

UNIVERZITA KARLOVA  
Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Lucie Fořtová

STANOVENÍ VYBRANÝCH PRVKŮ V BRAMBOROVÝCH  
HLÍZÁCH POMOCÍ ATOMOVÉ ABSORPČNÍ  
SPEKTROMETRIE

Determination of Selected Elements  
in Potato Tubers by Atomic Absorption Spectrometry

Bakalářská práce

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

Praha 2020

## 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 dne 1. května 2020

## Poděkování

Chtěla bych poděkovat RNDr. Jakubu Hraníčkoví, Ph.D. za vedení mé bakalářské práce, ochotu, trpělivost a cenné rady, které mi pomohly při jejím vypracování.

## Abstrakt

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo stanovení prvků K, Mg, Ca, Na, Zn a Fe v bramborových hlízách a v jejich vyvařených roztocích metodou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací. Vybraným vzorkem byly konzumní pozdní brambory odrůdy Granada (varný typ B).

Před analýzou vzorků bylo nutné optimalizovat pracovní podmínky. Optimální průtoková rychlost acetylenu se pohybovala u plamene o složení acetylen-vzduch v rozmezí 2,0 až 2,5 l/min. Plamen acetylen-oxid dusný byl využit pouze pro vápník s průtokovou rychlostí 6,0 l/min. Optimální výška paprsku nad hranou hořáku byla naměřena v rozmezí 5 až 7 dílků definovaného měřítka u spektrometru GBC 933 AA. Za optimálních podmínek byly stanoveny charakteristiky metody pro dané prvky (LOD, LOQ, LDR, citlivost, opakovatelnost). Meze stanovitelnosti byly následující, pro draslík 78 µg/l, sodík 31 µg/l, hořčík 7,0 µg/l, vápník 8,0 µg/l, železo 190 µg/l a zinek 71 µg/l.

Získané optimální podmínky byly užity pro stanovení vybraných prvků ve vzorcích. Roztoky vyvařených vzorků byly připraveny z různě zpracovaných brambor (v celku, v celku bez slupky, nakrájené bez slupky, slupka) povařením do deionizované vody, ke které se po vychlazení roztoků dodatečně přidala koncentrovaná kyselina dusičná (vznikl tak její 0,24% roztok). Výsledné koncentrace (mg/g nebo µg/g) odpovídají množství jednotlivých prvků přešlých z bramborových hlíz o dané hmotnosti do roztoku po 20 minutách vaření.

Pro stanovení celkového obsahu prvků v hlízách podstoupily vzorky dužiny a bramborové slupky mikrovlnný rozklad za zvýšeného tlaku za přítomnosti kyseliny dusičné. U vzniklých roztoků byly stanoveny koncentrace v mg/g (draslík) a u dalších prvků v jednotkách µg/g. V jednotkách mg/100g nebo µg/100g byly výsledky porovnány s tabulkovým obsahem v bramborách a jiné zelenině. Hodnoty byly ještě převedeny na zastupující procenta doporučené denní dávky daného prvku pro dospělého člověka.

Železo danou metodou nebylo možné stanovit v žádném z připravených vzorků, naměřené hodnoty se nacházely pod LOQ.

## Klíčová slova

Atomová absorpční spektrometrie, plamenová atomizace, bramborové hlízy, mikrovlnný rozklad, draslík, sodík, hořčík, vápník, zinek, železo

## **Abstract**

The main aim of this bachelor thesis was a determination of the elements K, Mg, Ca, Na, Zn and Fe in the potato tubers and in their boiled solution using the method of flame atomic absorption spectrometry. The chosen samples were late consumer potato tubers of Granada cultivar (boiling type B).

It was necessary to optimize working conditions before the sample analysis. The optimal flow rate of acetylene ranged from 2.0 to 2.5 l/min using the flame acetylene-air. The flame acetylene-nitrous oxide was used only for calcium with flow rate 6.0 l/min. The optimal height of a beam above the burner edge was measured in interval 5 to 7 pieces of defined scale mentioned in a manual for spectrometer GBC 933 AA. Using the optimal conditions, the basic characteristics for individual methods of determination were characterized (LOD, LOQ, LDR, sensitivity, repeatability). Limits of quantification were following: 78, 31, 7.0, 8.0, 190 and 71  $\mu\text{g/l}$  for K, Na, Mg, Ca, Fe and Zn, respectively.

The optimal conditions were used for the determination of the selected elements in samples. The solutions were prepared from diversely processed potato tubers (whole, whole without skin, chopped without skin, skin) by boiling into deionized water. After the samples had cooled down, the concentrated nitric acid was added (turning into 0.24 % solution). The final concentrations (mg/g or  $\mu\text{g/g}$ ) corresponds to the elements amount which came from potato tubers of specific mass into solution after 20 minutes of boiling.

To determinate the total content of elements in tubers, the samples of the tuber flesh and skin were decompose under the high pressure in the presence of nitric acid using microwave digestion process. The concentrations of elements in the final solutions were evaluated in mg/g (potassium) and in  $\mu\text{g/g}$  for other elements. The results were compared with the table values of their total contents in potato tubers and other vegetables (in units of mg/100g or  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ). The values were converted into representing percentages of recommended daily dose of the element for an adult.

The iron could not be determined in any prepared samples due to its LOQ lowest detectable values.

## **Key words**

Atomic absorption spectrometry, flame atomization, potato tubers, microwave decomposition, potassium, sodium, magnesium, calcium, zinc, iron

# OBSAH PRÁCE

1	ÚVOD .....	- 8 -
1.1	Cíl bakalářské práce .....	- 9 -
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	- 10 -
2.1	Variace obsahu minerálních látek v bramborových hlízách .....	- 11 -
2.2	Stanovované prvky .....	- 12 -
2.2.1	Draslík .....	- 12 -
2.2.2	Sodík .....	- 13 -
2.2.3	Hořčík .....	- 13 -
2.2.4	Vápník .....	- 14 -
2.2.5	Železo .....	- 15 -
2.2.6	Zinek .....	- 16 -
2.3	AAS s technikou plamenové atomizace .....	- 16 -
2.4	Instrumentace .....	- 18 -
2.4.1	Zdroje primárního záření .....	- 19 -
2.4.2	Nebulizér .....	- 20 -
2.4.3	Atomizátor .....	- 21 -
2.4.4	Monochromátor .....	- 21 -
2.4.5	Detektor .....	- 22 -
2.4.6	Interference .....	- 22 -
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	- 24 -
3.1	Používané přístroje a pomůcky .....	- 24 -
3.2	Používané chemikálie .....	- 24 -
3.3	Postup práce .....	- 24 -
3.3.1	Příprava kalibračních roztoků .....	- 24 -
3.3.2	Příprava vzorků .....	- 25 -
3.3.3	Optimalizace .....	- 27 -
3.3.4	Průběh měření .....	- 27 -
3.4	Statistické vyhodnocení .....	- 28 -
4	Výsledky a diskuze .....	- 31 -
4.1	Optimalizace výšky paprsku nad hranou hořáku .....	- 31 -
4.2	Optimalizace průtokové rychlosti acetyleny .....	- 31 -
4.3	Shrnutí optimalizovaných podmínek .....	- 31 -
4.4	Kalibrační závislosti .....	- 34 -
4.5	Základní charakteristiky metody .....	- 35 -
4.6	Stanovení prvků – roztoky vyvařených brambor .....	- 36 -
4.7	Stanovení prvků – roztoky rozložených brambor .....	- 37 -
5	ZÁVĚR .....	- 41 -
6	Použitá literatura .....	- 42 -

## Seznam uvedených zkratek a symbolů

$A$  – absorbance

AAS – atomová absorpční spektrometrie

DDD – doporučená denní dávka

DMT-1 – transportér dvojmocného kationtu

F-AAS – atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací

FPN-1 - ferroportin

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

LDR – lineární dynamický rozsah

LOD – mez detekce

LOQ – mez stanovitelnosti

$a$  – směrnice kalibrační přímky

$E_1$  – energie základního stavu atomu

$E_2$  – energie excitovaného stavu atomu

$h$  – výška paprsku nad hranou hořáku

$I$  – napájecí proud výbojky [mA]

$k_n$  – tabelovaný koeficient pro výpočet směrodatné odchylky

$n$  – počet opakování daného měření

$s$  – směrodatná odchylka

$s_r$  – relativní směrodatná odchylka [%]

$u$  – průtoková rychlost acetyleny [ml/min]

$\tilde{x}$  - medián

$x_i$  – hodnota  $i$ -tého měření

$\lambda$  – vlnová délka [nm]

$\Phi$  – tok vystupujícího záření

$\Phi_0$  – tok vstupujícího záření

# 1 ÚVOD

Minerální látky brambor (stovky až desetiny mg/100g) se opomíjejí, protože se v hlízách vyskytují v nižším množství (1,1 % ze sušiny, sušina je 20 % celku). [1] Jsou ale stále důležitou součástí naší stravy. Některé z nich mohou dokonce zastupovat i vysoké procento z doporučené denní dávky (DDD) pro dospělého člověka, proto je dobré se například při vaření vyvarovat jejich zbytečným ztrátám. Mezi prvky, které byly vybrány ke stanovení díky jejich vyššímu zastoupení v hlízách a vhodnosti stanovení metodou atomové absorpční spektrometrie s plamennou atomizací (F-AAS), patří K, Mg, Na, Ca, Fe a Zn.

Vybrané prvky mají v organismu esenciální funkce. Draslík a sodík se podílí hlavně na regulaci osmotického tlaku. Hořčík s draslíkem regulují stahy hladké svaloviny cév a tím ovlivňují krevní tlak. Vápník je účastníkem svalové kontrakce a kaskády reakcí vedoucích ke srážení krve. Zinek je složkou mnoha metaloenzymů (např. DNA-polymerázy), které aktivací jiných enzymů umožňují správný chod metabolismu tuků, bílkovin i sacharidů. [2] Železo se vyskytuje v hemu krevního barviva hemoglobinu v erythrocytech, kde přenáší dýchací plyny mezi plícemi a tkáněmi.

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je vhodnou analytickou metodou ke stanovení prvků v kapalných roztocích. Během jednoho měření se stanovuje pouze jeden prvek. Lze stanovit prvky kovového i nekovového charakteru. Nejčastější mezi detekce v F-AAS je koncentrace do 0,1 µg/ml. Nejnižší předpokládané koncentrace analytů v této práci jsou u Fe a Zn (cca 5 µg/g sušiny [1]). Metoda AAS je relativní tzn., že se výsledek získává ze signálu roztoku vzorku vztaženému k signálu roztoků standardu. [3] Při metodě F-AAS se atomizují vzorky nejčastěji plamenem směsi vzduchu a acetylenu, případně acetylenu a oxidu dusného, pro dosažení vyšší teploty.



## 1.1 Cíl bakalářské práce

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit koncentrace vybraných prvků v bramborových hlízách a v jejich vyvařených roztocích po různém zpracování za užití plamenové atomové absorpční spektrometrie. K jeho splnění bylo nutné provést optimalizaci pracovních podmínek pro každý z prvků (výška paprsku nad hranou hořáku, průtoková rychlost acetyleny), a zjistit základní charakteristiky metody (LOQ, LOD, opakovatelnost, citlivost, LDR). Dalšími body byla příprava kalibračních roztoků, vnesení jejich hodnot do kalibračních závislostí, příslušné úpravy vzorku před analýzou (zpracování a převaření hlíz, mikrovlnný rozklad, ředění) a vyhodnocení získaných hodnot.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

Stanovované prvky (K, Ca, Mg, Na, Fe a Zn) můžeme zařadit mezi minerální látky. Klasifikace a třídění minerálních látek bývá v různých zdrojích velmi variabilní. Mezi nejzákladnější patří dělení podle množství potřebného organismem (podle zastoupení v organismu), dalším dělením by byla míra prospěšnosti ovlivňující funkčnost metabolismu. V následujících tabulkách (Tab. 2.1 a Tab. 2.2) jsou znázorněna obě zmiňovaná dělení, které můžeme najít v literatuře. Majoritní prvky se v organismu vyskytují v setinách až jednotkách hmotnostních procent (stovky až desetitisíce mg/kg). Minoritní prvky jsou v potravě obsaženy v menším množství (desítky až stovky mg/kg). Stopové prvky tělo potřebuje minimálně (desítky mg/kg a méně). [4]

**Tab. 2.1: Rozdělení minerálních látek podle množství potřebného organismem**

Druh	Prvky
Majoritní	Na, K, Mg, Ca, Cl, P, S
Minoritní	Fe, Zn [5]
Stopové	B, Co, Cr, Cu, F, I, Mn, Mo, Ni, Se, Sn

Esenciální látky tělo musí přijímat pro správný chod svých biologických funkcí. Neesenciální látky nemají významný vliv na chod metabolismu. Látky toxické mohou svou volnou nebo vázanou formou způsobit inhibici důležitých enzymů metabolismu.

**Tab. 2.2: Rozdělení minerálních látek podle prospěšnosti ovlivňující běh metabolismu**

Druh	Prvky
Esenciální	Na, K, Mg, Ca, P, S, Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Mo, Cr, Se, I, F, B, Si
Neesenciální	Li, Rb, Cs, Ti, Au, Sn, Bi, Te, Br, Al
Toxické	Pb, Cd, As, Hg

V potravinách se mohou minerální látky vyskytovat v různých formách. Monovalentní nejčastěji ve formě ionizované (např.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ). Polyvalentní jsou často v rovnováze mezi ionizovanou, rozpuštěnou, neionizovanou a koloidní formou (např. v mléce a mase). Kovy, hlavně přechodné, se většinou najdou v chelátech. [6] Bramborové hlízy jsou komplexem mnoha prvků o nerovnoměrném rozložení. [7]

## 2.1 Variace obsahu minerálních látek v bramborových hlízách

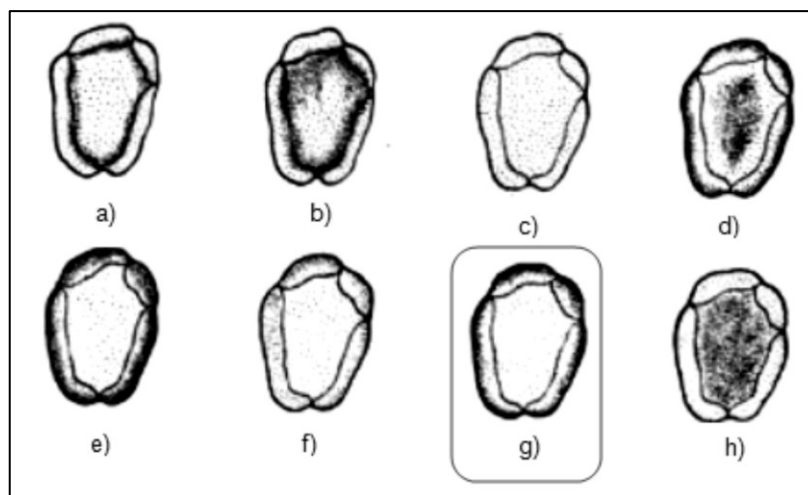
Existuje řada různých vlivů, které by mohly změnit zastoupení minerálních látek v bramborových hlízách.

Nejvýznamnějším činitelem by byla oblast, ve které jsou pěstovány. Mezi abiotické faktory ovlivňující celkový růst rostliny by mohlo patřit složení půdy, její pH, dešťové srážky, teplota, slunné podmínky apod. S vývojem rostliny souvisí i její schopnost ukládání látek do bramborových hlíz a správné vstřebávání živin spolu s minerálními látkami ve vodných roztocích.

Šlechtění může mít také vliv na nutriční hodnoty brambor. V dnešní době je možné si vybrat z desítek až stovek odrůd brambor vyznačujících se odlišnými kvalitami jako je konzistence (obsah škrobu) [8], odolnost (mechanická, proti virům, plísním), chuť (nesládnou při skladování v mrazu), ale i lepší výnosnost apod. [9] [10]

Péče o rostliny má také určitý dopad na obsah minerálních látek v hlízách. Mezi další vlivy na jejich složení bychom mohli zařadit užití hnojiv, chemikálií proti škůdcům, ale také okolní polutanty (např. ze splaškových kalů, vzduchu). Polutanty ve vzduchu by mohly pozměnit zastoupení stopových prvků při skladování a převozu. Pokud jsou určeny ještě k dalšímu potravinářskému zpracování (hranolky, bramborové lupínky atd.), můžou se do nich dostat stopové prvky i z výrobních přístrojů (případně i balicího materiálu). [6] Při kulinářských úpravách můžeme v určité míře ztrácet minerální látky vyvařením nebo například oloupaním jejich slupky, u které se většina minerálních látek vyskytuje ve vyšších koncentracích než v dužině. [11]

Tato bakalářská práce se nesoustředí na stanovení stopových (příliš nízké koncentrace) ani toxických prvků. V experimentální části je využito jediné odrůdy brambor z jediného balení, díky čemuž se v určité míře zamezí rozdílnost naměřených hodnot vlivem různých podmínek při pěstování a skladování. Nejvýraznějším vlivem na různorodost naměřených hodnot je vlastní složení jednotlivých kusů bramborových hlíz. Obecně lze předpokládat, že se minerální látky budou vyskytovat hlavně pod bramborovou slupkou. Na Obr. 2.1 (s. 12) je pro porovnání schematicky znázorněno, v jakých oblastech brambor se vyskytují minerální a další nutričně důležité látky.



**Obr. 2.1:** Schéma výskytu základních nutričních látek v bramborové hlíze - hustota černých teček zastupuje koncentraci sledované látky, označený průřez g) poukazuje na složení, kterým se zabývá experimentální část této práce, jednotlivé průřezy značí rozložení: a) cukrů, b) škrobu, c) vlákniny, d) bílkovin, e) organických kyselin, f) tuků, g) minerálních látek, h) vitamínů. Převzato a upraveno [12].

## 2.2 Stanovované prvky

### 2.2.1 Draslík

Draslík je esenciálním prvkem rostlin i živočichů. Množství, které je nutné dodávat rostlinám formou hnojiv (např. NPK hnojiva), je v pořadí hned třetí po dusíku a fosforu. V půdě se vyskytuje ve formě živců, slíd, jílovitých materiálů, ale nejčastěji ve vázaných formách, která je pro kořeny nedostupná. Rostlina však získává draslík z povrchové vrstvy půdních částic a z půdního roztoku pomocí iontové výměny. Draslík je pro rostliny nepostradatelnou osmoticky aktivní látkou, která napomáhá vyrovnávat toky iontů v organismu. Může tak ovlivnit např. otevírání rostlinných průduchů. Je součástí i řady enzymů proteosyntézy a celkového energetického metabolismu. Deficience se projevuje nekrotickými skvrnami listů a poléháním stonků. [13]

V lidském organismu se draslík vyskytuje hlavně intracelulárně. Nejvyšší jeho podíl je ve svalových buňkách. Jeho rozdílná koncentrace na obou stranách membrány buněk umožňuje vznik membránového potenciálu, který ovlivňuje membránový transport. Jeho přesun v organismu se mění koncentrací insulinu, acidobazickou rovnováhou a beta-adrenergní aktivitou. Jeho přítomnost v organismu je nezbytná například pro přenos nervových signálů a svalovou kontrakci. Doporučená denní dávka je v rozmezí 40 – 150 mmol/den. [14] Při jeho nedostatku se objeví svalová slabost, zrychlená činnost srdce a

průjmy. V potravinách se vyskytuje kromě brambor ještě v mase, luštěninách, mléčných produktech, obilovinách atd. [15]

### **2.2.2 Sodík**

Sodík na rozdíl od draslíku je esenciální hlavně pro živočichy. Rostliny, až na některé výjimky (rostliny na slaniskách), ho ke svému životu nepotřebují. Jeho přidáním ale lze zlepšit produktivitu ruderalních rostlin, jako je cukrovka apod. [13]

Pro člověka je nezbytnou součástí stravy. Jeho nejvyšší koncentrace je primárně v extracelulárním prostoru a v krvi. Jeho zpětnou resorpci v ledvinách reguluje hormon nadledvinek aldosteron. [16] V těle spolupracuje často s draslíkem, se kterým se vzájemně vyměňují při membránovém transportu. Navíc se ještě významně podílí na celkovém hospodaření s vodou. Jeho koncentrace má vliv nejen na metabolismus draslíku, ale i vápníku, a podporuje růst a vývoj organismu. Doporučená denní dávka není oficiálně určena, ale v literatuře se často udává hodnota minima 0,5 g sodíku na den. Maximální hodnota se může odvodit od doporučené denní dávky soli, která činí 5 g na den (tj. 2 g sodíku). Protože se v potravinách vyskytuje ve vyšších koncentracích, hrozí spíše jeho nadbytek, který způsobuje nadměrné ztráty draslíku a hypertenzi. [15] Jeho nedostatek je projevem určitých prvotních zdravotních problémů, jako je zvracení, cirhóza, Addisonova choroba, různé poruchy ledvin apod. Při hyponatrémii se objevuje nejdříve zmatenost a netečnost, později až svalové křeče, záchvaty, kóma, a může končit smrtí. [17]

### **2.2.3 Hořčík**

Hořčík je nezbytným prvkem nesčetného množství organismů. Je jednou z běžných složek nerostů a hornin jako je magnezit, dolomit, amfibolit, křemičitan aj. Ty ho zvětráváním uvolňují do půdy (a hnojiv), kde však není v tak vysokých koncentracích jako např. vápník. Rostliny ho z půdy získávají iontovou výměnou. Jeho nejznámější uplatnění je ve struktuře chlorofylu, kde tvoří centrální atom. Mezi další jeho využití by byla aktivace řady klíčových enzymů (ribulóza-1,5-bisfosfát karboxyláza, fosfoenolpyruvát-karboxyláza) umožňujících vlastní chod fotosyntézy. Deficit by se projevoval žloutnutím starších listů, tzv. chlorózou, a jeho nadbytek současně s nedostatkem vápníku jako zakrslost. [13] Časté užití NPK hnojiv může vyústit ve vyčerpání přirozeného hořčíku v půdách, a protože ho rostliny spotřebovávají také pro transport asimilátů a růst kořenů, mohl by mít jeho nedostatek vliv i na celkový výnos zemědělských plodin. [18]

Přísun hořčíku ve stravě je pro člověka nutností. Jedná se o čtvrtý nejpočetnější kationt v těle a v nejvyšším množství bychom ho našli v kostech (50 %). V séru je část vázána na krevní proteiny, tvorba komplexů závisí na krevním pH. I v člověku dokáže hořčík aktivovat různě enzymatické procesy související s adenosintrifosfátem, ale i s metabolismem nukleových kyselin. [19] Je důležitý pro asimilaci vápníku, vitamínu C, fosforu, draslíku a sodíku. Denní referenční hodnotou příjmu dospělým člověkem je 375 mg. Jeho deficit se projevuje poruchami soustředění, nespavostí, svalovými křečemi, záchvaty i srdeční arytmii. [15] Hypermagnesémie se objevuje zřídka. Nejčastěji u pacientů se selhávajícími ledvinami. Mezi symptomy patří hypotenze, respirační potíže až srdeční zástava. [20]

#### **2.2.4 Vápník**

Vápník je významnou živinou nejen pro rostliny, ale i pro řadu živočichů, člověka nevyjímaje. Do půd se dostává zvětráváním hlinitokřemičitanů, vápence a dolomitu a je jedním z hlavních výměnných kationtů půdních částic v úrodných oblastech. V zemědělství se užívá jeho schopnost výměny s  $H^+$  ionty, a tzv. vápněním se upravuje příliš kyselá pH ošetřované půdy. U rostlin je důležitý hlavně pro tvorbu buněčných stěn, buněčné membrány a dělicího vřeténka při mitóze. Jeho nejvyšší podíl je ve vakuolách ve formě šťavelanů, síranů, uhličitanů apod. V cytosolu buněk je jen ve velice nízkých koncentracích. Funguje zde jako druhý posel, který umožňuje projev hormonálních účinků. Jeho reverzibilním navázáním na protein kalmodulin dochází k aktivaci nebo inhibici vybraných enzymů. Nedostatek se projevuje hlavně u mladých rostlin chlorózou a nekrózou listových špiček, okrajů a vrcholných pupenů. [13]

Vápník se v nás z minerálních látek vyskytuje v nejvyšším zastoupení. [15] Až 99 % jeho celkového obsahu je navázáno na hydroxyapatit, neorganickou složku kostí, a přibližně 1 % z kostního vápníku je vyměnitelné s extracelulární tekutinou umožňující regulaci kalcémie. Kromě této vázané formy se může ještě vyskytovat v komplexech s fosfáty a citráty, ve vazbě s proteiny (albumin), ale i v ionizované formě. Ionizovaná forma je fyziologicky aktivní. V cytosolu, podobně jako u rostlin, je ve své ionizované formě druhým poslem, mediátorem hormonálních účinků. Uplatňuje se převážně v srdeční činnosti, svalové kontrakci, v aktivaci protein kináz a v enzymové fosforylaci. Je částečně spřažen i s jinými mediátory jako jsou cyklický adenosinmonofosfát nebo inositoltrifosfát a zprostředkovává tak buněčnou odpověď pro hormony jako jsou např. glukagon, vazopresin nebo cholecystokinin. [21] U dospělého člověka je doporučena denní dávka 800 mg. Při

deficitu v průběhu dětského růstu se může vyvinout rachitis, v dospělosti osteomalacie a osteoporóza, a zhoršuje se kvalita zubů a nehtů. Pro jeho lepší vstřebávání je lepší obohatit stravu fosforem, hořčíkem, železem a o vitamíny A, C a D. [15] Jeho vstřebatelnost zhoršují oxaláty (fazole, špenát), fytáty a vláknina (cereálie). [22] Jeho nadbytek způsobuje svalovou slabost, polyurii, zmatenost a může končit i kómatem. [23]

### 2.2.5 Železo

Železo je minoritním esenciálním prvkem řady organismů. V půdě ho najdeme ve formě hydratovaných sulfidů a oxidů nebo v křemičitanech (amfibol). V případě silné alkalizace půd je v roztoku v nízkých koncentracích. Půdní roztok je zásaditý a železo tvoří s hydroxylovými ionty hydratované oxidy o nízké rozpustnosti, pro rostliny nedostupné. Z toho důvodu se přidávají při alkalizaci do hnojiv i chelatační činidla. Železo se po rozpuštění v půdě nejčastěji vyskytuje jako trojmocné, kořeny však lépe vstřebávají jeho dvojmocnou formu. Rostlina ho proto kořeny ještě před vstřebáním zredukuje a vlastními cheláty (citrát, oxalát) si ho zadrží v buňkách. Rostliny železo užívají v enzymech energetického metabolismu (peroxidáza, cytochrom oxidáza apod.), kde přenášejí elektrony. Je součástí i enzymů fixujících dusík a určitým způsobem se podílí na syntéze chlorofylu. Nedostatek se projevuje chlorózou čepele listů u mladších rostlin, hlavně u růžovitých nebo kukuřice. [13]

Většina železa se v našem těle vyskytuje v hemoglobinu, dále v myoglobinu a různých enzymech. Skoro všechno se v těle recykluje a navrací zpět do kostní dřene pro tvorbu nových erytrocytů. Denní ztráty z buněk střevní sliznice se nahrazují přibližně 1 – 2 mg z denního příjmu. Ženy při menstruaci musí přijímat dávky vyšší. [24] Podobně jako u rostlin musí naše střevní enterocyty zredukovat železo na dvojmocnou formu pro lepší vstřebání. Jednou z hlavních rolí metabolismu železa je předcházet Fentonově reakci, při které reaguje železnatý kation s peroxidem vodíku za vzniku agresivního hydroxylového radikálu ničícího hlavně membrány buněk. Z toho důvodu existují různé proteiny s transportní, zásobní a regulační funkcí, které chrání tělo před tvorbou radikálů a nadměrným skladováním v játrech a dalších tkáních. [25] Mezi tyto proteiny bychom mohli zařadit transferin, ceruloplasmin, haptoglobin, feritin, hemosiderin, DMT-1, FPN-1, ale i hormon hepcidin regulující jeho absorpci ve střevech a recyklaci přes makrofágy. [25], [26] Jeho nedostatečným příjmem nebo poruchou tvorby regulačních proteinů (jako je hepcidin) může dojít k anémii, kterou doprovází bledost, únava, slabost, v kritičtějším případech i dýchavičnost, závratě, zrychlení srdečního tepu vyúsťujícího až v infarkt. [24]

[27] Jeho vstřebávání podporuje přítomnost vitamínu C ve stravě. [15] Pokud se ale železo v těle akumuluje, může být toxické. Jeho nadbytek způsobuje zvracení, průjemy, poničení různých tkání, dokonce i srdce a ledvin. [24]

### **2.2.6 Zinek**

Zinek je nezbytným prvkem pro rostliny i živočichy. Vyskytuje se v železnato-hořečnatých minerálech (magnetit, amfibol) a podobně jako železo je v alkalických půdách nedostupný pro kořeny. Rostliny ho zabudovávají do svých enzymů dehydrogenáz alkoholu a kyseliny glutamové, nebo do anhydrázy kyseliny uhličitě. Nepřímo bylo dokázáno, že by mohl hrát určitou roli v syntéze chlorofylu, auxinu a v reakcích syntézy bílkovin a přenosu fosfátu. Jeho deficit vede k zakrslému růstu stonku a mladých listů rostlin. [13]

Distribuce zinku v těle je různorodá. Obsahují ho vlasy, kosti, zuby, kůže, svaly, játra, leukocyty i varlata a vyskytuje se i v desítkách až stovkách enzymů jako je např. DNA a RNA polymeráza, NADH dehydrogenáza, alkalická fosfatáza atd. [28] Napomáhá při regeneraci kůže, růstu, tvorbě inzulínu, zamezuje ukládání cholesterolu a je součástí metabolismu ribonukleových a deoxyribonukleových kyselin. [2] Z různých studií a experimentů se nepodařilo prokázat ochrana před nachlazením při zvýšeném příjmu zinečnatých solí, ale existují důkazy, kdy příjmem tabletek se zinkem, se zmírnili příznaky a zkrátila se doba nachlazení. Zinek tlumí replikaci retrovirů, chrání buňky před bakteriálními toxiny a zlepšuje imunitní odpověď. [15] Denní doporučenou dávkou je 10 mg. Vápník, fosfor a vitamín A napomáhají jeho resorpci. Kulinářskými úpravami se může z potravin ztrácet. [2] Při jeho nedostatku může dojít k poruše čichového a chuťového vnímání, růstu, k psychickým poruchám a zhorší se schopnost regenerace kůže. Při konzumaci až 2 g zinku způsobuje akutní intoxikaci gastrointestinálního traktu projevující se průjemy a zvracením, u příjmu 70 – 100 mg denně může zavinit chronické onemocnění ovlivňující metabolismus železa a mědi, může končit i nervovými poruchami a anorexií. [2] [28]

## **2.3 AAS s technikou plamenové atomizace**

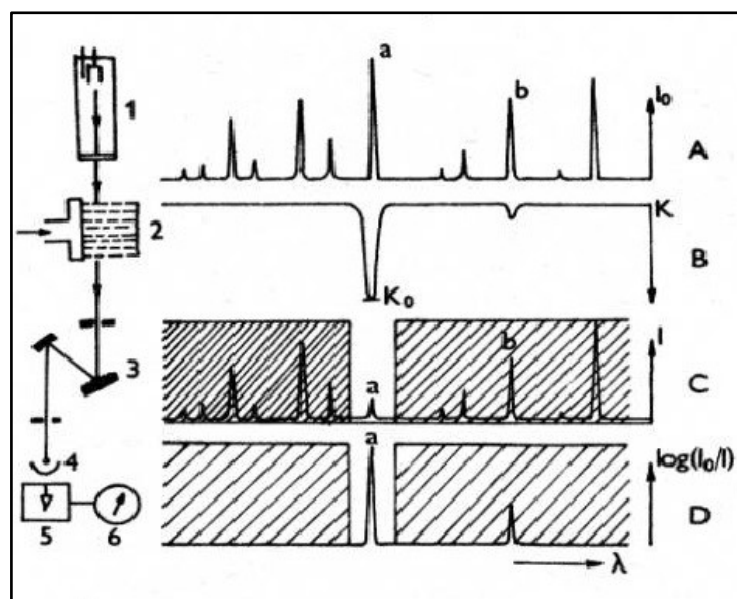
Jedná se o optickou analytickou metodu, kdy se měří pokles intenzity záření absorbovaného atomy prvku v základním stavu. Pokles signálu je hodnotou absorbance, která je přímo úměrná koncentraci analytu ve vzorku (podle Lambertova-Beerova zákona).



Analýzou pomocí AAS můžeme získat nejen kvantitativní, ale i kvalitativní informaci o přítomných prvcích. [29]

Atomy se skládají z jádra a elektronového obalu. Elektrony se pohybují v konkrétních energetických hladinách. Po přijetí určitého množství energie nutného k přeskoku elektronu do vyšší energetické hladiny se atom dostává do energeticky bohatšího, excitovaného stavu. Atom se stává nestabilním, a aby se vrátil do energeticky chudšího, stabilnějšího stavu, emituje záření o stejné vlnové délce, kterou pohltil. Protože jednotlivé prvky mají své specifické energetické hladiny, absorbují jen jim odpovídající vlnové délky a z jejich získaných absorpčních a emisních spekter můžeme zjistit, jaký prvek byl analyzován. Z toho můžeme usoudit, že získaná spektra stejného prvku si budou vzájemně podobné. U absorpčního spektra se ale sledují pouze nejvýraznější čáry tzv. rezonanční, které souvisí s přechody pouze ze základních elektronových stavů atomu. [3] [30]

V metodě F-AAS bývá zdrojem záření výbojka s dutou katodou, která je vyrobena ze stanovovaného prvku a poskytuje emisní spektrum se sledovanými charakteristickými rezonančními čarami typickými pro daný prvek. Abychom získali požadovaný úbytek intenzity záření rezonanční čáry prvku, musíme spektrum vyzařované zdrojem určitým způsobem vyselektovat a rozpoznat změnu intenzity dané čáry. [29] Vzorek musí podstoupit řadu úprav před, ale i při vlastní analýze a jeho signál se ještě dále zpracovává. Ředění reálných vzorků je jednou z běžných úprav. Dále se vzorek dává do plamene, a za vysokých teplot se nechá vypařit až atomizovat do svého základního stavu. Při plamenové atomizaci může ale dojít ke ztrátě elektronu, tzv. ionizaci. Vzniklé ionty již nedokáží absorbovat rezonanční čáry prvku a dochází tak ke změně výsledné hodnoty absorbance. Abychom měli stálý poměr atomů a iontů ve vzorku, přidává se nejčastěji nadbytek snadno ionizovatelného prvku (nejčastěji draslíku), čímž snížíme ionizační interferenci matrice. Po atomizaci vzorku do plynného stavu a absorpci vybraných vlnových délek vysílaných zdrojem záření se monochromátorem vybere jedna rezonanční čára a zaznamenává se zeslabení původního záření jednotkami absorbance. Detekce signálu se provádí fotonásobičem. [3] [29] [31] Na Obr. 2.2 je znázorněná změna spektra v průběhu celkové analýzy.



**Obr. 2.2:** Z výbojky s dutou katodou (1) se uvolňuje emisní spektrum (A) o intenzitě záření  $I_0$ . Záření prochází plamenem (2), kam je vhněn roztok vzorku, který se v něm atomizuje a zároveň absorbuje vstupující záření. Intenzita z plamene vystupujícího záření ( $I$ ) a daná rezonanční čára (a) se vyselektuje pomocí disperzního systému (3) skládajícího se ze vstupní a výstupní štěrbin a mřížek. Signál se v detektoru (4) zaznamená a dále se systémově zpracuje (5, 6). Výsledkem je hodnota absorbance ( $\log(I_0/I)$ ). [29]

**Kvantitativní** informace o množství analytu ve vzorku se uvádí jako hodnota absorbance, která se vypočítá následujícím vztahem:

$$A = \log\left(\frac{\Phi_0}{\Phi}\right)$$

Kde  $A$  je absorbance,  $\Phi_0$  je tok do plamene vcházejícího záření a  $\Phi$  je tok záření prošlého.

**Kvalitativní** informace identifikující analyt odpovídá charakteristické rezonanční čáře o vlnové délce, která se může vyjádřit vztahem:

$$\lambda = \frac{hc}{E_2 - E_1}$$

Kde  $\lambda$  je vlnová délka,  $h$  je Planckova konstanta,  $c$  je rychlost světla,  $E_1$  je energie základního stavu atomu a  $E_2$  energie stavu excitovaného. [29]

## 2.4 Instrumentace

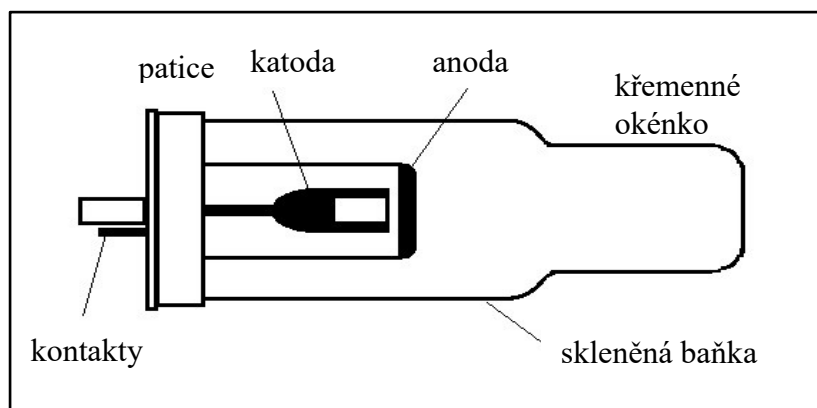
Atomový absorpční spektrometr se skládá z několika částí. První je zdroj záření, který produkuje emisní spektrum charakteristické pro stanovovaný prvek. Dále je prvek převeden z roztoku nebulizérem do absorpčního prostředí, kde je převeden do plynného

atomárního stavu a jeho volné atomy zde absorbují vybrané vlnové délky primárního záření. Následuje monochromátor, který izoluje vybranou vlnovou délku rezonanční čáry emisního spektra zdroje. Detektorem je poté zaznamenána změna intenzity prošlého záření a signál se zesílí, energie fotonů se přemění na měřitelný elektrický signál. Počítačem se pokles intenzity vyhodnotí jako absorbance, která je přímo úměrná koncentraci prvku ve vzorku za určitých podmínek (po minimalizaci vzniku interferencí při analýze). [3] [32]

#### 2.4.1 Zdroje primárního záření

V AAS je důležité, aby mělo primární záření čárové spektrum, které je poté charakteristicky absorbováno stanovovaným prvkem. Zdroj by měl emitovat intenzivní, časově stabilní, zářivou energii soustřeďující se do úzkého spektrálního intervalu. Pozadí by mělo být co nejvíce nízké. Dále se ještě posuzuje životnost, stabilita a cenová přístupnost. Zdroje, které se nejvíce prosadily v praxi, jsou výbojky s dutou katodou, bezelektrodové výbojky a superlampy.

V převážné většině případů se ale používají výbojky s dutou katodou (Obr. 2.3)



**Obr. 2.3:** Schéma výbojky s dutou katodou – katoda je zdrojem čárového spektra, které obsahuje charakteristické rezonanční čáry stanovovaného prvku. Na těchto čarách se sleduje absorbance typická pro daný prvek.

Jejich spektrum obsahuje velmi úzké, hlavně rezonanční atomové čáry prvku (pološířka 0,002 nm). Dodávají se obvykle společně s přístrojem jako jeho příslušenství a životnost můžou mít i stovky hodin. Jejich nevýhodou je, že se pomocí nich může stanovit pouze jeden prvek. Pokud se užije speciálních lamp pro stanovení většího počtu analytů, zhoršuje se zároveň i citlivost, životnost, někdy i limit detekce pro některé z nich.

Výbojka s dutou katodou je evakuovanou skleněnou baňkou, ve které je dutá katoda skládající se z čistého stanovovaného kovu (Ni, Zn,...), nebo se jedná o nosič, tzv. dutý váleček, s nevýrazným emisním spektrem (Al, Cu), do kterého je vložena fólie ze vzácného kovu, nebo je pokryt prvkem metodou práškové sintrace (kovy vysokého bodu tání, víceprvkové lampy). Dále se uvnitř nachází anoda z kovu o vysoké teplotě tání (Zr, Ti). Baňka je naplněna vzácným plynem (Ar, Ne). Na jednom konci baňky je výstupní okénko vyrobené z materiálu propouštějícího konkrétní emisní čáry. Podle nich můžeme vybrat příslušný materiál - optický křemen (do 240 nm), speciální optické sklo (nad 240 nm) a normální optické sklo (nad 300 nm). Pro sjednocení se ale nejčastěji užívají křemenná výstupní okénka.

Pro získání požadovaného záření se nejprve musí vložit mezi katodu a anodu potenciálový spád (200 - 600 V) a žhavicí proud v řádu miliampérů. Vložením potenciálu na elektrody dochází k urychlení elektronů, které interagují s atomy plnicího plynu, srážkami ho ionizují. Ionizované atomy plynu tak získají kladný náboj a jsou přitahovány ke katodě, zároveň je urychluje elektrické pole, bombardují povrch katody a vyrážejí z ní atomy stanovovaného prvku. Dochází k tzv. katodickému rozprašování. Pokud se jedná o těkavější kovy, může dojít i k termickému vypařování materiálu katody. Uvolněné atomy jsou následně excitovány urychlenými elektrony i ionty plynu a po vyzáření fotonu, se vrací do svého základního stavu. [3] [33]

#### **2.4.2 Nebulizér**

Ještě než proběhne atomizace analytu, musí se jeho roztok zavést do atomizátoru. Nejčastější zmlžovač v F-AAS je pneumatický. Je cenově přijatelný, ale má nízkou účinnost (do 10%). [3] Ta závisí hlavně na povrchovém napětí a viskozitě rozpouštědla, ale i na rychlosti proudění oxidantu. Vzorek se nasává kapilárou do mlžné komory. Na konci kapiláry je tříštivá kulička, kde dochází k rozdělení kapiček na co nejmenší, vzniká aerosol o velikosti částic 2 až 5  $\mu\text{m}$ . V této komoře se vzniklý aerosol smísí s oxidantem a palivem a je dále unášen do hořáku. Rychlost proudění aerosolu s oxidantem do štěrbinu hořáku musí být až třikrát rychlejší než rychlost hoření. Protože je jeho účinnost tak nízká, při analýze se spotřebovává velké množství připraveného vzorku. Účinnost se zlepšuje spíše výměnou typu zmlžovače, např. za vysokotlaký hydraulický nebulizér, který užívá HPLC pumpu umožňující výrazného zrychlení proudění vzorku na kuličku, která vzorek roztříští až na velice jemnou mlhu (účinnost až 90 %). [3] [33]

### 2.4.3 Atomizátor

V atomizátoru dochází k absorpci primárního záření analytem, který musí být převeden do plynného stavu. Atomy by měly zůstat v základním energetickém stavu, protože jedině tento typ atomů dokáže absorbovat primární záření. Pro atomizátor je důležité, aby poskytoval co nejvyšší koncentrace prvku, která by byla úměrná jeho koncentraci ve vzorku. Veškeré interference by se měly minimalizovat. [3]

Atomizaci vzorku můžeme uskutečnit celkem třemi způsoby, plamenovou metodou, elektrotermickou a metodou hydridovou. V F-AAS se užívá plamenový atomizátor, do kterého se vhání aerosol vzorku případným zmlžovačem. [34] Aerosol se vysuší v hořáku a do plamene vchází již atomy, případně molekuly vzorku zbavené rozpouštědla. Molekuly analytu s nežádoucími atomy vyskytujícími se v matrici se rozštěpí např. díky vybranému složení plamene. [33] Aby měl plamen teplotu nejvhodnější pro atomizaci, tj. 2000 – 3000 K, skládá se z oxidantu (vzduch nebo oxid dusný) a paliva (acetylen, vodík, nebo propan). [34] Vysušený aerosol se vnáší do předem smíchaného laminárního plamene. Různým smísením získáváme rozdílné teploty. Pokud je oxidantem oxid dusný, bývají hodnoty vyšší (2900 K) než u vzduchu (2500 K). Vyšší teploty umožňují účinnější disociaci atomů z molekul. [3]

Konstrukce hořáku se přizpůsobuje dané směsi plynů a jejich průtok je nastavitelný. Optická dráha spektrometru procházející plamenem může být v různých výškách jeho plamenového profilu. Koncentrace volných atomů prvku v základním stavu odpovídá měřenému signálu. V různé výšce plamene se vyskytují různé koncentrace volných atomů prvku. Výška s průtokem se musí hledat experimentálně a určí se podle nejvyššího naměřeného signálu.

### 2.4.4 Monochromátor

Paprsek primárního záření, který je veden optickým systémem zrcadel, případně čoček skrz absorpční prostředí, se musí dostat až do disperzního systému, tzv. monochromátoru. Jedná se o soubor štěrbin, dutých zrcadel a disperzních mřížek. Jeho úkolem je vyfiltrovat určitý spektrální interval vlnových délek. Hodnota intervalu závisí na velikosti výstupní štěrbině monochromátoru. Intervaly se pohybují u AAS v rozmezí 0,2 – 2 nm. Protože zdroj primárního záření emituje čárové spektrum charakteristické pro daný prvek, kdy jednotlivým čarám odpovídají konkrétní vlnové délky, může být považován za první disperzní prvek spektrometru. Samotný monochromátor pak již napomáhá

vyselektovat danou rezonanční čáru ze spektra, na které se sleduje pokles intenzity záření vyjadřující se jako absorbance. [33]

#### 2.4.5 Detektor

Pro detekci záření je nejvhodnější především fotonásobič, který převádí energii fotonů dopadajícího záření na energii elektrickou. Umisťuje se vždy těsně za výstupní štěrbinou monochromátoru.

Jedná se o evakuovanou skleněnou baňku obvykle s křemenným okénkem. Uvnitř se nachází fotokatoda, soubor dynod a anoda. Zmíněným okénkem přilétají fotony a bombardují fotokatodu. Z jejího materiálu se uvolňují elektrony, které jsou urychlovány elektrickým polem. Ty dále pokračují k první z dynod, ze které se uvolňují další elektrony, a ty se přitahují na dynodu následující díky potenciálovému spádu. Mezi katodou a anodou se nakonec po následném zesílení měří prošlý elektrický proud. [33] Materiál katody omezuje rozmezí vlnových délek dopadajícího záření, protože foton musí mít dostatečnou energii k vyrazení elektronu. Materiálem může být čistý kov (např. Cs), který funguje pro vlnové délky do 655 nm, nebo oxid (Ag-O-Cs apod.) pro blízkou infračervenou oblast. [3] Z celkového signálu se speciálními systémy vyselektuje námi sledovaný signál primárního záření od např. signálu temného proudu fotonásobiče nebo proudu získaného z emise atomizátoru (plamen atd.) a ten se nakonec vyhodnotí a zaznamená počítačem. [3] [35]

#### 2.4.6 Interference

Interference v metodě AAS je určitým rušivým vlivem, který může výrazně ovlivnit správnost a velikost naměřeného signálu při srovnávání standardu s analytem. Můžeme je rozlišovat na interference spektrální a nespektrální. [3]

Ke spektrálním interferencím by mohly patřit překryvy spektrálních čar, nedostatečná izolace spektrální čáry od záření, rozptyl záření a molekulární absorpce. K překryvu spektrálních čar dochází jen v ojedinělých případech a řeší se výběrem jiné alternativní spektrální čáry. Rozptyl záření se objevuje při atomizaci, kdy v plamenu vznikají i pevné a kapalné částice, které záření rozptylují, což má za následek falešnou absorpci, která může překrývat spektrální čáru analytu. Řešením může být v F-AAS výběr jiné směsi plynů generující vyšší teplotu (acetylen-oxid dusný). Molekulární absorpce se může projevit, když jsou v optické dráze paprsku nejen atomy analytu, ale i nedisociované molekuly. Vyznačuje se to širokými pásy či škálou jemných píků. Mohou to způsobovat produkty pyrolýzy matrice (radikály PO, SO, CaOH atd.) nebo molekuly KCl, NaCl, SO<sub>2</sub>

apod. Lokalizují se často v rozmezí vlnových délek 200 – 350 nm. Pokud nedosahují výrazných hodnot, můžou se vyrušit korekcí pozadí. [3] [36]

Nespektrální interference závisí hlavně na přítomnosti rušivých prvků v matici vzorku nebo na vlastnosti jeho celkového roztoku. Mohou být fyzikálního nebo chemického charakteru. Někdy se také dělí na interference v kondenzované a v plynné fázi. [36]

Interference kondenzované fáze mají vliv na rychlost vypařování, sání a účinnost zmlžování vzorku. Hlavní interferencí může být vysoký obsah soli, viskozita, povrchové napětí vzorku, tenze par rozpouštědla apod. Výsledkem je změna množství desolvatovaného aerosolu procházejícího plamenem za sekundu. Lze se jim vyvarovat, pokud použijeme stejné složení roztoků standardu a analytu, rušivé parametry se stávají zanedbatelnými. Povrchové napětí a viskozitu ovlivňují některé organické látky a kyselina fosforečná. [33] Velmi těkavá organická rozpouštědla (např. tetrahydrofuran) jsou pro metodu F-AAS nevhodná, protože zvýšeným obsahem plynů může plamen zhasínat. K organickým rozpouštědlům, které zlepšují účinnost zmlžování, by se mohl zařadit methanol, ethanol apod. Pokud vznikají těkavější sloučeniny prvků, signál se zvyšuje, pokud prvek tvoří např. komplexy, signál se sníží. [36]

V plynné fázi jsou rušivými vlivy posuny ionizační, disociační rovnováhy a změna rozložení volných atomů v plamenu. Nejčastější je ionizační interference, kdy se vysoký podíl analytu ionizuje. Jeho ionty již neabsorbují stejnou čáru jako jeho atomy a signál se jeví jako menší. Této interferenci se zabrání přidáním ionizačního pufru (roztok Cs, K), který se snáze ionizuje než analyt a nadbytkem uvolněných elektronů zabraňuje vzniku iontů analytu. [3] [33] Může se také snížit teplota plamene volbou jiné směsi plynů. Roztok analytu a standardu pro kalibraci by měl být zase stejný. Rozložení koncentrace analytu v plamenu nelze výrazně změnit, lze ji však zaznamenat rotací hořáku. [33]

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Používané přístroje a pomůcky

- **Spektrometr:** GBC 933 AA (GBC Scientific Equipment, Austrálie)
- **Zařízení určené k mineralizaci vzorků mikrovlnným rozkladem,** typ MDS 2000 (CEM Corporation, USA)
- **Přístroj na výrobu deionizované vody:** Milli-Q PLUS (Millipore, USA)
- **Výbojka s dutou katodou pro stanovení železa** ( $I = 7 \text{ mA}$ ,  $\lambda = 248,3 \text{ nm}$ ), **zinku** ( $I = 5 \text{ mA}$ ,  $\lambda = 213,9 \text{ nm}$ ), **sodíku** ( $I = 5 \text{ mA}$ ,  $\lambda = 589,0 \text{ nm}$ ), **draslíku** ( $I = 6 \text{ mA}$ ,  $\lambda = 766,5 \text{ nm}$ ), **hořčíku** ( $I = 3 \text{ mA}$ ,  $\lambda = 285,2 \text{ nm}$ ), **vápníku** ( $I = 5 \text{ mA}$ ,  $\lambda = 422,7 \text{ nm}$ ), pro všechny výbojky platí - Varian Techtron, Austrálie

### 3.2 Používané chemikálie

- **Standardní roztok zinku** ( $\text{Zn}^{2+}$  ve 2%  $\text{HNO}_3$  (v/v) o koncentraci  $1000 \pm 5 \text{ mg/l}$ , Analytika, Praha), **železa** ( $\text{Fe}^{3+}$  v 0,5 mol/l  $\text{HNO}_3$  o koncentraci  $1002 \pm 2 \text{ mg/l}$ , Merck, Německo), **sodíku** ( $\text{Na}^+$  v 0,5 mol/l  $\text{HNO}_3$  o koncentraci  $1003 \pm 5 \text{ mg/l}$  Merck, Německo), **draslíku** ( $\text{K}^+$  ve 2%  $\text{HNO}_3$  (v/v) o koncentraci  $1000 \pm 2 \text{ mg/l}$  Analytika, Praha), **vápníku** ( $\text{Ca}^{2+}$  ve 2%  $\text{HNO}_3$  (v/v) o koncentraci  $1000 \pm 2 \text{ mg/l}$  Analytika, Praha), **hořčíku** ( $\text{Mg}^{2+}$  v 0,5 mol/l  $\text{HNO}_3$  o koncentraci  $1000 \pm 2 \text{ mg/l}$  Merck, Německo)
- **65% kyselina dusičná** (Analytika, Praha)
- **Deionizovaná voda** (připravena přístrojem Milli-Q Plus, Millipore, USA)

### 3.3 Postup práce

#### 3.3.1 Příprava kalibračních roztoků

Nejprve byl připraven stabilizační roztok 0,24 % kyseliny dusičné přidáním 5 ml 65%  $\text{HNO}_3$  k 1000 ml deionizované vody.

Pro stanovení K, Mg, Na, Ca, Fe a Zn ve vzorcích byla připravena sada čtyř kalibračních roztoků o objemu 100 ml. Každý z roztoků obsahoval 0,24% kyselinu dusičnou a standardní roztok stanovovaného prvku. Zásobní roztoky standardů byly o koncentraci 1,0 g/l. Koncentrace kalibračních roztoků daných prvků jsou znázorněny v Tab. 3.1 (s. 25).



**Tab. 3.1: Koncentrace prvků u kalibračních roztoků**

Prvek	Koncentrace kalibračního roztoku (mg/l)			
	1	2	3	4
K	0,10	0,25	0,50	1,0
Mg	0,25	0,5	1	2,5
Na	0,1	0,25	0,5	1
Ca	0,5	1	2,5	5
Fe	1	2,5	5	10
Zn	0,5	1	2,5	5

### 3.3.2 Příprava vzorků

Analyzovanými vzorky byly české pozdní konzumní brambory varného typu B odrůdy Granada.

#### Vzorky určené k vyvaření do vodného roztoku

Pro zjištění, jakou měrou přecházejí stanovované prvky z brambor za varu do vody, byly vybrány čtyři velikostně podobné kusy brambor, které se po příslušném zpracování daly zvážit (Tab. 3.2). První vzorek tvořila brambora v celku se slupkou, druhý brambora v celku bez slupky, třetí brambora nakrájená bez slupky a poslední byla slupka z brambory třetího vzorku. Takto zpracované vzorky byly vloženy do 150ml kádinek, zality deionizovanou vodou, a přikryty hodinovým sklem. Všechny kádinky byly poté dány současně vařit na 20 minut. Po uplynutí stanovené doby a vychladnutí vývarů byly brambory z roztoků odstraněny a roztoky přelity do 100ml odměrných baněk. K roztokům byl přidán 0,5 ml 65% kyseliny dusičné a baňky byly doplněny po rysku deionizovanou vodou.

**Tab. 3.2: Navážky různě zpracovaných brambor**

Č. vz.	Vzorek	Navážka (g)
1	Brambora ve slupce	77,2
2	Brambora bez slupky	48,5
3	Nakrájená brambora bez slupky	72,8
4	Slupka z nakrájené brambory	11,0

Při stanovení jednotlivých prvků bylo zjištěno, že signály v některých případech byly příliš vysoké. Vzorky tedy musely být definovaným způsobem ředěny, aby se naměřené signály vyskytovaly v požadovaném lineárním rozsahu kalibrační závislosti. Ředění bylo prováděno odebráním požadovaného množství vzorku do 50ml odměrné baňky, která byla doplněna po rysku roztokem 0,24% kyseliny dusičné (stabilizačním roztokem). Roztoky ředěné 1000x byly připravovány ze 100x ředěných do 25ml odměrných baněk. Výsledné ředění vzorků obsahuje Tab. 3.3. Vzorky pro stanovení Fe a Zn nebyly ředěny.

**Tab. 3.3: Použité ředění roztoků vzorků**

Prvky	Ředění vzorků			
	1	2	3	4
K	100x	1000x	1000x	1000x
Mg	-	100x	100x	100x
Na	-	10x	-	-
Ca	-	10x	2x	2x

#### **Vzorky určené k mikrovlnnému rozkladu**

Z jedné hlízy byly naváženy dva jemně nakrájené vzorky o podobné hmotnosti 0,3608 g (dužina) a 0,3612 g (slupka). Navážky byly kvantitativně převedeny 2 ml deionizované vody z lodičky do specifických nádob určených k mikrovlnnému rozkladu. Ke každé směsi bylo přidáno 5 ml koncentrované kyseliny dusičné. Dále byly připraveny dva roztoky blanku obsahující 2 ml deionizované vody a 5 ml koncentrované kyseliny dusičné. Nádoby s roztoky podobného složení (2 blanky, 2 vzorky) byly po pečlivém uzavření vloženy do otočného nástavce vždy proti sobě. K rozkladu bylo použito zařízení typu MDS-2000 (650 Watt odpovídá 100% výkonu). Pro rozklad byl využit režim doporučený na rozklad rostlinných pletiv, který byl přiložen ve formě návodu k danému mikrovlnnému zařízení. Po rozložení vzorků a jejich vychladnutí byly v digestoři opatrně odejmuty víčka a získané roztoky byly přelity do 50ml plastových nádob, ve kterých byly doplněny deionizovanou vodou do 50 ml. Tímto způsobem získané roztoky nebyly v případě železa, zinku, sodíku, vápníku a hořčíku pro následné měření ředěny. Pouze u stanovení draslíku byly oba vzorky ředěny stokrát.

### 3.3.3 Optimalizace

Pro stanovení každého prvku metodou F-AAS byly některé parametry přístroje již předepsány a ty byly dále použity pro všechna měření. Mezi tyto parametry se řadí napájecí proud výbojky, šířka spektrálního intervalu, vlnová délka záření a složení plamene. Plamen o složení acetylen-vzduch byl použit vždy kromě stanovení vápníku, pro nějž bylo doporučeno použít plamen acetylen-oxid dusný. Proměnné optimalizované parametry byly průtoková rychlost acetylen (2,0 – 4,0 l/min, u vápníku 5,5 - 7,5 l/min) a výška paprsku nad hranou hořáku (2 - 8). Zjišťovaná výška je uvedena v dílkách specifických pro daný spektrometr, kde 1 dílek odpovídá přesně 3 mm. Z konstrukce přístroje lze vyvodit, že čím je paprsek blíže ke hraně hořáku, tím je nastavena vyšší hodnota počtu dílků (při 9. dílku je vzdálenost paprsku nad hořákem nulová). Hodnoty všech neměnných parametrů shrnuje Tab. 3.4.

**Tab. 3.4: Konstantní parametry měření**

<b>Prvek</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Na</b>	<b>Ca</b>	<b>Fe</b>	<b>Zn</b>
Žhavicí proud výbojky (mA)	6	3	5	5	7	5
Šířka spektrálního intervalu (nm)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	0,5
Vlnová délka (nm)	766,5	285,2	589,0	422,7	248,3	213,9
Plamen	A-V	A-V	A-V	A-OD	A-V	A-V

A-V (acetylen-vzduch), A-OD (acetylen-oxid dusný)

### 3.3.4 Průběh měření

Všechna měření byla prováděna na spektrometru GBC 933 AA s příslušnou výbojkou stanovovaného prvku, která se nechala před vlastním měřením 5-10 min stabilizovat.

#### Postup při optimalizaci

Pro optimalizaci výšky paprsku nad hranou hořáku a průtokové rychlosti acetyleny byly na přístroji nastaveny vstupní parametry podle Tab. 3.4. Nasávání roztoků trvalo 3 s.

Roztokem blanku byla ve všech případech 0,24% kyselina dusičná v deionizované vodě. Optimální průtok a výška byla vyhodnocena na třetím kalibračním roztoku jednotlivých kalibračních sad prvků. Pro K a Na se jednalo o roztok s koncentrací 0,5 mg/l, pro Zn, Ca 2,5 mg/l, pro Mg 1 mg/l a Fe 5 mg/l.

Z proměnných parametrů byla při optimalizaci nejprve proměřena výška paprsku nad hranou hořáku v rozmezí 2 - 8 dílku (při průtoku 2,0 l/min). Optimalizace průtoku acetylenu u daného prvku byla prováděna s optimální výškou (s nejvyšší odezvou) získanou z předešlého měření. Pro většinu prvků byla průtoková rychlost acetylenu (plamen acetylen-vzduch) měněna v rozmezí 2,0 – 4,0 l/min. Jedině u vápníku, který byl stanovován při plamenu acetylen-oxid dusný, bylo rozmezí zkoumaného průtoku acetylenu 5,5 - 7,5 l/min. Hodnoty průtokové rychlosti byly vždy měněny o polovinu jednotky.

### **Postup při měření kalibračních roztoků a vzorků**

Kalibrační roztoky a vzorky byly měřeny již za optimalizovaných podmínek daného prvku. Vyvařené vzorky byly před měřením zředěny (ředění viz Tab. 3.3, s. 26). Rozkladné vzorky byly ředěny pouze v případě draslíku stokrát.

## **3.4 Statistické vyhodnocení**

Výsledky v této práci byly statisticky zpracovány. Není-li uvedeno jinak, všechna měření byla provedena třikrát a výsledek byl prezentován ve formě mediánu a v grafu opatřen chybovými úsečkami zastupující relativní směrodatnou odchylku. Roztoky pro určení LOD, LOQ a opakovatelnosti byly měřeny patnáctkrát. Opakovatelnost byla získána z hodnot třetího roztoku kalibračních sad prvků. Hodnoty LOD a LOQ byly vypočteny z naměřených hodnot blanku.

### **Medián ( $\tilde{x}$ )**

Jedná se o střední hodnotu dat seřazených podle velikosti. U lichého počtu opakování se jedná o prostřední hodnotu. U sudého se vezmou dvě hodnoty ze středu, které se zprůměrují.

### **Směrodatná odchylka (s)**

Rozložení hodnot okolo mediánu lze vyjádřit směrodatnou odchylkou. Při paralelním stanovení menšího počtu hodnot ( $n < 10$ ) se může směrodatná odchylka odhadnout z rozpětí. Vyjádřila by se vzorcem

$$s = k_n \cdot R$$

kde  $k_n$  je tabelovaný koeficient pro určitý počet měření a  $R$  je rozpětí (rozdíl největší a nejmenší naměřené hodnoty).

### **Relativní směrodatná odchylka ( $s_r$ )**

Pro porovnání přesnosti naměřených dat v různých jednotkách se směrodatná odchylka vztahuje k aritmetickému průměru nebo mediánu. Často se vyjadřuje v procentech, kdy se vypočítaná hodnota vynásobí stem. Vztah pro její vypočet je zobrazen níže.

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} (\cdot 100, \%)$$

### **Mez detekce (LOD)**

Jedná se o nejmenší koncentraci analytu, kterou dokážeme danou metodou detekovat. Odpovídá trojnásobné hodnotě směrodatné odchylky u signálu nulového vzorku. Pokud je látka detekována, nemusí to znamenat, že je stanovitelná. K jejímu výpočtu užíváme následující vztah

$$LOD = \frac{3 \cdot s}{a}$$

kde  $s$  je směrodatná odchylka naměřených hodnot blanku,  $a$  je směrnice kalibrační přímky procházející počátkem.

### **Mez stanovitelnosti (LOQ)**

Mezi stanovitelnosti je nejnižší koncentrace analytu, kterou dokážeme stanovit s postačující správností a přesností. Je desetinásobkem směrodatné odchylky u signálu nulového vzorku. Vypočítá se

$$LOQ = \frac{10 \cdot s}{a}$$

### **Opakovatelnost**

Vyjadřuje vzájemnou podobnost výsledků získaných jedním analytikem, danou metodou, na konkrétním přístroji, u stejného analytu v co nejkratším časovém úseku. Získá se ve formě relativní směrodatné odchylky opakovaných měření. Protože se často udává v procentech, vynásobí se hodnota stem.

### **Citlivost**

Za citlivost se považuje změna naměřeného signálu vztažená ke koncentraci analytu ( $dS/dc$ ). Určuje se ve formě směrnice kalibrační přímky lineární povahy, kde popisuje strmost závislosti naměřených hodnot signálu na koncentraci analytu. Metoda je nejcitlivější, pokud poskytne maximální změnu signálu v přítomnosti analytu.

**Lineární dynamický rozsah (LDR)**

Určuje rozsah koncentrací, u kterých je kalibrační závislost lineární. Citlivost je v tomto rozmezí konstantní. Začíná koncentrací, kterou je již možné stanovit a končí koncentrací, u které je korelační koeficient větší nebo roven 0,99.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

V následující části se hodnotí dosažené výsledky z měření optimalizace a vzorků českých pozdních konzumních brambor varného typu B (odrůda Granada). Byly stanoveny koncentrace celkem pěti prvků, a to draslíku, hořčíku, sodíku, vápníku, a zinku metodou plamenové atomové absorpční spektrometrie. Obsah brambor se převáděl varem do vody, poté byl ještě stanoven celkový obsah prvků v bramboře po jejím mikrovlnném rozkladu. Železo nebylo možné stanovit u žádného ze vzorků.

### 4.1 Optimalizace výšky paprsku nad hranou hořáku

Výška paprsku nad hranou hořáku závisí na poloze hořáku, která se může vyjádřit celočíselnou hodnotou počtu dílků, jejichž velikost je specifikována daným přístrojem. S rostoucím počtem dílků se hořák přibližuje k paprsku, dílek devět je roven nulové vzdálenosti paprsku od hrany hořáku. Jeden dílek odpovídá přesně 3 mm. Optimalizace výšky pro každý prvek byla provedena postupným proměřením třetího kalibračního roztoku jednotlivých prvků v rozmezí 2 – 8 dílků. Změna se pohybovala v míře jednoho dílku. Optimalizované výšky pro stanovení jednotlivých prvků jsou shrnuty v Tab. 4.1 (s. 32).

### 4.2 Optimalizace průtokové rychlosti acetylenu

Průtoková rychlost acetylenu je zde udávána v jednotkách l/min. Optimalizace průtoku acetylenu byla prováděna ve dvou různých rozmezech podle druhu stanovovaného prvku. Draslík, hořčík, sodík, železo a zinek byly měřeny za užití plamene acetylen-vzduch v rozmezí 2,0 – 4,0 l/min. Vápník za užití plamene acetylen-oxid dusný v rozmezí 5,5 – 7,5 l/min. Každá změna se pohybovala v míře poloviny jednotky. Shrnutí optimálních hodnot pro dané prvky je vyobrazeno v Tab. 4.1 (s. 32).

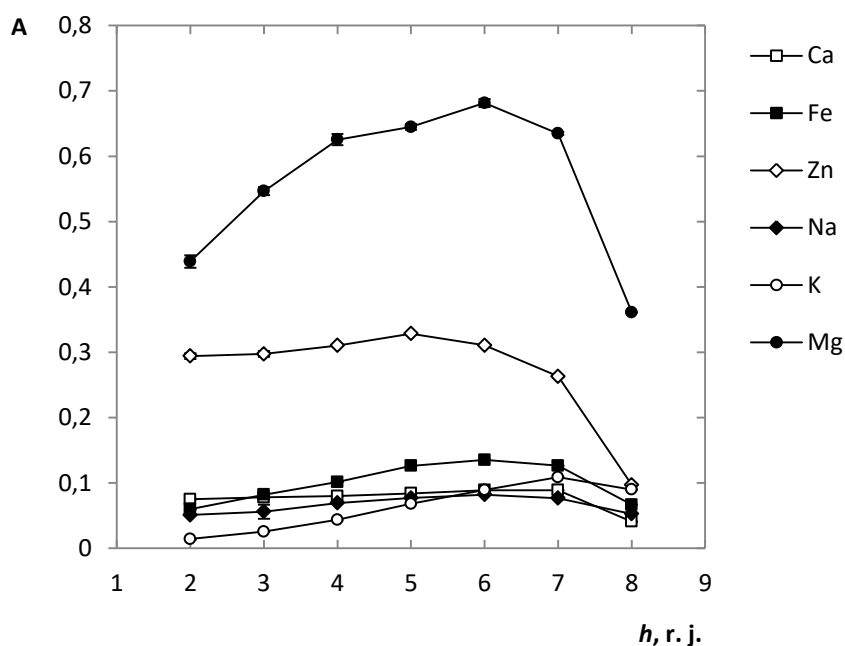
### 4.3 Shrnutí optimalizovaných podmínek

V Tab. 4.1 (s. 32) jsou získané hodnoty optimálních výšek a průtokových rychlostí acetylenu vztahující se k jednotlivým prvkům a koncentrace kalibračních roztoků, u kterých se stanovovaly. Optimalizace byla prováděna u koncentrací třetích roztoků příslušné kalibrační sady. Vstupní neměnné parametry jsou již zmíněny v Tab. 3.4 (s. 27).

**Tab. 4.1: Optimální hodnoty výšky a průtoku acetylenu**

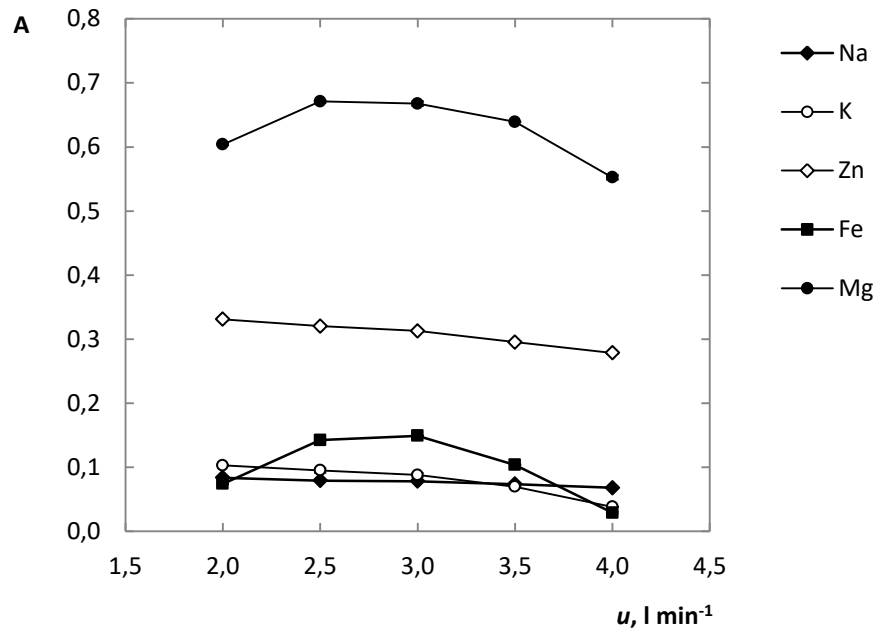
Prvek	K	Mg	Na	Ca	Fe	Zn
Výška paprsku (-)	7	6	6	6	6	5
Průtoková rychlost (l/min)	2,0	2,5	2,0	6,0	2,5	2,0
Koncentrace roztoku (mg/l)	0,5	1,0	0,5	2,5	5,0	2,5

Vápník byl měřen za použití plamenu acetylen-oxid dusný, ostatní prvky acetylen-vzduch. Pro úspornější spotřebu acetylenu byl vybrán u železa průtok 2,5 l/min místo 3,0 l/min. U draslíku, sodíku a zinku byly pozorovány srovnatelné hodnoty absorbance, protože byly u optimalizace průtoku acetylenu použity stejné parametry jako u optimalizace výšky, u ostatních se parametry a absorbance lišily. Na Obr. 4.1 jsou zaznamenány naměřené závislosti absorbance na výšce paprsku nad hranou hořáku a na Obr. 4.2 a Obr. 4.3 (s. 33) je závislost absorbance na průtoku acetylenu.

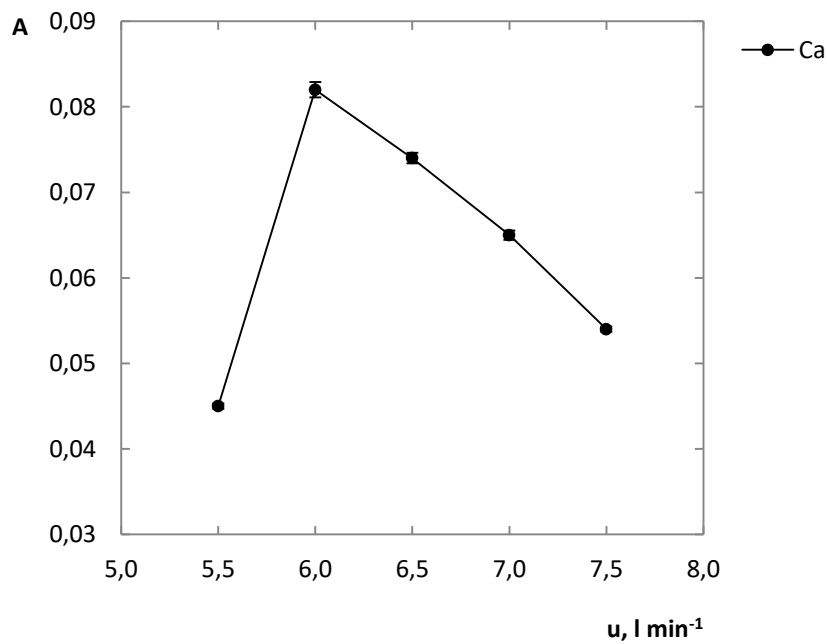


**Obr. 4.1:** Optimalizace výšky paprsku nad hranou hořáku pro stanovení Fe, Zn, Na, K, Ca a Mg – Všechny hlavní hodnoty a parametry jsou shrnuty v Tab. 3.4 (s. 27) a Tab. 4.1 (s. 32)





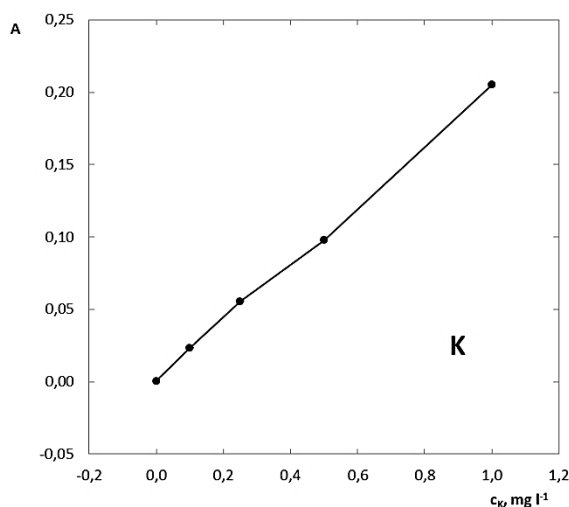
**Obr. 4.2:** Optimalizace průtokové rychlosti acetyleny pro stanovení Na, K, Zn, Fe, Mg – Složení plamene je acetylen-vzduch. Všechny hlavní hodnoty a parametry jsou zobrazeny v Tab. 3.4 (s. 27) a Tab. 4.1 (s. 32).



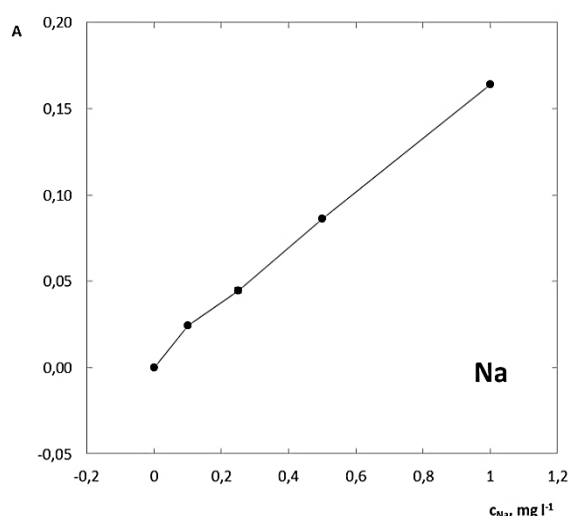
**Obr. 4.3:** Optimalizace průtokové rychlosti acetyleny pro stanovení Ca – Složení plamene je acetylen-oxid dusný. Všechny užití parametry jsou v Tab. 3.4 (s. 27) a v Tab. 4.1 (s. 32).

## 4.4 Kalibrační závislosti

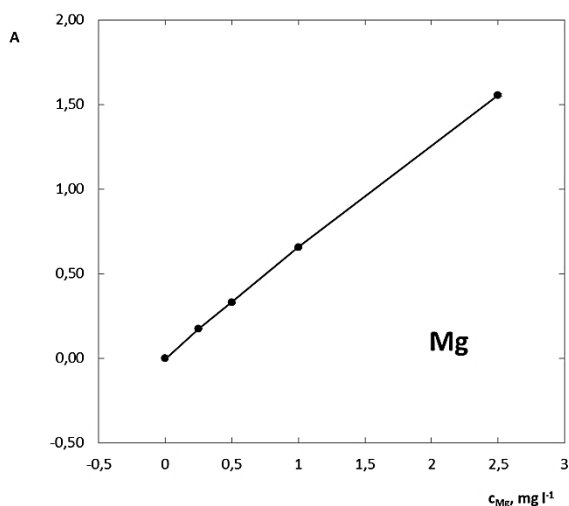
Pro každý prvek byla připravena sada čtyř kalibračních roztoků o objemu 100 ml se vzrůstajícími koncentracemi (Tab. 3.1, s. 25) včetně roztoku blanku (samotná 0,24% kyselina dusičná). Kalibrační roztoky obsahovaly 0,24% kyseliny dusičné, deionizovanou vodu a standard příslušného prvku. Z hodnot získaných za optimálních podmínek byla vynesena kalibrační závislost absorbance na koncentraci standardů prvků z dané sady. Na Obr. 4.3 až Obr. 4.8 jsou tyto závislosti graficky znázorněny pro jednotlivé prvky.



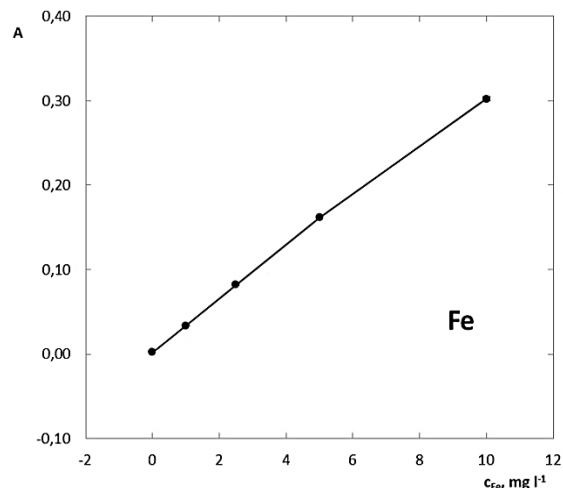
**Obr. 4.3:** Kalibrační závislost absorbance na koncentraci draslíku ( $h = 7$ ;  $u = 2,0$  l/min;  $c = 0,5$  mg/l, acetylen-vzduch)



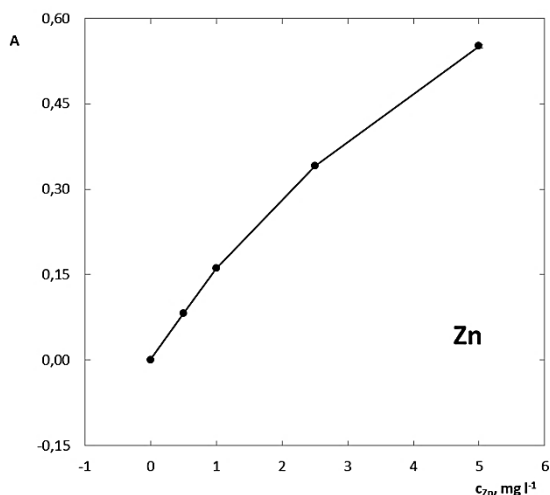
**Obr. 4.4:** Kalibrační závislost absorbance na koncentraci sodíku ( $h = 6$ ;  $u = 2,0$  l/min;  $c = 0,5$  mg/l, acetylen-vzduch)



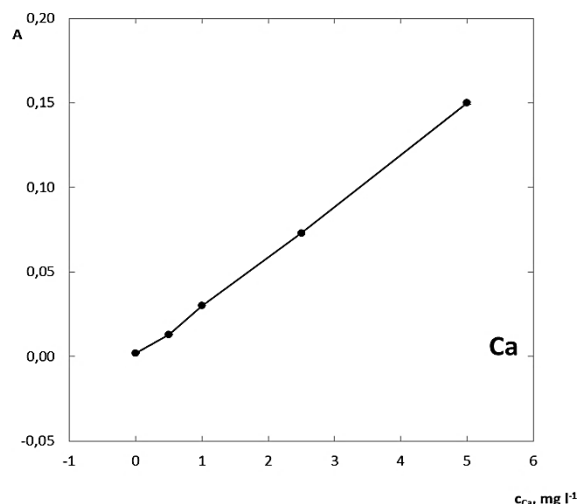
**Obr. 4.5:** Kalibrační závislost absorbance na koncentraci hořčíku ( $h = 6$ ;  $u = 2,5$  l/min;  $c = 1,0$  mg/l, acetylen-vzduch)



**Obr. 4.6:** Kalibrační závislost absorbance na koncentraci železa ( $h = 6$ ;  $u = 2,5$  l/min;  $c = 5,0$  mg/l, acetylen-vzduch)



**Obr. 4.7:** Kalibrační závislost absorbance na koncentraci zinku ( $h = 5$ ;  $u = 2,0$  l/min;  $c = 2,5$  mg/l, acetylen-vzduch)



**Obr. 4.8:** Kalibrační závislost absorbance na koncentraci vápníku ( $h = 6$ ;  $u = 6$  l/min;  $c = 2,5$  mg/l, acetylen-oxid dusný)

Na Obr. 4.3 až Obr. 4.7 bylo měřeno s plamenem o složení acetylen-vzduch, na Obr. 4.8 plamenem acetylen-oxid dusný. Koncentrace uvedená v jednotlivých popisích kalibračních grafů je koncentrací daného prvku užitou k optimalizaci ostatních uvedených parametrů. Veškeré vstupní parametry jsou shrnuty v Tab. 3.4 (s. 27).

## 4.5 Základní charakteristiky metody

Proměřením kalibračních roztoků a jejich blanku byly získány hodnoty, ze kterých byly odvozeny a vypočítány základní charakteristiky metody u jednotlivých prvků. Mezi tyto charakteristiky patří mez detekce (LOD, mg/l), mez stanovitelnosti (LOQ, mg/l), opakovatelnost (%), citlivost (l/mg), lineární dynamický rozsah (LDR, mg/l) a pracovní rozsah (mg/l).

Roztoky, které byly použity pro výpočet LOD a LOQ, měly koncentrace 0,50 mg/l (platí pro K, Na), 1,0 mg/l (Mg), 2,5 mg/l (Ca, Zn) a 5,0 mg/l (Fe). Opakovatelnost byla vypočtena z hodnot roztoku 0,24% kyseliny dusičné (blank), které byly měřeny patnáctkrát. Citlivost, lineární dynamický rozsah a pracovní rozsah byly vyhodnoceny z kalibračních grafů daných prvků. Body lineární části závislosti byly proloženy přímkou lineární regrese, ze které se získala směrnice přímky (citlivost). Do lineárního dynamického rozsahu byly započteny koncentrace kalibračních roztoků, které splňovaly

podmínku korelačního koeficientu rovného nebo většího než je hodnota 0,99. V Tab. 4.2 jsou shrnuty základní charakteristiky metody vztahující se k danému prvku.

**Tab. 4.2: Základní charakteristiky metody jednotlivých prvků**

Charakteristika metody	K	Na	Mg	Ca	Fe	Zn
LOD, mg/l	0,024	0,009	0,002	0,002	0,058	0,021
LOQ, mg/l	0,078	0,031	0,0070	0,0082	0,19	0,071
Opakovatelnost, %	0,66	1,9	0,52	0,67	0,75	0,76
Citlivost, l/mg	0,202	0,160	0,619	0,0301	0,0302	0,108
LDR, mg/l	1,0	1,0	2,5	5,0	10	2,5
Pracovní rozsah, mg/l	1,0	1,0	2,5	5,0	10	5,0

LOD – kritérium  $3\sigma$ , LOQ – kritérium  $10\sigma$

#### 4.6 Stanovení prvků – roztoky vyvařených brambor

V první části měření bylo cílem zjistit, jaká koncentrace prvků se dostane z brambory o dané hmotnosti do vodného roztoku při jejím dvacetiminutovém vaření. Brambory se zpracovaly třemi různými způsoby (Tab. 4.3). Čtvrtým vzorkem byla slupka ze třetího vzorku, která se analyzovala zvlášť.

Roztoky vzorků pro stanovení železa a zinku nebyly ředěny, ostatní prvky byly ředěny alespoň v jednom ze svých roztoků (Tab. 3.3, s. 26). Nebylo použito žádné pomocné činidlo.

V Tab. 4.3 jsou výsledné hmotnosti prvků, které přešly do roztoku z 1 g původní hmoty.

**Tab. 4.3: Výsledné koncentrace prvků ve vyvařených roztocích**

Vzorek	Koncentrace prvků				
	K (mg/g)	Mg ( $\mu\text{g/g}$ )	Na ( $\mu\text{g/g}$ )	Ca ( $\mu\text{g/g}$ )	Zn ( $\mu\text{g/g}$ )
1	$0,05 \pm 0,001$	$1,99 \pm 0,04$	$0,76 \pm 1,36$	$3,42 \pm 0,05$	$0,05 \pm 0,004$
2	$1,20 \pm 0,002$	$59,9 \pm 0,25$	$7,54 \pm 1,98$	$27,7 \pm 0,67$	$0,51 \pm 0,013$
3	$1,24 \pm 0,003$	$101 \pm 0,56$	$1,22 \pm 0,25$	$13,7 \pm 0,26$	$0,43 \pm 0,010$
4	$7,16 \pm 0,227$	$377 \pm 0,75$	$7,30 \pm 0,30$	$75,8 \pm 0,71$	$2,14 \pm 0,040$

Železo bylo pod LOQ, Vzorky byly zpracovány následovně: 1 – Celá hlíza obsahující slupku, 2 – Celá hlíza bez slupky, 3 – Nakrájená hlíza bez slupky, 4 – Slupka ze vzorku 3

Z výsledků lze usoudit, že brambory ve slupce ztrácejí při vaření minerální látky jen v minimálním množství a největší měrou se vyvařují ze samotných slupek (neplatí pouze u sodíku). Výsledky z převážné většiny souhlasí s předpokladem, že se prvky v bramborách ukládají hlavně pod povrchem jejich slupky. Samotná slupka má zde ochrannou funkci a zabraňuje ztrátám pro brambory důležitých minerálů. Po oloupaní slupky nožem se okrají část brambory s nejvyšším zastoupením sledovaných prvků. Různé výsledky u celé a nakrájené brambory bez slupky lze pokládat za charakteristické složení pro jednotlivé kusy bramborových vzorků a není možné z nich vyvodit obecně platný závěr.

Ze slupky se nejvíce vyvařil draslík a hořčík, což koreluje i s jejich nejvyšším původním zastoupením v bramborové hlíze, železo v roztoku nebylo detegováno. V Tab. 4.4 jsou porovnány hmotnosti prvků přešlé ze 100 g brambory do roztoku s tabulkovými hodnotami celkového obsahu prvků v bramborách (vztaženo na 100 g). Pro porovnání byl vybrán vzorek 3 a 4 (jedná se o stejnou hlízu), aby se dostalo co nejvyšší množství vybraných prvků do roztoku. Výsledné stanovené koncentrace prvků zastupují jejich celkové množství, které by přešlo z jedné rozkrájené hlízy se slupkou do vody při vaření. V tabulce je názorně vidět, že vyvařené množství nepřekročilo interval tabulkových hodnot jejich celkového obsahu v hlízách, ale lze si všimnout, že u draslíku a hořčíku přešlo výrazné množství z jejich celkového zastoupení.

**Tab. 4.4: Vyvařené koncentrace prvků a jejich celkový tabulkový obsah ve 100 g hlízy**

<b>Prvek</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Na</b>	<b>Ca</b>	<b>Zn</b>
Celkový obsah (mg/100 g)	280 – 564	14 - 18	3 - 28	5 - 18	< 0,3
Vyvařené množství (mg/100 g)	201 ± 33,4	13,8 ± 0,60	0,2 ± 0,02	2,2 ± 0,34	0,1 ± 0,01

Železo pod LOQ, v tabulkových hodnotách v rozmezích 0,4 – 1,6 mg/100g, hodnoty celkového obsahu převzaty ze zdroje [37]

#### **4.7 Stanovení prvků – roztoky rozložených brambor**

U druhé části vzorků byly stanoveny celkové koncentrace prvků v hlíze. Byl využit rozklad na mokré cestě za zvýšeného tlaku, kdy byl vzorek rozkládán pomocí mikrovlnného zařízení. První vzorek tvořila jemně nakrájená bramborová dužina, druhý stejným způsobem nakrájená slupka dané brambory.

Vzhledem k nízkým vstupním hmotnostem vzorku nebyly výsledné roztoky ředěny, pouze u stanovení draslíku byly ředěny stokrát.

V Tab. 4.5 jsou výsledné koncentrace jednotlivých prvků rozložených brambor vztažené k původní hmotnosti bramborové hmoty.

**Tab. 4.5: Stanovení prvků v bramborové dužině a slupce po mikrovlnném rozkladu**

Vzorek	Koncentrace prvků				
	K (mg/g)	Mg (µg/g)	Ca (µg/g)	Na (µg/g)	Zn (µg/g)
1	4,68 ± 0,025	235 ± 2,04	129 ± 7,04	44,7 ± 0,25	4,39 ± 1,44
2	7,07 ± 0,024	268 ± 2,11	325 ± 1,06	44,2 ± 1,40	6,13 ± 0,44

Železo pod LOQ, vzorek 1 – bramborová dužina, vzorek 2 – bramborová slupka

Celkový obsah jednotlivých prvků v analyzované bramborové hlíze byl poté odvozen ze součtu naměřených koncentrací obou vzorků (v jednotkách mg/l či µg/l), které se následně vztáhly na součet hmotností obou rozkládaných vzorků. Pro srovnání s tabulkovými hodnotami se výsledky převedly na množství obsažené ve 100 g původní hmotnosti brambory. Výsledné koncentrace jsou znázorněny v Tab. 4.6.

**Tab. 4.6: Stanovený a tabulkový obsah vybraných prvků ve 100 g bramborové hmoty**

Hodnoty	Koncentrace (mg/100g)				
	K	Mg	Ca	Na	Zn
Tabulkové	280 - 564	14 - 18	5 - 18	3 - 28	< 0,3
Stanovené	587 ± 6,83	25,1 ± 0,51	22,7 ± 1,12	4,4 ± 0,23	0,5 ± 0,26

Železo pod LOQ, tabulkové hodnoty pro železo: 0,4 – 1,6 mg/100g, tabulkové hodnoty převzaty ze zdroje [37]

V Tab. 4.5 lze pozorovat u vzorku 2 (slupka) navýšené množství většiny prvků. Jedinou výjimkou je sodík, u kterého se ale hodnoty pohybují ve větším intervalu. Obsah sodíku ve slupce by mohl být v porovnání s dužinou vyšší. Železo nebylo pomocí plamenové atomové absorpční spektrometrie možné stanovit.

Hodnoty získané z dužiny a slupky po rozkladu nejsou tak výrazně od sebe odlišné v porovnání s hodnotami vyvařených roztoků (Tab. 4.3, s. 36). Důvodem může být různé složení jednotlivých kusů bramborových hlíz, ale i různé zpracování před analýzou. U vyvařených vzorků se k analýze použily celé brambory (desítky gramů). U mikrovlnného rozkladu bylo stanovované vstupní množství vzorku omezené (do 0,4 g) z bezpečnostních důvodů. Při analýze dužiny se vybrala spíše část brambory blíže ke slupce, kde je zastoupení prvků nejkonzentrovanejší, aby byly prvky lépe stanovitelné zvolenou

metodou. Díky takovému zpracování se může jevit složení dužiny a slupky jako podobné, protože se analyzovaná hmota vyskytuje relativně blízko sebe.

V tab. 4.6 (s. 38) se stanovený celkový obsah vybraných prvků (mg/100g) v porovnání s tabulkovými hodnotami jeví jako vyšší. Aby bylo možné stanovit dané prvky v omezeném vstupním množství bramborové hmoty, byla vybrána hlavně nejkonzentrovanejší část dužiny (pod slupkou). Součet koncentrací v takto zpracované dužině a slupce vztažený na původní hmotu brambory a tato hodnota převedená na 100 g bramborové hmoty se proto může zdát koncentrovanejší než ve skutečnosti je. Dalším důvodem navýšeného obsahu může být ztráta vody z hlíz při skladování. Prvky mají tendenci zůstat v hlízách, ale voda se postupně odpařuje. Hlízy s počátečním množstvím vody jsou v porovnání například s hlízami po dvou měsících skladování zředěnější.

Sodík se ve vyvařených roztocích i roztocích rozložených vzorků vyskytuje v relativně nízkých koncentracích. Může se jednat o vlastnost dané bramborové odrůdy, případně může hrát roli i použité hnojivo, půda a další podmínky, které se různí při pěstování. Ve všech vzorcích (vyvařené i rozložené) je nejvíce zastoupen draslík, koncentrace vždy klesají v pořadí: hořčík, vápník, sodík, zinek. Železo se nepodařilo stanovit v žádném z připravených vzorků, ve vybrané odrůdě se pravděpodobně vyskytuje v minimálních koncentracích, které nelze stanovit pomocí F-AAS.

V Tab. 4.7 bylo vypočteno procento z doporučeného denního příjmu dospělého člověka, které by zastupovala námi stanovená koncentrace jednotlivých prvků v bramborách.

**Tab. 4.7: Procentuální zastoupení prvků brambor v jejich DDD pro dospělého člověka**

Prvky	K	Mg	Ca	Na	Zn
Průměrné stanovené množství (mg/100g)	587	25,1	22,7	4,4	0,5
Průměrná doporučená dávka (mg/den)	2000	375	800	2750	10
Procento z průměrné doporučené dávky (%)	29,4	6,7	2,8	0,2	5,0

Hodnoty DDD jsou stanoveny v příloze č. 5 ve vyhlášce č. 225/2008 Sb. [38]. Železo v bramborách nebylo prokázáno, jeho doporučená denní dávka je 14 mg/den. Ve vyhlášce není stanovena DDD pro sodík, hodnota je odvozena z doporučeného minima a maxima denní dávky soli (0,5 – 5 g/den). Vyhláška je aktuálně již neplatná, hodnoty jsou zde ale porovnány pro zajímavost.

Z Tab. 4.7 (s. 39) je patrné, že draslík je nejvýznamnějším prvkem v bramborových hlízách. Hmotnost 100 g se může teoreticky brát jako hmotnost průměrně velkého kusu brambory vybrané odrůdy. Pokud by draslík v námi analyzovaných bramborách zastupoval v jednom kusu brambory až 30 % jeho DDD, lze z toho vyvodit, že by dospělý člověk získával dostatek draslíku již přibližně z 3,3 kusu bramborové hlízy dané odrůdy. Ostatní prvky nejsou již tak významné ve svém zastoupení, ale mohou částečně zastupovat určitý zlomek procenta jejich doporučené denní dávky (hlavně hořčík a vápník). Námi stanovený obsah draslíku v bramborách by mohl být srovnatelný s průměrným obsahem draslíku vyskytujícím se v čerstvé listové zelenině, jako je například zelí, petržel či špenát (550 mg/100g). Zmíněná průměrná hodnota draslíku byla určena organizací WHO z různých zdrojů společně ještě pro kořenovou zeleninu (200 mg/100g), ovoce (300 mg/100g), fazole (1300 mg/100g) apod., kde fazole zastupovaly nejvyšší množství draslíku ve zkoumaných potravinách. Jedná se pouze o hodnoty orientační. [39]



## 5 ZÁVĚR

Hlavním cílem této práce bylo stanovit vybrané prvky ve vyvařených roztocích různě zpracovaných hlíz a v bramborových hlízách pomocí plamenové atomové absorpční spektrometrie. Ze šesti prvků (K, Mg, Ca, Na, Zn, Fe) nebylo ve vzorcích stanoveno pouze železo, kde byly měřeny hodnoty pod jeho mezí stanovitelnosti.

Vyvařené roztoky byly připraveny ze tří bramborových kusů. První hlíza byla nechána v původní podobě, druhá se oloupala nožem, třetí se oloupala nožem a nakrájela. Posledním vzorkem byla slupka ze třetí hlízy. Jednotlivé brambory se vyvařovaly do deionizované vody, do které se nakonec přidala koncentrovaná kyselina dusičná (výsledně 0,24 % roztok  $\text{HNO}_3$ ). U všech prvků byly zjištěny nejnižší koncentrace v roztoku neoloupaných brambor a nejvyšší koncentrace u všech prvků kromě sodíku v roztocích bramborové slupky. Ze slupky do roztoku nejvíce přešlo draslíku (7,16 mg/g), poté hořčíku (377  $\mu\text{g/g}$ ), vápníku (78,80  $\mu\text{g/g}$ ), sodíku (7,30  $\mu\text{g/g}$ ) a nejméně zinku (2,14  $\mu\text{g/g}$ ). Míra přešlého množství koreluje s původním obsahem daných prvků v hlízách.

Roztoky získané mikrovlnným rozkladem byly dva, první z nich obsahoval jemně nakrájenou slupku, druhý dužinu bramborových hlíz, 5 ml koncentrované kyseliny dusičné a 2 ml deionizované vody. Při stanovení se užil roztok blanku, který podstoupil stejné podmínky rozkladu jako vzorky. U všech prvků kromě sodíku se získaly nejvyšší koncentrace ve vzorku slupky. Po přepočítání na celkový obsah jednotlivých prvků v bramborové hlíze byly koncentrace nejvyšší u draslíku (587 mg/g). Další koncentrace byly v rozmezích  $\mu\text{g}$ , u hořčíku (25,1  $\mu\text{g/g}$ ), vápníku (22,7  $\mu\text{g/g}$ ), sodíku (4,4  $\mu\text{g/g}$ ) a nejméně u zinku (0,5  $\mu\text{g/g}$ ). Nejvýznamnější zastoupení z vybraných prvků měl draslík, jeho obsah v bramborové odrůdě Granada byl srovnatelný s průměrnou koncentrací draslíku v listové zelenině (petržel, špenát, apod.). Koncentrace draslíku stanovená v dané bramborové odrůdě vyjádřená v jednotkách mg/100g zastupuje v DDD draslíku pro dospělého člověka až 29,4 %.

## 6 POUŽITÁ LITERATURA

1. Čepl, J.; Červínová, E.; Čížek, M.; Domkářová, J.; Exnarová, J.; Greplová, M.; Hausvater, E.; Krpálková, A.; Vokál, B.; Zášková, J.: *Máme rádi brambory: proč jsou brambory zdravé, jak je správně nakupovat i pěstovat, úspěšné projekty PRV a několik osvědčených receptů*. [Online] Dostupné z URL: [http://eagri.cz/public/web/file/186748/MAME\\_RAD\\_I\\_BRAMBORY.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/186748/MAME_RAD_I_BRAMBORY.pdf) [Citace: 4. 10. 2019]
2. Kasper, H.: *Výživa v medicíně a dietetika*. 11. vyd. Praha, GRADA Publishing, 2015.
3. Němcová, I.; Čermáková, L.; Rychlovský, P.: *Spektrometrické analytické metody I*. Praha, Karolinum, 2004.
4. Babička, L.: *Toxicky významné látky v potravinách*. Praha, Potravinářská komora ČR a Česká technologická platforma pro potraviny, 2017.
5. Davídek, J.: *Minerální látky*. [Online] Dostupné z URL: [https://www.wikiskripta.eu/w/Minerální\\_látky\\_\(1.\\_LF\\_UK,\\_NT\)](https://www.wikiskripta.eu/w/Minerální_látky_(1._LF_UK,_NT)) [Citace: 5. 10. 2019]
6. deMan, J. M.: *Principles of Food Chemistry*. 3rd ed. Gaithersburg, Md : Aspen Publishers, 1999.
7. Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod: *Minerální látky* [Online] Dostupné z URL: <https://www.vubhb.cz/cs/zahradkari-a-spotrebitele/mineralni-latky> [Citace: 10. 10. 2019.]
8. Ahmed, S.; Zhou, X.; Pang, Y.; Jin, L.; Bao, J.: Improving Starch-Related Traits in Potato Crops: Achievements and Future Challenges. *Starch* 70, 977-989 (2018)
9. Spooner, D. M.; Ghislain, M.; Simon, R.; Jansky, S. H.; Gavrilenko, T.: Systematics, Diversity, Genetics, and Evolution of Wild and Cultivated Potatoes. *The Botanical Review* 80, 283-383 (2014)
10. Corsini, D. L.: Utilization of potato genetic resources in variety development. *American Journal of Potato Research* 78, 433-441 (2001)
11. Celostnímedicina.cz: *Chvála brambor* [Online] Dostupné z URL: <https://www.celostnímedicina.cz/chvala-brambor.htm> [Citace: 11. 10. 2019]
12. Rybáček, V.: *Brambory*. Praha, Státní zemědělské nakladatelství, 1988.
13. Šetlík, I.; Seidlová, F.; Šantůček, J.: *Fyziologie rostlin*. [Online] Dostupné z URL: <https://web.natur.cuni.cz/biochem/kucera/rostliny/is/kap10.pdf> [Citace: 14. 10. 2019]
14. Lewis, J. L. III.: *Overview of Disorders of Potassium Concentration* [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/professional/endocrine-and-metabolic-disorders/electrolyte-disorders/overview-of-disorders-of-potassium-concentration> [Citace: 14. 10. 2019]
15. Babička, L.: *Nutričně významné látky v potravinách*. [Online] Dostupné z URL: <http://www.ctpp.cz/data/files/upload/Nutricne%20vyzn.%20latky%20v%20potr.pdf> [Citace: 14. 10. 2019]
16. Lewis, J. L. III.: *Overview of Sodium's Role in the Body*. [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/home/hormonal-and-metabolic-disorders/electrolyte-balance/overview-of-sodium-s-role-in-the-body> [Citace: 14. 10. 2019]
17. Lewis, J. L. III.: *Hyponatremia (Low Level of Sodium in the Blood)* [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/home/hormonal-and-metabolic-disorders/electrolyte-balance/hyponatremia-low-level-of-sodium-in-the-blood> [Citace: 14. 10. 2019]
18. Zemědělec Odborný a stavovský týdeník: *Hořčík, často opomíjený prvek ve výživě* [Online]

Dostupné z URL: <https://www.zemedelec.cz/horcik-casto-opomijeny-prvek-ve-vyzive> [Citace: 22. 10. 2019]

19. **Lewis, J. L. III.:** *Overview of Disorders in Magnesium Concentration* [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/professional/endocrine-and-metabolic-disorders/electrolyte-disorders/overview-of-disorders-of-magnesium-concentration> [Citace: 22. 10. 2019]

20. **Lewis, J. L. III.:** *Hypermagnesemia* [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/professional/endocrine-and-metabolic-disorders/electrolyte-disorders/hypermagnesemia> [Citace: 23. 10. 2019]

21. **Lewis, J. L. III.:** *Overview of Disorders of Calcium Concentration* [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/professional/endocrine-and-metabolic-disorders/electrolyte-disorders/overview-of-disorders-of-calcium-concentration> [Citace: 23. 10. 2019]

22. **Kučerová, J.:** *Výživa v prevenci a léčbě osteoporózy. Interní medicína pro praxi 12, 450-453 (2010)*

23. **Lewis, J. L. III.:** *Hypercalcemia* [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/professional/endocrine-and-metabolic-disorders/electrolyte-disorders/hypercalcemia> [Citace: 22. 10. 2019]

24. **Johnson, L. E.:** *Iron* [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/home/disorders-of-nutrition/minerals/iron> [Citace: 25. 10. 2019]

25. **Sedláčková, T.; Racek, J.:** *Metabolismus železa a jeho regulace. Klinická biochemie a metabolismus 17, 17-23 (2009)*

26. **Dunn, L. L.; Rahmanto, Y. S.; Richardson, D. R.:** *Iron uptake and metabolism in the new millennium. Trends in Cell Biology 17, 93-100 (2006)*

27. **Brissot, P.; Bernard, D. G.; Brissot, E.; Loréal, E.; Troadec, M.-B.:** *Rare anemias due to genetic iron metabolism defects. Mutation Research-Reviews in Mutation Research 777, 52-63 (2018)*

28. **Johnson, L. E.:** *Zinc* [Online] Dostupné z URL: <https://www.merckmanuals.com/professional/nutritional-disorders/mineral-deficiency-and-toxicity/zinc> [Citace: 30. 10. 2019]

29. **Vávrová, J.:** *Atomová absorpční spektrometrie* [Online] Dostupné z URL: [http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD\\_DS4/hypertext/JVABL.htm](http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/JVABL.htm) [Citace: 9. 11. 2019]

30. **Beaty, R. D.; Kerber, J. D.:** *Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrometry*. Norwalk, CT, Perkin-Elmer, 1993

31. **Royal Society of Chemistry:** *Atomic Absorption Spectrometry*. [Online] Dostupné z URL: <http://www.liskeard.cornwall.sch.uk/images/Liskeard-Sixth-Form/Atomic-Absorption-Spectrometry.pdf> [Citace: 9. 11. 2019]

32. **Perkin-Elmer:** *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy*. USA, Perkin-Elmer, 1996.

33. **Černohorský, T.; Jandera, P.:** *Atomová spektroskopie*. Pardubice, Univerzita Pardubice, 1997.

34. **Ministerstvo zdravotnictví ČR:** *Český lékopis 2017*. Praha, Grada Publishing, 2017.

35. **Cantle, J. E. (Ed):** *Atomic Absorption Spectrometry. Vol. 5*. Amsterdam, Elsevier, 1982.

36. **Komárek, J.:** *Atomová absorpční spektrometrie*. Brno, Masarykova univerzita v Brně, 2000.

37. **Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod:** *Biologická charakteristika bramboru* [Online] Dostupné z URL: <https://www.vubhb.cz/cs/knihovna/informacni-letaky-a-panely/biologicka-charakteristika-bramboru> [Citace: 1. 2. 2020]

38. **Vyhláška č. 225/2008 Sb.** *kteou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin, Příl. 5, Doporučené denní dávky (DDD) vitaminů a minerálních látek.*

39. **WHO.** *Guideline: Potassium intake for adults and children.* Geneva, World Health Organization (WHO), 2012.