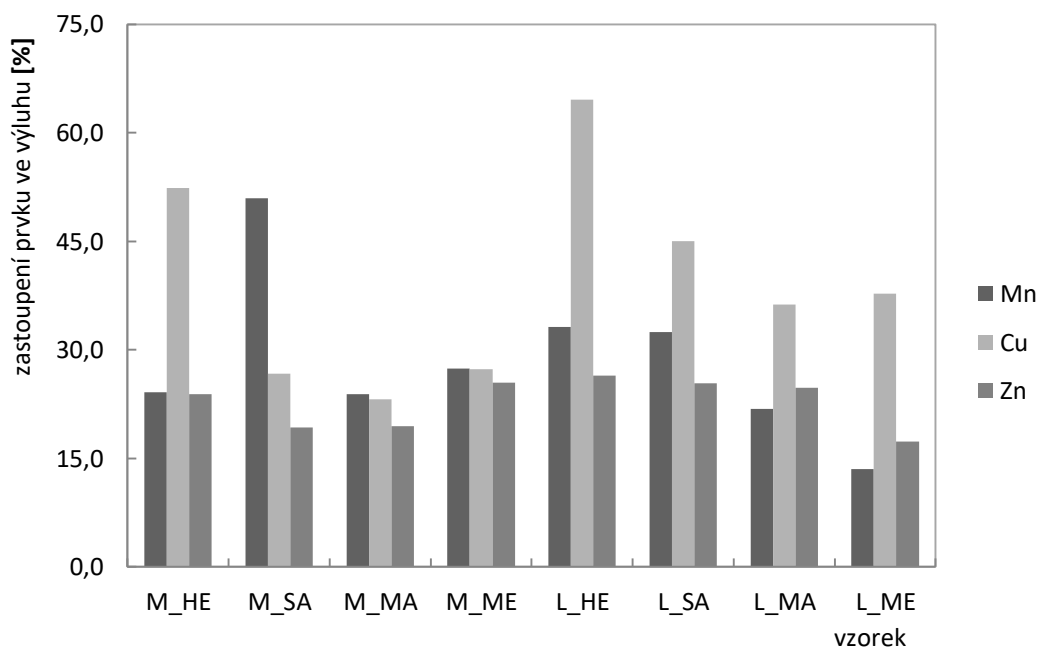
Bylo zjištěno, že draslík se do výluhu uvolňuje ve větší míře než hořčík. Dále bylo prokázáno, že užívání bylinných čajů dle doporučení výrobce je pro organismus dalším možným zdrojem těchto dvou minerálů.

Mangan, měď a zinek se uvolňovaly v menší míře. Ve většině vzorků dosahovala nejvyšších procent měď.

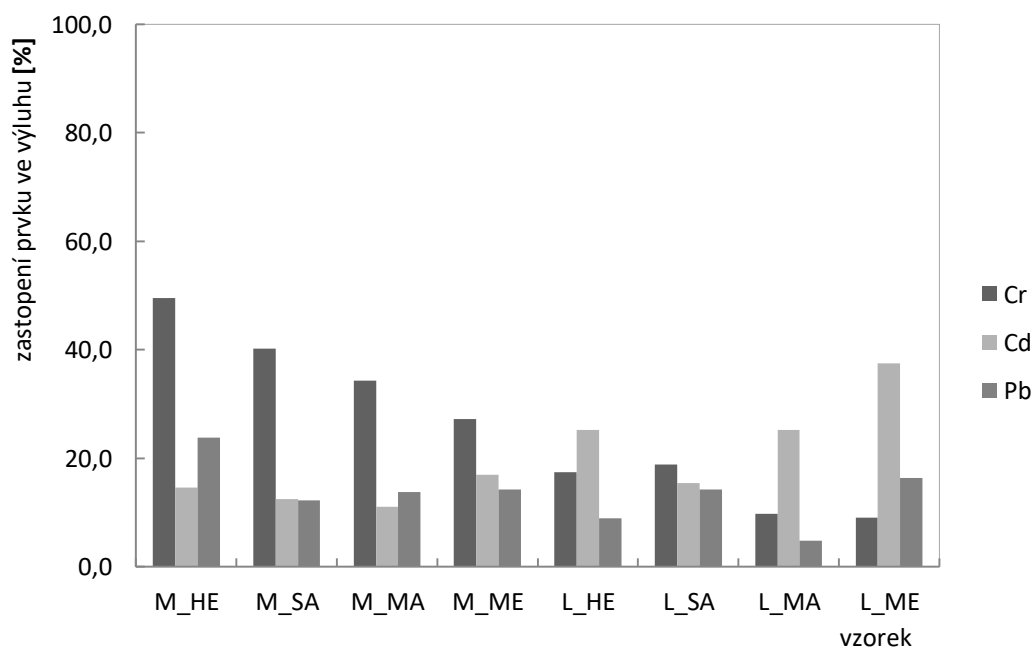
Z trojice prvků chrom, kadmium a olovo se nejvíce uvolňoval chrom. Koncentrace všech těchto prvků ve výluzích se pohybovaly v řádech desetin až setin $\mu\text{g g}^{-1}$, nepředstavují tak žádné zdravotní riziko pro člověka.



Obr. 4.4 Graf procentuálního zastoupení hořčíku a draslíku ve výluzích jednotlivých vzorků



Obr. 4.5 Graf procentuálního zastoupení manganu, mědi a zinku ve výluzích jednotlivých vzorků



Obr. 4.6 Graf procentuálního zastoupení chromu, kadmia a olova ve výluzích jednotlivých vzorků

4.4 Závislost teploty vody a doby louhování

Dále byla provedena orientační studie na přítomnost prvků ve výluzích v závislosti na době louhování a teplotě vody. Pro stanovení závislosti teploty vody byl zvolen mátový čaj od výrobce Megafyt Pharma a pro stanovení závislosti doby louhování byl zvolen heřmánkový čaj od výrobce Leros. Pro ilustraci orientační studie jsou uvedeny výsledky měření pro draslík, chrom a mangan (Tab. 4.6, 4.7).

Tab. 4.6 Stanovení závislosti teploty vody pro draslík, chrom a mangan. Číselné hodnoty v označení vzorku reprezentují teplotu vody v °C.

| vzorek | $c(K)$ [mg g^{-1}] | $c(\text{Cr})$ [$\mu\text{g g}^{-1}$] | $c(\text{Mn})$ [$\mu\text{g g}^{-1}$] |
|--------|-------------------------------|---|---|
| M_25 | $13,8 \pm 0,27$ | $0,136 \pm 0,0042$ | $12,4 \pm 0,22$ |
| M_50 | $15,9 \pm 0,18$ | $0,151 \pm 0,0046$ | $13,1 \pm 0,82$ |
| M_70 | $16,1 \pm 0,11$ | $0,172 \pm 0,0127$ | $13,5 \pm 0,26$ |
| M_80 | $16,6 \pm 1,54$ | $0,191 \pm 0,0041$ | $13,7 \pm 0,05$ |
| M_90 | $16,8 \pm 1,61$ | $0,203 \pm 0,0053$ | $13,9 \pm 0,30$ |
| M_100 | $16,8 \pm 1,07$ | $0,207 \pm 0,0066$ | $13,9 \pm 0,35$ |

Tab. 4.7 Stanovení závislosti teploty vody pro draslík, chrom a mangan. Číselné hodnoty v označení vzorku reprezentují dobu louhování v minutách.

| vzorek | $c(\text{K}) [\text{mg g}^{-1}]$ | $c(\text{Cr}) [\mu\text{g g}^{-1}]$ | $c(\text{Mn}) [\mu\text{g g}^{-1}]$ |
|--------|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| L_1 | $13,6 \pm 0,34$ | $0,144 \pm 0,002$ | $22,4 \pm 0,13$ |
| L_2.5 | $18,4 \pm 0,29$ | $0,194 \pm 0,015$ | $28,2 \pm 0,13$ |
| L_5 | $18,7 \pm 0,28$ | $0,201 \pm 0,016$ | $28,9 \pm 0,46$ |
| L_10 | $19,2 \pm 0,35$ | $0,215 \pm 0,033$ | $31,1 \pm 1,16$ |
| L_30 | $20,7 \pm 0,16$ | $0,232 \pm 0,005$ | $34,1 \pm 0,46$ |
| L_60 | $20,8 \pm 0,28$ | $0,249 \pm 0,002$ | $36,0 \pm 0,65$ |

Bylo zjištěno, že na uvolnění prvků do výluhu má větší vliv doba louhování. Závisí také na daném prvku a na druhu byliny a jejím celkovém prvkovém složení.

5 Závěr

Předmětem předkládané bakalářské práce bylo stanovení koncentrací hořčíku, draslíku, manganu, zinku, mědi, chromu, kadmia a olova ve vybraných bylinných čajích a jejich nálevech. Pro analýzu byly vybrány čaje od dvou konkurenčních výrobců na českém farmaceutickém trhu. Cílem této práce bylo výrobce navzájem mezi sebou porovnat.

Bylo zjištěno, že koncentrace prvků se liší podle druhu rostliny i podle výrobce. Příznivější výsledky poskytovala firma Megaphyt Pharma oproti firmě Leros. Výsledné koncentrace hořčíku a draslíku naměřené v nálevech prokázaly, že nálevy mohou být významným zdrojem těchto dvou minerálů. Mangan, měď a zinek přecházely do roztoku v menší míře.

Bylo prokázáno, že chrom, kadmium a olovo se ve vybraných bylinných čajích vyskytují pouze v minimálním množství a nepředstavují tak pro člověka zdravotní riziko.

Byla provedena orientační studie vlivu teploty vody a doby louhování pro uvolnění prvků do roztoku při přípravě nálevu, která prokázala, že větší vliv má doba louhování. V této práci bylo také ověřeno, že metoda ICP-MS byla díky nízkým limitům detekce vhodná pro stanovení koncentrací všech vybraných kovů.

Diskutované výsledky zastoupení jednotlivých prvků ve vybraných vzorcích čajů byly získány měřením v neakreditované laboratoři a tudíž je nelze využít pro komerční účely.

Literatura

1. Poswal, F. S., Russell, G., Mackonochie, M. *et al.*: Herbal teas and their health benefits: A Scoping Review. *Plant Foods Hum. Nutr.* **74**, 266–276 (2019)
2. Korbelář, J., Endris, Z.: *Naše rostliny v lékařství*. 6. vydání Praha, Avicenum (1985)
3. Kotolová, H.: Nezávažné trávicí potíže a možnosti samoléčení. *Prakt. lékáren.* **15**, 46–53 (2019)
4. Kašparová, M.: Fytoterapeutika s tlumivým účinkem na centrální nervový systém. *Prakt. lékáren.* **12**, 182–185 (2016)
5. Karličková, J.: Terapeutické účinky *Salvia officinalis*. *Prakt. lékáren.* **1**, 33–34 (2007)
6. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R.: *Analytická chemie*. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze (2019)
7. Mestek, O.: Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Pracovní text pro Podzemní výukové středisko JOSEF, Praha, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze (2010)
8. Otruba, V.: Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Kurz ICP-MS/OES MU Brno – Bohunice, VIII: ICP-MS (2015)
9. SpeedWave Xpert: Microwave Digestion System, User Manual. version 2.3., BERGHOF Products + Instruments GmbH (2017)
10. Wilhelm, Z.: Co je dobré vědět o draslíku. *Prakt. lékáren.* **5**, 236–237 (2006)
11. Wilhelm, Z.: Co je dobré vědět o hořčíku. *Prakt. lékáren.* **3**, 132–138 (2007)
12. Petrlík, J., Válek, P.: *Mangan*. Dostupné z URL: <<https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/mangan>> [cit. 27. 7. 2022]
13. Jugová, A.: *Měď a její význam pro náš organismus*. Dostupné z URL: <<https://www.celostnimedicina.cz/med-a-jeji-vyznam-pro-nas-organismus.htm>> [cit. 27. 7. 2022]
14. Drtinová, M.: *Zinek je silný pomocník zdraví. Proč je pro lidské tělo tak důležitý*. Dostupné z URL: <https://www.vimcojim.cz/magazin/clanky/o-zdravi/Zinek-je-silny-pomocnik-zdravi.-Proc-je-pro-lidske-telo-tak-dulezity__s10012x11091.html> [cit. 27. 7. 2022]
15. Petrlík, J., Válek, P.: *Kadmium*. Dostupné z URL: <<https://arnika.org/kadmium>> [cit. 27. 7. 2022]

16. Havel, M., Gažáková, L., Válek, P.: Olovo. Dostupné z URL: <<https://arnika.org/olovo>> [cit. 27. 7. 2022]
17. Pytlakowska, K., Kita, A., Janoska, P., Połowniak, M., Kozik, V.: Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chem.* **135**, 494–501 (2012)
18. Martín-Domingo, M. C., Pla, A., Hernández, A., F., Olmedo, P., Navas-Acien, A., Luzano-Paniagua, D., Gil, L.: Determination of metalloids, metallic and mineral elements in herbal teas. Risk assessment for the consumers. *J Food Compost Anal.* **60**, 81–89 (2017)
19. Ozcan, M., M., Unver, A., Ucar, T., Arslan, D.: Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction. *Food Chem.* **106**, 1120–1127 (2008)
20. Tunay, Z., Yener, İ., Oral, V. E. et al.: Trace element analysis in some salvia species by inductively coupled plasma-mass spectrometry (Icp-ms) and chemometric approach. *J Res Pharm Pract.* **24**, 297–309 (2020)
21. Kilic, S, Soylak, M.: Determination of trace element contaminants in herbal teas using ICP-MS by different sample preparation method. *J Food Sci Technol.* **57**, 927–933 (2020)