

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zdravotně sociální fakulta

Výskyt rtuti ve vlasech školních dětí jižních Čech

bakalářská práce

Autor práce: Alena Hladíková

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: Ing. Jaroslav Švehla, CSc.

Datum odevzdání práce: 13. 8. 2012

Abstrakt

Výskyt rtuti ve vlasech školních dětí jižních Čech

Cílem práce bylo shrnout současné vědomosti o problematice na téma výskytu rtuti ve vlasech předem stanovených věkových kategorií respondentů a experimentálně zhodnotit zatíženost lidského organismu rtutí. K tomu bylo třeba získat dostatečný počet vzorků vlasů dětí školního věku z vybrané lokality, stanovit celkovou rtuť v těchto vzorcích a zhodnotit dosažené výsledky z hlediska toxické zátěže.

V rámci této bakalářské práce bylo testováno 90 vzorků lidských vlasů a to u devíti různých věkových kategorií, v rozmezí od sedmi do devatenácti let. V každé věkové kategorii bylo 50% vzorků od mužské a 50% vzorků od ženské populace. Dále byl sestaven dotazník, který každá zúčastněná osoba vyplnila. Stanovení celkové rtuti bylo provedeno na jednoúčelovém spektrofotometru AMA-254.

Průměry pro celkovou koncentraci rtuti se pohybovaly hluboko pod povolenými limitními hodnotami. Dokonce i nejvyšší naměřená hodnota rtuti, jež činila 0,38554 mg/kg, byla podlimitní. Ze zkoumaných vlivů faktorů na hladinu rtuti v těle vyšla průkazně závislost koncentrace rtuti na konzumaci sladkovodních ryb, při užití jednocestné ANOVy ($F_{2,87}=5,4364$; $p<0,05$) v programu STATISTICA 7.

Abstract

Occurrence of mercury in the hairs of school children of South Bohemia

The target of the thesis was to summarize the present knowledge to the topic of occurrence of mercury in hairs of the age categories of respondents defined in advance and to evaluate experimentally the load of the human organism by mercury. It was necessary to acquire a sufficient amount of hairs of children of school-age from the selected locality, to determine the total mercury amount in these samples and to evaluate the achieved results from the viewpoint of the toxic load.

Within the bachelor thesis, 90 samples of human hairs of nine various age categories in the range from seven to nineteen years (of respondent age) were tested. In each age category, there were 50% samples of the male and 50% samples of female population. Moreover a questionnaire was made up filled in by each participating person. The determination of the total mercury contents was performed on the one-purpose spectrophotometer AMA-254.

Means for the total mercury concentration moved deeply under the permitted limit values. Even the highest established mercury value which was 0,38554 mg/kg was under the limit. Using the one-way ANOVA ($F_{2,87}=5,4364$; $p<0,05$) in STATISTICA 7 program, it was proved based on the reviewed influence of factors on the level of mercury in the body, that the mercury concentration depends on the consumption rate of the freshwater fish.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích

Podpis.....

Poděkování

Ráda bych tímto poděkovala svému vedoucímu práce Ing. Jaroslavu Švehlovi, CSc. za odborné vedení a poskytnutí informací při psaní mé bakalářské práce a za trpělivost a čas, který mi věnoval.

Dále děkuji Doc. RNDr. Ivě Dostálkové, Ph.D. z Ústavu matematiky a biomatematicky PřF JU a Mgr. Olze Dvořáčkové ze ZSF JU za cenné rady v oblasti statistiky.

Seznam použitých zkratk

AAS - atomová absorpční spektrometrie (Atomic Absorption Spectrometry)

AFS – atomová fluorescenční spektrometrie (Atomic Fluorescence Spectrometry)

AMA-254 - Advanced Mercury Analyser

ANOVA – Analysis of variance

CNS – centrální nervový systém

CV-AAS – atomová absorpční spektrometrie s metodou generovaných studených par rtuti (Cold Vapour – Atomic Fluorescence Spectrometry)

DMA-80 – Direct Mercury Analyser

ET-AAS – atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (Electrothermal – Atomic Absorption Spectrometry)

FAO – organizace pro výživu a zemědělství (Food and Agriculture Organization)

F-AAS – plamenová atomová absorpční spektrometrie (Flame Atomic Absorption Spectrometry)

H_0 – nulová hypotéza, která říká, že mezi soubory není statisticky průkazný žádný rozdíl

Hg – chemická značka rtuti (latinsky hydrargyrum)

$HgCl_2$ – sublimát, chlorid rtuťnatý

Hg_2Cl_2 - – kalomel, chlorid rtuťný

HgS – rumělka, cinabarit

HNO_3 – kyselina dusičná

H_2SO_4 – kyselina sírová

EU – Evropská unie

ICP-OES – optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry)

MeHg – sloučeniny methylrtuti

P – hladina významnosti

Sd – směrodatná odchylka (Standard Deviation)

Sv – počet stupňů volnosti

Tab. – tabulka

T-Hg – celková rtuť

TMA-254 – Trace Mercury Analyser

WHO – světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

Obsah:

Úvod.....	9
1. Současný stav.....	10
1. 1 Základní údaje o rtuti.....	10
1. 1. 1 Výskyt, výroba a použití rtuti.....	10
1. 1. 2 Zdroje úniku rtuti do prostředí.....	11
1. 1. 3 Chemické sloučeniny rtuti.....	12
1. 1. 3 Významné anorganické sloučeniny rtuti.....	12
1. 1. 3. 2 Významné organické sloučeniny rtuti.....	12
1. 2 Toxicita rtuti.....	14
1. 2. 1 Chemické formy rtuti a jejich toxicita.....	14
1. 2. 2 Působení rtuti na člověka.....	15
1. 2. 3 Typy expozice rtuti.....	18
1. 2. 4 Mechanismus toxického působení rtuti.....	18
1. 2. 5 Základní toxické zdroje rtuti s vlivem na lidské zdraví.....	19
1. 3 Vlasy jako bioindikátor obsahu rtuti v organismu.....	23
1. 4 Stanovení celkového obsahu rtuti (T-Hg).....	24
2. Cíle práce a hypotézy.....	26
2. 1 Cíle práce.....	26
2. 2 Hypotézy.....	26
3. Metodika.....	27
3. 1 Charakteristika souboru.....	27
3. 2 Materiál.....	27
3. 3 Vlastní měření - AMA 254.....	28

3. 4 Statistika.....	29
4. Výsledky.....	30
5. Diskuze.....	50
6. Závěr.....	54
7. Seznam použitých zdrojů.....	55
8. Klíčová slova.....	61
9. Přílohy.....	62

Úvod

Rtuť je toxický těžký kov, který se vyskytuje v mnoha fyzikálních a chemických formách.

Lidé svojí činností zvyšují její uvolňování, mobilizaci a distribuci do životního prostředí. Bakterie v jezerech, řekách a oceánech poté přeměňují anorganické formy rtuti na organické (zejména na metylrtuť), které se potom akumulují ve tkáních vodních živočichů a tak vstupují do potravinových řetězců.

Expozice rtuti může způsobit vážné poruchy neurologických a motorických funkcí. Cílovým orgánem nejtoxičtější formy, methylrtuti (MeHg), je mozek, zejména v rané fázi vývoje, kdy je velmi zranitelný, protože schopností MeHg je snadný přechod hematoencefalickou a placentární bariérou. MeHg se distribuuje po celém těle a hromadí se ve vlasech.

Někteří autoři se obávají, že rtuť používaná jako konzervační látka v některých vakcínách, nebo rtuť ze zubních amalgámových výplní či MeHg obsažená v rybím mase, může mít vliv na mozek dětí, což u některých jedinců může vést k autismu.

Koncentrace rtuti ve vlasech odráží MeHg koncentraci v krvi při tvorbě vlasů a často se používá jako biomarker pro hodnocení MeHg expozice. Výhodou hodnocení rtuti ve vlasech je, že se vlasy sbírají neinvazivně a jejich odběr je bezbolestný, a to ocení hlavně děti. Vlasy jsou dále výhodné pro monitorování a studium, především pro T-Hg (celková rtuť) koncentraci, která odráží průměrnou MeHg koncentraci cirkulující v krvi.

Touto prací jsem zjišťovala, jaké bude zatížení rtutí u dětí ve zvolené lokalitě a na jakých faktorech bude toto zatížení záviset.

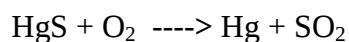
1. Současný stav

1. 1 Základní údaje o rtuti

1. 1. 1 Výskyt, výroba a použití rtuti

Rtuť - latinsky Hydrargyrum (Hg) znali již starověcí Fénicičané, Řekové, Kartáginci i Římané. V periodickém systému prvků patří rtuť do skupiny II B, má atomové číslo 80; relativní atomovou hmotnost 200,6; hustotu $13,6 \text{ g.cm}^{-3}$; bod tání $38,9 \text{ °C}$; bod varu $356,6 \text{ °C}$. Rtuť se vyskytuje v oxidačních stavech 0, +1, +2 (Bencko et al. 1984). Rtuť (v tuhé fázi) netvoří nejtěsněji uspořádané krystalové mřížky typické pro pevné kovy, proto má menší hustotu než obdobné kovy skupiny I B, má proto i výrazně nižší bod tání a nízký bod varu. Kromě toho se rtuť (v tuhé fázi), ve srovnání s kovy skupiny d, vyznačuje malou pevností v tahu (Heslop and Jones 1982). Rtuť je jediný kov, který je při normální teplotě kapalný a kromě vzácných plynů je jediným prvkem, jehož páry jsou téměř výhradně jednoatomové. Veliká tenze par rtuti ($2,53 \text{ Pa}$ při 25 °C) spolu s toxicitou vyžadují značnou opatrnost při práci. Kapalnou rtuť se díky svému, na kov výjimečně vysokému, měrnému elektrickému odporu, začalo používat jako elektrického standardu (Greenwood and Earnshaw 1993). Rtuť se rozpouští pouze v oxidujících kyselinách. S kyslíkem se slučuje dosti pomalu na HgO . Se sírou a halogeny však reaguje snadněji (Heslop and Jones 1982). Dále se například rtuť rozpouští v koncentrované HNO_3 a horké koncentrované H_2SO_4 za vzniku rtuťnatých solí a oxidů dusíku nebo síry. Její slitiny jsou známy jako amalgámy a některé z nich jsou důležitá redukční činidla. Nejsnadněji tvoří amalgámy těžké kovy, lehčí kovy první přechodné řady (s výjimkou manganu a mědi) ty jsou ve rtuti nerozpustné. Proto k uskladnění rtuti mohou být použity železné nádoby (Greenwood and Earnshaw 1993). Zubní amalgám je materiál ze slitiny stříbra, cínu a mědi míchané těsně před aplikací se rtutí v poměru přibližně 1 : 1 (Tuček et al. 2007).

Jedinou důležitou rudou rtuti je romboedrická rumělka HgS, kterou koncentrujeme selektivním promýváním a floatací před její vlastní výrobou. Takto upravená ruda je zahřáta v proudu vzduchu na 900 K:



Rtuť, která při tomto ději odtěkává, nakonec ochlazením kondenzuje (Heslop and Jones 1982). HgS (rumělka, cinabarit) tvoří přibližně 70 % všech rud bohatých na rtuť. Celosvětové zásoby rtuti se odhadují na 200 000 tun, z toho polovina těchto zásob je ve Španělsku. V roce 1973 byla světová produkce rtuti 10 000 tun (Bencko et al. 1984). Je obtížné získat údaje o spotřebě rtuti v průmyslu v různých státech, ale pro představu postačí, že se jedná o tisíce tun ročně, a to jak v EU nebo například v Indii, tak v USA (Strunecká and Patočka 2011).

Produkce rtuti stále klesá. Recyklace dosahuje asi 20 % a stále stoupá. Většina dolů je zakonzervována, těží jen občas a následně pak několik let prodávají produkci. Asi 20 % výroby Hg je vedlejším produktem při hutnění jiných rud (Holub 1999). Z celkové roční produkce rtuti se asi 25 % zpracuje na výrobu elektrod, 20 % na výrobu elektrických zařízení dalších 20 % tvoří využití v papírenském průmyslu, pro vojenské účely, ve farmaceutickém průmyslu apod., 15 % na výrobu barviv, 10 % na výrobu měřících a kontrolních zařízení, 5 % v zemědělství, 3 % v zubním lékařství a 2 % v laboratořích (Bencko et al. 1984).

1. 1. 2 Zdroje úniku rtuti do prostředí

Antropogenní emise rtuti jsou velmi znepokojující ohledně životního prostředí, protože Hg je vysoce toxická, perzistentní a bioakumulativní. Hlavními zdroji těchto emisí jsou výfukové plyny vypouštěné z uhelných elektráren a průmyslových tuhých odpadů ve spalovnách (Byun et al. 2011). Mezi další antropogenní zdroje patří např. výroba chloru, skládky, odpady z chemického průmyslu a kremace (Houserová et al.

2006). Bakterie v jezerech, řekách a oceánech přeměňují uvolněnou elementární rtuť na organické sloučeniny (zejména methylrtuť) a ta se dále akumuluje ve tkáních vodních živočichů, tímto způsobem vstupuje do potravinových řetězců. Dále například v USA zubaři uvolní ročně ze svých ordinací na 4 tuny rtuti do vodovodní vody (Strunecká and Patočka 2011).

1. 1. 3 Chemické sloučeniny rtuti

1. 1. 3. 1 Významné anorganické sloučeniny rtuti

Můžeme se setkat se dvěma řadami anorganických sloučenin rtuti: Hg^{1+} a Hg^{2+} , které se mezi sebou liší svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Hg^{1+} svým chemickým chováním připomínají stříbrné soli a Hg^{2+} svým chemickým chováním připomínají soli měďnaté.

Chlorid rtuťný - nejznámější rtuťnou sloučeninou je chlorid rtuťný (Hg_2Cl_2 , kalomel) je poměrně málo rozpustný ve vodě, a proto je méně toxický než jiné ve vodě rozpustné sloučeniny rtuti. V minulosti byl používán jako projímadlo a například v elektrochemii je kalomelová elektroda nejpoužívanější referenční elektrodou (Greenwood and Earnshaw 1993).

Chlorid rtuťnatý - významnou sloučeninou Hg^{2+} je chlorid rtuťnatý (HgCl_2 , sublimát) je ve vodě velmi dobře rozpustná sloučenina. Jedná se o prudký jed, který v minulosti byl používán k moření obilí a také byl součástí jedů na hlodavce. Díky tomu došlo k mnoha tragickým omylům. Někdy se takto ošetřené obilí nedopatřením dalo na zkrmení zvířatům a nebo se semlelo a pak sloužilo ke konzumaci (Jursík 2002).

1. 1. 3. 2 Významné organické sloučeniny rtuti

Organokovové sloučeniny rtuti obsahují jeden nebo dva uhlíkové zbytky navázané na atom kovu a vytváří tak sloučeniny typu RhgX nebo RhgR' , kde R a R' představují uhlovodíkové zbytky, kterými jsou nejčastěji CH_3^- , C_2H_5^- , C_6H_5^- . A X anion nejčastěji halogenid, dusičnan, sulfid nebo síran. Tyto sloučeniny rtuti jsou často vytvářeny v životním prostředí z anorganických forem rtuti mechanismem

neenzymatického přenosu, methylové skupiny z methylkobalaminu (CH_3B_{12}) na Hg^{2+} . Organické sloučeniny rtuti mají vysokou bioakumulační schopnost, a to díky své lipofilní povaze, která jim umožňuje snadný průnik biologickými membránami (Houserová et al. 2006).

Methylrtuť – termín methylrtuť je obecně používán v souvislosti se sloučeninami kationu monomethylrtuti (CH_3Hg^+). Kation methylrtuti ve volné formě existuje pouze několik minut, poté dochází k asociaci nejčastěji s jednoduchými ionty (Cl^-), podstatně méně již s velkými molekulami, např. s proteiny (Maršálek 2006). Methylrtuť je v podstatě nejběžnější organická forma vyskytující se v biologických systémech. Je rozpustná ve vodě a poměrně stabilní díky kovalentní vazbě mezi uhlíkem a rtutí. Má dlouhý biologický poločas vyloučení, až 70 dní (Tuhovčáková 2008). Methylrtuť je rozpustná ve vodě i v tucích, a proto zůstává ve vodním prostředí, odkud velice snadno přechází do rybí tkáně (Kafka and Punčochářová 2002). Methylrtuť se hromadí ve vodním potravinovém řetězci, její koncentrace jsou nejvyšší u dravých ryb (Montuori et al. 2007).

Ethylrtuť – ($\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$) je značně těkavá specíe organické rtuti (Tuček 2006).

1. 2 Toxicita rtuti

1. 2. 1 Chemické formy rtuti a jejich toxicita

Rtuť (společně s arzenem, kadmíem a olovem) patří mezi prvky toxické, jejichž biologický význam je v současnosti omezován na jejich toxické vlastnosti při relativně nízkých koncentracích (Bencko et al. 1984). Tyto kovy jsou všudypřítomné. Vyskytují se jako sloučeniny iontů a komplexů a jsou i v relativní míře zastoupeny v antroposféře v různých formách. Odtud mohou být extrahována a zpracovávána nejen pro průmyslové použití a poté se opět uvolňují do životního prostředí (Merian et al. 1991). Rtuť existuje v několika fyzikálně chemických formách. Rizikovost rtuti a jejích sloučenin je rozdílná. Do organismu se dostává zažívacím nebo dýchacím traktem, možné je i kožní resorpcí (Urban 2006). Toxické účinky rtuti závisí na množství zkonsumované potravy, obsahu rtuti v potravě a tělesné hmotnosti příjemce. Expozice sloučeninami rtuti se u lidí projevuje imunologickými, neurologickými, reprodukčními, vývojovými, genotoxickými a karcinogenními účinky a mohou končit i smrtí. Inhalační expozice nastává především elementární rtuť. Kapalná rtuť je špatně absorbována kůží a zažívacími orgány, ale její páry jsou snadno absorbovány plicemi. K typické inhalační expozici dochází u stomatologů při odvrtávání starých amalgámových plomb, ale i v okolí krematorií. Při orální expozici závisí toxické účinky především na chemické formě rtuti. Málo rozpustné chemické sloučeniny rtuti (sloučeniny jednomocné rtuti) jsou méně toxické. Názory autorů na biodostupnost rtuti z potravy se různí. Příkladem může být to, že u člověka je při trávení potravy v žaludku uvolněno přibližně 9-20% rtuti a dále ve střevech dalších 9-17%. Dále například po orální expozici dokladují vysoký stupeň absorpce methylrtuti (až 95%) ve srovnání s anorganickou (cca 7%) (Houserová et al. 2006). Rtuť se vyznačuje velmi silnou afinitou k síře. Proto se pevně váže na thiolové skupiny bílkovin včetně enzymů, a negativně tak ovlivňuje jejich funkčnost. Rovněž se váže na sérový albumin a hemoglobin, a tím poškozuje krevní buňky (Kafka and Punčochářová 2002). Obecně toxicita stoupá od nejméně toxických anorganických forem rtuti, přes páry elementární rtuti až k nejtoxičtějším organickým

formám rtuti (Janoušková 2002). Vylučování rtuti je velmi pomalé, nepravidelné a trvá řadu měsíců až let po skončení expozice. Eliminace rtuti po expozici parám kovové rtuti se uskutečňuje exkrecí Hg^{2+} (močí, stolicí, slinnými, slznými a potními žlázami). Hg^0 perzistující v krvi může být vyloučena přímo do moče glomerulární filtrací. Přítomnost Hg^0 je vztahována k expozici vysokým koncentracím par rtuti. Určitý podíl rtuti se nevratně ukládá ve vlasech a nehtech, více jak 80% je ve vlasech uloženo ve formě methylrtuti (Tuček 2006). Zvýšené množství rtuti vede k výraznému snížení množství stopových prvků (Mg a Se). Snížení množství těchto stopových prvků a zvýšení hladiny toxické rtuti jsou faktory, které poukazují na problém u dětí s autismem (Priya and Geetha 2011). V jedné studii zaznamenali výrazně vyšší hladinu rtuti v krvi plodu ve srovnání s krví matky, a bylo zjištěno, že značné množství rtuti bylo zadrženo placentou (Gundacker et al. 2010). Dále např. rtuť vyvolává mitochondriální dysfunkce se snížením adenosintrifosfátu a zvýšením peroxidace lipidů. Celkové cévní účinky rtuti zvyšují oxidační stres, vedou k zánětům, způsobují trombózu a jiné (Houston 2011).

1. 2. 2 Působení rtuti na člověka

Elementární rtuť je ve vodě nerozpustná a v trávicím ústrojí se prakticky nevstřebává, je často vyloučena bez dopadu na organismus. Jedná se o nejméně toxickou formu rtuti. Nebezpečí spočívá v možnosti převedení kovové rtuti methanogenními bakteriemi na velmi toxickou methylrtuť (Kafka and Punčochářová 2002). Cílovými orgány elementární rtuti jsou ledviny a CNS (Houserová et al. 2006).

Páry elementární rtuti jsou po vdechnutí rychle absorbovány do krevního oběhu, kterým jsou dopraveny do cílového orgánu, mozku. Mírné expozice způsobují poškození CNS, které může vyvolat únavu, podrážděnost, nespavost, poruchy jemné motoriky včetně třesu končetin a poruchy paměti. Silné expozice mohou mít až smrtící účinek následkem závažného poškození plic (Kafka and Punčochářová 2006). Páry kovové rtuti jsou dobře rozpustné v tucích, pronikají membránami těla a jsou snadno absorbovány (Tuček 2006).

Anorganické sloučeniny rtuti se akumulují v ledvinách a v buňkách mukózních membrán gastrointestinálního traktu (Houserová et al. 2006). Jsou mírně toxické, přičemž sloučeniny jednomocné rtuti (rtuťné) jsou obecně méně škodlivé než sloučeniny rtuti dvojmocné (rtuťnaté), především z důvodu jejich menší rozpustnosti ve vodě i v kyselém prostředí. Zvláště vnímavé jsou vůči účinkům rtuti děti, podobně jako v případě olova. Právě u dětí mohou být rtuťné sloučeniny příčinou tzv. růžové nemoci. Jde o hypersenzitivní reakci na tento typ látek způsobující hypersekreci potních žláz, světloplachost, horečku, charakteristicky zbarvenou vyrážku (odtud název nemoci), otoky prstů, zduření mizních a slezinných uzlin a rohovatění s následným olupáním pokožky. Anorganické sloučeniny rtuti mohou poškozovat rovněž ledviny. Pomocí mikroorganismů je lze převést na toxičtější organické sloučeniny rtuti (Kafka and Punčochářová 2002). Některé studie zjistily, že hladina anorganické rtuti v mozkové tkáni u pacientů s Alzheimerovou chorobou je zvýšená a u mnoha osob, které byly vystaveny zvýšené expozici anorganické rtuti, se vyskytují významné paměťové deficity (Mutter et al. 2010).

Organické sloučeniny rtuti na rozdíl od anorganických sloučenin rtuti, pronikají snadno bariérami krev-mozek a placentou. Ukládají se v ledvinách a vlasech. Jsou přibližně 10x toxičtější než anorganické formy rtuti. Působí především na CNS a při vyšších dávkách i na periferní nervový systém. Nejvnímavějším obdobím lidského života vůči expozici MeHg je prenatální období (1971) (Houserová et al. 2006). K masovým otravám obyvatel rtutí došlo po roce 1950 v Japonsku v zátocě Minamata, kde chemička koncernu Chisso vypouštěla do moře odpady, které se nikdo neobtěžoval čistit. Podobná situace nastala po roce 1960 v prefektuře Niigata na řece Aganě. Odpady s vysokým obsahem rtuti kontaminovaly ryby a další mořské živočichy, po jejichž konzumaci docházelo k masovým otravám zvířat i lidí. Kočky, psi, krávy i lidé umírali dalších třicet let. K počátku roku 2001 se uvádělo 2265 obětí. Nejrozsáhlejší otravy rtutí jsou spojovány s kontaminovanou potravou – vedle velryb a mořských produktů to bylo také rtutí namořené zrní k setbě, které chudí obyvatelé v Iráku, Pákistánu, Guatemale a Ghaně použili i přes varování k výrobě mouky a k pečení chleba. V těchto oblastech bylo pozorováno rozsáhlé poškození novorozenců a kojenců, které se narodily matkám,

jež samy neměly žádné symptomy otravy rtuť. Novorozenci měli devastující neurologická poškození, vyskytovala se u nich slepota, hluchota a poškození mozku. Kojenci měli rovněž abnormální neurologické poruchy v podobě opožděného vývoje motoriky a narušených reflexů (Strunecká and Patočka 2011).

Methylrtuť patří mezi nejnebezpečnější sloučeniny rtuť a vzniká z anorganických sloučenin působením methanogenních bakterií v anaerobním prostředí, např. sedimentech sladkých a slaných vod. Toxicita methylrtuti vyplívá především z její schopnosti měnit vlastnosti dvou z nejprísnejších ochranných bariér v lidském organismu – plodovou placentu a hematoencefalickou bariéru mezi krví a mozkem. Z tohoto důvodu patří methylrtuť mezi embryotoxické a mutagenní látky, a je tudíž nebezpečná zejména pro těhotné ženy, protože může vyvolat poškození plodu nebo dokonce spontánní potrat (Kafka and Punčochářová 2002). Výzkumy prokázaly, že již po dvoudenním působení methylrtuti na mateřský organismus, byla nalezena koncentrace rtuť v mozkových polokoulích plodu dvakrát vyšší než u samotné matky a dokonce čtyřikrát byla vyšší ve fetálním mozečku plodu než u matky. Z toho vyplívá, že plod může být intoxikací vážně poškozen, aniž by mateřský organismus jevil známky otravy (Cibulka et al. 1986). Pro malé děti je rovněž toxická. Vyvolává u nich především smyslové poruchy až úplné selhání některých funkcí (hluchota, slepota, ztráta chuti). U dospělé populace pak může způsobit třes těla (Kafka and Punčochářová 2002). Sloučeniny methylrtuti se vstřebávají plicemi, gastrointestinálním traktem i kůží (masti). Absorbovaná methylrtuť je vázána na sulfhydrylové skupiny bílkovin nebo, v menší míře, aminokyselin či peptidů (cystein, glutation). V krvi je methylrtuť kumulována z více než 90% v červených krvinkách a je pomalu distribuována do tkání organismu. Hlavní cesty eliminace methylrtuti jsou játry (žlučí) a ledvinami (močí) (Tuček 2006). Zvýšené riziko srdečního onemocnění bylo zjištěno u mužů z Finska, kde jejich vlasy obsahovaly zvýšené množství methylrtutě. Expozice byla především následkem časté konzumace ryb. Je zde i vyšší riziko infarktu myokardu (Choi et al. 2009).

Dimethylrtuť je jedním z nejsilnějších známých neurotoxinů. Je extrémně nebezpečná, absorpce velice nízké dávky může být smrtelná. Velice snadno prostupuje hematoencefalickou bariérou, pravděpodobně díky tvorbě komplexů s cysteinem. Z organismu se odstraňuje velmi pomalu a proto má tendenci k bioakumulaci. Naštěstí hladiny dimethylrtuti jsou v prostředí velmi nízké a to díky její značné těkavosti (Kubáň et al. 2009). Methylrtuť, která je obsažena např. v rybím mase, je méně toxická než dimethylrtuť a je zhruba milionkrát více zředěná (Nuttall 2006).

Ethylrtuť má podobné toxické účinky jako methylrtuť, napadá ledviny, CNS a imunitní systém (Tuhovčáková 2008). Při akutní intoxikaci ethylrtutí je její biologický poločas vyloučení v krvi relativně krátký, 7-10 dní. Proto je hromadění ethylrtuti v organismu velmi malé. Důležité je, že ethylrtuťnatý kationt nevytváří komplexy strukturně podobné metioninu, a tudíž nedochází k jeho aktivnímu transportu přes hematoencefalickou bariéru jako je tomu u methylrtuti (Urban 2006).

1. 2. 3 Typy expozice rtuti

Typ expozice je dalším rozhodujícím faktorem o obrazu toxického působení. Ten souvisí s tím, jakou cestou chemická látka vstoupila do organismu, jak velká dávka látky byla přijata a jaký byl expoziční scénář. Různé typy expozice téže chemické látky mohou vést k odlišným klinickým důsledkům. Hlavní problém neurotoxicky rtuti v dnešní době nepředstavuje expozice vysokým koncentracím rtuti, ale spíše dlouhodobá expozice nízkým koncentracím této látky z životního prostředí. K nejdůležitějším zdrojům této expozice patří (1) páry rtuti ze zubního amalgámu, (2) methylrtuť z ryb a (3) thimerosal z vakcín. Zvláštností je, že všechna zmíněná užití mají svůj dobrý důvod a znamenají i zdravotní přínos. Jejich omezení by sice snížilo expozici rtuti, ale mohlo by být spojeno se zdravotními riziky závažnějšími než představuje potencionální riziko rtuti. Proto je třeba uvážlivě vyvažovat poměr rizika a přínosu zamýšlených preventivních opatření (Urban 2006).

1. 2. 4 Mechanismus toxického působení rtuti

Tento mechanismus spočívá převážně ve vazbě rtuťnatého kationtu na SH-skupiny (sulfhydrylové, thiolové skupiny) bílkovin. Díky této reakci dojde ke změně propustnosti buněčných membrán a k poškození nitrobuněčných enzymů, kationty rtuti tedy působí jako enzymový jed, protože již v malých koncentracích inhibují některé enzymové reakce tím, že se navážou na aktivní místo enzymu (Cibulka et al. 1986).

Rtuť se váže na sérový albumin a hemoglobin, a tím poškozují krevní buňky. Vazba rtuti na buněčné membrány může inhibovat aktivní transport živin, zejména cukrů, membránami a tím zvyšovat propustnost pro draslík. Následkem nedostatečného transportu cukru do mozkových buněk, může dojít k energetickému deficitu v těchto buňkách. Zvýšená propustnost membrán pro draslík způsobuje poruchy přenosů nervových impulsů z mozku (Kafka and Punčochářová 2002).

1. 2. 5 Základní toxické zdroje rtuti s vlivem na lidské zdraví

Zubní lékařství: Amalgám rtuti se používá v zubním lékařství v širokém měřítku již více než 150 let. Odhaduje se, že na výrobu zubního amalgámu se spotřebují asi 3% celkové světové produkce rtuti (Urban 2006). Zubní amalgám je materiál ze slitiny stříbra, cínu a mědi míchané těsně před aplikací se rtutí v poměru 1:1. Průměrný denní příjem elementární rtuti ze zubních amalgámových výplní se odhaduje od 3 do 17 µg/den v závislosti na počtu výplní (Tuček et al. 2007). Tolerovatelný příjem rtuti se podle WHO pohybuje kolem 40 µg Hg za den (Urban 2006). Podle stanovení Německé toxikologické a farmakologické společnosti představuje rtuť ze zubního amalgámu kolem 47 % denní zátěže organismu rtutí, v jiných evropských zemích odhadují, že je to 50-60 % denního příjmu. Zajímavé je i zjištění, že žvýkání žvýkačky po dobu 10-30 minut zvyšuje množství par rtuti v ústech až šestkrát. Lidé s amalgámovými výplněmi mají až 12krát větší hladinu rtuti v krvi v porovnání s lidmi bez takovýchto výplní. Bohužel se rtuť ze zubních výplní matek objevuje v těhotenství v plodové vodě i v mateřském mléce (Strunecká and Patočka 2011). Proto manipulace se zubní amalgámovou výplní nebyla doporučena u těhotných žen (Tuček et al. 2007).

Výzkumy ohledně expozice rtuti ze zubního amalgámu a jeho účinky na imunitní a renální systém, na ústní a střevní bakterie, reprodukční systém a CNS probíhají již desetiletí (Al-Saleh et al. 2011). Hlavním argumentem proti amalgámům je rtuť uvolňovaná z výplní v průběhu expozice. Profesionální expozice rtuti při zpracování amalgámu u stomatologických pracovníků bylo věnováno mnoho prací. V úvahu přichází inhalační, případně perkutánní expozice rtuti při odstraňování starých amalgámových výplní a to při jejich přípravě, aplikaci a broušení. Sledování expozice stomatologů a sester v tuzemsku přineslo vcelku jednoznačný závěr o vyšší expozici u stomatologů než u sester, z důvodu stomatologického úkonu z hlediska expozice, tj. odstraňování amalgámové vložky odvrtáváním resp. broušením. Nástupem nové techniky došlo v tomto ohledu ke zlepšení z hlediska expozice rtuti. (Tuček et al. 2007). V jedné studii ve Skotsku bylo zjištěno, že výsledky naměřené u stomatologů a

ostatního personálu, se během 35 let snížily a že mužská část zaměstnanců měla vyšší koncentraci rtuti než ženská část (Jokstad 2011).

V současnosti jsme svědky základní změny v posuzování potencionálních rizik spojených s expozicí rtutí ze zubního amalgámu zejména pro pacienta. Jedná se především o škodlivé účinky amalgámu na ledviny a neuropsychologické účinky u dětí (Tuček et al. 2007). Jedním z negativních působení rtuti na organismus je její nefrotoxicita, kde hlavním zdrojem jsou právě expozice rtuti ze zubní amalgámové výplně. Byly zaznamenány účinky na markery glomerulární a tubulární funkce ledvin tak, že docházelo ke zvýšenému vylučování albuminu močí (Barregard et al. 2008).

Ve vztahu k expozici rtuti byly popsány glomerulopatie a autoimunitní onemocnění. Alergická reakce I. typu na rtuť je velmi vzácná a byla popsána ojediněle. Hypersenzitivní reakce na rtuť popisované většinou jako reakce IV. typu (oddálený typ přecitlivělosti) se vyznačují celkovými příznaky, vyrážkou na tváři, krku a ve flexních rýhách končetin několik hodin po kontaktu s alergenem. Má se za to, že přecitlivělost na rtuť je poměrně vzácná a objevuje se u 1-4 % obecné populace a je zprostředkována T-lymfocyty (Tuček et al. 2007). Rtuť ze zubního amalgámu se uvolňuje do slin, zubní dřeně a dásní, kudy se dostává do krve a tak cirkuluje v celém organismu (Reichl et al. 2006). Je tedy potřeba zvažovat nezbytnost aplikace amalgámových výplní přes jejich nesporné výhody (cena a vlastnosti, zejména zvětšování objemu při tuhnutí) při stomatologických ošetřeních zejména u nervově nemocných, u osob s onemocněním ledvin, u těhotných žen a u žen zvažujících těhotenství (Tuček et al. 2007).

Methylrtuť z ryb: Rtuť je jediný kov, který je schopen bioakumulace do všech úrovní potravního řetězce. Z tohoto důvodu kontaminace ryb rtutí způsobovala značné obavy o lidské zdraví. MeHg (methylrtuť) se bioakumuluje v potravním řetězci od nejnižších trofických úrovní výše, tedy od bakterií, přes plankton, bezobratlé, herbivorní a piscivorní ryby až k piscivorním ptákům a člověku. Každý krok má za následek zvýšení koncentrace MeHg, která tak může být na konci trofické úrovně mnohonásobně vyšší než její původní koncentrace ve vodě (Maggi et al. 2009).

Ryby mají velký význam pro výživu člověka. Jsou významným zdrojem nenasyčených mastných kyselin skupiny omega-3, kvalitních živočišných bílkovin, vitamínů A, D a stopových prvků F, Se, I. Vzhledem k tomu, že Česká republika není přímořský stát, tak spotřeba rybiho masa je ve srovnání s přímořskými státy malá. Podle zjištění Českého statistického úřadu byla v roce 2008 spotřeba rybiho masa v ČR 5,9 kg na obyvatele. V České republice byla zjištěna koncentrace rtuti u kapra 0,01 mg/kg (Velíšek 1999). Vzhledem k tomu, že kapr je u nás nejvíce chovaným druhem ryby,

nepředstavuje jeho konzumace zvýšené riziko pro obyvatelstvo. Je známo, že mořské ryby v sobě kumulují větší množství sloučenin rtuti. V mase ryb žijících ve vodách kontaminovaných rtutí dosahují koncentrace MeHg hodnot vyšších než 10 mg/kg (Bencko et al. 1995). Sledování provedená ve Finsku, v oblasti neohrožené znečištěním rtutí ukázala tyto hodnoty – bezobratlí 0,03 mg/kg, ryby živící se bezobratlými 0,1 mg/kg, dravé ryby 0,29 mg/kg a svalstvo ptáků živících se rybami 2,0 i více mg/kg rtuti. Pokud jde o vztah mezi obsahem rtuti v rybách a stupněm zatžení povrchových vod je možno uvést příklad skandinávských jezer, tato jezera byla silně znečištěna rtutí z výroby alkalických hydroxidů a plastů. Obsah rtuti v rybách z těchto jezer je vysoký, např. u štika byla hodnota až 10 mg/kg svaloviny. Tato závislost je zřejmá i ze srovnání dvou lokalit různě zatížených rtutí na území České republiky. Obsah rtuti ve svalovině ryb odlovených z Račího potoka (přítok Vltavy) nezatíženého rtutí se pohyboval v rozmezí 0,005 – 0,02 mg/kg, u ryb z řeky Reslavy (přítok Ohře) a u ryb odlovených z nádrže Skalka na Ohři byly zjištěny enormně vysoké hodnoty obsahu celkové rtuti ve svalovině a to 1,17 – 8,04 mg/kg. Řeka Reslava a následně řeka Ohře a nádrž Skalka, byly po mnoho let znečišťovány odpadními vodami z továrny na území Spolkové republiky Německo, zabývající se výrobou technických chemikálií a přípravků na bázi rtuti (Cibulka et al. 1991). Jiná studie v České republice zjišťovala obsah rtuti ve svalovině ryb na řece Bílině (přítok Labe). Pomocí atomové absorpční spektrometrie na přístroji AMA 254 byly zjištěny hodnoty rtuti - nejvyšší 0,027 mg/kg a nejnižší 0,008 mg/kg (Kruzikova and Svobodova 2012). Francouzský úřad bezpečnosti potravin (AFSSA) provedl celkovou studii potravin. Při analýze vzorků potravin byla zjištěna nejvyšší koncentrace rtuti v potravinářské skupině “ ryby a rybí výrobky “ 0.045 mg/kg (Millour et al. 2011).

V důsledku nových vědeckých poznatků o riziku rtuti (především organortuťnatých sloučenin), FAO/WHO zpřísnily v roce 2003 přípustnou hodnotu týdenního příjmu Hg z 3,3 µg/kg lidské váhy na 1,6 µg/kg. Mezi obecná doporučení patří omezit konzumaci predátorů rybí potravy, měnit druhy ryb v jídelníčku, omezit konzumaci ryb dětmi a těhotnými ženami (Kubecová and Švehla 2008). Zvýšený příjem ryb vede ke zvýšení celkové rtuti (T-Hg) a i methylrtuťi (MeHg). Jak se v jedné studii prokázalo, výskyt rtuti u dětí, které jedly ryby (nebo jejich matky, v případě novorozenců) byl až třikrát vyšší než u dětí, které ryby nejedí a nebo velice málo (Diez et al. 2009). Ve vlasech finských mužů, kteří měli onemocnění srdečního původu (zvýšené riziko infarktu myokardu), byla zjištěna zvýšená koncentrace rtuti. Jejich zvýšená MeHg expozice byla především následkem časté konzumace ryb (Choi et al. 2009).

Častá konzumace ryb a zubní amalgámové výplně jsou nejdůležitější zdroje pro expozice rtuti. Vliv počtu amalgámových plomb a konzumace ryb má vliv na obsah

rtuti ve vlasech těhotných žen, kdy nejvíce rtuti měly ve vlasech ženy, které konzumovaly ryby několikrát týdně. V důsledku toho většina jejich potomků byla již prenatalně vystavena mírně vysoké dávce rtuti (Salehi et al. 2010). Mateřská expozice MeHg může nepříznivě ovlivnit nervový vývoj plodu (Schoeman et al. 2010).

Thimerosal ve vakcínách: Thimerosal je antiseptická látka obsahující rtuť. Výrobci amerických vakcín uváděli, že jedna dávka vakcíny proti chřipce, ve které byl thimerosal, obsahuje 25 µg rtuti v jedné dávce. Jestliže jsou dětem doporučovány dvě dávky a jestliže je podle WHO bezpečná denní dávka 0,1 µg na kg hmotnosti na den, pak by toto množství bylo bezpečné pro osoby o hmotnosti vyšší než 250 kg. U šestiměsíčních dětí o váze 5-6 kg překračuje bezpečnou denní dávku 50x, u dětí o hmotnosti 10 kg je dávka 25x vyšší, u školní mládeže o váze cca 50 kg stále ještě překračuje bezpečnou denní dávku 5x. Rtuť ve vakcínách potlačuje imunitu (Strunecká and Patočka 2011).

Někteří autoři mají obavy, že rtuť na bázi konzervační látky ve vakcínách, může mít vliv na mozek dětí, což může u některých jedinců vést k autismu (Wright et al. 2012). Výskyt autismu se zvýšil přibližně čtyřikrát v průběhu téměř deseti let v Kalifornii. Jednou z potencionálních příčin by mohla být, podle výzkumu, rtuť obsažená ve vakcínách (Zhang and Wheeler 2010). Další z mnoha studií prokázala významné zvýšení toxické ethylrtuti ve vlasech a nehtech autistických dětí. Tato skupina byla porovnávána s kontrolní skupinou zdravých dětí (Priya and Geetha 2011).

Pod tlakem veřejnosti byli výrobci nuceni obsah thimersalu ve vakcínách snižovat, takže se již i v USA objevují vakcíny bez obsahu rtuti, avšak vícedávkové vakcíny stále obsahují 25 µg rtuti v 0,5 ml jedné dávky (Strunecká and Patočka 2011).

1. 3 Vlasy jako bioindikátor obsahu rtuti v organismu

Fyziologie vlasů: To, co běžně nazýváme vlasy, jsou vlasové stvoly, které volně vyčnívají z pokožky. Vlas je volně zapuštěn do vklesliny pokožky, nazývané vlasový folikul. Část vlasu v pokožce je vlasový kořínek, který zduřuje ve vlasovou cibulku. Proti němu prorůstá ze škáry vlasová bradavka, která obsahuje cévy a vlas vyživuje.

Buňky vlasové cibulky okolo vlasové papily jsou nejrychleji se dělící buňky v těle dospělého člověka. Růst a obnova vlasů je dlouhodobý fyziologický proces. V učebnicích se uvádí, že vlas na lidské hlavě může růst až 48 měsíců. Po této době se uzavírá vlasový folikul, vlas se odděluje od vlasové bradavky a v této nerostoucí podobě zůstává na hlavě ještě 4-6 měsíců. Z celkového počtu asi 100 000 vlasů, které jsou na hlavě dvacetiletého člověka, je asi 12 % vlasů ve stadiu nerostoucích starých vlasů (Strunecká and Patočka 2011).

Důvody pro volbu analýzy vlasů: Lidské vlasy představují celou řadu výhod pro biologické monitorování lidí, jako jsou např.: snadné shromažďování, nízké náklady, snadná přeprava a skladování, poskytují informace o krátkodobé a dlouhodobé expozici a časové expozice pomocí analýzy segmentů. Nevýhodami vlasů jsou obtíže při rozlišování mezi vnější a vnitřní expozicí, protože jsou vystaveny životnímu prostředí, a proto může snadno dojít ke kontaminaci. Další nevýhodou může být péče o vlasy, typy vlasů aj. Koncentrace řady prvků je ve vlasech vyšší než např. v krvi nebo moči.

Lidské vlasy se považují za vynikající indikátor methylrtuťnaté expozice (Esteban and Castano 2009). Obsah rtuti ve vlasech má dva primární zdroje. Jedním z nich je krev a druhým jsou exogenní kontaminace. Koncentrace rtuti v krvi určuje jaké množství se uloží do buněk rostoucích na bázi vlasového váčku. Množství uložené rtuti závisí na její formě, ale po uložení do vlasové buňky je již stabilní. Depozice methylrtuti je úměrná koncentraci v krvi, ale o dva řády vyšší. U ethylrtutě jde o jeden řád vyšší, zatímco anorganická rtuť se ukládá velice špatně, pokud vůbec. Většina rtuti uložená ve vlasech je methylrtuť, nicméně, methylrtuť nemusí nutně představovat většinu rtuti ve vlasech, z důvodu kontaminace (Nuttall 2006).

1.4 Stanovení celkového obsahu rtuti (T-Hg)

Pro vlastní stanovení celkového obsahu rtuti ve vzorku se používají různé prvkově specifické detektory. Jako příklad lze uvést atomovou absorpční spektrometrii (AAS), atomovou fluorescenční spektrometrii (AFS), hmotnostní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS), optickou emisní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) apod. Dále se budu věnovat pouze AAS metodě, kterou jsem pro stanovení T-Hg ve vlasech dětí použila.

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) :

Je optická metoda využívající měření absorpce elektromagnetického záření volnými atomy prvků. Při stanovení rtuti je využíváno absorpce záření na rezonanční čáře 253,65 nm (Bencko et al. 1995).

Princip AAS: Podstatou metody je absorpce vhodného elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu. Absorbovat se bude záření, které splňuje podmínku $E_1 - E_0 = h \cdot c / \lambda_1$, kde E_0 je energie základní hladiny a E_1 je energie excitované hladiny. Sleduje se absorbance, která je přímo úměrná koncentraci stanovovaného prvku (Houserová et al. 2006).

Metody AAS: V dnešní době se používá několik variant AAS, které se odlišují technikou provedení a způsobem atomizace stanovovaných prvků. Mezi tyto varianty patří technika generování studených par (CV-AAS), plamenová atomová absorpční spektrometrie (F-AAS), ET-AAS, která využívá elektrotermickou atomizaci prvků a na konec termooxidační metoda (Komárek 2000).

Termooxidační metoda: Pro stanovení rtuti byly vyvinuty speciální analyzátory. Nejdříve TMA-254 (Trace Mercury Analyser) a později AMA-254 (Advanced Mercury Analyser) české výroby firmy Altec (Černohorský and Jandera 1997). Obdobným analyzátozem je DMA-80 (Direct Mercury Analyser) italské výroby (Meggi et al. 2009).

Pro stanovení T-Hg se v České republice používá jednoúčelový atomový absorpční spektrofotometr AMA 254. Přístroj je určen pro přímé stanovení obsahu rtuti v pevných a kapalných vzorcích bez potřeby chemické předpravy vzorku. Tento spektrofotometr využívá principu generování par kovové rtuti s následným zachycením a obohacením na zlatém amalgamátoru. Analyzovaný vzorek, který je umístěn na spalovací lodičce se ve spalovací peci spálí v proudu kyslíku při teplotě 850-900 °C.

Rozkladné procesy hoření procházejí přes katalyzátor, kde jsou zachyceny látky kyselé povahy. Rozkladné produkty jsou vedeny přes amalgamátor, kde je selektivně zachycena rtuť. Po zkoncentrování na amalgamátoru je rtuť vypuzena rychlým ohřevem do tzv. tandemových kyvet, kde je měřena absorbance par rtuti. Absorbance rtuti je měřena při vlnové délce 253,65 nm a mez detekce přístroje je 0,01 ng Hg (Klouda 2003).

2. Cíle práce a hypotézy

2. 1 Cíle práce

- Sestavení literární rešerše na téma výskyt rtuti ve vlasech lidí.
- Získání dostatečného počtu vzorků vlasů školních dětí z vybrané lokality.
- Stanovení celkové rtuti v těchto vzorcích.
- Zhodnocení dosažených výsledků z hlediska toxické zátěže.

2. 2 Hypotézy

Zatížení dětí rtutí ve zvolené lokalitě je nízké a vykazuje závislost na věku a dalších faktorech.

3. Metodika

3.1 Charakteristika souboru

Praktická část bakalářské práce byla vypracována na Jihočeské univerzitě, Zemědělské fakultě, Katedře aplikované chemie. Byla zde provedena analýza celkové rtuti (T-Hg) u 90 dětí ve věku od 7 do 19 let. Z oblasti jižních Čech. Vzorky vlasů byly odebrány u dětí ze dvou škol v Českých Budějovicích. Děti ve věku 7-15 let byly z Církevní základní školy, Rudolfovska 23 a děti ve věku 16-19 let byly z Biskupského gymnázia J. N. Neumanna, Jirsíkova 5.

Odběru vlasů předcházela informovaný souhlas účastníků studie, každá osoba vyjádřila písemný souhlas s odběrem a jeho použitím pro monitoring. U dětí do 15 let byl doložen souhlas rodičů.

Každý účastník vyplnil dotazník (pohlaví, věk, místo bydliště, znečišťující prvek v okolí, konzumní návyky, počet amalgámových plomb, způsob úpravy vlasů aj.) Po vyplnění dotazníku a odběru vzorku bylo každé osobě přiděleno kódové číslo a veškeré výsledky jsou pak uvedeny pod tímto kódem.

Všem účastníkům byly poskytnuty informace o mé práci, tedy informace ke studii o výskytu rtuti ve vlasech dětí, v písemné formě. Každá zkoumaná osoba byla informována po vyhodnocení všech analýz o své hodnotě a obeznámena s průměrnou, minimální a maximální naměřenou hodnotou mých měření na webových stránkách jejich školy.

Informovaný souhlas, dotazník a informace ke studii o výskytu rtuti ve vlasech dětí (Příloha 1).

3.2 Materiál

Odběr vlasů byl prováděn podle doporučení IAEA/WHO ze zadní (temenní) části hlavy (Čejchanová et al. 2008). Množství odebraných vlasů se pohybovalo kolem 0,5 g, aby byl zajištěn dostatek materiálu pro analýzu a případně jejího opakování,

vyžadovala by to situace (chybné měření). Vlasy byly po odběru vloženy do laboratorního polyetylenového sáčku, který byl označen přiděleným číselným kódem. V laboratoři pak byly vlasy vloženy do laboratorních plastových kádinek a zality acetonem na 10 minut. Poté se vlasy třikrát vložily do destilované vody, také vždy na 10 minut a na závěr se opět promyly acetonem. Vlasy byly poté vysušeny zprvu mezi filtračními papíry a následně v sušárně při teplotě 50 °C. Usušené vlasy byly nastříhány na drobné kousky, které se přesně navážily na analytických vahách značky KERN 770. Navážky se pohybovaly kolem 100 mg. Analýza každého vzor proběhla třikrát, a byl stanoven aritmetický průměr (medián) a odchylka od průměru vyjádřená v procentech. Po každé analýze vzorku muselo být provedeno žihání v plameni veškerého náčiní, které přišlo do kontaktu se vzorkem – nůžky, pinzeta a dávkovací lodička z platiny, aby se zabránilo případné kontaminaci vzorku.

3. 3 Vlastní měření – AMA 254

Vlastní měření obsahu rtuti bylo provedeno na jednoúčelovém atomovém absorpčním spektrofotometru AMA 254 (Advanced Mercury Analyser). Je určen pro přímé stanovení obsahu rtuti v pevných a kapalných vzorcích bez potřeby chemické předúpravy. Využitím techniky generování par kovové rtuti s následným zachycením a nabohacením na zlatém amalgamátoru se dosahuje mimořádné vysoké citlivosti stanovení a nezávislosti výsledku na matici vzorku (AMA 254 – návod k obsluze).

Vzorek vlasů o známé hmotnosti byl umístěn na dávkovací lodičku a povelom z řídicího počítače je vnesen do spalovací trubice. Řízeným ohřevem spalovací pece je vzorek vysušen, tento proces trvá po dobu nastavenou v operačním okénku – v tomto případě 10 sekund a poté v proudu kyslíku při teplotě 850-900 °C spálen (120 sekund). Při tomto kroku jsou produkty rozkladu vzorku unášeny proudem kyslíku do druhé části spalovací trubice vyplněné katalyzátorem. Zde dochází k dokončení oxidace a k zachycení oxidů síry a dusíku. Dále jsou produkty rozkladu vzorku vedeny ze spalovací trubice do amalgamátoru, na němž je zachycena rtuť. V poslední fázi (45 sekund) dochází k měření množství rtuti zachycené v amalgamátoru na spektrofotometru. Veškerá data jsou vysílána do řídicího počítače, který je zpracovává a jehož výstupem je již konkrétní hodnota obsahu rtuti udávaná v mg/kg (ppm). Ověření správnosti měření přístroje bylo provedeno na dvou certifikovaných referenčních materiálech (CRM Šalvěj a CRM B. Liver).

3. 4 Statistika

Základní statistické zpracování a vyhodnocení dat bylo provedeno v programu STATISTICA 7 při užití jednocestné ANOVy. Grafy a tabulky byly sestaveny v programu SPSS.

Mezi základní poučky metodologie vědy patří, že shoda dat s hypotézou ještě neznamená, že hypotéza je pravdivá, naproti tomu data odporující hypotéze ukazují na to, že hypotéza pravdivá není. *Hypotézu nelze na základě dat dokázat, hypotézu však lze na základě dat vyvrátit.*

Nulovou hypotézu zamítám, pokud dostanu spořádání dat, které je za předpokladu platnosti nulové hypotézy velmi nepravděpodobné. Co to ale je, velmi nepravděpodobné? Statistika nám k tomu poskytuje následující návod: Zvol si, jak nepravděpodobný výsledek za předpokladu platnosti nulové hypotézy musíš dostat, aby ses rozhodl pro závěr, že nulová hypotéza neplatí. Většinou se rozhoduje pro 5% nebo 1%. Této hodnotě říkáme hladina významnosti testu a značíme ji α . Bývá zvykem ji vyjadřovat desetinným číslem, např. $\alpha=0,05$.

Kritické hodnoty jsou hodnoty, které překročí s pravděpodobností 5%. Jestliže hodnota testového kritéria překročí kritickou hodnotu pro zvolenou hladinu významnosti, zamítni nulovou hypotézu.

Analýza variace: jednoduché třídění *One way ANOVA*

Chceme-li testovat hypotézu H_0 . Máme objekty klasifikované (zařazené do skupin) podle jednoho faktoru, proto se této analýze říká jednocestná analýza variance (*One way ANOVA*). Princip analýza variance můžeme přibližně vysvětlit takto: testujeme nulovou hypotézu, že se střední hodnoty mezi sebou neliší. Protože předpokladem ANOVy je rovnost variancí, můžeme si představit, že za platnosti nulové hypotézy se jedná o několik výběrů z téhož souboru.

4. Výsledky

Provedla jsem stanovení obsahu celkové rtuti (T-Hg) ve vlasech 90 dětí z vybraných škol v Českých Budějovicích, které mají trvalé bydliště přímo v tomto městě a nebo v blízkém okolí. Bylo 9 věkových skupin vždy po deseti dětech a každá tato skupina byla rozdělena na muže a ženy. Všechny zkoumané osoby vyplnily dotazník (Příloha 1), ve kterém bylo zjišťováno, jaké faktory by mohly u daných osob ovlivnit jejich koncentraci celkové rtuti ve vlasech.

Nalezla jsem koncentrace v rozpětí od 0,01745 mg/kg do 0,38554 mg/kg. Aritmetický průměr z naměřených hodnot je 0,12868 mg/kg. Od každého vzorku jsem provedla tři měření, vypočetla vždy jejich aritmetický průměr a určila potom směrodatnou odchylku od tohoto průměru. Směrodatná odchylka od průměru měla průměrnou hodnotu 0,00290. Nejvyšší hodnotou směrodatné odchylky bylo 0,02273.

Nejnižší stanovená hodnota koncentrace rtuti byla 0,01745 mg/kg, směrodatná odchylka měla hodnotu 0,00059. Tento vzorek vlasů byl od ženy, 16 let staré, žije ve městě, v okolí jejího bydliště není žádný zdroj znečištění prostředí, uvádí, že nekonzumuje paštiky a konzervy, občas konzumuje uzeniny a salámy, nekonzumuje sladkovodní ryby a ani mořské, konzumuje houby, nemá žádné amalgámové výplně, má hodně vlasů, používá šampón a i jinou vlasovou kosmetiku, její vlasy jsou rovné a hnědé, je nekuřačka, nepožívá žádné léky a neuvádí žádné zdravotní komplikace.

Nejvyšší stanovená hodnota koncentrace rtuti byla 0,38554 mg/kg, směrodatná odchylka měla hodnotu 0,004727. Tento vzorek vlasů byl od muže, 16 let starého, žije též ve městě, ale již uvádí, že v místě jeho bydliště se nachází znečišťující prvek prostředí, paštiky a konzervy konzumuje občas a salámy a uzeniny často, sladkovodní ryby občas, mořské ryby vícekrát měsíčně, konzumuje houby, nemá žádné amalgámové výplně, má hodně vlasů, používá pouze šampón na vlasy, jeho vlasy jsou hnědé a kudrnaté, nekuřák, neužívá žádné léky a neuvádí žádné zdravotní komplikace.

Zjišťovala jsem, zdali koncentrace rtuti ve vlasech všech 90 dětí bude záviset na těchto faktorech: věku, pohlaví, místě bydliště (vesnice/město), znečišťujícím prvku v okolí, konzumaci paštik a konzerv, konzumaci salámů a uzenin, konzumaci hub, konzumaci sladkovodních ryb, konzumaci mořských ryb, na množství amalgámových plomb, na množství vlasů, na přípravku na vlasy, na barvě vlasů a tvaru vlasů, na kouření, na zdravotních komplikacích a na užívání léků (všech 17 faktorů bylo součástí dotazníku).

Pro každý faktor byla stanovena hladina významnosti $\alpha = 0,05$.

Je-li **p** hodnota menší než předem stanovené α ($p < 0,05$), nulovou hypotézu zamítneme.

Je-li **p** hodnota menší než předem stanovené α ($p > 0,05$), nulovou hypotézu nemůžeme zamítnout.

U faktorů - věk, pohlaví, místo bydliště, znečišťující prvek v okolí, konzumace paštik a konzerv, konzumace salámů a uzenin, konzumace hub, konzumace mořských ryb, množství amalgámových plomb, množství vlasů, přípravky na vlasy, barva vlasů a tvar vlasů, kouření, zdravotní komplikace a užívání léků, vyšla **p** (pravděpodobnost) vyšší než stanovené α ($\alpha = 0.05$).

Tudíž nebyla zamítnuta nulová hypotéza, že koncentrace rtuti nezávisí na těchto faktorech ($p > 0,05$).

Pouze pro jediný faktor – konzumace sladkovodních ryb - byla zamítnuta nulová hypotéza, že koncentrace rtuti nezávisí na konzumaci sladkovodních ryb ($p < 0,05$). Hodnota **p** tedy byla 0,005960.

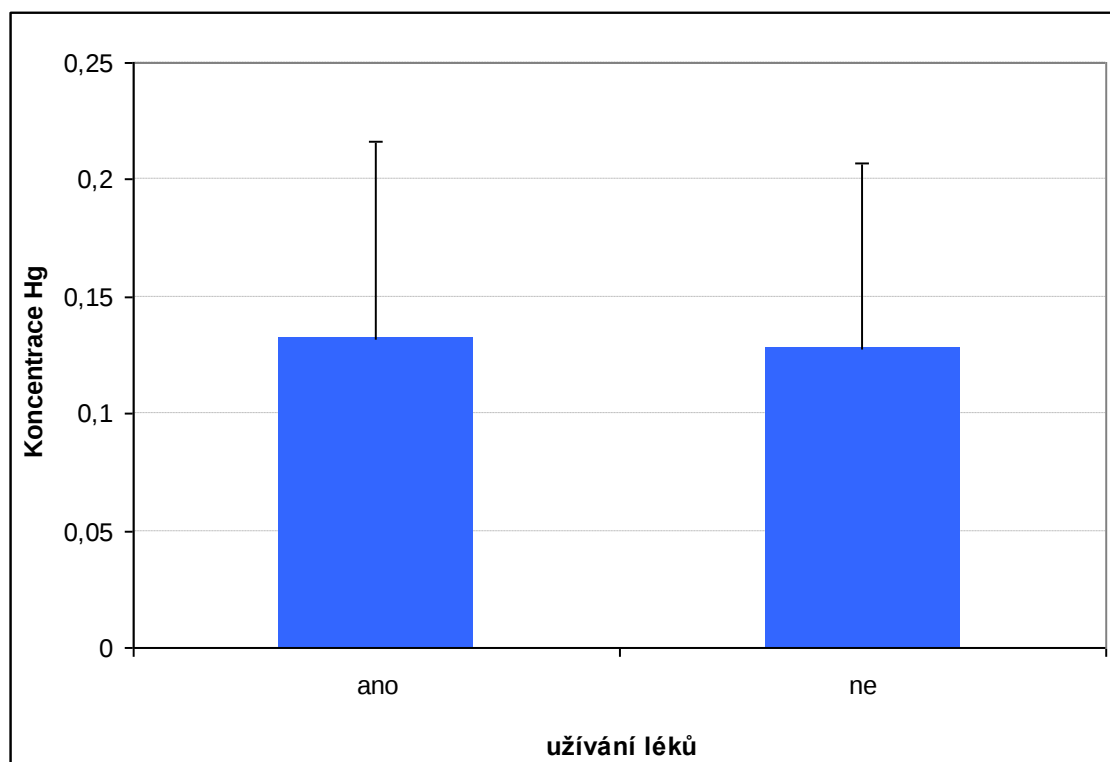
Závislost koncentrace celkové rtuti (T-Hg) ve vlasech dětí na jednotlivých faktorech:

Tabulka 1: Závislost koncentrace T-Hg na užívání léků

užívání léků	Průměr	Sm. odchylka
ano	0,132159	0,0842321
ne	0,127805	0,078923
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,837

Graf 1: Závislost koncentrace T-Hg na užívání léků

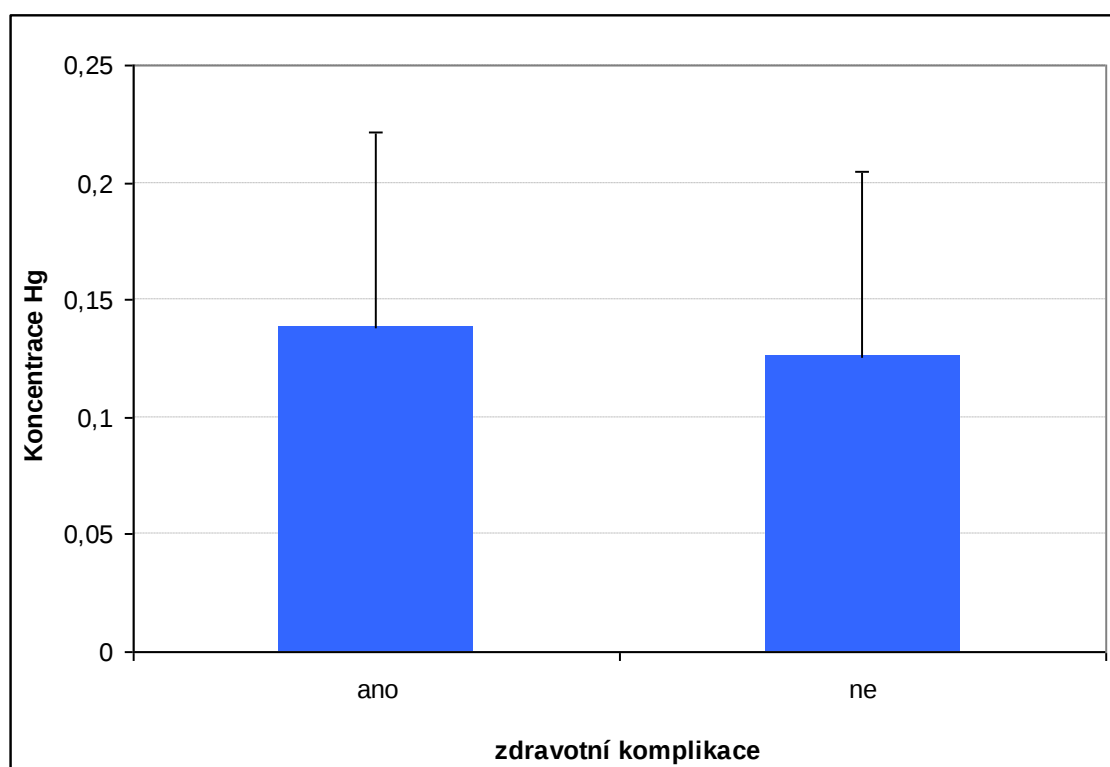


Tabulka 2: Závislost koncentrace T-Hg na zdravotních komplikacích

zdravotní komplikace	Průměr	Sm. odchylka
ano	0,138824	0,082762
ne	0,125587	0,0789009
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,507

Graf 2: Závislost koncentrace T-Hg na zdravotních komplikacích

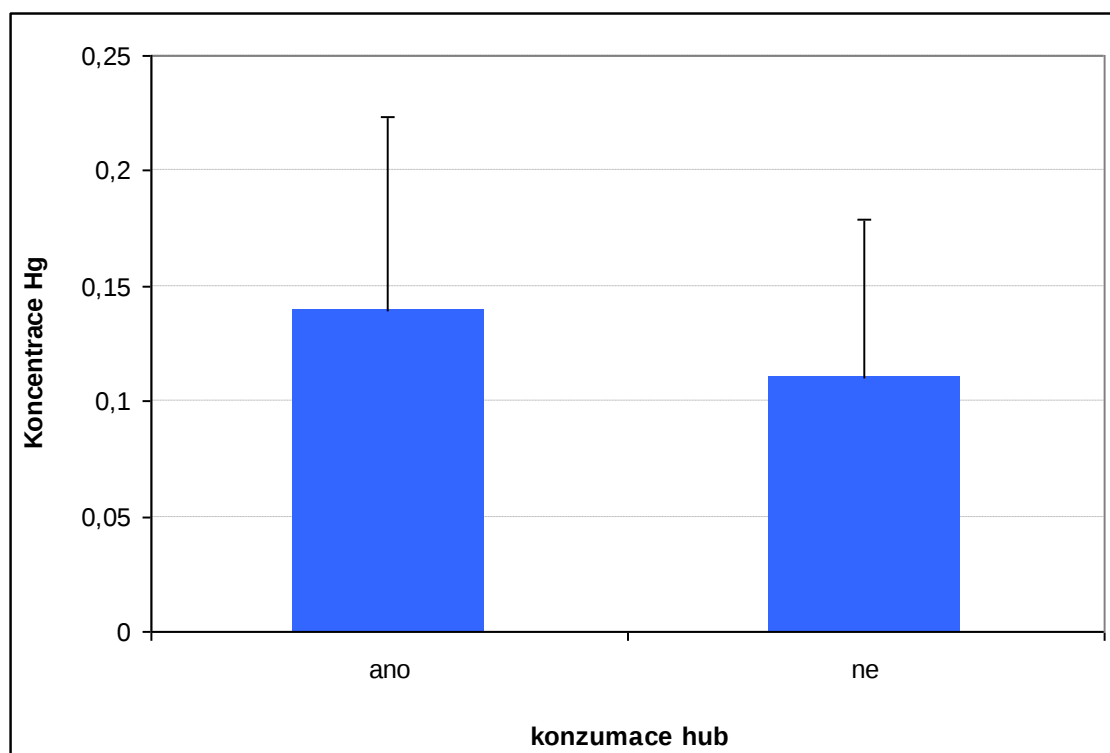


Tabulka 3: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci hub

houby	Průměr	Sm. odchylka
ano	0,139799328	,0840015
ne	0,110354675	,0689095
Celkem	0,128675792	,0795448

*p = 0,089

Graf 3: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci hub

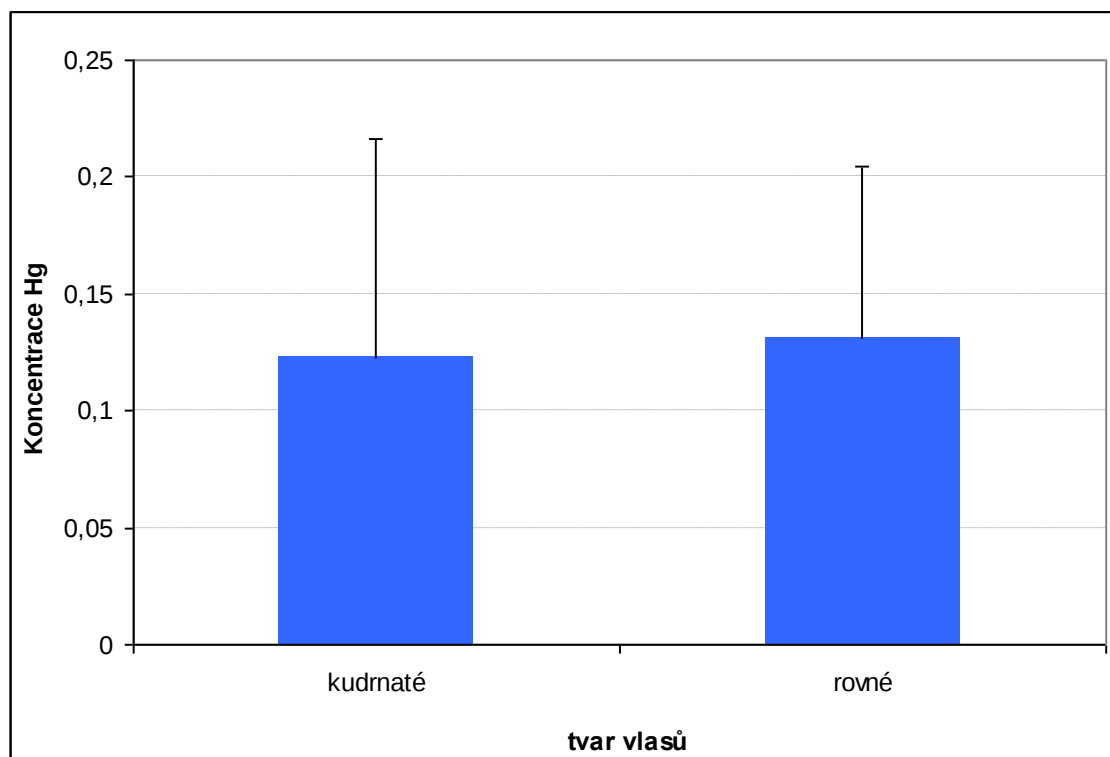


Tabulka 4: Závislost koncentrace T-Hg na tvaru vlasů

tvar vlasů	Průměr	Sm. odchylka
kudrnaté	0,122689	0,0936456
rovné	0,131242	0,0733691
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,643

Graf 4: Závislost koncentrace T-Hg na tvaru vlasů

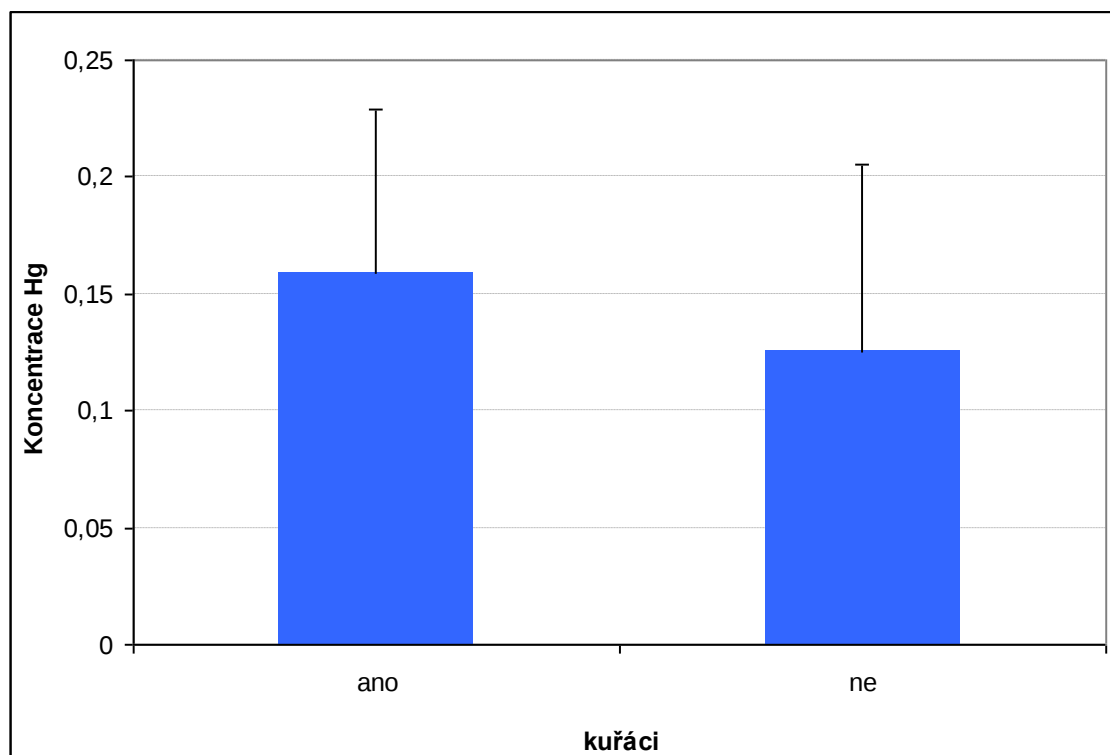


Tabulka 5: Závislost koncentrace T-Hg na kouření

kuřáci	Průměr	Sm. odchylka
ano	0,159404	0,0691559
ne	0,125262	0,0802678
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,224

Graf 5: Závislost koncentrace T-Hg na kouření

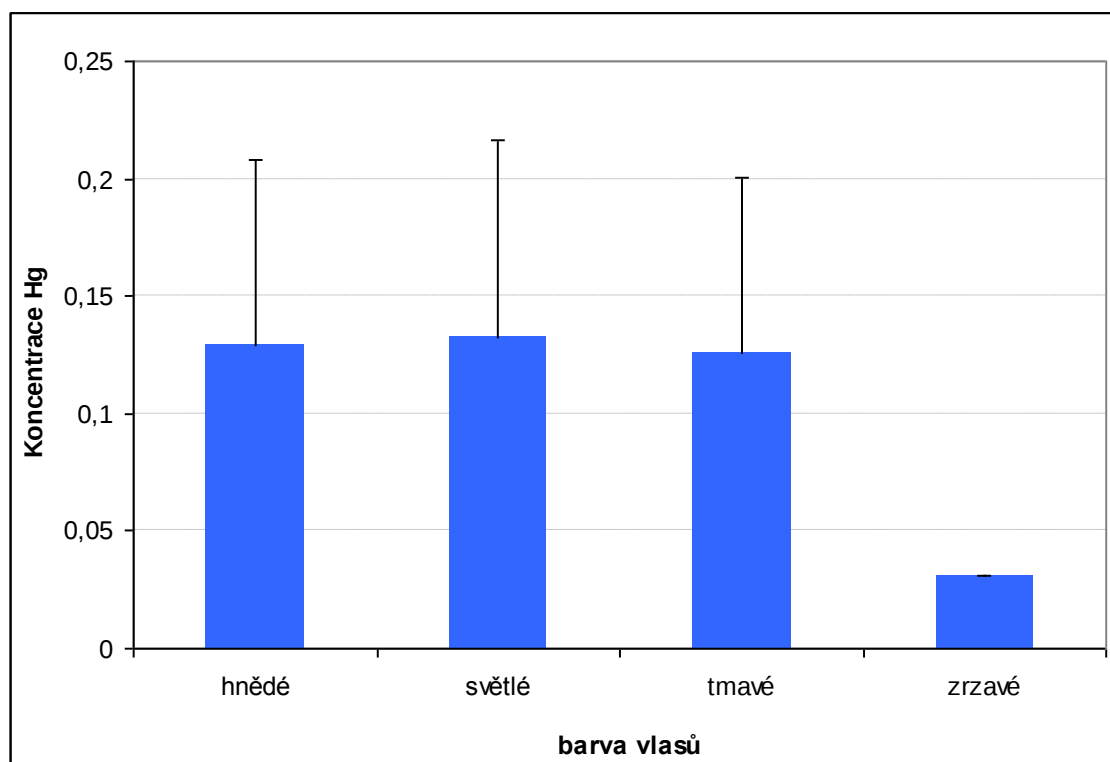


Tabulka 6: Závislost koncentrace T-Hg na barvě vlasů

barva vlasů	Průměr	Sm. odchylka
hnědé	0,129468	0,0789791
světlé	0,132329	0,0844592
tmavé	0,12581	0,0749049
zrzavé	0,030869	.
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,666

Graf 6: Závislost koncentrace T-Hg na barvě vlasů

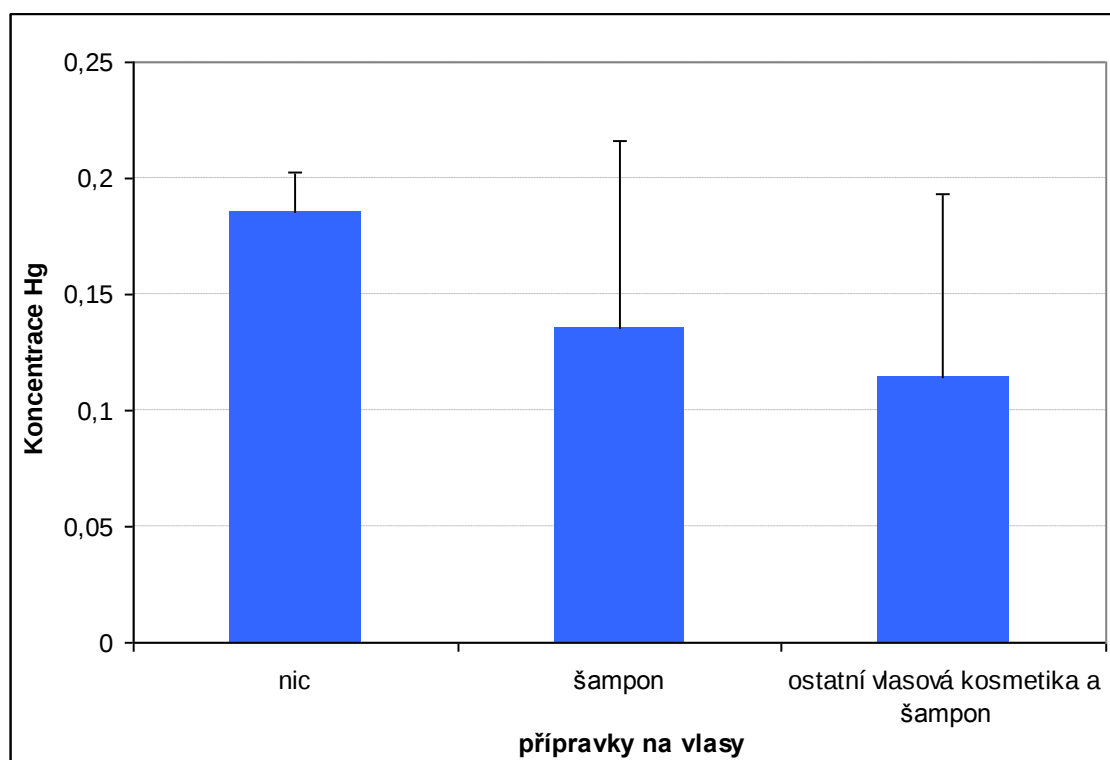


Tabulka 7: Závislost koncentrace T-Hg na používání přípravků na vlasy

přípravky na vlasy	Průměr	Sm. odchylka
nic	0,186008	0,0164336
šampon	0,135449	0,0806226
ostatní vlasová kosmetika a šampon	0,114546	0,07834
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,289

Graf 7: Závislost koncentrace T-Hg na používání přípravků na vlasy

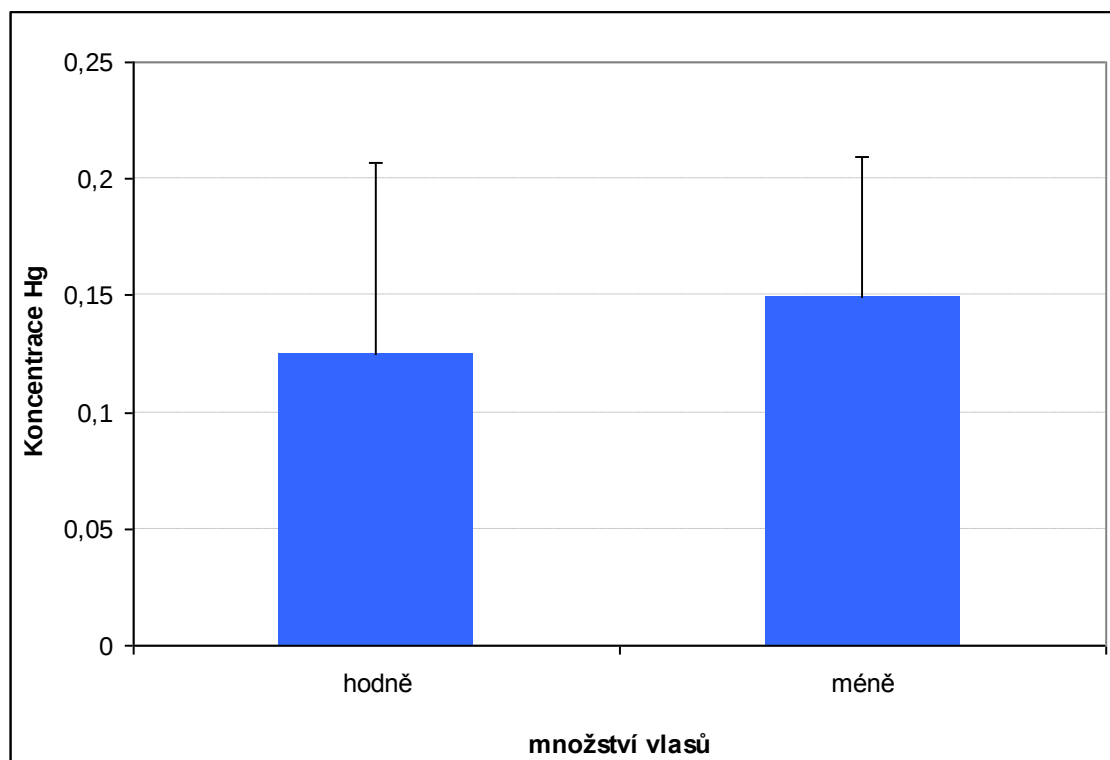


Tabulka 8: Závislost koncentrace T-Hg na množství vlasů

množství vlasů	Průměr	Sm. odchylka
hodně	0,12481	0,0823903
méně	0,149661	0,0599507
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,285

Graf 8: Závislost koncentrace T-Hg na množství vlasů

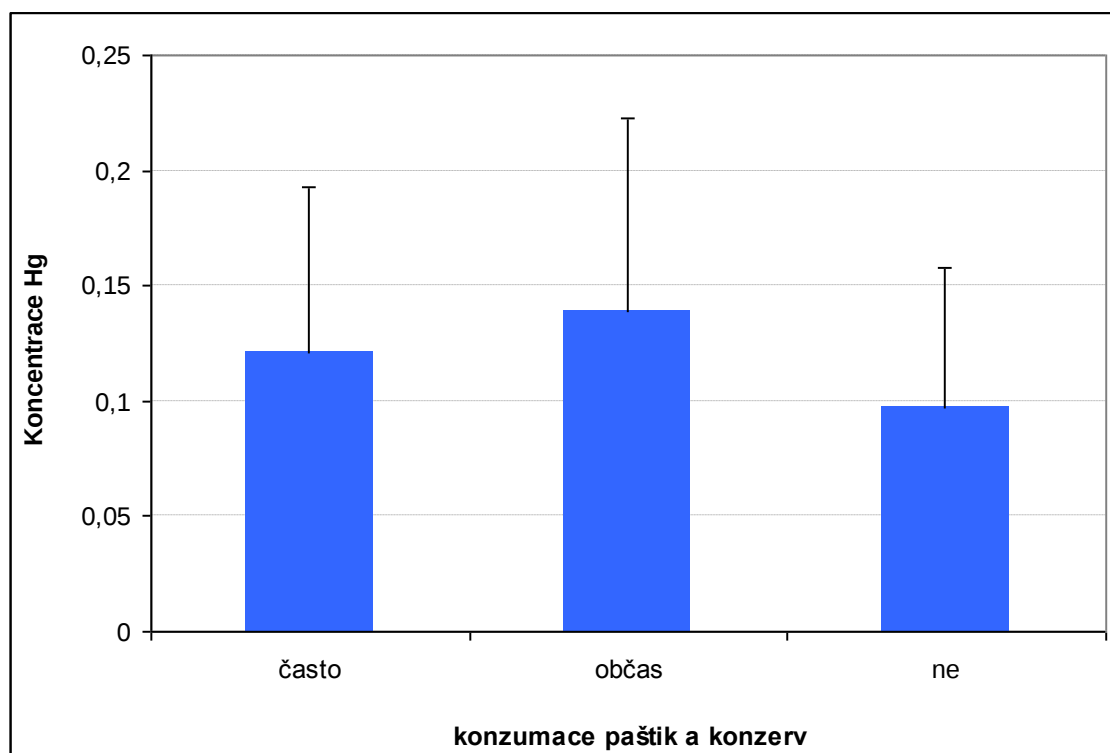


Tabulka 9: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci paštik a konzerv

konzumace paštik a konzerv	Průměr	Sm. odchylka
často	0,121517	0,0714552
občas	0,139099	0,0832919
ne	0,096939	0,060625
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,105

Graf 9: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci paštik a konzerv

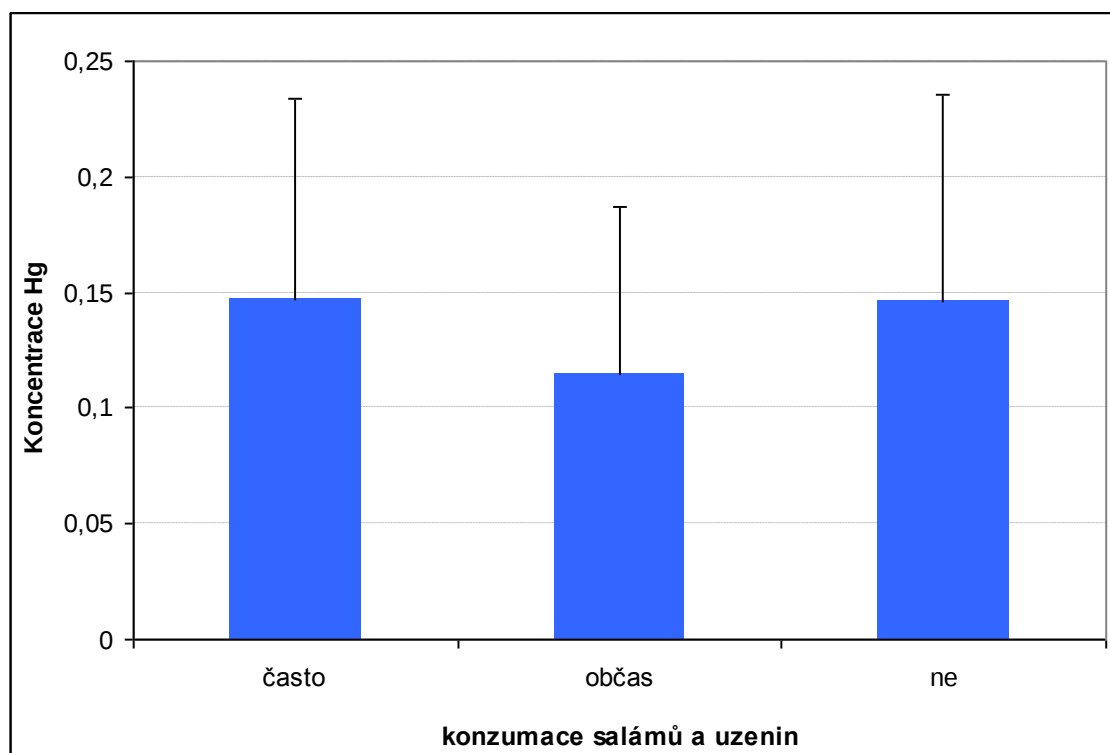


Tabulka 10: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci salámů a uzenin

konzumace salámů a uzenin	Průměr	Sm. odchylka
často	0,14689	0,0866176
občas	0,114801	0,0721634
ne	0,146496	0,0889948
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,168

Graf 10: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci salámů a uzenin

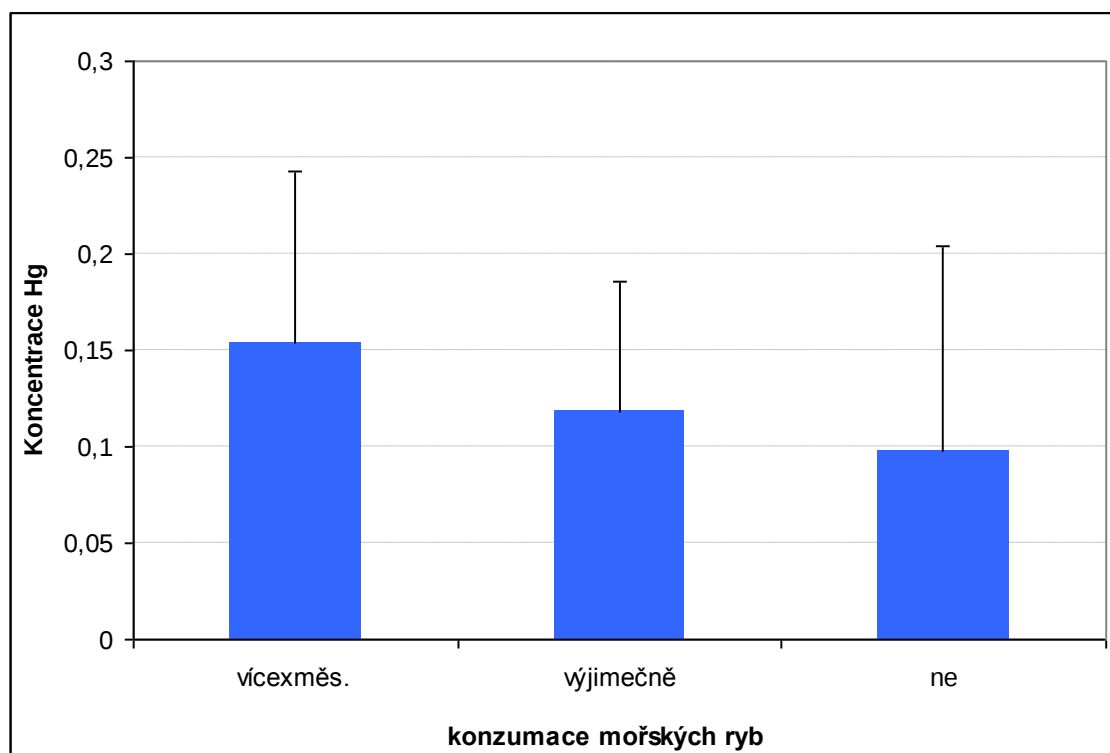


Tabulka 11: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci mořských ryb

konzumace mořských ryb	Průměr	Sm. odchylka
víceměs.	0,154389	0,0880204
výjimečně	0,11822	0,0676644
ne	0,097642	0,1064619
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,076

Graf 11: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci mořských ryb

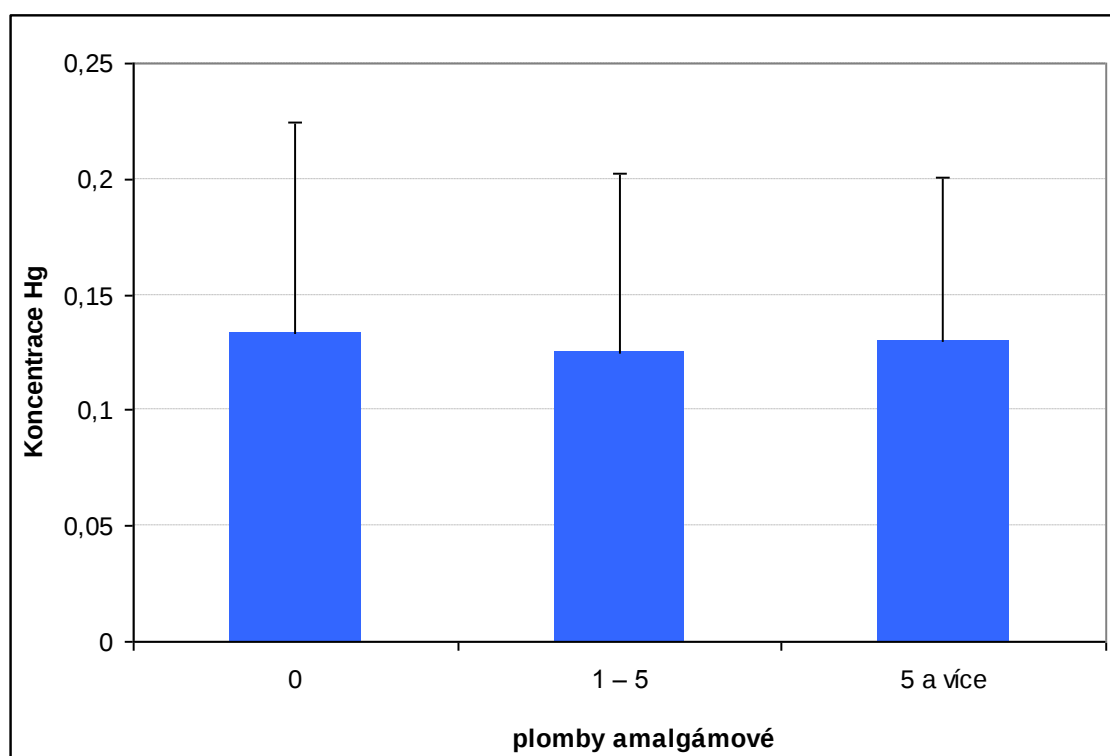


Tabulka 12: Závislost koncentrace T-Hg na amalgámových plombách

plomby amalgámové	Průměr	Sm. odchylka
0	0,133497	0,0906529
1 – 5	0,125189	0,0774504
5 a více	0,129899	0,0708445
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,912

Graf 12: Závislost koncentrace T-Hg na amalgámových plombách

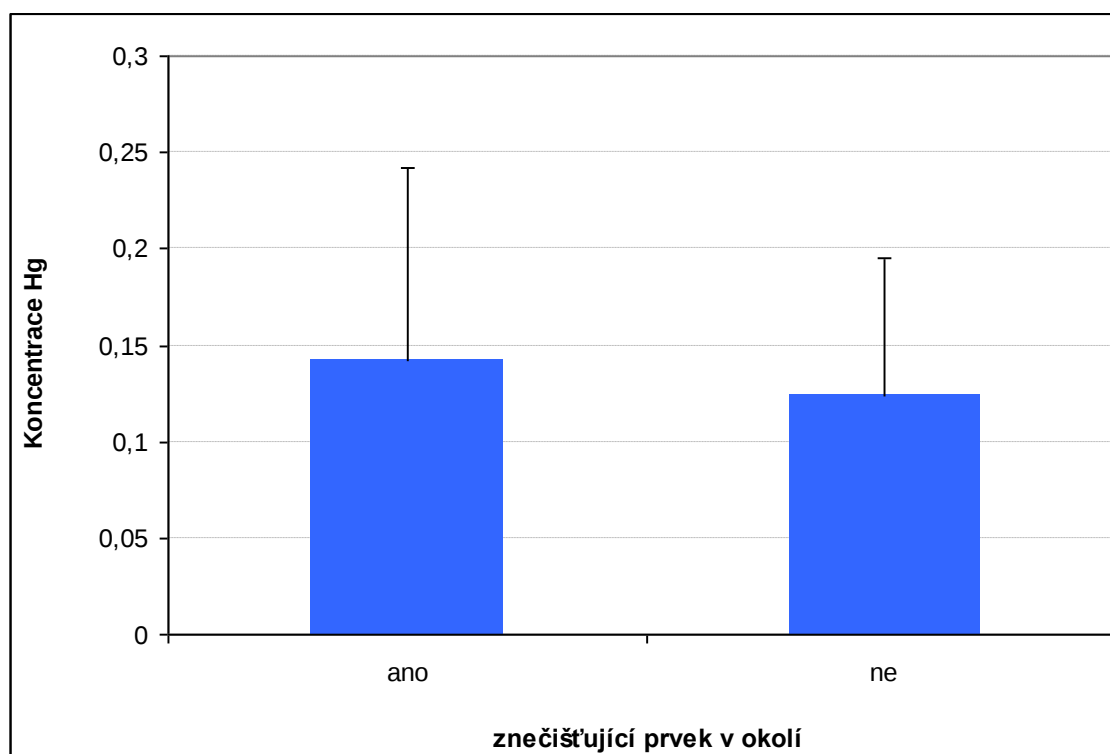


Tabulka 13: Závislost koncentrace T-Hg na znečišťujícím prvku v okolí

znečišťující prvek v okolí	Průměr	Sm. odchylka
ano	0,142582	0,0994576
ne	0,123902	0,0717257
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0.334

Graf 13: Závislost koncentrace T-Hg na znečišťujícím prvku v okolí

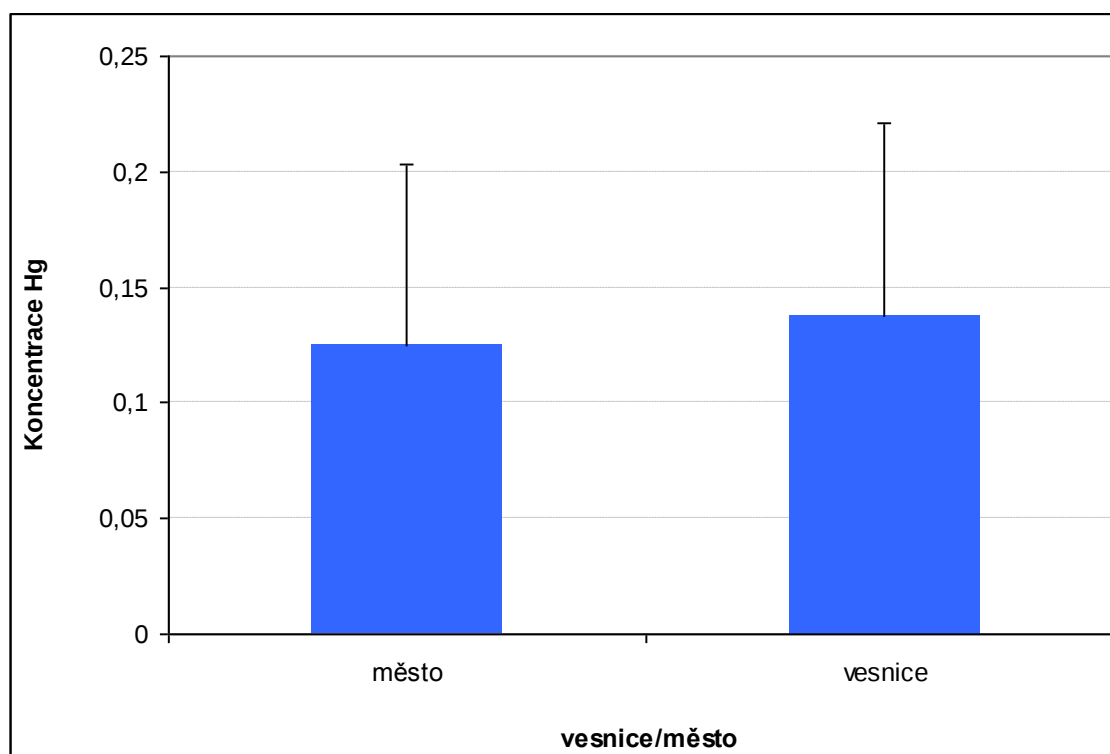


Tabulka 14: Závislost koncentrace T-Hg na místě bydliště (vesnice/město)

vesnice/město	Průměr	Sm. odchylka
město	0,124852	0,078122
vesnice	0,137598	0,0835917
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,489

Graf 14: Závislost koncentrace T-Hg na místě bydliště (vesnice/město)

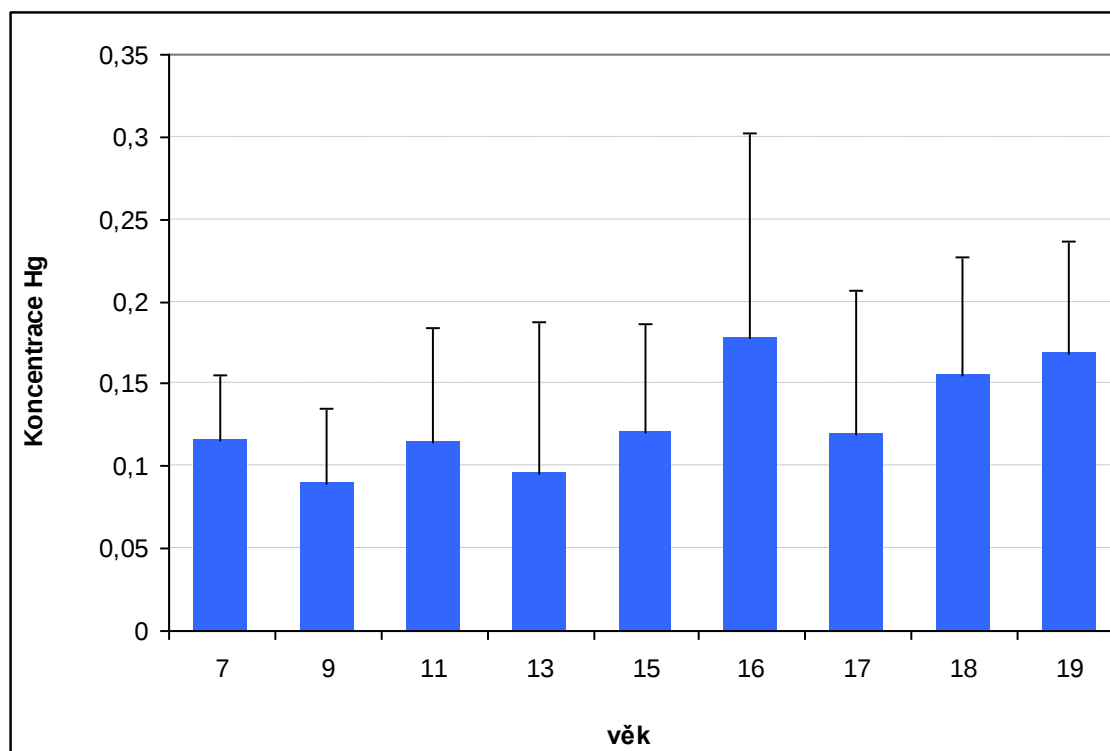


Tabulka 15: Závislost koncentrace T-Hg na věku

věk	Průměr	Sm. odchylka
7	0,11606	0,0398022
9	0,089214	0,0454282
11	0,114329	0,069237
13	0,095692	0,0919564
15	0,120754	0,0661637
16	0,178399	0,1235789
17	0,120026	0,0867764
18	0,155392	0,0712768
19	0,168216	0,0681055
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,123

Graf 15: Závislost koncentrace T-Hg na věku

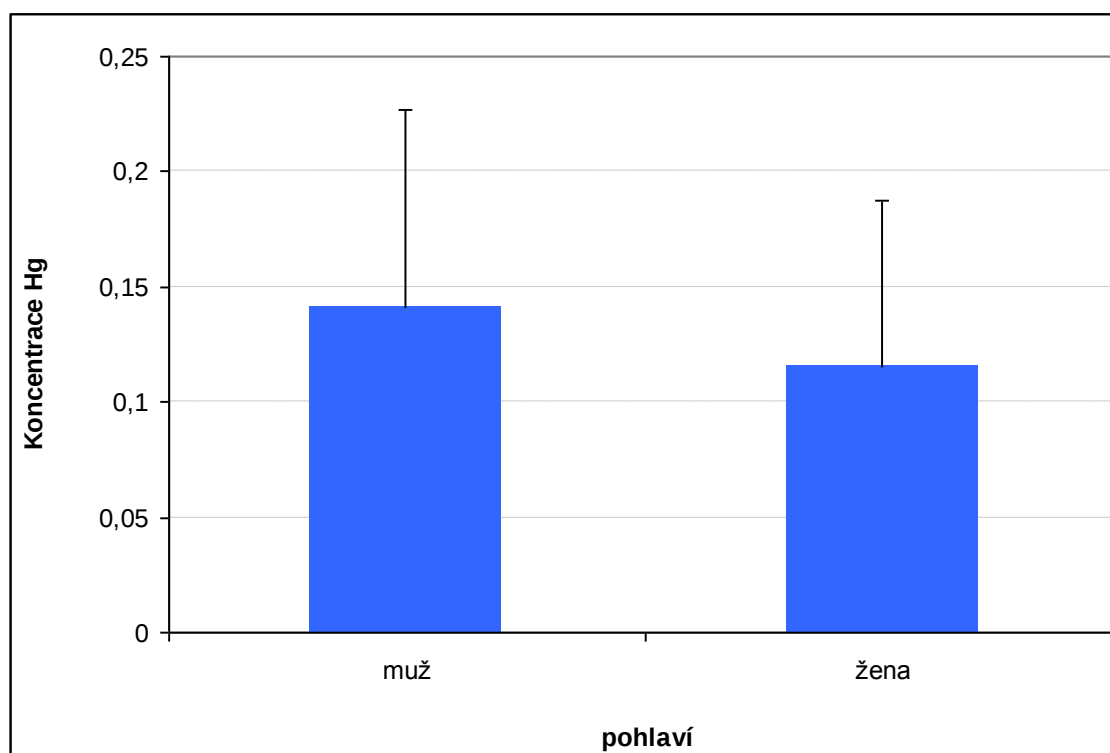


Tabulka 16: Závislost koncentrace T-Hg na pohlaví

pohlaví	Průměr	Sm. odchylka
muž	0,141544653	,0857313
žena	0,115806932	,0714840
Celkem	,128676	,0795448

*p = 0,126

Graf 16: Závislost koncentrace T-Hg na pohlaví



U žádného z těchto faktorů nebyla prokázána závislost koncentrace T-Hg.

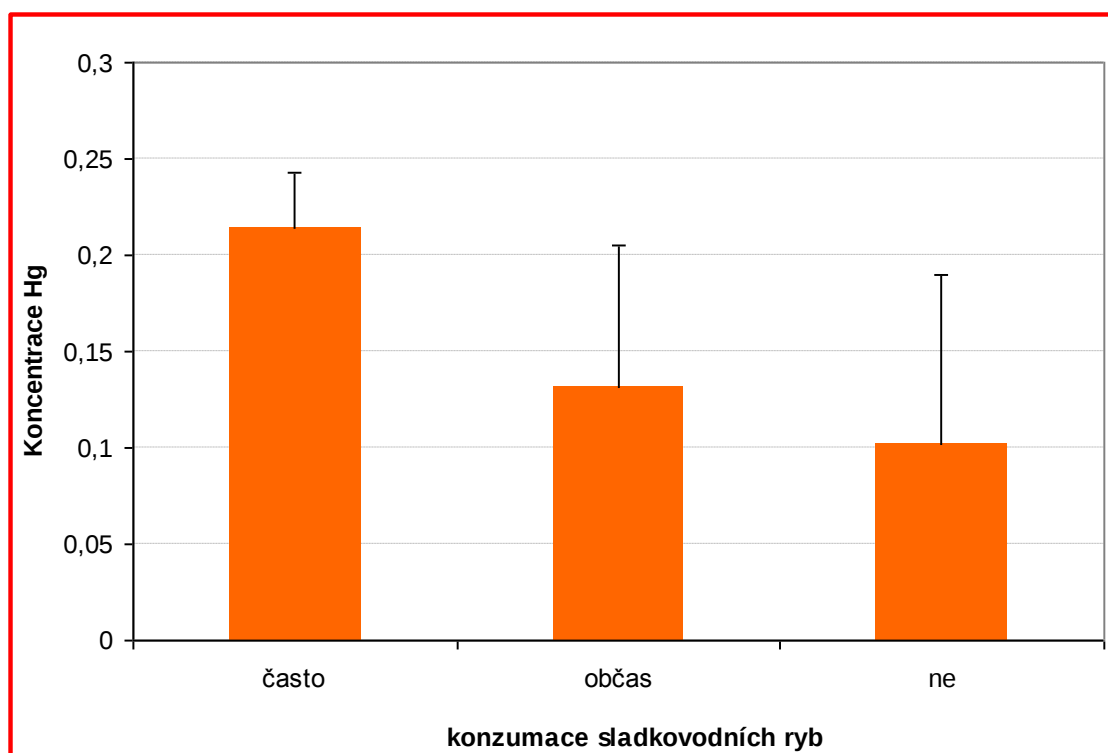
Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci sladkovodních ryb

Tabulka 17: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci sladkovodních ryb

konzumace sladkovodkovodních ryb	Průměr	Sm. odchylka
často	0,214418	0,0283579
občas	0,131587	0,0732922
ne	0,102395	0,087262
Celkem	0,128676	0,0795448

*p = 0,006

Graf 17: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci sladkovodních ryb



Tabulka 18: Závislost koncentrace T-Hg na konzumaci sladkovodních ryb

Univariate Tests of Significance for prumer (sladkovodni) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition						
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p	
konz. sladk. ryb	0,062560	2	0,031280	5,4364	0,005960	
Error	0,500577	87	0,005754			

Při užití jednocestné ANOVy byla zamítnuta nulová hypotéza, že koncentrace rtuti nezávisí na konzumaci sladkovodních ryb ($F_{2,87}=5,4364$, $p<0,05$).

*p – pravděpodobnost

5. Diskuze

Tato práce měla zjistit, jaké hodnoty celkové Hg mají děti v oblasti jižních Čech. Bylo několik studií, které se zabývaly obsahem rtuti ve vlasech dětí v České republice, ale se zaměřením na jižní Čechy nikoli. Přitom je tato část Čech známá pro svůj vysoký výskyt rybníků, se kterým může souviset i snadnější dostupnost k rybímu masu, které bývá značným kumulantem rtuti a to její nejvíce toxické formy, kterou je methylrtuť. Z prostředí České republiky jsou dostupné výsledky monitoringu prováděného na Státním zdravotním ústavu v Praze. V odborné zprávě se uvádí, že za monitorovací období let 1994 až 2001 byla stanovena rtuť u 3427 dětí s koncentrací rtuti ve vlasech 0,19 mg/kg. V roce 2002 pak při analýze 319 dětí byla koncentrace rtuti 0,20 mg/kg a v roce u 292 dětí 0,14 mg/kg, což odpovídá i hodnotám, které jsem naměřila ve své studii, průměrná hodnota koncentrace rtuti mých vzorků byla 0,13 mg/kg, nejvyšší 0,39 mg/kg a nejnižší 0,017 mg/kg. Nejnižší stanovená hodnota koncentrace rtuti v mých měřeních byla 0,01745 mg/kg, směrodatná odchylka měla hodnotu 0,00059. Tento vzorek vlasů byl od ženy, 16 let staré, žije ve městě, v okolí jejího bydliště není žádný zdroj znečištění prostředí, uvádí, že nekonzumuje paštiky a konzervy, občas konzumuje uzeniny a salámy, nekonzumuje sladkovodní ryby a ani mořské, konzumuje houby, nemá žádné amalgámové výplně, má hodně vlasů, používá šampón a i jinou vlasovou kosmetiku, její vlasy jsou rovné a hnědé, je nekuřačka, nepožívá žádné léky a neuvádí žádné zdravotní komplikace. Naproti tomu, nejvyšší stanovená hodnota koncentrace rtuti byla 0,38554 mg/kg, směrodatná odchylka měla hodnotu 0,004727. Tento vzorek vlasů byl od muže, 16 let starého, žije též ve městě, ale již uvádí, že v místě jeho bydliště se nachází znečišťující prvek prostředí, paštiky a konzervy konzumuje občas a salámy a uzeniny často, sladkovodní ryby občas, mořské ryby vícekrát měsíčně, konzumuje houby, nemá žádné amalgámové výplně, má hodně vlasů, používá pouze šampón na vlasy, jeho vlasy jsou hnědé a kudrnaté, nekuřák, neužívá žádné léky a neuvádí žádné zdravotní komplikace. U těchto vzorků se projevil vliv konzumace sladkovodních a i mořských ryb, kdy žena nekonzumuje sladkovodní, ale ani mořské ryby a muž konzumuje sladkovodní ryby občas a mořské vícekrát měsíčně. V místě bydliště muže se vyskytuje znečišťující prvek v okolí a u ženy nikoli. To může mít také vliv koncentraci rtuti v těchto vlasech.

To, že zvýšený obsah rtuti ve vlasech souvisí s častou konzumací ryb (jak sladkovodních, tak mořských), je vědecky prokázané. Jedna Česko-polská studie též prokázala, že obsah rtuti ve vlasech záleží na frekvenci konzumace ryb. Porovnávali obsah rtuti ve vlasech dětí, které měly různou spotřebu ryb. Celková rtuť byla stanovena na AMA 245 analyzátoru. Ve své studii jsem získala naměřené hodnoty na analyzátoru AMA 254. Jejich počet respondentů (174 dětí) byl téměř o jednu polovinu větší než ten, který byl zpracován mnou (90 dětí). Stáří jejich respondentů (od 9 do 17 let) se téměř

rovna stáří osob (od 7 do 19 let), které jsem zkoumala já. Vzorky byly získány z pěti lokalit. Z Neratovic, Jeseníků a Prahy v České republice a z Olsztynu v Polsku. Každý vzorek byl také, jako v mé studii, doprovázen dotazníkem, ve kterém bylo zjišťováno stáří a pohlaví respondentů, místo jejich bydliště, počet amalgámových zubních výplní a jak často konzumují sladkovodní ryby. Tyto všechny faktory jsem použila i ve svém dotazníku. Našli také souvislost mezi obsahem rtuti ve vlasech a konzumací sladkovodních ryb. Korelaci mezi obsahem rtuti a ostatními faktory neprokázali, stejně jako já. Takže došli k závěru, že hladina rtuti ve vlasech se zvyšuje s častější konzumací ryb (Kruzikova et al. 2008). Závislost koncentrace rtuti na jiných faktorech, než byla konzumace sladkovodních ryb jsem neprokázala. Vliv pohlaví na koncentraci rtuti měl neprůkaznou tendenci vyššího množství rtuti ve vlasech u mužů než žen, což souhlasí s odbornou literaturou, ale většinou se tento vliv faktoru prokázal u dospělé populace a ne u dětí. Podobně jsem neprokázala souvislost koncentrace rtuti a konzumací mořských ryb a hub. U konzumace mořských ryb měli respondenti, kteří odpověděli, že je jedí vícekrát měsíčně, poměrně vyšší koncentraci rtuti než ti, kteří konzumují mořské ryby výjimečně a nebo vůbec, kde byla koncentrace rtuti nejnižší. U konzumace hub to bylo podobné, vyšší koncentraci rtuti měli ti, kteří konzumují houby a menší ti, kteří ne. Vliv přípravků na vlasy se projevil tak, že čím více se používá přípravků na vlasy, tím méně je ve vlasech rtuti. Často řešeným faktorem v souvislosti s obsahem rtuti ve vlasech, jsou zubní amalgámové výplně. Jelikož moje zkoumaná skupina respondentů byla velice mladá (7 – 19 let), zubní kazy nejsou v této věkové kategorii příliš časté. Proto vliv zubního amalgámu nebyl ani zdaleka patrný. Tvar, barva a množství vlasů nemělo na koncentraci rtuti ve vlasech vliv, alespoň ne průkazně. Místo bydliště a znečišťující prvek v okolí, byli též neprůkazné v souvislosti s koncentrací rtuti ve vlasech dětí. Konzumace salámů, uzenin, paštik a konzerv, dále kouření, užívání léků a zdravotní komplikace nebyli též významné. Neprokázal se ani vliv znečišťujícího prvku prostředí či vliv místa bydliště, i když mnohé studie shledávají tyto faktory velice vlivnými. Ale zřejmě žádný ze znečišťujících prvků v okolí nebyl tak závažným, aby se odrazil na expozici rtuti ve vlasech těchto dětí. Důvodem toho, že jsem neprokázala vliv těchto faktorů na koncentraci rtuti ve vlasech, bylo možná to, že jsem měla malý počet respondentů.

Hodnoty nalezené v zahraniční literatuře jsou značně variabilní, protože sledování byla často prováděna v oblastech významně zatížených průmyslem nebo těžbou zlata či vysokým příjmem rybí potravy, nikoli však za zjištěním obecného biomonitoringu, klasického zatížení dětské části populace, bez ohledu na konkrétní zdroj rtuti, který by byl jasným znečišťujícím prvkem v dané oblasti, jehož přítomnost by se do jisté míry odrazila na koncentraci rtuti ve vlasech u zvolených účastníků studie. Je těžké porovnávat data v této studii se studiemi z jiných zemí, protože většina z nich byla prováděna s dětmi různých věkových kategorií, obvykle více než 10 let či

novorozeňat. Časté jsou i studie, které se zabývají obsahem rtuti ve vlasech gravidních žen, jejichž obsah rtuti může být ukazatelem toho, jak moc velké množství rtuti mohlo projít placentou a tím se tak dostat až k plodu.

Studie, které používají vlasy pro biologické monitorování lidí, se často liší délkou odebraných vlasů a to může také ovlivnit konečný výsledek. Další nevýhodou může být to, že není celoplošně stejný odběr vlasů z hlavy, ale že se odebírají vzorky z různých jejích částí a v odlišném množství. Proto i odborníci vyzdvihují potřebu standardizovaných postupů analýzy vlasů, včetně jejich sběru a přípravy (Esteban and Castano 2009).

6. Závěr

I. Průměry pro celkovou koncentraci rtuti se pohybovaly hluboko pod povolenými limitními hodnotami. Ze zkoumaných vlivů faktorů na hladinu rtuti v těle vyšla průkazně závislost koncentrace rtuti na konzumaci sladkovodních ryb, při užití jednocestné ANOVy ($F_{2,87}=5,4364$; $p<0,05$) v programu STATISTICA 7. Tuto závislost jsem potvrdila ve shodě s literárními údaji.

II. Závislost obsahu rtuti na věku a jiných faktorech jsem neprokázala.

III. Analýzu vzorků jsem prováděla na přístroji AMA 254 a zjistila, jaké je jeho uplatnění a možnosti. Bohužel tento přístroj není schopen rozlišit poměr mezi T-Hg (celkovou rtutí) a MeHg (methylrtutí).

IV. Jako velice důležitou částí celého výzkumu shledávám preanalytickou část, která zahrnuje výběr osob a jejich dostatečný počet, metodiku odběru vzorku a uskladnění vzorku tak, aby se zabránilo kontaminaci.

V. Ani nejvyšší stanovené hodnoty ještě nepředstavují zvýšené zdravotní riziko.

7. Seznam použitých zdrojů

AL-SALEH, I., AL-SEDAIRI, A. (2011): Mercury(Hg) burden in children: The impact of dental amalgam. Science of the total Environment 16: 3003-3015.

BARREGARD, L., TRACHTENBERG, F., MCKINLAY, S. (2008): Renal Effects of Dental Amalgam in Children: The New England Children's Amalgam Trial 3: 394-399.

BENCKO, V., CIKRT, M., LENER, J. (1984): Toxické kovy v pracovním a životním prostředí člověka. 1. vydání. Praha : Avicenum, 264 s.

BENCKO, V., CIKRT, M., LENER, J. (1995): Toxické kovy v pracovním a životním prostředí člověka. 2. vydání. Praha : Avicenum, 288 s.

BYUN, Y., KOH, D. J., SHIN, D. N. (2011): Removal mechanism of elemental mercury by using non-thermal plasma. Chemosphere 83: 69-75.

CIBUKA, J. et al. (1986): Pohyb olova, kadmia a rtuti v zemědělské výrobě a biosféře. 2. vydání – rozšířené. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 160 s.

CIBULKA, J., et al. (1991): Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře. 2. vydání. Praha: Academia, nakladatelství Československé akademie věd, 432 s.

ČEJCHANOVÁ, M., WRANOVÁ, K., SPĚVÁČKOVÁ, V., KORUNOVÁ, V., VOBECKÝ, M. (2008): Mikroelementy '2008. Sborník přednášek, XLII. Semináře o metodice stanovení a výzkumu stopových prvků v biologickém materiálu a v životním prostředí. Problematika rtuti a methylrtuti ve vlasech. Praha: Ústav chemie a analýzy potravin VŠCHT: 30-37.

ČERNOHORSKÝ, T., JANDERA, P. (1997): Atomová spektroskopie. 1. vydání. Pardubice, Univerzita Pardubice, 218 s.

DIEZ, S., DELGADO, S., AQUILERA, I., ASTRAY, J., PEREZ-GOMEZ, B., TORRENT, M., SUNYER, J., BAYONA, J. M. (2009): Prenatal and Early Childhood Exposure to Mercury and Methylmercury in Spain, a High-Fish-Consumer Country. *Archives of environmental contamination and toxicology* 3: 615-622.

ESTEBAN, M., CASTANO, A. (2009): Non-invasive matrices in human biomonitoring: A review. *ENVIRONMENT INTERNATIONAL* 35: 438-449.

GREENWOOD, N. N., EARNSHAW, A. (1993): *Chemie prvků*. 1. vydání. Praha : Informatorium, Svazek II. 1635 s.

GUNDACKER, C., FROHLICH, S., GRAF-ROHRMEISTER, K., EIBENBERGER, B., JESSENING, V., GICIC, D., PRINZ, S., WITTMANN, K. J., ZEISLER, H., VALLANT, B., POLLAK, A., HUSSLEIN, P. (2010): Perinatal lead and mercury exposure in Austria. *Science of the total environment* 23: 5744-5749.

HESLOP, R. B., JONES, K. (1982): *Anorganická chemie*. 1. vydání. Praha: SNTL-Nakladatelství technické literatury, 836 s.

HOLUB, M. (1999): Těžba surovin a ochrana životního prostředí. *Vesmír* 78: 157-158.

HOUSEROVÁ, P., JANÁK, P., KUBÁŇ, P., PAVLÍČKOVÁ, J., KUBÁŇ, V. (2006): Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech – vlastnosti, úroveň, koloběh a stanovení. *Chemické listy* 100: 862-876.

HOUSTON, M. C. (2011): Role of Mercury in Hypertension, Cardiovascular Disease, and Stroke. *Journal of clinical hypertension* 8: 621-627.

CHOI, A. L., PAL, W. H., BUDZ-JORGENSEN, E., JORGENSEN, P. J., SALONEN, J. T., TUOMAINEN, T. P., MURATA, K., NIELSEN, H. P., PETERSEN, M. S., ASKHAM, J., GRANDJEAN, P. (2009): Methylmercury Exposure and Adverse Cardiovascular Effects in Faroese Whaling Men. *Environmental health perspectives* 3: 367-372.

JANOUSHKOVÁ, D. (2002): Obsah rtuti ve tkáních ryb.[Disertační práce]. České Budějovice 155 s. Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, katedra chemie.

JOKSTAD, A. (2011): Summary of: Thirty-five year review of a mercury monitoring service for Scottish dental practices COMMENTARY, *BRITISH DENTAL JOURNAL* 210: 123-123.

JURSÍK, F. (2002): Anorganická chemie kovů. 1. vydání. Praha: VŠCHT, 152 s.

KAFKA, Z., PUNČOCHÁŘOVÁ, J. (2002): Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy* 96: 611-617.

KLOUDA, P. (2003): Moderní analytické metody. 2. doplňující vydání. Ostrava: Pavel Klouda, 132 s.

KOMÁREK, J. (2000): Atomová absorpční spektrometrie. 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita, 85 s.

KRUZIKOVA, K., MODRA, H., KENSOVA, R., SKOCOVSKA, B., WLASOW, T., SVOBODOVA, T., SVOBODOVA, Z. (2008): Mercury in hair as an indicator of the fish consumption. *Neuroendocrinology letters* 5: 675-679.

KRUZIKOVA, K., SVOBODOVA, Z. (2012): Assessment of mercury contamination in the Bilina River (Czech Republic) using indicator fish. *Acta veterinaria Brno* 1: 63-68.

KUBÁŇ, P., PELCOVÁ, P., MARGETÍNOVÁ, J., KUBÁŇ, V. (2009). Mercury speciation by CE: An update. *Electrophoresis* 30: 92-99.

KUBECOVÁ, J., ŠVEHLA, J. (2008): Obsah rtuti v rybách z údolí nádrže Jordán v Táboře. Sborník konference Pitná voda 2008: 401-406.

MAGGI, C., BERDUCCI, M. T., BIANCHI, J., GIANI, M., CAMPANELLA, L. (2009): Methylmercury determinativ in marine sediment and organism by Direct Mercury Analyser. *Analytica Chimia Acta* 641: 32-36.

MARŠÁLEK, P. (2006): Methylrtuť ve vodních ekosystémech. *Bulletin VÚRH Vodňany* 42: 117-121.

MERIAN, E. (1991): *Metals and Their Compounds in the Environment*. VCH Weinheim, 1438 s.

MILLOUR, S., NOEL, L., KADAR, A., CHEKRI, R., VASTEL, C., SIROT, V., LEBLANC, J. C., GUERIN, T. (2011): Pb, Hg, Cd, As, S and Al levels in foodstuffs from the 2nd French total diet study. *Food chemistry* 4: 1787-1799.

MONTOURI, P., JOVER, E., DÍEZ, S., RIBAS-FITO, N., SUNYER, J., TRIASSI, M., BAYONA, J. M. (2007): Mercury speciation in the hair of pre-school children living near a chlor-alkali plant. *SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT* 369: 1-3, 51-58.

MUTTER, J., CURTH, A., NEUMANN, J., DETH, R., WALACH, H. (2010): Does Inorganic Mercury Play a Role in Alzheimer's Disease? A Systematic Review and an Integrated Molecular Mechanism. *JOURNAL OF ALZHEIMERS DISEASE* 22: 357-374.

Návod na obsluhu přístroje AMA-254, Altec s.r.o., Praha, 2002, 125 s.

NUTTALL, K. L. (2006): Review: Interpreting hair mercury levels in individual patients., *ANNALS OF CLINICAL AND LABORATORY SCIENCE* 36: 248-261.

PRIYA, M. D. L., GEETHA, A. (2011): Level of Trace Elements (Copper, Zinc, Magnesium and Selenium) and Toxic Elements (Lead and Mercury) in the Hair a Nail of Children with Autism. Biological trace element reserch 2: 148-158.

REICHL, F. X., SIMON, S., ESTERS, M., SEISS, M., KEHE, K., KLEINSASSER, N., HICKEL, R. (2006): Cytotoxicity of dental composite (co)monomers and the amalgam komponent Hg²⁺ in human gingival fibroblasts. Archives of toxikology 8: 465-472.

SALEHI, Z., ESMAILI-SARI, A. (2010): Hair mercury levels in pregnant women in Mahshahr, Iran: Fish consumption as a determinant of exposure. Science of the total environment 20: 4848-4854.

SCHOEMAN, K., BEND, J. R., KOREN, G. (2010): Hair Methylmercury: A New Indication for Therapeutic Monitoring. THERAPEUTIC DRUG MONITORING 32: 289-293.

STRUNECKÁ, A., PATOČKA, J. (2011): Doba jedová. 1. vydání. Praha : Triton, 295 s.

TUČEK, M., BENCKO, V., KRÝSL, S. (2007): Zdravotní rizika rtuti ze zubních amalgámů. Chemické listy 101: 1038-1044.

TUČEK, M. (2006): Současná zdravotní rizika expozice rtuti a jejím sloučeninám. České pracovní lékařství 1: 26-37.

TUHOVČÁKOVÁ, L. (2008): Analýza alkylderivátů rtuti v biotických matricích.[Diplomová práce]. Brno, 61 s. Vysoké učení technické, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.

URBAN, P. (2006): Aktuální problémy neurotoxicity rtuti. Neurológia pre prax 5: 251-253.

VELÍŠEK, J. (1999): Chemie potravin 2. 1. vydání. Tábor: OSSIS, 328 s.

WRIGHT, B., PEARCE, H., ALLGAR, V., MILES, J., WHITTON, C., LEON, I., JARDINE, J., MCCAFFREY, N., SMITH, R., HOLBROOK, I., LEWIS, J., GOODALL, D., ALDERSON-DAY, B. (2012): A Comparison of Urinary Mercury between Children with Autism Spectrum Disorders and Control Children. Plos one 2: (neuvedeno).

ZHANG, J., WHEELER, J. J. (2010): Mercury and Autism: A Review. EDUCATION AND TRAINING IN AUTISM AND DEVELOPMENTAL DISABILITIES 45: 107-115.

8. Klíčová slova

AMA 254

methylrtuť

rtuť

vlasý

Key words:

AMA 254

methylmercury

mercury

hair

9. Přílohy

Příloha 1: Informovaný souhlas, dotazník a informace ke studii o výskytu rtuti ve vlasech dětí



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta, katedra aplikované chemie

Studentská 13, 370 05 České Budějovice

Dotazník ke studii obsahu rtuti ve vlasech dětí

prováděné v rámci bakalářské práce A. Hladíkové na ZsF JU v Č. Budějovicích

Přidělený kód vzorku vlasů: _____
2011

Datum odběru:

(kód bude přidělen po podpisu Souhlasu v den odběru vzorku)

1. Pohlaví:
2. Věk:
3. Místo, kde převážně žijí (vesnice/město):
4. Chemický průmysl, teplárna, nebo krematorium v okolí mého bydliště:
.....
5. Konzumuji paštiky a konzervy: A) vůbec B) občas C) často
6. Konzumuji salámy a uzeniny: A) vůbec B) občas C) často
7. Konzumuji ryby sladkovodní: A) vůbec B) občas C) často
8. Konzumuji ryby mořské (včetně konzervovaných):
A) vůbec B) výjimečně C) 1 x měsíčně D) více x měsíčně E) několikrát týdně
9. Počet zubních amalgámových plomb v ústech :
- 0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 – více

10. Vlasů mám: A) hodně B) méně
11. Pro případnou úpravu vlasů používám přípravky: (šampony, barviva, tužidla, apod.)
.....
12. Přírodní tvar (rovné/kudrnaté) a barva vlasů :
13. Jsem kuřák: A) ano B) ne
14. Používám tyto léky:...
15. Případné zdravotní komplikace:.....

Poučení: vyhovující odpověď prosím doplňte či zakroužkujte.

Organizátor studie (ZsF JU) se tímto zavazuje k mlčenlivosti ohledně získaných informací, neposkytne je žádným dalším stranám ani způsobem k jakémukoliv jinému účelu .

O výsledcích studie budeme účastníky informovat.

PROHLÁŠENÍ - informovaný souhlas od testované nezletilé osoby:

Kód osoby

(kód bude přidělen po souhlasu s odběrem

vzorku)

Já , níže podepsaný (á), jakožto zákonný zástupce nezletilého dítěte

.....

(příjmení a křestní jméno)

prohlašuji, že jsem poskytnutým informacím ke studii o rtuti ve vlasech plně porozuměl(a) a na základě svobodné vůle a těchto informací souhlasím s odběrem příslušného vzorku (cca 0,5g) vlasů odstřížením z temene hlavy uvedeného dítěte a jeho následné analýzy pro vědecké účely.

Přeji si být seznámen(a) s výsledkem vyšetření , a proto souhlasím , aby vzorek vlasů byl zpracován neanonymně.

Ano / Ne*

Příjmení a jméno zákonného zástupce :

Podpis:

V

Dne 2011

Osoby starší 15-ti let, které se rozhodly poskytnout vzorek vlasů mohou prohlášení podepsat sami .

* zakroužkujte prosím vyhovující odpověď



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta, katedra aplikované chemie

Studentská 13, 370 05 České Budějovice

Informace ke studii o výskytu rtuti ve vlasech dětí

prováděné v rámci bakalářské práce studentky Aleny Hladíkové na ZsF JU v Č.Budějovicích

Rtuť se do lidského těla dostává zpravidla vdechováním nebo ústy. Jedním z největších zdrojů rtuti jsou exhalace z průmyslové výroby; bakterie v jezerech, řekách a oceánech přeměňují elementární rtuť na organické sloučeniny (zejména metylrtuť), které se potom akumulují ve tkáních vodních živočichů a tak vstupují do potravinových řetězců.

Rtuť je v trávicím traktu absorbována z více než 90% a dostává se do krevního oběhu. Velmi snadno proniká hematoencefalickou bariérou do mozku. Rtuť se může podílet na vzniku patofyziologických změn a projevovat své neurotoxické účinky a je jednou z hlavních toxických látek, která může u dětí způsobovat zhoršení poznávacích schopností.

Podle údajů WHO se za tolerovatelnou denní dávku rtuti považuje množství 0,1 µg/kg hmotnosti pro organickou rtuť a 2 µg/kg hmotnosti pro anorganickou rtuť. Protože vylučování rtuti z organismu je velmi pomalé, určitý podíl rtuti se nevratně ukládá ve vlasech a nehtech (z toho je 80% obsahu ve formě metylrtuti). Koncentrace metylrtuti ve vlasech odpovídá obsahu metylrtuti v těle a mozku a to v době tvorby vlasu či nehtu. Vlasy poskytují dlouhodobé údaje neovlivněné událostmi jednoho dne.

Cílem mé práce je stanovit obsah rtuti v lidských vlasech u dětí ZŠ a SŠ v jižních Čechách. Na základě dosavadních informací o působení rtuti se pokusím ověřit například hypotézy, jestli existuje závislost obsahu rtuti ve vlasech na věku, případně na pohlaví osob, nebo jestli se potvrdí zvýšená koncentrace rtuti u osob konzumujících pravidelně ryby aj.

Odběr vzorku bude proveden **odstřížením** (cca 0,5 g) vlasů z temene hlavy . Po analýze vzorků zúčastněných osob budou výsledky zveřejněny také na webových stránkách CZŠ a BiGy pod kódem, který Vám bude přidělen. Stanovení rtuti ve vlasech bude probíhat na katedře aplikované chemie ZF JU.

Termíny: případné odevzdání Souhlasu s odběrem vzorku **do 1.6. 2011** třídnímu učiteli - odběrů vlasů: **6. - 8. června 2011**, konkrétní čas bude upřesněn po dohodě s třídními učiteli.

Pro další informace, dotazy či nejasnosti mne prosím kontaktujte na moje níže uvedené telefoní číslo: +420 602 706 007 a nebo E-mail: alca.hladikova@centrum.cz, nebo i na vedoucího práce: Ing. Jaroslav Švehla, katedra aplikované chemie ZF JU v Č.B., tel. 420 777 2653, svehla@zf.jcu.cz.

Práce bude probíhat s laskavým svolením pana Mgr. Jana Schreiba, ředitele Církevní ZŠ a zástupce Biskupského gymnázia J.N.Neumanna v Českých Budějovicích.