

Toxické prvky a jejich kumulace v houbách

Petra Blachová

Bakalářská práce
2016

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Petra Blachová**
Osobní číslo: **T12805**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Toxické prvky a jejich kumulace v houbách**

Zásady pro vypracování:

- 1. Botanické charakteristiky hub**
- 2. Chemické složení hub**
- 3. Fyziologické vlastnosti hub**
- 4. Metody stanovení minerálních látek v houbách**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. SVOBODA, Lubomír, Božena HAVLÍČKOVÁ a Pavel KALAČ. Contents of cadmium, mercury and lead in edible mushrooms growing in a historical silver-mining area. Food Chemistry. 2006, vol. 96, issue 4, s. 580–585. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.03.012.
2. COCCHI, Luigi, Luciano VESCOVI, Liliane E. PETRINI a Orlando PETRINI. Heavy metals in edible mushrooms in Italy. Food Chemistry. 2006, vol. 98, issue 2, s. 277–284. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.05.068.
3. OUZOUNI, Paraskevi K., Panayotis G. VELTSISTAS, Evangelos K. PALEOLOGOS a Kyriakos A. RIGANAKOS. Determination of metal content in wild edible mushroom species from regions of Greece. Journal of Food Composition and Analysis. 2007, vol. 20, issue 6, s. 480–486. DOI: 10.1016/j.jfca.2007.02.008.
4. CIBULKA, Jiří. Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře. 1. vyd. Praha: Academia, 1991, 427 s. ISBN 80-200-0401-7.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.**
Ústav analýzy a chemie potravin
Datum zadání bakalářské práce: **20. ledna 2016**
Termín odevzdání bakalářské práce: **6. května 2016**

Ve Zlíně dne 20. ledna 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



Ing. Jiří Miček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: BLACHOVA / PETRA

Obor: CHT / TDE

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 20. 4. 2016

Petra Blachová

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydávalečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

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

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

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

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Cílem bakalářské práce bylo zaměřit se na toxické prvky často se vyskytující v houbách. Je zde popsána jejich kumulace, hyperkumulace, absorpce, sorpce, toxicita a koncentrace v houbách včetně metod stanovení. Práce zahrnuje systematické zařazení, charakteristiku, význam, složení a fyziologii hub. To je důležité pro pochopení, kde a v jakém množství se toxické prvky v organismech hub hromadí. Je zde zmíněna i toxicita způsobená prvky radioaktivními. Poslední kapitola popisuje metody stanovení toxických prvků včetně přípravy vzorků a způsobů mineralizace. Rovněž je uvedeno porovnání nejčastějších metod z hlediska citlivosti měření. Závěrem je zmíněn monitoring toxických prvků v průmyslově pěstovaných houbách během tříletého období. Tato práce by měla shrnovat základní znalosti o možné intoxikaci při časté konzumaci hub sbíraných ve znečištěném prostředí.

Klíčová slova: houby, kumulace, absorpce, toxické prvky, těžké kovy, radioaktivní prvky, izotopy, metody stanovení toxických prvků, monitoring prvků v houbách, složení hub, volně rostoucí houby, průmyslově pěstované houby.

ABSTRACT

The aim of the thesis was to focus on toxic ingredients often found in mushrooms. It consists of the description of their accumulation, hyper-accumulation, absorption, sorption, and toxicity levels in mushrooms including detection methods. The thesis contains the systematic classification, characteristics, significance, composition and physiology of fungi. This is important due to the understanding where and in what quantity toxic components accumulate in fungi. It also contains the toxicity caused by radioactive elements. The last chapter describes the methods to determine toxic elements including sample preparation and methods of mineralization. Also, the comparison of the most common methods in terms of sensitivity measurements is given. Finally, the monitoring of toxic elements in commercially-grown mushrooms over a three year period is given. This work should summarize the basic knowledge of possible intoxication while frequently consuming mushrooms collected in polluted environment.

Key terms: mushrooms, accumulation, absorption, toxic elements, heavy metals, radioactive elements, isotopes, methods of determining toxic elements, monitoring elements in mushrooms, composition of mushrooms, wild mushrooms, commercially cultivated mushrooms.

Ráda bych poděkovala vedoucímu bakalářské práce doc. Ing. Miroslavovi Fišerovi, CSc. za náměty a připomínky k danému tématu před i během vypracování bakalářské práce.

Neméně bych chtěla poděkovat dlouholeté rodinné známé paní RNDr. Aleně Votavové za její velmi cenné rady a názory z odborné praxe.

„Jestlipak nejedlé houby trpí komplexem méněcennosti?“

- VALERIU BUTULESCU -

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

OBSAH

ÚVOD	11
1 BOTANICKÉ CHARAKTERISTIKY HUB	13
1.1 ZAŘAZENÍ HUB DO SYSTÉMU ŽIVÝCH ORGANISMŮ	13
1.2 VÝŽIVA HUB	14
1.3 VÝZNAM HUB	14
2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ HUB	16
2.1 VODA A SUŠINA	16
2.2 AMINOKYSELINY, PEPTIDY, BÍLKOVINY	17
2.3 SACHARIDY	18
2.4 LIPIDY	19
2.5 MINERÁLNÍ LÁTKY	20
2.5.1 NEJČASTĚJŠÍ PRVKY MINERÁLNÍCH LÁTEK V HOUBÁCH:	21
2.6 VITAMINY	21
2.7 MINORITNÍ SLOŽKY	22
2.8 TOXICKÉ A DALŠÍ STOPOVÉ PRVKY	22
2.8.1 ZDROJE A CESTY ZNEČIŠTĚNÍ.....	23
2.8.2 ROZDĚLENÍ STOPOVÝCH PRVKŮ A JEJICH VYUŽITELNOST	24
2.8.3 JEDNOTLIVÉ RIZIKOVÉ PRVKY V HOUBÁCH	25
2.8.4 POROVNÁNÍ OBSAHU PRVKŮ V HOUBÁCH	31
2.8.5 MÉNĚ ZNÁMÉ TOXICKÉ PRVKY.....	32
2.9 RADIOAKTIVITA HUB	33
2.9.1 JEDNOTKY RADIOAKTIVITY A LEGISLATIVA.....	33
2.9.2 RADIOAKTIVNÍ PRVKY	34
2.9.3 NĚKTERÉ VÝZNAMNÉ RADIOAKTIVNÍ PRVKY V HOUBÁCH.....	35
2.9.4 RADIOAKTIVITA VE VOLNĚ ŽIJÍCÍ ZVĚŘI	36
3 FYZIOLOGICKÉ VLASTNOSTI HUB	38

3.1	STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA HUB A FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ JEJICH VÝSKYT.....	38
3.2	ANATOMIE HUB	39
3.3	FYZIOLOGICKÉ VLASTNOSTI HUB.....	41
3.3.1	ZDROJE UHLÍKU	41
3.3.2	ZDROJE DUSÍKU	42
3.3.3	ZDROJE MAKROELEMENTŮ	42
3.3.4	ZDROJE MIKROELEMENTŮ (STOPOVÉ PRVKY)	42
3.4	PŘÍJEM CIZORODÝCH PRVKŮ.....	44
4	METODY STANOVENÍ MINERÁLNÍCH LÁTEK V HOUBÁCH.....	46
4.1	ZPRACOVÁNÍ HUB KE STANOVOVÁNÍ.....	47
4.1.1	ÚPRAVA ČERSTVÝCH VZORKŮ HUB	47
4.1.2	SUŠENÍ A MLETÍ PŘIPRAVENÝCH HUB	47
4.1.3	MINERALIZACE NA MOKRÉ NEBO SUCHÉ CESTĚ.....	47
4.2	METODY OPTICKÉ SPEKTROMETRIE.....	49
4.2.1	ATOMOVÁ ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIE (AAS)	49
4.2.2	OPTICKÁ EMISNÍ SPEKTROMETRIE (OES)	51
4.2.3	OPTICKÁ EMISNÍ SPEKTROMETRIE S BUZENÍM V PLAZMATU	52
4.2.4	AUTOMATICKÁ EMISNÍ SPEKTRÁLNÍ ANALÝZA	54
4.2.5	ATOMOVÁ FLUORESCENČNÍ SPEKTROMETRIE (AFS).....	54
4.2.6	INSTRUMENTÁLNÍ NEUTRONOVÁ AKTIVAČNÍ ANALÝZA (INAA) ..	55
4.2.7	RENTGEN-FLUORESCENČNÍ ANALÝZA (XRF)	56
4.2.8	HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S BUZENÍM V INDUKČNĚ VÁZANÉM PLAZMATU (ICP – MS)	57
4.2.9	METODY KOLORIMETRICKÉ.....	57
4.3	METODY ELEKTROCHEMICKÉ	57
4.3.1	VOLTAMETRIE A POLAROGRAFIE.....	58
4.3.2	POTENCIOMETRIE.....	59

4.4	NEJČASTĚJŠÍ METODY STANOVENÍ OLOVA, RTUTI A KADMIA	59
4.5	MONITORING TOXICKÝCH PRVKŮ V HOUBÁCH.....	60
5	ZÁVĚR	63
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	65
	SEZNAM OBRÁZKŮ	70
	SEZNAM TABULEK.....	71

ÚVOD

V přírodě se vyskytují jak houby, které člověk vyhledává pro kulinářské úpravy, tak i houby parazitující, které člověka naopak připravují o úrodu v zemědělství a lesnictví. Závažná onemocnění nepatří jen do patogenních hub, ovšem i těch volně rostoucích - právě obsahem toxických látek [1]. I když velká škála hub je zařazována do kategorie plísně (mikromycety), tato práce se věnuje houbám (mushrooms, fungi), z hlediska výživy člověka, vyšším. Je zkoumán obsah toxických prvků ukládaných v plodnicích hub v závislosti na lokalitě a podloží jejich růstu.

Volně rostoucí houby jsou velmi oblíbenou pochoutkou v mnoha zemích. Roční spotřeba je u některých jedinců i více než 10 kg. Protože jsou houby významné pro svou typickou texturu a chuť, je na místě zvážit, jak vysoké jsou příjmy toxických kovů [2]. V minulosti se u nás houbám říkalo „maso chudých“. Mohl si je dovolit každý, a tak měly významnou úlohu v obživě chudých obyvatel [3].

V České republice chodí na houby asi 72 % rodin, roční spotřeba na domácnost připadá 7 kg. Tato informace je však z první poloviny roku 1990 [4]. V roce 2006 se spotřeba ještě zvýšila na 8,2 kg nasbíraných hub na jednu českou domácnost. Procentuální zastoupení se nezvýšilo. Český národ vyšel v průzkumu ve sběru hub jako nejvíce aktivní, patrně i díky tomu, že jej Češi vnímají jako volnočasovou aktivitu [3]. V naší oblasti je však spousta bývalých těžebních dolů rud, průmyslových a hutních oblastí. Zde můžeme očekávat v houbách větší výskyt olova, rtuti, kadmia ale i zlata a stříbra aj. [4].

Houby jsou známé kumulací těžkých kovů ve svých pletivech. Díky rozborům mnoha druhů byly v některých houbách zjištěny toxické prvky v takové míře, že při konzumaci by překračovaly hranice toxicity. I přes to se, za běžných ekologických podmínek, není čeho obávat, jedná se o sekundární toxicitu. Případná toxicita plodnic hub je silně závislá na jejich životním prostředí. Celá řada oborů toxikologie do svého centra pozornosti zahrnuje i houby [5].

Kromě běžných toxických prvků jsou v houbách rizikové i radioaktivní izotopy. Nejvíce jsou postiženy houby volně rostoucí, a to zejména v oblastech radioaktivního spadu po černobylské havárii v dubnu roku 1986. Česká republika mezi takto nejvíce postižené země naštěstí nepatří. Radioaktivní prvky, které mohou způsobit zdravotní rizika, jsou zaznamenány nejen v houbách, ale i v mase lesní zvěře, která se takto kontaminovanými houbami živí. Když

vidíme, jak dlouho se radioaktivní prvky ve tkáních volně žijící zvěře drží, dokážeme si představit, jaké by to bylo v případě člověka, který by měl volně rostoucí kontaminované houby v jídelníčku častěji, než je zdravo [6].

1 BOTANICKÉ CHARAKTERISTIKY HUB

1.1 ZAŘAZENÍ HUB DO SYSTÉMU ŽIVÝCH ORGANISMŮ

Houby (skupina eukaryotických, heterotrofních stélkatých organismů) mají samostatnou říši, neřadí se mezi rostliny. Je to dáno tím, že houby se rozmnožují převážně pomocí výtrusů a navíc nemají chlorofyl neboli listovou zeleň. Nedokáží tedy přijímat energii pomocí fotosyntézy. Rostliny v tomto autotrofním procesu přijímají energii ze světelného (slunečního) záření a tepla (syntéze) k vyrobení energeticky bohatých organických sloučenin z jednoduchých anorganických látek – oxidu uhličitého a vody. Houby jsou organismy, které získávají energii heterotrofním způsobem (přijímají organické látky ze živých nebo odumřelých těl rostlin a živočichů, případně i příjmem ze symbiotického vztahu zvaný mykoriza) [7].

Klasifikace hub se stále vyvíjí, v posledních desetiletích nastaly poměrně výrazné změny ve vyšších i nižších kategoriích neboli systematických jednotkách. Zjistilo se, že morfologie, ontogeneze a způsob rozmnožování není vhodným ukazatelem rozdělení hub. Toto je ale stále uplatňováno, i když molekulární genetické a biochemické metody byly zdokonalené. Na základě těchto nových metod vznikla v začátcích 90. let 20. století molekulární systematika hub, jejímž výsledkem je řada nejvyšších systematických jednotek.

V dnešní době se rozděluje systém říše hub (Fungi) následovně:

- oddělení: chytridiomycety (Chytridiomycota)
- oddělení: mikrosporidie (Microsporidiomycota)
- oddělení: zygomycety (Zygomycota)
- oddělení: houby vřeckovýtrusné (Ascomycota)
 - třída: hemiascomycety (Hemiascomycetes)
 - třída: houby vřeckovýtrusné (Ascomycetes)
 - pomocná skupina: deuteromycety (Deuteromycetes)
- oddělení: houby stopkovýtrusné (Basidiomycota),
 - třída: Heterobasidiomycetes
 - třída: Homobasidiomycetes

Odhaduje se, že existuje 250 – 300 tisíc druhů hub, musíme však brát v potaz i mikroskopické houby, které toto číslo nadsazují. I tak ale studie říkají, že počet druhů hub je vyšší než počet druhů rostlin. Přesně zařazeno však bylo asi jen 75 tisíc druhů hub a organismů

houbového charakteru [1]. Zhruba 25 000 druhů tvoří makroskopické houby. Vyjma Antarktidy je můžeme najít po celém světě [7].

1.2 VÝŽIVA HUB

Podle způsobu přijímání živin se mohou houby rozdělit do čtyř základních ekologických skupin:

1. **Saprofytické houby** mohou díky svým enzymům rozkládat organickou hmotu (dřevo, opadané listy a jehličí nebo zbytky rostlin) [3]. Spolu s bakteriemi umí pomocí enzymů rozložit celulózu, lignin, chitin, kreatin a jiné těžko rozložitelné látky, z nichž se následně vyživují. Z pěstovaných hub se řadí do této skupiny především žampiony [7].
2. **Parazitické houby** přijímají živiny ze svého živého hostitele, což po čase vede k jeho smrti. Ohroženy jsou zejména chráněné dřeviny [3]. Dále tyto houby můžeme dělit na obligátní (bez hostitele nepřežijí) nebo fakultativní (žijí saprotrofně, ale dokáží i parazitovat) [7].
3. **Saproparazité**, neboli fakultativní parazité, nerozlišují živiny ze živého či mrtvého hostitele. Dokáží usmrtit část nebo rovnou celé ho hostitele, aby jeho hmota mohla být zdrojem živin. Poté roste houba saprofytně [3].
4. **Mykorizní houby** žijí naopak v symbiotickém vztahu mezi houbou a rostlinou. Kořenový systém je propojený s myceliem hub a probíhá tak transfer živin. Houba dostává od rostliny (keře, nejčastěji stromu) především organické látky, rostlina z ní naopak čerpá vodu, vitaminy a některé anorganické prvky, nejčastěji fosfor a dusík [3]. S pomocí vody získané od houby rostlina může lépe přežít v období sucha [7].

Velké houby se nejčastěji řadí do poslední skupiny. Jejich způsob čerpání živin se jmenuje ektomykoriza (ektotrofní mykoriza). Kořínky symbiotické rostliny jsou obaleny myceliem, které vytvoří na jejich povrchu plášť. Hyfy mohou prorůst do mezibuněčného prostoru povrchových buněk kořene [3]. Tento jev je typický zvláště pro hřibovité houby, holubinky, ryzce, vzácněji pak třeba i pro lanýže z rodu *Tuber* [7].

1.3 VÝZNAM HUB

V přírodě se houby významným způsobem podílí na koloběhu prvků a čtených živin. Jsou důležitými rozkladači organické hmoty, která je produkována činností rostlin. Houby vytvářejí humus a organické látky postupně mineralizují. Tímto koloběhem jsou zpětně

rozkládány rostlinné a živočišné odpady a pozůstatky na látky anorganické. V ekosystému jsou nepostradatelné při rozkladech celulózy, ligninu, chitinu, keratinu a jiných obtížně se rozkládajících látek [1, 8].

Další pozitivní stránkou může být i uplatnění jejich biotechnologických vlastností. Houby se používají při výrobě léků, enzymů, kyseliny citronové, vitaminů, růstových látek atd. Navíc se využívají i pro výrobu herbicidů na biologické bázi, které nahrazují některé herbicidy chemické. Vynikají také schopností rozkládat některé látky znečišťující půdu, jelikož dokáží absorbovat širokou škálu škodlivin [1].

2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ HUB

2.1 VODA A SUŠINA

V houbách, stejně jako v potravinách obecně, se voda vyskytuje ve formě volné, neboli kondenzované. Obsah vody je značně vysoký, průměrně bývá okolo 90 %. To závisí na druhu hub a rovněž na vnějším prostředí. Můžeme jej srovnat s obsahem vody u některých druhů zeleniny (např. zelí, hlávkový salát a rajčata) nebo i s mlékem [6].

Ve zbývajících 10 % sušiny můžeme najít 20 - 25 % bílkovin, 2 - 3 % lipidů, 8 - 12 % minerálních látek a v různém zastoupení sacharidy, obvykle 30 - 65% [7].

Při kulinářských úpravách dochází ke ztrátě obsahu vody, asi od 11 do 30 %, a tím procentuální podíl sušiny roste. Pro účely dlouhodobého uskladnění se používají houby vysušené s obsahem vody do 15 %. Ty pak zase vykazují značnou hygroskopicitu (absorpci vzdušné vlhkosti z okolního prostředí), která je způsobena vysokým obsahem bílkovin a polysacharidů v houbách [6].

Pro přípravu 1 kg sušených hub je třeba cca 9 kg čerstvých zdravých hub. Při dehydrataci dochází k velkému úbytku vody z 90 % na 5 % a omezení výskytu mikroorganismů. Poté je vhodné houby skladovat v tmavých lahvích se šroubovacím uzávěrem v temnu a chladnu. Správně řízeným procesem sušení a skladování neztrácíme řadu vitaminů (např. vitaminy B a D), vlákninu a minerální látky (např. vápník, hořčík, draslík). Je obecně vnímáno, že ideálně usušené houby se nelámou a neohýbají [7].

Sušina se vyjadřuje v hmotnostních procentech nebo se uvádí v miligramech na 100 g či na kilogram (mg/100g či mg/kg). Celková sušina hub je tvořena základními složkami, kterými jsou dusíkaté látky, lipidy, popel, vláknina a ostatní sacharidy.

Obsah jednotlivých složek se uvádí buď v čerstvé hmotě, nebo v sušině. Protože se přesný obsah vody často nepodaří zjistit, pro přepočítání se běžně používá průměrná hodnota sušiny hub 10 %. Takový přepočítání může být ale zatížen jistou chybou, pokud se skutečný obsah vody v daném vzorku výrazně liší.

Z hlediska lidské výživy sušina obsahuje:

- základní živiny, jako jsou dusíkaté látky, sacharidy, lipidy
- minerální látky
- vitaminy
- minoritní složky (např. vonné látky, barviva, enzymy)
- příznivě působící látky (antioxidanty)
- zdravotně škodlivé látky

Do dusíkatých látek řadíme bílkoviny, peptidy, volné aminokyseliny a některé heterocyklické sloučeniny. Dusík obsažen v dusičnanech a dusitanech patří spíše do látek minerálních. Sacharidy zahrnují zásobní polysacharid glykogen, stavební polysacharid chitin, a také monosacharid glukosu, disacharid trehalosu, cukerný alkohol mannitol a další. Vláknu můžeme charakterizovat jako nestravitelné polysacharidy. Mezi lipidy nalezené v houbách patří tuky tuhé, kapalné oleje, vosky, složené lipidy nebo doprovodné látky lipidů. Minerální látky jsou tvořeny anorganickými sloučeninami různých prvků. Jejich celkový obsah je vyjádřen obsahem popela. Vitaminy nalezené v houbách patří většinou do skupiny B, některé druhy však obsahují i významné procento vitamínu C [6].

Vzhledem k vysokému obsahu vody a naopak nízkým hodnotám lipidů a glykogenu jsou houby řazeny k nízkoenergetickým potravinám [6]. Energetická hodnota hub se pohybuje okolo 350 – 400 kcal/kg čerstvé hmoty [7]. Díky zastoupení všech důležitých živin, včetně nezanedbatelného obsahu minerálních látek, se však dá konstatovat, že houby své významné místo ve výživě člověka mají [6].

2.2 AMINOKYSELINY, PEPTIDY, BÍLKOVINY

Houby jsou bohatým zdrojem bílkovin, jejichž stavebními jednotkami je převážně dvacítká základních aminokyselin přítomných i v ostatních potravinách. V hojné míře jsou zastoupeny například alanin, arginin, glycin, histidin, kys. glutamová a asparagová, prolin a serin [6]. Zatímco obsah aminokyselin esenciálních, ve výživě člověka nezbytných, jako je izoleucin leucin, isoleucin, lysin, methionin, threonin, tryptofan a valin, je většinou podstatně nižší, jsou známy i případy opačné [9]. Například histidin, tryptofan a arginin jsou v hříbech nebo žampionech zastoupeny mnohem více než v mase [10]. Kromě těch základních, houby obsahují ještě dalších zhruba 700 druhů aminokyselin. Bohužel, ne všechny nebílkovinné aminokyseliny, peptidy a určité bílkoviny jsou pro člověka příznivé [6].

Obsah bílkovin závisí na stáří (v mladých je jich nejvíce) a na druhu hub. Například v určitých druzích žampionů nalezneme cca 25 % bílkovin v sušině, kdežto v prášku suchohříbu hnědého až 35 %. Člověk dokáže z jedlých hub zužitkovat 70 – 90 % bílkovin. Lepšího příjmu docílíme, když houby nakrájíme nadrobno, případně umeleme na prášek. Bez ohledu na přípravu, více ovlivňuje stravitelnost druh houby. Například kuřátka, václavky nebo hlíva mají stravitelnost nižší než žampiony, ze kterých přijmeme skoro 90 % [10].

Volné aminokyseliny a peptidy se v houbách vyskytují v mnohem menší míře než vázané. Volné jsou v sušině zastoupeny v hodnotách do 1 %, což odpovídá přibližně jedné dvacetině (5 %) z celkového množství vázaných aminokyselin. Volné aminokyseliny se však výrazně podílí na organoleptických vlastnostech hub – zvýrazňují chuť a vůni (např. kyselina glutamová, alanin).

Bílkoviny se v houbách tvoří z anorganických substrátů, jako je voda, oxid uhličitý a sloučeniny dusíku (nejčastěji dusičnany neboli nitráty), které získávají z podloží, na kterém rostou. Tvorbou bílkovin se liší od živočichů, kteří neumí vyprodukovat základní aminokyseliny pro jejich tvorbu. Živočišné bílkoviny jsou považovány za cennější, jelikož v jejich drtivé většině je plnohodnotné zastoupení esenciálních aminokyselin. Rostlinné bílkoviny je ve výživě člověka díky tomuto nedostatku nutné správně kombinovat. Doporučená denní dávka bílkovin je 0,8 až 1 gram na kilogram tělesné hmotnosti, pro děti je doporučována dávka dokonce 3x vyšší. Konzumací hub bychom takového množství dosáhli poměrně těžko.

Celkový obsah dusíkatých látek v houbách je díky rozmanitosti jejich druhů velmi různorodý. Například ve vzorcích 52 druhů hub se tento údaj pohyboval v rozsahu 14 až 52 % (v sušině). Průměrný obsah dusíkatých látek zde byl stanoven ve výši 32,6 %. Použijeme-li pro tuto analýzu metody kjeldahlizace, získanou hodnotu obsahu organického dusíku obvykle přepočítáváme na dusíkaté látky pomocí faktoru 6,25, čímž získáme hrubé bílkoviny. U hub se takto ale dopouštíme chyby až do výše 4 %, protože významnou organickou složkou obsahující dusík je zde i dusíkatý polysacharid chitin. Díky němu jsou takto přepočtené hodnoty obsahu bílkovin nadhodnocené [6].

2.3 SACHARIDY

V houbách se vyskytuje celá řada sacharidů, od jednoduchých až po stavební polysacharidy. Z monosacharidů výrazně převažuje glukóza. Jako základní stavební jednotku ji můžeme hledat nejčastěji v disacharidech, z nichž je velmi významná trehalosa, která se

skládá ze dvou glukóz. Glukózu dále najdeme v glykogenu, zásobním polysacharidu, který není typický pro rostliny, ale pro živočichy. V houbách se vyskytuje v zastoupení 5 – 10 % v sušině. Z dalších sacharidů najdeme v houbách ještě manitol, zvaný taky cukerný alkohol, který je potřebný pro zpevnění třeně a objemový růst plodnice.

Při procesu stárnutí čerstvých hub dochází k degradaci glukosy a glykogenu a jejich obsah klesá. Proto při skladování je nutno zamezit výměně vzduchu v jejich okolí. Při vaření hub jsou zase větší úbytky obsahu trehaosy a mannitolu, než u sušení a zmrazení.

Stavební polysacharidy (vláknina) se podílí na stavbě buněčné stěny hub. Nejznámějším z nich je chitin se stavební jednotkou chitosamin, neboli 2 – glukosamin. Je na něj vázána mimo jiné kys. octová. Chitin, stejně jako glykogen, je typickým polysacharidem živočichů. Tento fakt byl zřejmě jedním z mnoha dalších, proč byly houby vyřazeny z říše rostlinné a byla jim vytvořena říše zvláštní. Kromě chitinu jsou velmi významné i beta-glukany, o které je v dnešní době stále větší zájem.

Vláknina hub obsahuje i další stavební polysacharidy – různé hemicelulosity a pektinové látky. Ty ale zatím nebyly podrobněji zkoumány.

Zařazením hub do jídelníčku si pomůžeme zvýšit denní příjem vlákniny, který by měl být pro dospělého člověka 30 – 40 g. Jsou totiž bohatým zdrojem polysacharidů, a to hlavně nerozpustné vlákniny (25 – 40 % v sušině). Rozpustné vlákniny v houbách moc není, jen cca 5 % v sušině. Hmotnostní poměr rozpustné a nerozpustné vlákniny z přijaté potravy má být zhruba 1:3, čili houby toto doporučení téměř splňují. Bohužel, vyšší obsah nerozpustné vlákniny (např. chitin) snižuje využitelnost minoritních složek hub, např. vitaminů, stopových prvků apod. [6]

Pro celkový nízký obsah cukrů jsou houby, jako vhodné doplnění stravy, doporučovány diabetikům. Naopak zdravotním rizikem může být konzumace mladých hub pro lidi s poruchou enzymu trehalasa, neboť mladé houby mají obsah tohoto disacharidu vyšší a tito lidé jej nedokáží strávit [10].

2.4 LIPIDY

Podobně jako ovoce a zelenina nejsou houby příliš dobrým zdrojem lipidů. Zvláště pak nenasycených mastných kyselin, jmenovitě kyseliny alfa-linolenové. Vesměs všechny nasycené i esenciální nenasycené mastné kyseliny jsou zastoupeny v nízkých hodnotách, a tak

z výživového hlediska houby nepředstavují bohatý zdroj lipidů. V čerstvé hmotě hub je cca 0,2 – 0,6 % lipidů, v sušině pak 2 – 6 %. Najdeme zde lipidy neutrální (jednoduché - triacylglyceroly) a polární (složené – fosfolipidy, především glycerolfosfáty). Neutrální lipidy plní své funkce jako zdroj a zásoba energie, kdežto polární jsou potřeba jako stavební složky podílející se na vlastnostech buněčných membrán.

Otázka, zda se v houbách vyskytují trans-mastné kyseliny, není doposud s jistotou zodpovězena. Ovšem, u dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin běžně nalezneme konfigurace "cis". Taktéž fosfolipidy jsou málo prozkoumány. Ví se však, že obsah lecitinu (fosfatidylcholinu) u některých hub nebyl vůbec prokázán.

Do skupiny doprovodných látek lipidů lze zařadit látky rozpustné v tucích, které dokáží při extrakci přejít z připraveného vzorku hub do rozpouštědla. Chemicky se od lipidů liší, jsou to především lipofilní vitaminy, barviva, přirozené antioxidanty a steroly. Ty se dělí na živočišné (zoosteroly), rostlinné (fytosteroly) a významné pro houby a plísňe (mykosteroly), z nichž v houbách můžeme najít ergosterol s přítomností 60 – 70 % hmotnosti z přítomných sterolů. V plodnicích není ergosterol rozložen rovnoměrně – od výtrusové vrstvy směrem ke třeni jeho obsah klesá. Dále pak v houbách najdeme ergokalciferol, neboli provitamin vitamínu D₂, fungisterol a erfosta-7,5-dienol [6].

2.5 MINERÁLNÍ LÁTKY

Do minerálních látek řadíme anorganické sloučeniny prvků, jako jsou sodík, draslík, vápník, hořčík, fosfor, chlor, síra a v některých případech i železo a selen. V houbách jsou prvky vázány v různých chemických formách, není však doposud dostatečně prozkoumáno v jakých. Pro výživu je tato informace poměrně důležitá z hlediska probiologické využitelnosti. Kvůli vysokému obsahu chitinu bude využitelnost minerálních látek omezená [6, 7].

Celkový obsah minerálních látek ve sloučenině se stanovuje po spálení zkušebního vzorku jako hmotnost popelovin. Pro stanovení jednotlivých prvků se pak tento popel podrobuje další analýze [6]. Běžně se v houbách pohybuje obsah popela v rozmezí 60 – 120 g.kg⁻¹ v sušině. Větší obsahy se, oproti pěstovaným, objevují ve volně rostoucích houbách. Důvodem může být na prvky bohatý substrát [11].

2.5.1 NEJČASTĚJŠÍ PRVKY MINERÁLNÍCH LÁTEK V HOUBÁCH:

Z minerálních látek v houbách převládá právě draslík. Naopak vápník a sodík bývají obsaženy v minimálním množství. Samozřejmě existují i výjimky, které se vyskytují např. u druhů rodu *Morchella*. Draslík není distribuován v plodnicích rovnoměrně. Jeho obsah klesá od klobouku směrem k výtrusové části (klobouk > třen > výtrusová část bez výtrusů > výtrusy). Draslík je v plodnicích vysoce akumulován, obvykle je jeho obsah 20 až 40 krát vyšší než v substrátu. Podobně se chová i fosfor, ovšem nemá až takovou akumulaci schopnost jako draslík [11]. Obsahy fosforu jsou individuální, hodně záleží na složení substrátu. Funkce fosforu a chloru nejsou po stránce využitelnosti pro houby samotné plně objasněny. Zkoumají se proto chemické formy a v jakých formách jsou vázány. V houbách se nerovnoměrně ukládá vápník, síra a hořčík. Vápník se hromadí převážně ve třeni hub, síra naopak v klobouku. Hořčík se ukládá více ve výtrusové vrstvě a méně pak ve třeni a klobouku bez výtrusové vrstvy, kde jsou si tyto hodnoty podobné. Liší se ale tím, že v plodnicích nekumuluje.

V porovnání s rostlinami mají houby větší obsahy draslíku a fosforu, ale také mědi a selenu, u kterého je využitelnost poměrně nízká, u mědi využitelnost není jistá [6].

Tab. 1 Obvyklé obsahy významných minerálních prvků ve volně rostoucích a pěstovaných houbách v sestupném pořadí [11]

Minerální prvek	Obsah (g.kg ⁻¹ v sušině)
Draslík	20 – 40
Fosfor	5 – 10
Chlór	1 – 6
Síra	1 – 6
Hořčík	0,8 – 1,8
Vápník	0,1 – 0,5
Sodík	0,1 – 0,4

2.6 VITAMINY

V houbách nalezneme vitaminy rozpustné ve vodě (hydrofilní) i v tucích (lipofilní). Mezi hydrofilní například patří: thiamin - B₁, riboflavin – B₂, niacin – B₃, biotin – B₇, cobalamin – B₁₂, kyselina listová – B₉, kyselina askorbová – C. Do skupiny lipofilních lze zařadit například vitamin ergokalciferol - D₂. Není prokázáno, že by houby ztrácely obsah vitaminů během

konzervace, skladování a tepelných úprav [6, 7]. Pro zajímavost, bylo prokázáno, že v pečárce lesní je více vitamínu C než v citronové dužině [10].

2.7 MINORITNÍ SLOŽKY

Do skupiny minoritních složek lze zařadit karboxylové kyseliny, fenolové sloučeniny, polyaminy aj. Patří sem tedy vonné látky a barviva, které jsou významné pro sensoriku hub.

Vonné látky v houbách rozdělujeme na těkavé (poskytují aroma typické pro houby) a netěkavé (mj. sem patří tyto skupiny: deriváty oktanu a oktenu, nižší terpeny, benzaldehyd a příznivé látky, sirné sloučeniny a ostatní).

Barviva (pigmenty) nejsou v houbách plně prozkoumány. Najdeme je uvnitř buňky nebo vyloučené mimo buňky a pletiva. Barvy jsou odlišné díky různorodosti hub a místům, ve kterých se nacházejí (např. na prosvětlených místech najdeme spíše houby bílé a světle hnědé, kdežto na místech zastíněných budou mít pestré plodnice plné barev). Barevná intenzita klesá se zvyšováním stáří plodnice, teploty a tedy i přísunem světla. Jako ochrana před UV zářením se mohou podílet právě i některá barviva, která mohou mít vliv i na životní pochody houby. Neovlivňují tedy jen jejich vzhled.

Nejnámější jsou karotenoidy (od žluté až po červenou barvu) a chinonová barviva (modrá s přechody přes růžovou až do hnědé, šedivé nebo černé). Změna zbarvení po mechanickém rozkrojení houby je způsobena oxidací fenolických látek v houbách vzdušným kyslíkem po narušení pletiva. Právě vznik o-chinonu objasňuje změny barev.

Přestože enzymy řadíme spíše k bílkovinám, díky jejich malému obsahu v houbách je může řadit mezi minoritní složky. Bez enzymů by houby nemohly existovat. Zúčastňují se v houbách mnoha pochodů a procesů - katalyzující, rozkládající, mineralizační. Enzymy hub jsou často zkoumány, dají se izolovat z mycelia hub pěstovaných nebo i volně rostoucích [6].

2.8 TOXICKÉ A DALŠÍ STOPOVÉ PRVKY

V přírodě, ve volně rostoucích houbách, jsou koncentrace toxických prvků dosti vysoké i v případě, že je míra znečištění v půdě nízká. Kumulace prvků je druhově specifická, ovšem je dokázán vyšší obsah těžkých kovů v hutních oblastech. Navíc, kumulace je i ovlivňována hodnotami pH, obsahem organické hmoty substrátu a stářím houby [2].

Houby mohou prvky přijímat několika způsoby – ionty, soli nebo minerální látky rozpuštěné ve vodě, uvolňující se zvětráváním z kamenů, písků a půdy. Také je nalezneme v organických a anorganických molekulách nebo jako formy částic v ovzduší. Jak přírodní, tak antropogenní procesy způsobují předávání kovů do ovzduší (ve formě aerosolů a prachových částic) i vod. Houby tedy vynikají účinným mechanismem, který jim umožňuje přijímat těžké kovy z ekosystému více, než mohou zelené rostliny ve stejných podmínkách [12].

Je patrné, že stáří mycelia a obsah kovů v plodnicích hub je důležitým faktorem při určování toxických prvků v houbách. Pokud z mycelia z pěstovaných hub sklídíme první sklizeň, analytickými metodami zjistíme, že tato první sklizeň obsahovala nejvíce kovů, oproti sklizni druhé. Jenže v přírodě nedokážeme posoudit stáří mycelia, odhadem řekneme, že jsou to desítky let. Pokud se houby pěstují, je mycelium staré jen několik měsíců. Je to tedy podstatná informace pro houbaře. Pokud volně rostoucí houby dlouho nerostou, může to být i několik let, dá se předpokládat vysoký obsah kovů v první vlně plodnic [6].

Jedna ze studií se snažila prokázat souvislosti mezi těžkými kovy v houbách a hnojením dřevěným popelem. Výsledkem ale bylo, že popel ze dřeva akumulaci toxických látek neovlivňuje [13].

Dosud se příliš neví, proč houby vyžadují tolik prvků pro své životní pochody. Je prokázáno, že rozdíly v množství jejich přijímání do jisté míry závisí na rodu hub. Prvky jsou přijímány z podhoubí neboli mycelia. To nalezneme ve svrchní části organické vrstvy rozkládajícího se odpadu jehličí a listů, v půdě jen minimálně. V plodnicích nejvíce kumuluje kadmium, rtuť a měď. Poměr obsahu stopového prvku v sušině plodnice a obsahu téhož prvku v substrátu se nazývá bioakumulační faktor. Faktor kadmia je 50 – 300, rtuti 30 – 500. To znamená, že těchto kovů je mnohem více v plodnicích než v substrátu. U olova je tomu naopak, bioakumulační faktor má hodnotu několik desetin, příp. setin. Zinek a mangan mívají bioakumulační faktor blízký hodnotě 1, to znamená, že obsah těchto prvků je v plodnicích hub zhruba stejný, jako je v substrátu [6].

2.8.1 ZDROJE A CESTY ZNEČIŠTĚNÍ

Díky vývoji moderní techniky se rapidně zvýšila produkce neželezných kovů (beryllium, titan, germanium, galium, vanad, selen, molybden, wolfram). V dnešní době stále více nachází své uplatnění také klasické barevné kovy (hliník, olovo, měď, nikl, chrom, antimon

a rtuť). Tím se pochopitelně mění životní prostředí člověka – ovzduší, voda, půda i potraviny. Zvyšují se tak nedostatky hygienických norem [14].

Míra znečištění životního prostředí byla v řadě prací studována právě na houbách. Jako biologické indikátory se osvědčily zejména helmovka ředkvičková, čirůvka fialová a pýchavka obecná. O něco věrohodněji prokazují znečištění rovněž některé druhy mechů. Studie potvrdily zvýšené obsahy zdravotně rizikových kovů zejména v blízkosti bývalých i současných hutí, čistíren odpadních vod i uvnitř velkých měst či míst s vysokou prašností [6].

Látky organického původu se časem chemicky rozloží díky činnosti bakterií a plísní. Kovy se však ukládají do povrchových vrstev půd, jelikož na ně nepůsobí chemické degradace. V přírodě se můžeme běžně setkat s případem, kdy se část toxických kovů vazbou spojí s organickými látkami, což způsobují právě půdní mikroorganismy i vodní mikroflóra. Toto propojení může výrazně změnit nebo znásobit jejich toxicitu – např. rtuť a arzen [14].

2.8.2 ROZDĚLENÍ STOPOVÝCH PRVKŮ A JEJICH VYUŽITELNOST

Ať už v přírodě nebo v jakémkoliv živém mikroorganismu, prvky se vzájemně ovlivňují a dochází k interakci s dalšími organickými látkami. Nemůžeme je tak v potravě jednotlivě stanovovat bez uvážení, ale musíme řešit i jejich využitelnosti pro organismus.

Je tedy vhodné stopové prvky rozdělit do 4 skupin:

- Esenciální – nezbytné pro vyšší životní druhy (Fe, I, Cu, Zn, Mn, Co, Mo, Se, Cr, Sn)
- Pravděpodobně esenciální – nezbytnost není zcela prokázána (Ni, P, Br, V, Cd, Ba, Sr)
- Neesenciální – vyskytují se v metabolických procesech a v živých tkáních (Al, Sb, Ge, Si, Ag, Au, Bi, Ti, Rb a další)
- Toxické – i malá koncentrace může mít toxický účinek (As, Cd, Pb, Hg).

Skupina prvků neesenciálních obvykle slouží k rozpoznání kontaminace životního prostředí. Toxickými prvky mohou být všechny prvky, jestliže jsou přijímány ve významně vysokých dávkách a po dostatečně dlouhou dobu. Tento vztah je znám jako Bertrandův zákon. Byl formulován před více než šedesáti lety a vyjadřuje závislost mezi dávkou, dobou expozice a účinkem na organismus.

Vztah dávky a účinku má pro jakýkoliv prvek 3 fáze působení:

- normální biologická aktivita
- stimulace a podráždění některých funkcí
- toxické působení prvku končící smrtí

Na využitelnost daného prvku v lidském organismu má často vliv i jeho valenční forma, např. chrom s oxidačním číslem III je, na rozdíl od ostatních jeho forem, biologicky aktivní.

Vstupování toxických prvků do potravinového řetězce je s rozvojem civilizace stále častějším jevem. Je proto třeba systematicky sledovat zejména:

- kontaminaci půdy a spodní vody způsobenou průmyslovými hnojivy, pesticidy a technologickými odpady z továren a měst
- kontaminaci ovzduší průmyslovými exhalacemi a emisemi z dopravy
- kontaminaci potravin vlivem jejich zpracování a uchovávání (obalová technika) [14].

Volně rostoucí houby jako významná součást lidské potravy všechny tyto kontaminace mohou ve svém složení odrážet, proto je žádoucí jejich pravidelný monitoring hlavně z hlediska toxických prvků.

2.8.3 JEDNOTLIVÉ RIZIKOVÉ PRVKY V HOUBÁCH

V plodnicích hub nalezneme širokou škálu stopových prvků. Hodnoty zastoupení se uvádí v hodnotách ppm (parts per milion = miliontina z celku; $1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg.kg}^{-1} = 1 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$) nebo ppb (parts per bilion = biliontá část celku; $1 \text{ ppb} = 1 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1} = 1 \text{ ng.g}^{-1}$) v sušině plodnice [15].

Často jsou mezi stopové prvky řazeny i mikroelementy, jejichž denní potřeba může dosahovat až několika desítek miligramů. Měli bychom do stopových prvků řadit jen takové minerální látky, které se svou denní potřebou pohybují řádově v mikrogramech. V minulosti se označovaly jako stopy i mikroelementy, protože analytické metody neumožňovaly jejich kvantitativní stanovení [16].

Někteří autoři zařazují železo a selen mezi minerální látky (mikroelementy). Domnívají se, že tyto prvky jsou nezbytné pro metabolické děje stejně jako základní minerální látky. V houbách se železo vyskytuje, oproti selenu, v několikanásobném množství, není tedy využíváno jen pro základní funkce, ale je do hub koncentrováno a absorbováno i bez ohledu na základní potřeby.

ANTIMON - Sb

Podobně jako arsen se antimon v houbách vyskytuje v malých koncentracích. Často jen v desítkách ppb, pokud se houby nenacházejí v oblastech se zvýšeným výskytem tohoto prvku. Například, v některých oblastech České republiky můžeme očekávat až stovky ppb, konkrétně na Příbramsku. Zvýšenou pozornost bychom měli věnovat hříbu peprnému (*Chalciporus piperatus*) a některým druhům klouzku (*Suillus*). I v čistých oblastech jsou totiž schopny nakumulovat jednotky ppm, v kontaminovaných místech můžeme očekávat hodnoty nad tisíce ppm [15].

Z hlediska toxicity nadměrných dávek antimonu je dobré se vyvarovat rozpustným sloučeninám, neboť jsou silně toxické. Smrtelná dávka se zmiňuje mezi 100 – 200 mg [17].

Formy antimonu se mohou vyskytnout i v jiných podobách. Například u hříbu hnědák - Schweinitzův (*Phaeolus schweinitzii*) byla zjištěna schopnost antimon methylovat. Jistě toto umí i jiné druhy hub a antimon i arsen mohou být v plodnicích také vázány na organické molekuly (antimonbetain) [15].

ARSEN - As

Druhová specifita hub je velká, a proto jsou i velké rozdíly v kumulaci arsenu. Ví se, že saprotrofní houby obsahují vyšší hodnoty arsenu (jednotky ppm) než mykorhizní houby (do 1 ppm). Z nich arsen výrazně akumulují právě některé druhy mykorhizní hub, konkrétně lakovky (*Laccaria*). I když lakovky obsahují desítky až stovky ppm, existují vzácné mykorhizní houby (*Sarcosphaera coronaria*), u kterých se prokázala hyperkumulace arsenu, kde můžeme objevit stovky až tisíce ppm.

I tak arsen z plodnic nepředstavuje takové riziko, jelikož se vyskytuje v organických sloučeninách, které nejsou toxicky natolik vážné (arsenobetain). Díky chemickým formám si můžeme dovolit přiměřenou konzumaci běžných druhů hub, pokud jsou sbírány z nekontaminovaných oblastí. Zabráníme tak akutním nebo chronickým zdravotním problémům [15].

Rozhodně bychom neměli překročit příjem arsenu nad 120 mg, tato dávka je totiž smrtelná. Pokud budeme vystaveni vyšším dávkám delší dobu, projeví se chronická otrava v CNS. Můžeme také očekávat cirhózu jater a nefritidu. Pokročilá stádia delší expozice končí nádorovým bujením kůže, plic a horních cest dýchacích [17]. To však u konzumaci hub nehrozí.

CHLOR – Cl

Chlor je v elementární formě pro živé organismy (živočichy, rostliny a mikroby) toxický [17]. Nalezneme jej v houbách ve formě chloridů v množství od stovek až po první tisíce ppm. Absolutně mimo odchylku se vyskytují se svými hodnotami chloru muchomůrky. V plodnicích mají kolem 1 – 2,5 hmotnostních procent [15].

KADMIUM – Cd

Houby s vysokým obsahem kadmia jsou velmi nebezpečné, běžný obsah se ale pohybuje v jednotkách ppm [15]. V těle houby je kadmium rozložené nerovnoměrně (výtrusové vrstvy mají největší obsah, méně je ho v klobouku a nejmenší obsahy jsou ve třeni) [18].

Pro vysoké obsahy tohoto vysoce toxického prvku se nedoporučuje jíst pečárky (*A. arvensis*, *A. sylvicola*) v západoevropských zemích. Běžně se hodnoty pohybují v desítkách ppm, ale jsou schopny kumulovat až stovky ppm. Podstatná je i chemická vazba v plodnicích. Ojedinělé druhy pečárek totiž obsahují fosfoglykoprotein neboli kadmium-mykofofatin [15]. Kromě pečárek jsou hodnoty nad 10 ppm spíše u čeledi žampionovité a čirůvkovité. Výjimky tvoří obsahy 100 – 299 ppm [18].

Není dostatečně prozkoumáno vstřebávání vysokých dávek kadmia z hub a tím nejsou zodpovězena všechna zdravotní rizika [15]. Po požití 10 mg kadmia můžeme pozorovat zvracení, poškození trávení, jater a ledvin. Kadmium se do potravy dostává mimo jiné přes fosfátová hnojiva, převážně z afrických ložisek [17].

ŽELEZO - Fe

Železo a zinek mívají v houbách přibližně stejný obsah. Některé druhy mykorrhizních hub, jako klouzek strakoš (*S. variegatus*) a lištička pomerančová (*Hygrophoropsis aurantiaca*), se ale liší složením od běžných druhů hub. Můžeme v nich najít 1000 – 5000 ppm železa v sušině. Zvýšené obsahy byly objeveny také u kropetnatců a hadovitých hub, okolo stovek ppm [15]. Většinou se však koncentrace pohybují v rozmezí 50 – 150 ppm. V půdách jsou obecně obsahy železa nižší, než houba dokáže akumulovat [19].

Vesměs bychom měli přijmout 10 – 20 mg železa denně, při vyšších denních dávkách okolo 15 mg se dostavuje zácpa. Což je projev intoxikace, zvláště u dětí. Při dávkách vyšších jak 20 mg se již vyskytují toxické příznaky a dávky 180 – 300 mg jsou smrtelné [17].

Nadměrné příjmy železa jsou extrémně nebezpečné. Akutní otrava železem vznikne po dávce 200 - 250 mg. Způsobí poškození výstelky střev což se projeví krvavými průjmy a zvracením. Dále pak hrozí i selhání jater a šok. [16].

SELEN - Se

Selen se běžně vyskytuje v saprotrofních houbách v jednotkách ppm, mykorrhizní houby často obsahují selen pod 1 ppm. Vyšší výskyt, 5 – 50 ppm, nalezneme v druzích hříbu smrkového, jedná se o výjimku [15].

K otravě selenem může dojít až při dávkách vyšších. Například požití 1 – 5 mg seleničitanu sodného na jeden kg hmotnosti člověka způsobuje nevolnost, bolesti břicha a zvracení. Pokud denní příjem je okolo $4,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, dochází ke snížení funkčnosti ledvin, jater i očí. Analýzou vlasů lze intoxikaci selenem spolehlivě diagnostikovat. Zatímco hodnoty nižší než $0,12 \text{ }\mu\text{g}$ na 1 gram vlasů jsou normální, obsahy nad $5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ jsou již známky intoxikace.

Ovšem jako mikrobiogenní prvek je selen velmi užitečný. Má antioxidační účinky, účastní se likvidace volných radikálů. Existuje studie, dle níž celková dávka 200 μg Se denně snižuje riziko nádorového bujení na polovinu (desetileté pozorování). Doporučená denní dávka selenu není stanovena, odhaduje se 60 – 200 $\mu\text{g}/\text{den}$ [17].

Pokud tedy užíváme v suplementech selen, můžeme si přivodit chronickou otravu, jestliže se vyskytuje vysoká koncentrace v půdách a pitné vodě [16]. Houby zde mohou být také značným rizikem.

MANGAN – Mn

V oblastech těžby manganové rudy je velké riziko výskytu vysokých dávek manganu, které jsou pro člověka hodně toxické – prostřednictvím kůže a vdechováním prachu manganových rud. Působení vysokých dávek manganu se po delší době projeví halucinacemi nebo třesem, často zaměňovaným s příznaky Parkinsonovy choroby [16]. Nicméně mangan můžeme zařadit i mezi biogenní prvky, protože je součástí několika enzymů (arginázy, karboxylázy a kianázy). Doporučuje se denně přijmout cca 4 mg [17].

Jeho obsah v houbách se běžně pohybuje v hodnotách desítek ppm. Byly stanoveny i hodnoty ve stovkách ppm, konkrétně v hadovkách (zástupci *Phallaceae*), dokonce až tisíce ppm v houbě kropenatce (*Panaeolus*). Druhy hub, které mají sklony ke kumulaci manganu, budou mít s jistotou i vysoké hodnoty železa [15].

OLOVO – Pb

Hodně lidí si myslí, že houby obsahují vysoké koncentrace tohoto prvku. Ve skutečnosti tomu tak není. Obsahy se pohybují v jednotkách ppm, což je poměrně nízké zastoupení. Houby nepřekračují obsahy okolo 5 ppm ani tehdy, když se vyskytují v oblastech v minulosti zatížených dopravou. Jestliže houby (zejména pečárky a pýchavky (*Lycoperdon*)) rostou v okolí olovářských hutí (např. na Příbramsku), budou mít obsahy značně zvýšené [15]. Nejvyšší výskyty se týkají těchto volně rostoucích hub: čirůvka fialová (*Lepista nuda*), špička obecná (*Marasmius oreades*) a žampiony. Olovo je v plodnicích rozložené celkem rovnoměrně. Koncentrační faktor pro olovo je menší než 1 [18].

Zdravotní komplikace jsou evidovány při příjmech nad 0,5 mg/den, dochází při nich ke kumulaci v organismu. Olovo je při vysokých dávkách ukládáno do jater, ledvin a především kostí (až 90 % celku) [17].

RTUŤ – Hg

Mykorrhizní druhy (např. hříby - *Boletus*; muchomůrka růžovka - *A. rubescens*) obsahují normálně poměrně nízké obsahy cca do 5 ppm. Podstatně vyšší obsahy mají saprotrofní druhy (např. pečárky, bedle - *Macrolepiota* a čirůvky - *Calocybe*, *Lepista*). V houbách se rtuť váže na vysokomolekulární bílkoviny, z části je obsažena jako methylrtuť. Ve větších městech a jiných znečištěných oblastech by se vůbec neměly sbírat některé druhy hub, konkrétně jedlé pečárky mohou mít koncentrace i několik desítek ppm [15]. Rtuť se kumuluje cestou z mycelia ze zdrojů humusu, ovšem ve složení porostu je značný rozdíl. Je proto vhodnější konzumovat houby uměle pěstované než volně rostoucí. Třeba takový žampion (*Agaricus bisporus*) pocházející z pěstírny má mnohem nižší obsah rtuti než volně rostoucí houby. Z extrémních hodnot nalezených u nás je možno uvést tyto obsahy rtuti: u bedly vysoké (*Macrolepiot procera*) až 15,24 mg.kg⁻¹ v sušině, u hříbu dubového (*Boletus aestivalis*) až 9,54 mg.kg⁻¹ a u bedly červenající (*Macrolepiota rhacodes*) až 8,02 mg.kg⁻¹ sušiny [18].

Houby s obsahem rtuti do 0,2 mg.kg⁻¹ čerstvé hmoty jsou hygienicky vhodné. Při obsahu 1 mg.kg⁻¹ je možný příjem 300 g hub (1 porce) 1krát za týden. Kontaminované houby s obsahem 10 mg.kg⁻¹ čerstvé hmoty jsou toxické. Je nutné podotknout, že tepelnou úpravou sušených hub se sníží obsah rtuti až o 70 %. Pouhým sušením se však obsah rtuti nesníží, dokonce ani po víceletém skladování [18].

Smrtelná dávka rozpustných anorganických solí je pro člověka asi 1 g rtuti. Z GIT se v 90 % zastoupení vstřebává rtuť ve formě metalorganických sloučenin. Organicky vázané

sloučeniny rtuti, konkrétně dimethylrtuť, jsou přeměňovány různými organismy, počínaje bakteriemi (v půdě a usazenin jezer) [17].

STŘÍBRO – Ag

První informace o stříbře v houbách byla zveřejněna před 80. lety, kde byly zjištěné koncentrace 100 až 500 mg.kg⁻¹ v některých druzích [20]. U žádného eukaryotního organismu nebyla doposud prokázána taková schopnost akumulovat stříbro, jako to umí právě houby. Prozatím není vysvětlena chemická forma stříbra v plodnicích, ovšem ve volně rostoucích houbách (zejména pečárky) dominují vysokými koncentracemi [15]. Je však zjištěno, že se stříbro akumuluje intracelulárně a v komplexu s metalothioneinem [20]. Obsahy mohou být až 2500 krát vyšší než v půdě. Mykorhizní druhy mají nižší obsahy pohybující se v jednotnách ppm, saprotrofní druhy obsahují běžně až desítky ppm. Hodnoty ve stovkách ppm už charakterizují hyperkumulaci, která byla prokázána u dvou druhů evropských muchomůrek - muchomůrky šiškovité a muchomůrky ježatohlavé (*A. solitaria*). Z nichž nejvyšší koncentrace stříbra byla 1253 ppm [15]. Přitom v půdách a rostlinných tkáních jsou průměrné koncentrace stříbra většinou nižší než 1 mg.kg⁻¹. Vyšší rostliny zřídka překročí 5 mg.kg⁻¹. Houby jsou touto schopností pro vědce zajímavé [20].

Toxicitu způsobují stříbrné ionty, které srážejí bílkoviny. V rozpustných solích stříbra je smrtelná dávka 2 g. Díky chronickému přívodu nízkého množství stříbrných iontů se může vyskytnout anémie (nedostatek železa), což může nastat při pravidelné konzumaci volně rostoucích hub [17].

VANAD – V

V houbách se vyskytuje v nízkých koncentracích, okolo desetin ppm. Vanad se v plodnicích váže jako organokovová sloučenina nazývajícím se amavadin. Na našem území koncentrují a akumuluji vanad dva druhy muchomůrek - muchomůrka červená (*A. muscaria*) a muchomůrka královská (*A. regalis*). Obsahy v nich dosahují desítek až stovek ppm [15].

Vanad je řazen mezi mikrobiogenní prvky, je totiž důležitý nejen při mineralizaci kostí a zubů. Člověk může přijmout 4 mg, dávky nad jsou toxické [17].

ZINEK – Zn

I když chemická forma zinku v houbách není známa, objevuje se v nich v rozmezí 50 – 150 ppm. Značné obsahy mají pýchavky a pečárky, ale svou schopností akumulovat zinek vede holubinka černonachová (*R. atropurpurea*) s obsahy v rozmezí 300 - 1100 ppm [15].

Jakožto mikrobiogenní prvek je aktivátorem mnoha enzymů. Denní spotřeba pro člověka činí 25 mg, je však důležité věnovat pozornost zinečnatým solím. Ty jsou velmi toxické a dávka 10 g ZnSO₄ (podobně jako Cu, Al, Zr), je smrtelná [17]. Pomocí suplementů si ojedinele můžeme způsobit problémy [16].

ZLATO – Au

Houby obsahují z geochemického hlediska poměrně vysoké koncentrace zlata. V čistých lokalitách v houbách nalezneme jednotky až desítky, výjimečně stovky, ppb zlata. Ze znečištěného prostředí, kde se zlato vyskytuje v půdách ve zvýšeném množství (rudní revíry), nalezneme vysoké hodnoty v houbách saprotrofních – obsahují až jednotky ppm. U mnoha druhů byla pozorována akumulace. Měli bychom si tedy dát pozor na pečárky a pýchavkovité houby (*Bovista*, *Lycoperdon* ad.) [15].

2.8.4 POROVNÁNÍ OBSAHU PRVKŮ V HOUBÁCH

Ze stopových prvků se v houbách nejčastěji vyskytují zinek, mangan, měď a titan [7]. Rozložení stopových prvků v houbě ale není rovnoměrné. Obsahy klesají v tomto pořadí: výtrusorodá vrstva, zbytek klobouku, třeň. Často jsou zjišťovány hladiny těžkých kovů (kadmium, rtuť, olovo) a polokovů (selen, arsen), informace o nekovových stopových prvcích pak téměř chybějí [6]. Toxické prvky se v plodnicích jedlých hub mohou objevit i v radioaktivní podobě, tyto informace byly zjištěny již v roce 1960 [21].

Tab. 2 Obvyklé obsahy 20 stopových prvků v plodnicích volně rostoucích hub z neznečištěných oblastí, a také rody a druhy hub hromadící tyto prvky [11]

Prvek	Obsah (mg.kg ⁻¹ sušiny)	Akumulátory
Hliník	20 – 150	<i>Amanita rubescens</i> , <i>Leccinum scabrum</i> , <i>Xerocomus chrysenteron</i>
Antimon	< 0,1	<i>Suillus spp.</i>
Arzen	0,5 – 5	<i>Laccaria amethystea</i> , <i>saprotrophic genera</i>
Baryum	2 – 4	
Kadmium	1 – 5	<i>Agaricus spp. (group flavescentes)</i>
Cesium	0,5 – 10	<i>Suillus luteus</i>
Kobalt	< 0,5	<i>Ramaria largentii</i> , <i>Hygroporus eburneus</i> , <i>Cantharellus cibarius</i>

Měď	20 - 100	<i>Agaricusmacrosporus, A. silvicola, Macrolepiota procera, M. rhacodes</i>
Chrom	0,5 – 5	<i>Morchella elata, Armillariamellea, Macrolepiota procera, Marasmius oreades</i>
Jód	0,07 – 0,5	<i>Calvatia excipuliformis, Macrolepiota procera, Lepista nuda, Amanita rubescens</i>
Železo	50 – 300	<i>Suillus variegatus, S. luteus, Armillariamellea</i>
Olovo	< 1 – 5	<i>Some saprotrophic species</i>
Mangan	10 – 60	<i>Boletus edulis, Macrolepiota procera</i>
Rtuť	< 0,5 – 5	<i>Boletus edulis, B. pinophilus, Calocybe gambosa</i>
Nikl	1 – 15	<i>Laccaria amethystina, Coprinus comatus</i>
Rubidium	Desítky až stovky	<i>Boletaceae family</i>
Selen	< 2 – 20	<i>Albatrellus pes-caprae, Boletus edulis, B. pinophilus, B. reticulatus (syn. B. aestivalis)</i>
Stříbro	< 10	<i>Amanita strobiliformis, Agaricus spp., Macrolepiota procera</i>
Vanad	< 0,5	<i>Coprinus comatus</i>
Zinek	25 - 200	<i>Calvatia utriformis, Lycoperdon perlatum</i>

2.8.5 MÉNĚ ZNÁMÉ TOXICKÉ PRVKY

Kromě již výše zmíněných prvků dokáží houby akumulovat i méně známe stopové prvky. Obsahy lanthanoidů byly prokázány v houbách kolem roku 1998. Studie poukázaly také na patrné množství kovů vzácných zemin, zhruba od 0,1 - 1 mg.kg⁻¹ sušiny, těchto tří prvků - cer, lanthan a neodym. Zastupují asi 80 % ze všech 14 kovů vzácných zemin. Vyšší hodnoty obsahovaly volně rostoucí houby nasbírané z oblasti poblíž dřívějších dolů, konkrétně se jednalo o Malcantone ve švýcarském kantonu Tessin.

Analýzami byly stanovené také trojmocné prvky yttrium, galium a scandium a s určitým množstvím i thoria (celkové množství odpovídalo 5 – 10 % prokázaných kovů vzácných zemin). Dodnes v houbách nejsou prvky vzácných zemin nijak limitovány, může se ale stát, že při značné konzumaci určitých hub si způsobíme problémy.

Chronická toxicita lanthanoidů přijatých nejen z hub je prakticky neznámá. Pokud konzumujeme volně rostoucí houby pravidelně a dosti často, je vhodné, z důvodu vysokých koncentrací potenciálně toxických prvků, toto stravování omezit na houby pěstované [22].

2.9 RADIOAKTIVITA HUB

Radioaktivní izotopy (radionuklidy) se řadí k přirozeným složkám přírodního prostředí - tvoří tzv. radiační pozadí. Toto záření je poměrně malé a neovlivňuje vitalitu organismu, ale zamoření biosféry, které způsobuje člověk, neustále roste. Mezi největší hrozby patří radionuklidy uvolněné štěpením uranu nebo i jiných prvků při jaderných výbuších, haváriích v jaderných elektrárnách apod. Izotopy pak vstoupí do látkových koloběhů, potravních řetězců až dochází k jejich hromadění v tkáních živých organismů. Každý organismus má ke zvýšené radioaktivitě jinou citlivost. Nejvíce jsou odolné bakterie (až vůči záření 106 rad), hned za nimi se svou odolností řadí semenné rostliny a bezobratlí, zejména hmyz (cca 104 rad). Odolnost savců a tedy i člověka je nižší (cca 102 rad) [1].

Radioaktivitu lze popsat jako vlastnost atomového jádra samovolně se přeměňovat na jiné jádro nebo samovolně přecházet ze stavu excitovaného (bohatšího na energii) do stavu základního. Při tomto procesu jsou z radioaktivního jádra (výjimečně z elektronového obalu) emitovány menší částice nebo fotony z elektromagnetického záření.

Radiotoxicita popisuje rizika radioaktivních izotopů pro lidský organismus. Pokud se dostane radioaktivní izotop do lidského těla, dojde k vnitřnímu ozáření. Při tomto stavu není ochrana proti emitovanému záření možná. Doba expozice závisí na fyzikálních vlastnostech izotopu (poločas, druh a energie emitovaného záření, délky dráhy jakou záření ve tkáních urazí), na chemické formě izotopu (zda se dostal do těla v rozpustné nebo nerozpustné formě) a na biochemických a fyziologických vlastnostech izotopu (rychlost a rozsah absorpce zažívacím, dýchacím traktem, ukládání v tkáních nebo rychlost vylučování z těla). Pro člověka jsou při vnitřním ozáření nejvíce nebezpečné izotopy emitující alfa-částice, u vnějšího ozáření jsou zdraví nebezpečné izotopy emitující gama-záření s vyšší energií [23].

2.9.1 JEDNOTKY RADIOAKTIVITY A LEGISLATIVA

Aktivita rozpadu se vyjadřuje pomocí jednotky becquerel (Bq). Jeden Bq představuje jeden rozpad za sekundu. V praxi se používá koncentrační aktivita – počet Bq vztažený na jednotku hmotnosti (např. na 1 kg potravin nebo krmiva). U potravin se obvykle uvádí na

čerstvou hmotu, v případě hub obvykle na sušinu, kde se zjednodušeně počítá s obsahem sušiny 10 % [6]. Státní zdravotní ústav pro export potravin do zahraničí toleruje maximální hodnoty 600 Bq.kg⁻¹ čerstvé hmotnosti [24]. Toto je obvyklý limit pro dospělé, pro děti je téměř poloviční, 350 Bq. Evropské společenství v roce 1987 stanovilo pro houby limit 1,25 kBq.kg⁻¹ čerstvé hmoty (12,5 kBq.kg⁻¹ sušiny). Přísnější hodnoty stanovila mezinárodní agentura pro atomovou energii, 1,0 kBq.kg⁻¹ čerstvé hmoty, tedy jen 10kBq.kg⁻¹ sušiny [6].

2.9.2 RADIOAKTIVNÍ PRKVVY

Radioaktivitu v houbách lze sledovat ve třech směrech:

- Přírozená radioaktivita v houbách
- Způsobená radioaktivita hub do roku 1985 (před havárií jaderné elektrárny v Černobylu)
- Radioaktivita hub po černobylské havárii

Houby ve své přirozené formě obsahují značné množství draslíku ³⁹K. Současně s ním nalezneme radioaktivní izotop ⁴⁰K, jehož aktivity v houbách jsou obvykle 800 – 1500 Bq.kg⁻¹ sušiny. Zastoupení v konstantním podílu izotopu ⁴⁰K je 0,0117 %. Tento jev se projevuje slabou koncentrační aktivitou 0,8 – 1,5 kBq.kg⁻¹ sušiny volně rostoucích i pěstovaných hub. Z dalších, méně významných, izotopů nalezených v houbách můžeme jmenovat izotopy radia (²²⁶Ra), olova (²¹⁰Pb), polonia (²¹⁰Po) a beryllia (⁷Be) [6, 11].

Do roku 1963 řada velmocí prováděla pokusy s jadernými zbraněmi, výzkum následků však žádné výrazné výsledky nepřinesl. Několik publikací z roku 1964 bylo tematicky zaměřeno na obsah cesia v houbách, ovšem v Evropě žádné výrazné kontaminace radioaktivitou v té době zaznamenány nebyly [6].

Havárie bloku v Černobylu v roce 1986 uvolnila podle odhadů do prostředí kolem 3,8.10¹⁸ Bq z rozpadu ¹³⁷Cs. Tehdejší Československo naštěstí leželo mimo hlavní proudění a radioaktivní spad byl tehdy poměrně nízký – zhruba do 10 kBq.m⁻². Díky vlhkému počasí ale docházelo k ideálnímu putování izotopů v těle hub, proto konzumace volně rostoucích hub nebyla tehdy doporučena [6]. Abychom si ale způsobili zdravotní ohrožení, museli bychom sníst během roku 200 kg hub s obsahem 500 Bq.kg⁻¹ [24].

2.9.3 NĚKTERÉ VÝZNAMNÉ RADIOAKTIVNÍ PRVKY V HOUBÁCH

2.9.3.1 STRÍBRO - ^{110m}Ag

V houbách se tento izotop rovněž nejvíce projevil po havárii v Černobylu v roce 1986, kdy se ukládaly do hub nejen radionuklidy stříbra. Projevovalo se to odlišně u různých druhů hub od doby 1986 po 1992, v některých lokalitách bylo nalezeno až $1872 \text{ Bq}\cdot\text{kg}^{-1}$ v suché hmotnosti [20].

2.9.3.2 CESIUM - ^{133}Cs , ^{134}Cs , ^{137}Cs

V přírodě se nachází přirozený stabilní izotop cesia ^{133}Cs . V houbách se objevují hodnoty jeho obsahu v jednotkách až desítkách ppm. Česká republika byla po černobylské havárii v dubnu 1986 kontaminovaná širokou škálou radioaktivních izotopů, ale zejména ^{137}Cs (který má poločas rozpadu 30,17 roku) a ^{134}Cs (s nižším poločasem 2,062 roku) [15]. Po tragédii byly kvůli rozpadu cesia sledovány oblasti Vysokého Mýta, České Třebové, Benešovsko, Kaplicko, Strakonicko a Ostravsko [24]. Radioaktivní spad zasáhl naše území nerovnoměrně. Bylo to většinou způsobeno větrem a lokálními dešti. Během krátké doby bylo objeveno radioaktivní cesium i v plodnicích hub. Výše jeho obsahu závisela nejen na druhu hub, ale i na míře spadu v dané lokalitě nebo i na vertikální distribuci prvku v půdě. Prioritou ale zůstala druhová závislost – některé rody obsahovaly jen deítky $\text{Bq}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny (pečárky – *Agaricus*, holubinky – *Russula*, muchomůrky – *Amanita*, bedly – *Macrolepiota* ad.), jiné překvapivě až $200 \text{ kBq}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny (suchohřib hnědý – *Xerocomus badius*, čechratka podvinutá – *Paxillus involutus*, pavučince – *Cortinarius*, lakovky ad.) [15].

V České republice žádná státní norma nestanovuje povolené limity obsahu cesia v potravinách. Člověk je vystaven přípustným dávkám záření cca $100\,000 \text{ Bq } ^{137}\text{C}$ za rok. V roce 1983 se obsah radiocesie v českých houbách pohyboval průměrně kolem $680 \text{ Bq}\cdot\text{kg}^{-1}$ čerstvé hmotnosti. Nejvyšších hodnot dosahovaly hříbovité houby, zejména suchohřib hnědý (*Xerocomus badius*) [24].

Cesium je nebezpečné tím, že se ukládá do svalů [17]. Máčením a vařením ve slané vodě radiocesium dekontaminujeme - porušení buněčných stěn sejevilo jako nejvíce účinné, čili u zmrazených a sušených hub se obsah radiocesie podařilo snížit [24]. Po 30 letech od havárie se ^{137}Cs vymylo do hlubších vrstev půdy a ^{134}Cs prakticky zaniklo. V houbách radioaktivita klesla a není tedy důvod k obavám z konzumace [15]. I přes to, že akutní nebezpečí kontaminace cesiem nehrozí, Státní zdravotní ústav a Státní veterinární správa České Republiky potraviny (mléko, maso, obiloviny apod..) stále monitoruje [24].

2.9.3.3 RUBIDIUM - Rb

Houby ve srovnání se zelenými rostlinami obsahují podstatně vyšší hodnoty obsahu rubidia. Saprotrofní druhy (např. pečárky) obsahují běžně jen jednotky ppm. Mykorhizní druhy (např. čechratka podvinutá, holubinka hlínožlutá (*R. ochroleuca*), lošák jelení (*Sarcodon imbricatus*) a klouzky) dokáží rubidium akumulovat v rozmezí 200 – 1000 ppm. Podobně jako u Cesia je důležitý charakter geologického podloží. Vysoké obsahy rubidia i cesia jsou dány chemickou příbuzností homologů [15].

Ve světě byly v houbách také objeveny radionuklidy ^{234}U a ^{238}U , ^{228}Th , ^{230}Th , ^{232}Th , ^{85}Sr , ^{90}Sr , ^{238}Pu , ^{239}Pu , ^{240}Pu , ^{60}Co . Tyto izotopy pocházely z divoce rostoucích hub z oblastí dřívějších jaderných havárií nebo z míst, které byly v minulosti využívány k testování jaderných zbraní [25].

Nejnovější poznatky o radioaktivitě v houbách vědci očekávají v důsledku nehody jaderné elektrárny ve Fukušimě v Japonsku, která se stala v březnu roku 2011 [11].

2.9.4 RADIOAKTIVITA VE VOLNĚ ŽIJÍCÍ ZVĚŘI

U volně žijících přežvýkavců byla zjištěna radioaktivita v jejich tkáních. V lesích je plno lišejníků a hub, při častější konzumaci je velká pravděpodobnost akumulace radioaktivity do tkání. Například Skandinávie je charakteristická vysokým výskytem hub [26].

Nejvíce rizikové je v mase volně žijících zvířat cesium. To není problém prokázat i u domácích zvířat (kozy, ovce), které se pasou právě na pastvách ve Skandinávii. Kontaminace byly zaznamenány u těchto volně žijících zvířat - srnec (*Capreolus capreolus*), jelen lesní (*Cervus elaphus*), sob (*Rangifer tarandus*) a divočák (*Sus scrofa*). Úrovně radioaktivity často překonaly hranici 600 Bq.kg^{-1} . V České republice byl zjištěn izotop ^{137}Cs více v jelenu evropském než v srně a divokých prasatech. Tyto hladiny se zvýšily nad 100 Bq.kg^{-1} masa po roce 1986 [26, 27].

V posledních letech se však radioaktivita v mase začala výrazně lišit u přežvýkavců a divokých prasat. V srnčí a jelení zvěři jsou koncentrace ^{137}Cs poměrně nízké, s výjimkou houbové sezóny na podzim, a neustále klesá od tragédie Černobylu. Kančí maso dokáže udržet vysokou nebo dokonce vyšší úroveň radioaktivity než třeba v zimních obdobích, kdy houby tolik nerostou. Je to dáno různými stanovišti a stravovacími návyky. Srnec žije obvykle na relativně malém území a živí se převážně méně znečištěnými rostlinami a bylinami, s výjimkou

houbové sezóny. Divočáci přijímají pestrou potravu a jsou schopni se pohybovat ve velkých vzdálenostech [27].

3 FYZIOLOGICKÉ VLASTNOSTI HUB

3.1 STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA HUB A FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ JEJICH VÝSKYT

Houby se od rostlin odlišují v mnoha vlastnostech, například transportními a zásobními látkami. Zásobní látkou rostlin je škrob, u hub můžeme najít glykogen, lipidy (podobně jako u živočichů). Transportní látky u rostlin jsou glukóza, sacharóza a fruktóza, houby využívají k transportu disacharid trehalosu a cukerné alkoholy – mannitol a arabitol.

Organismy hub mohou být jednobuněčné i vícebuněčné (stélkaté organismy s heterotrofní absorptivní, jinak řečeno osmotrofní, výživou). Nejsou živeny fagotrofní výživou ani fotosyntézou, v buňkách nemají plastidy. Buněčná stěna nejčastěji obsahuje chitin a beta-glukan. Aminokyselina lyzin díky kyselině alfa-aminoadipové prochází biosyntézou, ale u říší Chromista a Plantae syntéza lyzinu probíhá přes kyselinu diaminopimelovou. V buňkách hub najdeme mitochondrie s plochými přepážkami, čímž se liší, stejně jako obsahem glykogenu, od živočichů. Rozmnožování hub probíhá pomocí spor. Mohou se objevovat životní cykly - haploidní, dikaryotické, ale i diploidní fáze. Díky výživě z odumřelého biologického materiálu řadíme houby mezi saprotrofové a parazitické, které parazitují na rostlinách, živočiších, jiných houbách nebo prvocích. Mykorrhiza a lichenizmus popisuje různé symbiózy s jinými organismy [1].

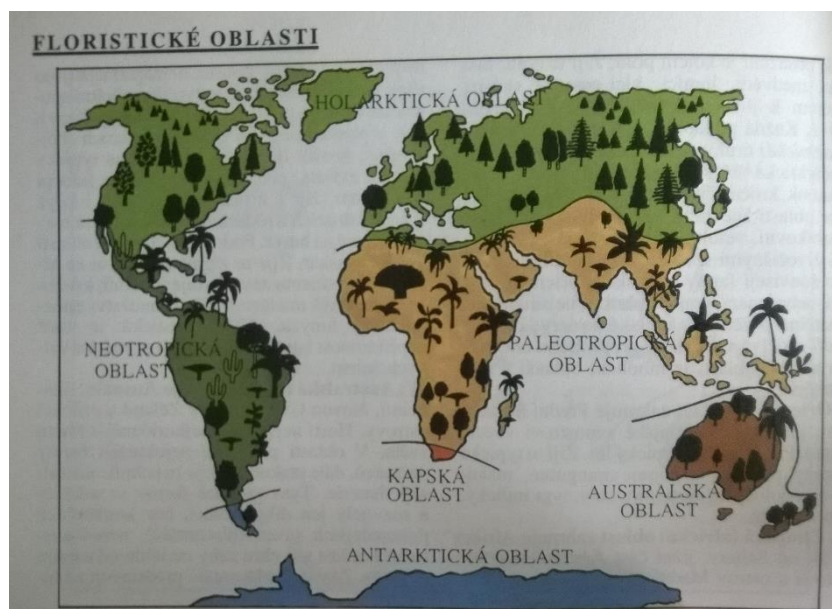
Na vytváření plodnic má velký vliv například voda. Díky ní probíhají přenosy důležitých látek, převážně stavebních. Požadavkem na substrát hub je tedy dostatečný obsah vody neboli relativní vlhkost, tedy poměr aktuální vlhkosti k maximální vlhkosti při dané teplotě. Při vysoké vzdušné vlhkosti houby rostou nejvíce. Ta totiž výrazně omezuje, až zastavuje vypařování vody z půdy a tím i zamezí ochlazování.

Dále ovlivňuje růst plodnic teplota vzduchu. Každý druh má jiné teplotní rozmezí pro vytváření plodnic. Pokud meze překročíme, v houbách se metabolické pochody zastaví, a tím se růst plodnic ukončí.

Nepříznivý vliv pro růst hub má vítr. Ten totiž ochlazuje vzduch i půdu a dochází k vysušení podhoubí. Proto se v České republice nacházejí houby nejvíce v teplých a současně vlhkých oblastech, jako je např. Český kras, České středohoří, Polabí a jižní Morava.

Kromě teploty a vlhkosti má vliv na růst plodnic i pH. To působí na povrch buňky díky kyselému nebo zásaditému prostředí nebo nepřímo (různá dostupnost živin při různém pH). Půdy rozdělujeme do tří kategorií – kyselé neboli acidofilní (pH 4,5 – 6,5), neutrální (pH 6,5 – 7,3), zásadité též alkalické či bazifilní (pH 7,3 – 8). Často houby preferují slabě kyselé pH 5 – 6,5, nejvíce však rostou v kyselejších půdách (pH 3 – 6). Stejně tak pro houby parazitující je rozhodující, v jaké půdě, tedy i v jakém biotopu, žije jejich hostitel [3].

Chceme-li sledovat výskyt běžných hub určených ke konzumaci ve světě, je možné si rozdělit mapu světa do pěti floristických oblastí – Holarktická, Neotropická, Paleotropická, Kapská, Australská a Antarktická oblast. Všechny volně rostoucí houby v Evropě náležejí do stejné oblasti [28].

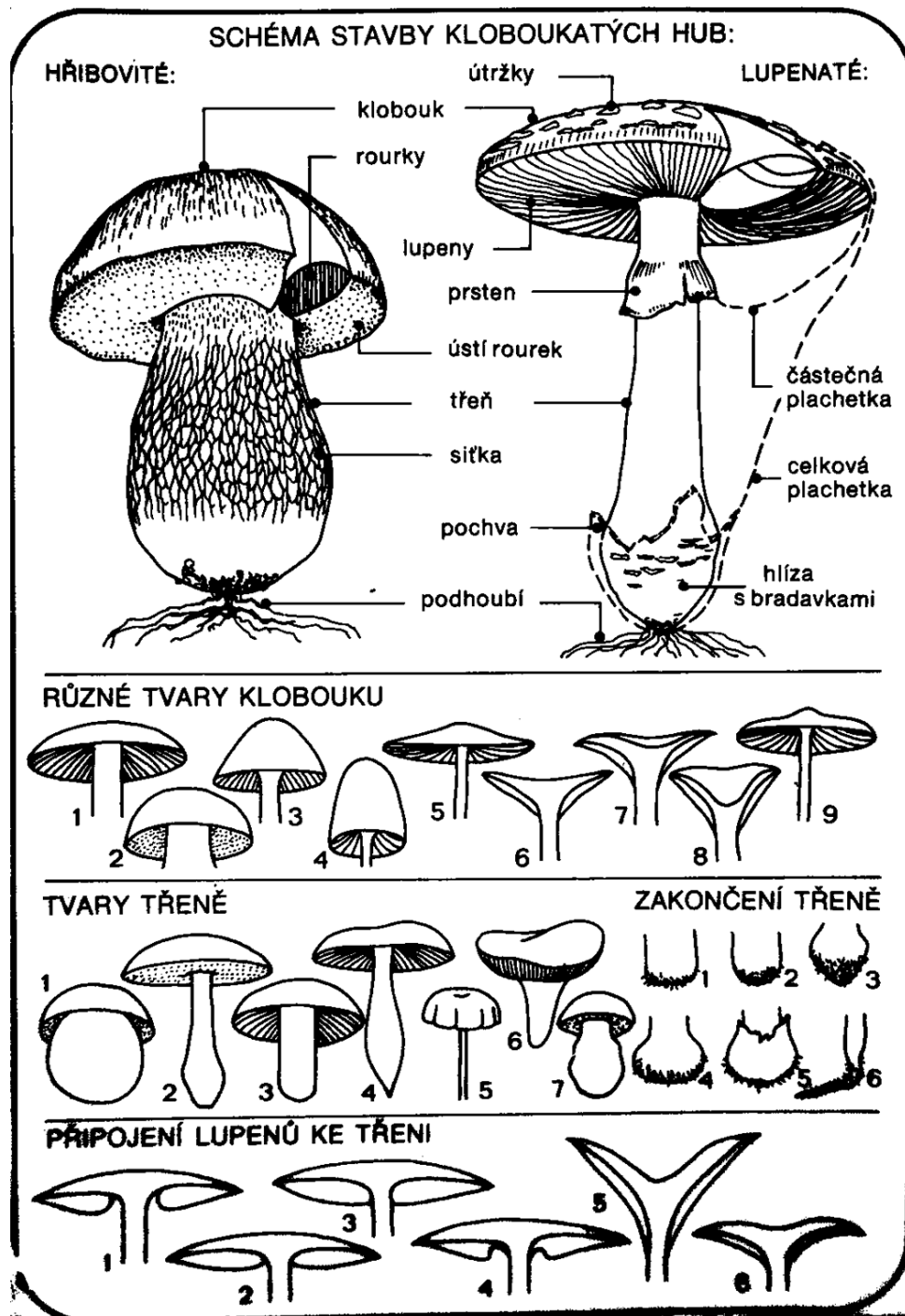


Obr. 1 Floristické oblasti [28]

3.2 ANATOMIE HUB

Od rostlin se houby liší také stavbou těla. Nemají kořeny, listy, stonky ani květy, ale jejich tělo je tvořeno stélkou. Stélka kvasinek obsahuje jen jednu buňku, kdežto stélky vyšších hub jsou složeny z propletených přehrádkovaných vláken, které se nazývají hyfy. Stélka může být tvořena válcovitými nebo kulovitými buňkami, ty tvoří plodnici jen z části nebo celou. Hyfy mohou být jedno nebo vícebuněčné. Podhoubí neboli mycelium vznikne splétáním hyf v podloží. Jsou okem pozorovatelné, vypadají jako pavučinovitá vlákna. Pokud má mycelium příznivé podmínky, vytvoří plodnice (fruktifikace), které představují rozmnožovací orgány houby.

V každé plodnici je výtrusorodá vrstva (hymenium nebo rouško), která se liší morfologickou stavbou (lupeny, ostny, lišty, rourky nebo bez odlišných tvarů uvnitř nebo vně plodnice). Rozmnožování hub probíhá vegetativně (myceliové vlákno se rozpadne) nebo výtrusy (sporami). Pomocí větru nebo vody se výtrusy dostanou na jiné stanoviště, aby vytvořily nové podhoubí. I když nedojde k vytvoření plodnic, mycelium může přežít několik desítek, dokonce až tisíců let [7].



Obr. 2 Schéma stavby kloboukatých hub a jejich anatomie [29]

Různé tvary klobouků: 1. Vypouklý; 2. Polokulovitý; 3. Kuželovitý; 4. Zvoncovitý; 5. Rozprostřený; 6. Plochý; 7. Prohloubený; 8. Nálevkovitý; 9. Plochý s hrbolem

Tvary třeně: 1. Soudkovitý; 2. Kýjovitý; 3. Válcovitý; 4. Vřetenovitý; 5. Tenký; 6. Dole zúžený; 7. Břichatý

Zakončení třeně: 1. Tupě zakončený; 2. Zaokrouhlený; 3. Zahrocený; 4. Zduřelý do hlízy; 5. S pochvou; 6. Prodloužený kořen

Propojení lupenů ke třeni: 1. Odsedlé; 2. Volné; 3. Přirostlé; 4. Zoubkem vykrojené; 5. Dlouze sbíhavé; 6. Sbíhavé

3.3 FYZIOLOGICKÉ VLASTNOSTI HUB

Fyziologie hub se zabývá studiem životních funkcí hub a jednotlivých pochodů v jejich těle.

Některé druhy hub dokáží asimilovat CO₂, pokud to nebyl jediný zdroj uhlíku. Také nejsou omezené jen na organický dusík, dokáží metabolizovat anorganické zdroje (amonné soli nebo dusičnany). Houby jsou zajímavé svou přizpůsobivostí pro získávání živin ze svého okolí. Jejich schopnosti jsou studovány experimentálně pěstováním hub v laboratorních podmínkách. I přes to, že se podmínky výrazně liší od přírody, jde především o poznatky a obecnou platnost [1].

3.3.1 ZDROJE UHLÍKU

Ve fyziologii hub má uhlík dvě základní funkce. Houby ho potřebují pro syntézu metabolitů nezbytných pro růst a vývoj houby (sacharidy, lipidy, nukleové kyseliny) a oxidací uhlíkatých látek přijímají zdroj energie nezbytný pro základní životní procesy.

Základní sloučeninou uhlíku v houbách je monosacharid glukóza. Nemusí být štěpena na menší podjednotky, aby ji houbové buňky absorbovaly. Na rozdíl od ostatních sacharidů je právě glukóza metabolizovaná uvnitř buňky téměř hned, protože v buňkách hub jsou všechny potřebné enzymy. Kromě glukózy dokáží tedy metabolizovat i jiné uhlíkaté látky – od malých molekul organických kyselin a monosacharidů až po složené polymery (škrob, celulóza, lignin) [1].

3.3.2 ZDROJE DUSÍKU

Houby se liší od bakterií a sinic neschopností fixovat vzdušný kyslík. Potřebují však dusík k syntéze sloučenin jako jsou aminokyseliny, proteiny, nukleové kyseliny, glukosamin, chitin a některé vitaminy. Většina hub jako zdroj dusíku používá aminokyseliny, bohatě jim stačí jen jedna aminokyselina – může to být glutamová kyselina nebo asparagin. Z nich si vytvářejí transaminací všechny potřebné aminokyseliny. Celá řada hub dokáže jako jediný zdroj dusíku využívat amonné, nitrátové nebo nitritové ionty. Potřebují k tomu enzym nitrát-reduktáza nebo nitrit-reduktáza – tím získají potřebný dusík. Kromě toho houby produkují také enzym ureázu, ta štěpí močovinu na CO₂ a amoniak [1].

3.3.3 ZDROJE MAKROELEMENTŮ

Houby k růstu potřebují, vyjma uhlíku a dusíku, ve větším množství také další prvky. Mezi hlavní makroelementy řadíme kyslík a vodík, jsou totiž součástí většiny organických molekul. V houbách jsou potřebné i další prvky:

- **Fosfor** - houby jej metabolizují ve formě fosfátů (důležité pro tvorbu nukleových kyselin, fosfolipidů a některých vitaminů)
- **Síra** je využívána většinou ve formě sulfátů. Je nezastupitelná v některých aminokyselinách, proteinech a koenzymech.
- **Hořčík** je potřebný pro své regulační funkce
- **Draslík** ovlivňuje vstup vody do buňky a tím reguluje turgor potřebný k růstu hub.
- **Vápník** se v buňce váže na různé membrány, také má vliv na rozmnožovací orgány a ovlivňuje funkci mikrotubulů a mikrofilamentů [1].

3.3.4 ZDROJE MIKROELEMENTŮ (STOPOVÉ PRVKY)

Železo, měď, mangan, zinek a molybden jsou i v nízkých koncentracích potřebné pro růst hub. Dále jsou nutné pro kofaktory různých enzymů [1].

Prvky, tedy i toxické prvky, se mohou v houbách hromadit dvojím způsobem. Prvním je transport přes podhoubí (mycelium) a druhý způsob je atmosférická depozice, která je typická pro houby tvořící trvanlivější plodnice (např. chorošovitě houby). Bioakumulační faktor popisuje míru akumulace prvku v houbě (poměr obsahu prvku v sušině a v sušině substrátu). Jestliže je obsah vyšší než v půdě, houba má schopnost prvek akumulovat. V opačném případě se jedná o diskriminaci prvku, tj. vyšší obsah v půdě než v houbě. Může se však vyskytnout i

hyperkumulace, což u některých druhů vysvětluje i 100krát vyšší obsahy prvků v houbách než byly stanoveny v půdách.

Podobná schopnost jako hyperkumulace je koncentrování prvku. Podmínkou je koncentrační faktor nižší než jedna, ovšem houba musí zároveň splňovat vyšší obsahy určitého prvku než většina ostatních druhů hub. Častým problémem, ve srovnání s rostlinami, je určování vrstvy substrátu hub, z něhož přijímá mycelium živiny. Všeobecně mají houby rostoucí přímo na zemi (terestrické) vyšší obsahy prvků než houby rostoucí na dřevě neboť dřevo způsobuje bariéru od geologického prostředí a mycelium tak není v kontaktu s minerálním substrátem. Výjimkou jsou některé choroše, díky sorpčním vlastnostem povrchu plodnic (zachycují prvky atmosférické depozice) [15].

Nejde zcela odůvodnit hyperkumulaci stříbra, ale může tu být i biologický význam. Ag^+ je jedním z nejvíce toxických kovů pro řadu životních forem (zejména bakterií, řas a ryb). Houba se tímto účinkem stříbra může bránit před napadením patogenními mikroskopickými houbami, bakteriemi nebo larvami hmyzu [20].

Dále je vhodné rozlišit akumulaci a sorpci. Akumulace je metabolicky aktivní vazba kovu na buněčné struktury, podmínkou je, že organismus musí být živý. Sorpce je tedy pasivní vazba kovu na mrtvou biomasu. Živý organismus může využívat obě formy vazeb, je těžké je rozlišit.

Akumulace kovů u askomycetů a bazifiomycetů se váže převážně na polysacharidy (chitin a chitosamin - β -1,4-polyglukany, β -1,3-polyglukany, β -1,6-polyglukany, β -polymannan, proteiny a fosfáty buněčných stěn. U *Saccharomyces cerevisiae* bylo prokázáno, že polysacharidové složky buněčných stěn na sebe váží vyšší množství toxických prvků než buněčné stěny dohromady.

Houby s tmavým zbarvením váží kovy do molekul melaninu. U dřevních hub je pro změnu vápník vytěšňován z buněčných struktur pomocí dvojmocných iontů těžkých kovů, konkrétně olova, kadmia, mědi a zinku [30].

Mykologové, kteří provádějí chemické analýzy v houbách, téměř dokáží podle obsahu prvků rozpoznat, o jaký rod nebo skupinu druhů hub jde. Mohou však dojít k chybným závěrům, protože zde hraje roli primární druhová závislost, tj. schopnost koncentrovat nebo akumulovat jeden nebo i více chemických prvků. Kromě toho je mnoho faktorů (i těch doposud neprozkoumaných), které ovlivňují příjem prvků do terrestrických hub. Obsah prvků v houbách

je ovlivněn stářím mycelia nebo jeho růstovou vlnou. Dále se na obsahu podílejí velmi různorodé půdy lišící se svým geologickým podložím i kontaminací nebo mobilita prvků v substrátu, která je ovlivněna přítomností jílových minerálů, kyselostí, oxidačně-redukčními podmínkami, obsahem organických látek aj.

Hygienické aspekty konzumace volně rostoucích hub vedou k podrobnějšímu zkoumání toxických prvků. Míru rizika konzumace hub s těmito obsahy prozatím nelze přesně posoudit, vesměs není zjištěna forma chemické vazby daného prvku v plodnici a jeho vstřebatelnost. Většina jedlých hub (holubinky nebo pěstované žampiony) však toxické kovy neakumulují, obavy zde nejsou na místě [15].

3.4 PŘÍJEM CIZORODÝCH PRVKŮ

Nejprve se kov naváže na vnější stranu myceliového vlákna, poté prostupuje do nitra buňky. Nitrobuněčný proces přijímání prvku je poměrně energeticky náročný a je spojen s vylučováním draslíku. Jestliže houba přijme jeden iont kadmia, vyloučí přitom dva ionty draslíku. Kovový iont uvnitř buněk se třeba „zabuduje“ do molekuly určitých bílkovin, které váží kovy na své sulfhydrylové skupiny (SH) – metalothioneiny neboli fytochelatinu.

Specifické bílkoviny vázající kovy v houbách mají odlišnou stavbu molekuly než metalothionein (syntetizován savci) – doporučuje se je nazývat cadystiny neboli gama-glutamyl peptidy, což jsou bílkoviny, které obsahují pouze kyselinu glutamovou, cystein a glycin. Je pravděpodobné, že různý obsah těchto bílkovin způsobuje rozdíly v obsahu kovových iontů v různých druzích hub [24].

V houbách se toxické prvky selektivně váží na funkční skupiny (hlavně karboxylové, amino- a fosfátové) iontovými a koordinačně-kovalentními vazbami. Objasňuje to shromažďování některých prvků z půdy. Velký problém je s akumulací z půdy hlavně u Cd, Hg i Pb. Již dávno bylo potvrzeno, že obsah kovů u saprotrofních hub je mnohem vyšší než u hub mykorrhizních. Také bylo zjištěno, že se častěji vyskytují akumulované prvky ve výtrusorodé vrstvě (hymenium), do toho se nezapočítávají vlastní výtrusy [30].

V minulosti přípustné limity pro některé toxické prvky (kontaminující látky v potravinách) určovala vyhláška č. 298/1997 Sb.. Ta vyhláška byla v roce 2002 zrušena a limity jsou omezeny jen pro olovo a kadmium v aktuální vyhlášce č. 1881/2006 Sb.. Vyhláška stanovuje maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, zahrnuje i pěstované houby. V porovnání se zrušenou vyhláškou je ta aktuální pro limity nejen v houbách

nedostačující. Nynější vyhláška z mého pohledu rozhodně nenahrazuje vyhlášku č. 298/1997 Sb. [31, 30, 32].

Tab. 3 Nynější vyhláška stanovuje maximální limity [32]

Kov	Potravina	Maximální limity (mg.kg⁻¹ čerstvé hmoty)
Olovo	Košťálová zelenina, listová zelenina a pěstované houby	0,30
Kadmium	Listová zelenina, čerstvé bylinky, pěstované houby a celer bulvový	0,20

4 METODY STANOVENÍ MINERÁLNÍCH LÁTEK V HOUBÁCH

V celé řadě vědeckých prací zabývajících se obsahem toxických prvků v houbách bylo nejčastěji analyzováno kadmium, rtuť a olovo a to pomocí atomového absorpčního spektrometru (AAS). Ke stanovování obsahu kovů nejen pro potravinářské účely však existují i metody další nebo jsou vylepšeny o další zařízení. Alternativní metody ke stanovování kovů pomocí AAS jsou tak rozšířeny a fungují na jiném principu. Mohou to být metody využívající například buzení v indukčně vázaném plazmatu (ICP) [atomová emisní spektrometrie s buzením v indukčně vázaném plazmatu (ICP-AES), atomová fluorescenční spektrometrie (ICP-AFS), hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS), ...], neutronová aktivační analýza (INAA), rentgen fluorescenční spektrometrie (XRF) a další [12].

Nejčastěji používaná metoda v dnešní době, spektrometrie, prošla postupným vývojem. Jejím předchůdcem byla spektroskopie, kdy výsledek byl pouze zobrazován, později byl zaznamenáván na fotografickou desku a tím metoda dostala název spektrografie. Dnešní spektrometrie požadované parametry přímo měří.

Metody stanovení toxických kovů v plodnicích hub, se dají obecně rozdělit na dvě skupiny:

- metody spektrometrické: atomové, molekulové (absorpční), emisní, fluorescenční a ostatní (optické, hmotnostní, ...)
 - AAS (atomová absorpční spektrometrie) - vzorek se v plameni převede do stavu volných atomů a při průchodu světelného paprsku ze speciální výbojky dochází k absorbování části světla těmito atomy.
 - ICP-OES (optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem) – vzorek je zahříván v plynném skupenství, dochází tím postupně k jeho atomizaci a ionizaci, čímž vzniká plazma.
 - INAA (přístrojová neutronová aktivační analýza) - vzorek je po určitou dobu ozařován proudem neutronů, který vytváří z analyzovaných atomů radionuklidy. Po jejich rozpadu jsou analyzována spektra záření gama.
 - ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s buzením v indukčně vázaném plazmatu) – vzorek je veden do plazmového nosiče s argonovým plazmatem, kde se ionizuje

v plazmatu, a analyzované atomy jsou ve formě kationtů detekovány podle hmotnosti.

- spektrofotometrie (kolorimetrie) [30, 33]
- metody elektrochemické (voltametrie, polarografie, potenciometrie)

4.1 ZPRACOVÁNÍ HUB KE STANOVOVÁNÍ

4.1.1 ÚPRAVA ČERSTVÝCH VZORKŮ HUB

Houby je třeba před přípravou samotných vzorků důkladně očistit, k tomu jsou zapotřebí mj. plastové nože, které zbaví houby od nečistot [2]. Čistění se provádí ručně, je tedy možné použít i jemné kartáčky k lehkému dočištění od půdy a substrátu z třeně hub [21].

Pro přípravu vzorku se mohou připravit houby v čerstvém i suchém stavu. Podstatný rozdíl je v navažování. K přípravě vzorku z očištěných čerstvých hub je zapotřebí 4,0 g, kdežto pro suché vzorky hub jen 0,5 g [34]. Při stanovení obsahu kadmia a olova je dokonce zapotřebí přibližně jen 0,3 až 0,4 g sušených vzorků hub [4].

4.1.2 SUŠENÍ A MLETÍ PŘIPRAVENÝCH HUB

Pro důkladnou dehydrataci v sušárně je nejčastěji využívána teplota 105 °C po dobu 24 hodin. Můžeme se setkat ale i s jinými časy, např. 17 hodin [12, 21]. Vzorek však může být sušen v sušárně při 40 °C po dobu 48 hodin [2].

4.1.3 MINERALIZACE NA MOKRÉ NEBO SUCHÉ CESTĚ

Jak elektrochemické metody, tak metody založené na atomové absorpci resp. emisní nejčastěji vyžadují, aby analyzovaný biologický materiál byl před vlastním měřením nejprve rozložen.

Rigorózně vzato, i v případě analýzy biologických vzorků metodou AAS je před měřením analytického signálu často zařazen krok tepelného rozkladu vzorku. Řešením je mineralizace (pyrolýza, protože je prováděna většinou v interní atmosféře), která je však provedena přímo v grafitové kyvetě, zatímco při běžném postupu je vzorek nejprve mineralizován mimo kyvetu a do kyvety aplikována pouze alikvotní část mineralizátu. I ten je však dále tepelně zpracován uvnitř kyvety před měřením signálu.

Přímá analýza metodou AAS vlastně nahrazuje dvoustupňový rozklad jediným rozkladem provedeným přímo v grafitové kyvetě. Nicméně i zde je rozložení biologického vzorku před vlastním měřením analytického signálu většinou nezbytnou podmínkou úspěšné analýzy.

Postupem času bylo vynalezeno mnoho postupů, které se mohou použít k účinnému rozkladu biologického materiálu. V praxi se běžně používá mineralizace na suché a mokré cestě [18].

4.1.3.1 Mineralizace na mokré cestě

Principem postupu je působení směsí koncentrovaných minerálních kyselin s oxidačními účinky, někdy doplněných o další oxidační činidla (především H_2O_2), na analyzovaný vzorek biologického materiálu za zvýšené teploty. Nejčastěji se používají H_2SO_4 , HNO_3 , $HClO_4$, v různých kombinacích. Častým oxidačním činidlem, kvůli rozkladu organické hmoty, je HNO_3 [18].

4.1.3.2 Mineralizace na suché cestě

Účelem tohoto postupu je vysušení analyzovaného vzorku biologického materiálu a následně zuhelnatění a zpopelnění za přítomnosti vzduchu, popřípadě v atmosféře čistého kyslíku. Protože metody AAS nebo voltametrické metody pro vlastní měření vyžadují kapalnou formu analyzovaného materiálu, rozpouští se tedy popel vzniklý po suché mineralizaci, nejčastěji ve zředěné minerální kyselině (např. 0,1M HCl nebo HNO_3), popřípadě v pufru.

Vysokých teplot dosáhneme sušením (60 až 120 °C) např. v laboratorní sušárně, pod infračervenou lampou, na olejové či pískové lázni nebo na regulovatelné horké desce. Někdy se suší i lyofilizací.

K zuhelnatění (asi 200 až 400 °C) slouží horká deska nebo muflová pec. V minulosti se využíval plamen plynového kahanu. Ke zpopelnění za atmosférického tlaku a v přítomnosti vzduchu je zapotřebí min. teploty 450 °C, lépe 500 nebo 550 °C. Málokdy je potřeba vyšších teplot. Zdrojem teplot bývají většinou muflové pece.

Moderní zařízení pro suchou mineralizaci (nízkoteplotní zpopelnění v proudu elektronicky excitovaného kyslíku) pracují při teplotách kolem 150 °C, nejsou u nás však běžně k dispozici [18].

PŘÍKLAD SUCHÉ MINERALIZACE V KROCÍCH [2]:

- Jeden gram vzorku byl umístěn v porcelánovém kelímku a zpopelňován při 450 °C po dobu 18 až 20 hodin
- popel se poté rozpustil v 1 ml koncentrované HNO₃ a odpařil se do sucha
- znovu se zahříval při 450 °C po dobu 4 hodin

Je možné ještě přidat další dva kroky, které celkovou mineralizaci zdokonalí [35]:

- Po ochlazení na 20 °C byl přidán 1 ml demineralizované vody
- výluh byl opět zahříván na 150 °C po dobu 4 hodin a převeden demineralizovanou vodou do odměrné baňky o objemu 25 ml

4.2 METODY OPTICKÉ SPEKTROMETRIE

4.2.1 ATOMOVÁ ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIE (AAS)

V praxi jedna z nejčastějších metod anorganické prvkové analýzy. V laboratořích je AAS řazena mezi běžné metody využívající ke stanovení až 68 prvků v koncentracích od desetin g.l⁻¹ po koncentrace nižší 1 μg. l⁻¹. Základní instrumentace AAS se skládá z těchto částí: zdroj záření, atomizátor (produkuje volné atomy, je zároveň absorpčním prostředím), monochromátor, detektor a, v neposlední řadě, zpracování signálu, případně výpočetní systém.

Metoda AAS využívá primární záření z čárových nebo kontinuálních zdrojů, jako je Xe-výbojka použitá ve spektrometru ContrAA 700 od společnosti Analytik Jena. Čárové zdroje emitují intenzivní zářivou energii soustředěnou do úzkých spektrálních intervalů využitelných pro charakteristickou absorpci záření. Velikost vyzářené energie ovlivňuje odstup signálu od šumu a tím i mez detekce (velikost minimální měřitelné absorbance), ale neovlivňuje velikost absorbance.

V praxi se prosadily tři typy čárových zdrojů: výbojky s dutou katodou (HCL), bezelektrodové výbojky (EDL) a superlampy. Přísně monochromatické, intenzivní a stabilní záření však zajistí laserové diody, zvláště pak laditelné laserové diody, které umožňují přesné ladění vlnové délky v určitém intervalu. V praxi se nejčastěji využívá čárové záření pomocí výbojek s dutou katodou.

Účelem optického systému je vést paprsek záření ze zdroje skrz absorpční prostředí do disperzního prvku, který izoluje příslušný spektrální interval. Po výstupu z disperzního prvku

je záření fokusováno na detektor. Do optických systémů patří: čočky, zrcadla, rotační zrcadlové sektory a polopropustná zrcadla. Čím více optických prvků v systému je, tím větší jsou ztráty záření a tím více se snižují detekční limity. U moderních spektrometrů je minimalizován počet optických prvků a čočky jsou nahrazovány odraznými konkávními zrcadly, která mají o polovinu nižší ztráty záření než čočky. Kvůli životnosti jsou zrcadlové plochy chráněny tenkou vrstvou křemene, která zajišťuje snadné čištění zrcadel a zároveň ochranu proti korozi vlivem prostředí laboratoře.

Mezi disperzní prvky patří monochromátory. Jejich účelem je izolovat příslušné emisní čáry ze spektra čárového zdroje. Účelem je, aby monochromátor separoval určitý interval vlnových délek ze spektra. Velikost intervalu souvisí se závislostí s výstupní šěrbinou monochromátoru.

Atomové absorpční spektrometry mohou být konstruovány jako jednopaprskové nebo dvoupraprskové. Pro optimální řešení existuje i varianta kombinující oba způsoby. Běžně jsou AAS konstruovány jako jednokanálové – tzn. pro analýzu jednoho prvku v jednom analytickém pochodu. Dnes jsou dostupné konstrukce i pro víceprvkovou analýzu [33, 36].

1. AAS s atomizací v plameni – plamenová AAS (FA AAS)

Principem je převedení roztoku na aerosol ve zmlžovači a zavádění tohoto aerosolu do laminárního přimíchávaného plamene. To se odehrává v atomizačním systému. Jako palivo do hořáků je často používán acetylén, někdy i propan-butan nebo vodík.

Základní pochody při atomizaci v plameni, v případě, že vycházíme z kapalného vzorku, je možné popsat v těchto krocích:

- zmlžování roztoku (vznik mokrého aerosolu)
- odpaření rozpouštědla (vznik suchého aerosolu)
- vypaření částice
- chemické reakce se složkami přítomných v plameni
- vznik volných atomů (atomizace)
- ionizace a rekombinace
- termické excitace a deexcitace

2. AAS s elektrotermickou atomizací (ETA)

Pro nedostatečnou citlivost metody FA AAS, byly zdokonalovány techniky atomizace. Jako vhodné řešení se jeví atomizovat vzorek v „elektrotermickém atomizátoru“, ve zkratce - ETA. Tato zařízení jsou vyhřívána na potřebnou teplotu pomocí elektrického proudu, a to buď vlivem napětí (odporově vyhříváné atomizátory), opačných elektrických nábojů (kapacitně vyhříváné atomizátory), nebo pomocí indukce elektromagnetického pole.

Jako materiál se používají převážně různé modifikace grafitů (atomizační teploty až 3000 °C) nebo některé těžce tavitelné kovy (Ta, Mo, Pt, W). Aby byl atomizátor chráněn před oxidací za vyšších teplot, musí se pracovat v ochranné atmosféře. Používá se argon o čistotě 99,995 %, který by měl mít méně než 1 ppm kyslíku. Z ekonomických důvodů bývá nahrazován mj. dusíkem. Smí se přimíchávat i alternativní plyn v určitých metodách stanovení, např. kyslík při spalování organické matrice vzorku v průběhu termické úpravy.

Podle tvaru můžeme rozdělit atomizátory na otevřené a uzavřené typy. Poslední jmenované jsou v praxi běžnější.

3. AAS multielementární

Běžné metody mohou provádět analýzu pouze jednoho prvku. V současnosti se využívá multielementární analýza, která je řešena 3 způsoby:

- sekvenční multielementární analýza (nejběžnější)
- pseudosimultánní multielementární analýza
- skutečná simultánní analýza [33].

Simultánního měření docílíme pomocí několika diod (diodových modulů) a jedním polovodičovým detektorem. Tím vznikne jednoduchý vícekanálový měřicí systém, který umožňuje stanovení více prvků současně [36].

4.2.2 OPTICKÁ EMISNÍ SPEKTROMETRIE (OES)

Metoda je založena na registrování fotonů vzniklých přechody valenčních elektronů z vyšších energetických stavů na stavy nižší. Měří se záření emitované atomy nebo ionty v excitovaném stavu, které vzniká jejich zářivou deexcitací. Emisní spektrum má čárový charakter, a tak při příslušných vlnových délkách zaznamenáváme spektrální čáry odpovídající jednotlivým přechodům. Pojem „spektrální čára“ je odvozován od příslušných intervalů

vlnových délek, které se na detektor promítají jako obraz obdélníkové vstupní štěrby disperzního zařízení.

Počet čar ve spektru roste s počtem elektronů na neúplně obsazených (valenčních) hladinách. Spektra alkalických kovů a kovů alkalických zemin mají několik desítek čar, naopak spektra Fe, W, Ta, Mo, V nebo U mají několik tisíc čar. Poloha čar ve spektru (vlnová délka) charakterizuje prvky přítomné ve vzorku (kvalitativní složení) a intenzita jednotlivých čar charakterizuje koncentraci prvku ve vzorku (kvantitativní složení).

Základní instrumentace OES se skládá z těchto částí: budící zdroj (plamen, elektrický oblouk, řízený elektrický oblouk, elektrická jiskra, rotační grafitová elektroda, plazmové buzení nebo netermické buzení), disperzní zařízení, detektor (fotografická detekce nebo fotoelektrické detektory a také chemiluminiscenční - SCD a dvourozměrné - CID detektory), elektronika a výstupní signál.

1. Plamenová fotometrie

V praxi nejjednodušší metoda OES, používá se převážně pro kvantitativní analýzu snadno excitovaných prvků (alkalické kovy a kovy alkalických zemin). Měření emise je možné stanovit i většinou atomových absorpčních spektrometrů, protože uspořádání plamenového systému je obdobné. Metoda je však velmi využívána v zemědělství ke stanovování základních živin (Ca, Mg, K), zdravotnictví (Na, K, Li), při výrobě hnojiv (Ca, Mg, K, Na, Mn) a v ochraně životního prostředí. Novější plamenové spektrometry umožňují analyzovat až 4 prvky současně.

2. Spektrografie oblouková (jiskrová)

Tato metoda se v laboratořích objevuje jen zřídka, jedná se o historický přežitek. Jako budící zdroj je využíván stejnosměrný nebo střídavý elektrický oblouk, případně elektrická jiskra. Obloukové výboje se využívají k analýze semikvantitativní nebo pro analýzu stopových obsahů. Nižší teplota zaručuje vyšší citlivost, a tak se celková vyzářená intenzita dělí mezi nižší počet atomových a iontových čar [33].

4.2.3 OPTICKÁ EMISNÍ SPEKTROMETRIE S BUZENÍM V PLAZMATU

Během stanovování se v praxi osvědčily různé typy plazmových hořáků, protože klasické zdroje buzení (jiskra a oblouk) mají negativní vlastnosti. Příkladem může být nestabilita nebo značné vlivy matrice. Pokud látku zahříváme v plynném skupenství, postupně dochází k její atomizaci a ionizaci, čímž vzniká plazma. Ta je definovaná jako ionizovaný plyn

obsahující dostatečnou koncentraci elektricky nabitých částic a zároveň je stejný počet kladných a záporných iontů. Jsou tedy využívány plazmové hořáky, které jsou napájeny stejnosměrným proudem nebo vysokofrekvenční mikrovlnovou energií.

1. Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP OES)

Jde o spolehlivou multielementární analýzu, jejíž přednosti spočívají v širokém dynamickém rozsahu (5 – 6 koncentrací), ve vysoké linearitě kalibrace (snižuje počet nutných standardů), v nízkém vlivu nespektrálních interferencí, ve výborné reprodukovatelnosti, dlouhodobé stabilitě přístrojů. Poskytuje dobré detekční limity, pro některé případy citlivější výsledky než AAS s elektrotermickou atomizací (refraktorní prvky, vzácné zeminy), možnost analýzy organických látek (analýzy olejů, což je dáno vysokou teplotou plazmatu) a analýzy i nekovových prvků (S, P, N, Cl, I, Br). Do nevýhod patří značná spotřeba argonu, proto je, z ekonomického hlediska, vhodnější pouze pro větší série vzorků a analýzy multielementárního charakteru.

V každém ICP OES spektrometru, po stránce instrumentace, nalezneme:

- generátor vysokofrekvenčního proudu, ICP hořák (hlavice) a plynovou jednotku
- systém vnášení vzorku
- spektrální přístroj (složen ze zobrazovací optiky, disperzního prvku a detektoru)
- řídicí jednotku a zpracování signálu [33].

Výhodou je, že simultánnímu přístroji měření 10 prvků ve vzorku při dvojím paralelním měření trvá asi 40-60 s, soudobému sekvenčnímu přístroji pak okolo 2 min. V obou případech je tedy ICP-spektrometrie řádově výkonnější než AAS.

Co se týče citlivosti a s nimi spojenými mezemi detekce měření, je ICP-AES přibližně srovnatelná s plamenovou AAS s tím, že pro většinu prvků v plameni obtížně srovnatelných se dosahuje v ICP hodnot řádově lepších: náleží sem zejména B, Mo, Nb, Ta, Ti, U, W, Zr a lanthanoidy.

Naopak draslík, a do jisté míry i sodík, je výhodnější stanovit v plameni, konkrétně emisní technikou. Obdobně jako v plamenové AES bude v obvyklé laboratoři mez detekce stanovení řady prvků technikou ICP-AES limitována nikoliv mezí detekce měření, nýbrž příspěvkem ostatních operací, zejména rozkladu. Je tomu tak zpravidla u B, Ca, Fe, Mg, Zn a často i u dalších prvků [18].

4.2.4 AUTOMATICKÁ EMISNÍ SPEKTRÁLNÍ ANALÝZA

Tato metoda využívá k buzení rotační elektrody (RRS) a doutnavé výboje (GDS). Ve speciálních případech můžeme najít i přímé buzení v elektrotermickém atomizátoru. Můžeme touto úpravou stanovit Li, Na a K ve velmi čistých materiálech. Další úpravou metody je netermické buzení za sníženého tlaku. Toho dosáhneme uzavřením grafitového atomizátoru a pomocí argonové atmosféry snížíme tlak. Na opačných koncích atomizátoru jsou umístěny dvě izolované elektrody, na které se vkládá potřebný potenciál.

1. Emisní spektrometrie s rotační grafitovou elektrodou

Tato metoda se v potravinářství nevyužívá, je vhodná pro analýzu olejů a testován stavů mazaných agregátů. Metoda lehce zvolí vhodné agregáty do turbín, letadel, ventilátorů, lokomotiv aj.

2. OES s buzením v doutnavém výboji (GDS)

Metoda je vhodná především pro analýzy povrchů a hloubkových profilů (korozní děje, apod.) Není tedy vhodná pro potravinářské analýzy [33].

4.2.5 ATOMOVÁ FLUORESCENČNÍ SPEKTROMETRIE (AFS)

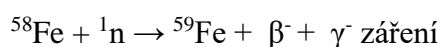
Metoda spojuje výhody emisní spektrální analýzy (linearita kalibrací až přes pět řádů) a atomové absorpce s elektrotermickou atomizací (velká citlivost). AFS používá záření produkované čárovým nebo kontinuálním zdrojem k excitaci elektronů do vyšších energetických stavů a následně se měří fluorescenční záření při přechodu elektronu do nižšího energetického stavu. Často se využívá rezonanční fluorescence, kde vlnová délka je stejná jako u záření budícího. Také se můžeme setkat s přímou čárovou fluorescencí (kdy se excitovaný elektron vrací na některý z vyšších energetických stavů) nebo s postupnou fluorescencí (kdy elektron nejprve přechází bezradiačním přechodem na nižší hladinu a pak následuje radiační přechod). Oba poslední zmiňované případy lze označit za Stokesovskou fluorescenci, kvůli vlnové délce fluorescenčního záření, která je delší než vlnová délka budícího záření. Opakem je zvláštní případ, tzv. Anti-Stokesovská fluorescence, u nichž je vlnová délka naopak kratší než u budícího záření. Tato metoda se nazývá termicky asistovaná fluorescence.

Do základního popisu AFS lze zahrnout: zdroj, atomizátor, disperzní prvek, detektor a zpracování signálu. V praxi se také používá laserem indukovaná fluorescence (LIF) nebo AAS s elektrotermickou atomizací v grafitovém atomizátoru (GFAAS) [33].

4.2.6 INSTRUMENTÁLNÍ NEUTRONOVÁ AKTIVAČNÍ ANALÝZA (INAA)

Při této metodě se na vzorek působí proudem neutronů, které z atomů vzorku vytvoří radionuklidy. Ty se zpětně rozpadají za vzniku gama záření. Pro každý prvek je charakteristická jiná intenzita tohoto záření. Běžné zařízení obsahuje tyto části: detektor, předzesilovač, spektroskopický zesilovač, analogově-digitální převodník, vícekanálový analyzátor a výstupní zařízení. Stanovovaný vzorek se vkládá do detektoru, kde je, díky kapalnému dusíku, kryogenní teplota $-196,15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Výsledky z měření se ukládají v digitální podobě díky vícekanálovému analyzátoru.

Například obsahuje-li zkoumaný vzorek železo, proběhne reakce:



Výhody této metody spočívají hlavně:

- v možnosti stanovit simultánně více prvků najednou
- mez stanovitelnosti jednotlivých prvků (práh citlivosti) je velmi nízká
- k analýze je zapotřebí jen malé navážky vzorků (1 – 200 μg)
- vzorky nevyžadují žádnou předběžnou přípravu a během analýzy nedochází k jejich destrukci, takže mohou být použity i k jiným stanovením.

Prvky, které lze metodou INAA rutinně stanovovat, jsou v periodické tabulce vyznačeny oranžově [37].

1																	2
H																	He
3	4											5	6	7	8	9	10
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
11	12											13	14	15	16	17	18
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
55	56	57	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86
Cs	Ba	¹ La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
87	88	89	104	105													
Fr	Ra	² Ac	Rf	Db													
¹ Lanthanide		58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71		
		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
² Actinide series		90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103		
		Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		
		No n-gamma radioactive isotopes															
		Radioactive isotopes can be produced. Limitation is short half-life or flux energy															
		Elements routinely determined by INAA															

Obr. 3 Periodická tabulka představující prvky, které mohou být analyzovány pomocí neutronové aktivační analýzy [37]

4.2.7 RENTGEN-FLUORESCENČNÍ ANALÝZA (XRF)

Jedná se o metodu atomové spektrometrie subvalenčních elektronů. V praxi je metoda velmi rozšířená. Lze ji rozdělit do následujících bloků:

- buzení charakteristického záření
- monochromatizace vybuzeného charakteristického záření
- detekce záření
- vyhodnocení rentgenfluorescenčního spektra

V metodě lze rozlišit dva zásadně odlišné přístupy k analýze - vlnově-disperzní a energiově disperzní přístroje. První skupina odpovídá výše popsanému schématu, ovšem druhá skupina přístrojů se liší tím, že funkci monochromátoru přebírá vlastní detektor.

U této metody lze jako zdroj buzení použít rentgenky, radioizotopy nebo polarizované záření. Z pohledu monochromatizace záření a uspořádání přístrojů lze ještě rozdělit metodu na další dva směry - vlnově disperzní přístroje (WD XRF) nebo energiově disperzní spektrometry (ED XRF) [33].

4.2.8 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S BUZENÍM V INDUKČNĚ VÁZANÉM PLAZMATU (ICP – MS)

Do základního schématu MS lze zahrnout: iontový zdroj, transport a fokusace iontů, hmotnostní analyzátor, detektor, vynesení závislosti do grafu. Dle typu použitého iontového zdroje dělíme techniky anorganické hmotnostní spektrometrie na:

- SSMS (využívající pro ionizaci vysokoteplotní jiskry ve vakuu)
- MIP-MS (mikrovlnné plazma za sníženého tlaku)
- ICP-MS (argonové plazma)
- GD-MS (ve spojení s doutnavým výbojem)
- SIMS (za vysokého vakua s detekcí sekundárně vznikajících iontů)

Nejčastěji se používá ICP-MS a GD-MS. V potravinářském průmyslu lze použít metodu ICP-MS, nabízí se uplatnění zejména v oblasti stopové a ultrastopové analýzy [33]. V některých případech je metoda využívána i ke stanovování prvků v houbách. Pomocí ICP-MS byly analyzovány vzorky hub. Výsledky byly v uspokojivém souladu s metodou INAA [38].

4.2.9 METODY KOLORIMETRICKÉ

Kolorimetrie funguje na stejném principu jako spektrofotometrie, ovšem spektrum je zde omezeno na barvy viditelného světelného záření v oblastech od 380 do 760 nm. Většina kolorimetrických metod je založena na principu zbarvení roztoku po reakci stanovované látky a činidla zodpovědného za komplexační reakci.

Tato metoda se například úspěšně využívá pro stanovení mědi a železa. Pro kolorimetrii volných měďnatých iontů byly vyvinuty kompletační činidla 4-(3,5-dibromo-2-pyridylazo)-N-ethyl-N-sulfopropylamin (DiBr-PAESA) nebo 2-(5-Nitro-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino)fenol (Nitro-PAPS). Sloučeniny tvoří chelát s mědí s absorpčním maximem v oblasti 580 nm. Látkou Nitro-PAPS je možné kolorimetricky stanovit i železo. Detekční limit mědi při stanovení byl 2 μM [39, 30].

4.3 METODY ELEKTROCHEMICKÉ

Elektrochemické metody jsou velmi citlivé, rychlé a také selektivně detekující anorganické a organické látky ve složité biologické matrici. Pro metodu je důležité znát závislosti elektrochemického chování roztoků na jejich složení a koncentraci. Důležitou roli

zde hraje elektrochemický článek, který tvoří soustavu, v níž je analyzovaný roztok v kontaktu s elektrodami. Pomocí elektrod, které zajišťují spojení s měřícím přístrojem, zjistíme některé elektrické veličiny (proud I , potenciál E , vodivost G , elektrický náboj Q , kapacitu C , aj.) [40].

4.3.1 VOLTAMETRIE A POLAROGRAFIE

Voltametrie a polarografie jsou elektrochemické metody založené na sledování intenzity proudu nebo na velikosti proměnlivého vloženého napětí vkládaného mezi pracovní (polarizovatelnou) a referentní (nepolarizovatelnou) elektrodu – dvouelektrodové zapojení. V praxi se využívá i tříelektrodové zapojení z důvodu eliminace rušivých elementů, se kterými se můžeme setkat u dvojelektrodového zapojení. Problémem tohoto zapojení, je mimo jiné, proudové zatížení referentní elektrody. V tříelektrodovém zapojení nalezneme elektrody pracovní, referentní a pomocné. Na pracovní elektrodě probíhá elektrodový proces. Nejčastěji se vyskytují elektrody rtuťové (DME – kapající rtuťová elektroda, HMDE – visící rtuťová kapková elektroda) nebo pevné (uhlíkové – pastová uhlíková elektroda, elektroda ze skelného uhlíku a elektroda z pyrolytického uhlíku; kovové – zlatá, stříbrná apod.). Potenciál pracovní elektrody je kontrolován vůči elektrodě referentní s konstantním potenciálem. Vlastní referentní elektroda je od měřeného roztoku oddělena solným můstkem se zatavenou hustou skleněnou fritou. Nejčastější referentní elektrodou v praxi je elektroda argentchloridová ($\text{Ag}/\text{AgCl}/3 \text{ M KCl}$). Proud protéká jak pomocnou, tak pracovní elektrodou. Pomocná elektroda je běžně z ušlechtilého kovu (Au , Ag , Pt). Pokud se setkáme s metodou, kde se stále využívají rtuťové kapkové elektrody, bude se jednat o polarografii.

Proud prochází roztokem, pakliže zkoumaný vzorek obsahuje elektroaktivní látku neboli depolarizátor. Ten v daném potenciálovém rozsahu oxiduje nebo se redukuje. Elektrodové děje (oxidace anebo redukce) způsobují změny jen ve velmi těsné blízkosti povrchu polarizovatelné elektrody. Samotný elektrodový proces zahrnuje děje, které jsou spojeny s transportem elektroaktivní látky (analytu) k elektrodě, vlastním elektrodovým dějem a vylučováním produktu na elektrodě, případně jeho transportem od elektrody. Transport elektroaktivní látky je k elektrodě zprostředkován třemi pochody – difúzí, migrací nebo konvencí.

Před začátkem měření je podstatné se zbavit kyslíku z nosného elektrolytu. Jeho vylučování na povrch elektrody znemožňuje detekci ostatních elektroaktivních látek přítomných v roztoku, protože se sám zúčastňuje elektrodové reakce. Až poté můžeme přesněji detekovat koncentrace elektroaktivních látek [40].

4.3.2 POTENCIOMETRIE

Potenciometrie využívá pro detekci analyzovaných prvků elektrochemický potenciál, který vzniká na rozhraní elektrody a zkoumaného elektrolytu. Na rozdíl od předcházejících metod zde roztokem neprochází proud. Měří se elektromotorické napětí vhodného galvanického článku, který se skládá z měrné a referentní elektrody. Je nutné rozlišit samotnou potenciometrii a potenciometrickou titraci [41].

4.4 NEJČASTĚJŠÍ METODY STANOVENÍ OLOVA, RTUTI A KADMIA

Ke stanovení stopového a ultrastopového obsahu olova, kadmia a rtuti se nejčastěji používá metod spektrálních (především AAS, ale i AES) a elektrochemických (rozpuštěcí voltametrie). Metodika hmotnostní spektrometrie je vhodná zejména pro Cd a Pb. Pro všechny tři kovy lze s úspěchem použít i metodu ICP-AES.

RTUŤ

Pro stanovení rtuti je nejčastěji používána metoda AAS s atomizací v plameni nebo v grafitové kyvetě a hydridová technika, tzv. „metoda studených par“. Absorbance se sleduje při vlnové délce 253 nm. Zvýšené citlivosti metody se dosáhne použitím elektrotermických atomizátorů ETA. Pro měření rtuti metodou oxidační pyrolýzy byl v ČR vyvinut speciální AAS, tzv. rtuťový analyzátor, označený TMA-254 (Trace Mercury Analyzer), nyní AMA-254 (Advanced Mercury Analyzer).

Stanovení rtuti v oblasti stopových koncentrací metodami elektrochemickými se provádí formou elektrochemické rozpuštěcí analýzy s elektrodou grafitovou nebo zlatou.

KADMIUM

Nejčastěji se stanovuje plamenovou AAS při vlnové délce 228 nm. Po stránce elektrochemické vykazuje jeho iont Cd^{2+} jednoduché a dobře známé chování, proto se stejně, jako u olova, dá k jeho stanovení použít řada nejrůznějších polarografických technik (klasická DC, pulsní polarografie, voltametrie na visící rtuťové kapkové elektrodě ap.).

OLOVO

Nejvhodnější a nejcitlivější metodou pro stanovení olova je AAS s použitím elektrotermické atomizace. Základní použitelnou vlnovou délkou pro měření je 217 nm, přesných výsledků se dá dosáhnout i při 283 nm. Využití elektrochemických metod je podobné jako u kadmia [18].

Porovnání citlivosti jednotlivých spektrometrických metod uvádí tabulka:

Tab. 4 Meze detekce měření v mikrogramech na litr [18]

<i>Analyt</i>	<i>ICP-AES</i>	<i>AAS plamen</i>	<i>AAS s ETA</i>	<i>AAS s hydridovou technokou</i>
<i>Cd</i>	1,2	2	0,0002	-
<i>Hg</i>	12	200	0,2	0,02 (0,001*)
<i>Pb</i>	20	9	0,007	-

* s prekoncentrací na Au

4.5 MONITORING TOXICKÝCH PRVKŮ V HOUBÁCH

Ministerstvo zemědělství, tedy státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI), spolu s dalšími organizacemi posuzuje rizikové prvky v půdách, vodě, krmivech a v některých potravinách dle příslušných vyhlášek. Bohužel se vyhlášky k této problematice rapidně změnilly nebo došlo k úplnému zrušení s neplnohodnotným nahrazením vyhlášky. Zaměření se navíc týká spíše jiných škodlivých látek, jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), aromatické uhlovodíky, chlorované uhlovodíky (PCB), dioxiny, biogenní aminy, metanol, mykotoxiny, ethylkarbamát, ftaláty, dusičnany, pesticidy a jejich rezidua, alkaloidy, akrylamid a různé nežádoucí estery. Nicméně, nesmíme opomenout ani biomonitoring, kde jsou hlídány v potravinách obsahy škodlivých mikroorganismů (kontaminace).

Jestliže budeme sbírat volně rostoucí houby v přírodě, vystavujeme se riziku konzumace toxických prvků, eventuálně dalších výše zmiňovaných látek. Míru kontaminace půd a vod těmito nežádoucími látkami monitoruje Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy (VÚMOP). Kontroluje se většinou, kromě ostatních toxických látek, obsah jedenácti rizikových prvků (As, Be, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, V a Zn). Tyto údaje nám ale ještě nezaručují, že houby sbírané z relativně čistých oblastí neakumulují škodlivé prvky. Bylo totiž popsáno, že houby dokáží akumulovat i toxický prvek, který je v půdě v malém množství. Proto údaje o složení půdy a vody mohou být interpretovány pouze jako orientační [42].

Ministerstvo zemědělství v roce 2014 provedlo analýzu jedenácti vzorků čerstvých pěstovaných hub a našlo kadmium u 4 vzorků hlívy ústříčné a olovo v 1 vzorku žampionů.

Zjištěné koncentrace kadmia se pohybovaly od 0,010 do 0,067 mg.kg⁻¹ a byly výrazně pod hodnotou maximálního limitu [43].

V roce 2013 bylo analyzováno 10 vzorků čerstvých pěstovaných hub, ve kterých bylo prokázáno kadmium u tří vzorků. Jeho obsah se pohyboval od 0,011 do 0,053 mg.kg⁻¹, přičemž maximální limit je, dle vyhlášky, 0,2 mg.kg⁻¹ [42].

V roce 2012 bylo ale z deseti analyzovaných vzorků žampionů a hlívy ústříčné osm takto kontaminováno. Hladiny kadmia se pohybovaly od 0,01 do 2,6 mg.kg⁻¹ (což je desetinásobné překročení), u olova od 0,07 do 0,12 mg.kg⁻¹ [44].

U pěstovaných hub, které jsou k dostání v obchodech, se tedy obávat mírně zvýšeného, natož rizikového obsahu olova a kadmia nemusíme. Bylo by vhodné, kdyby mezi tyto prvky byl zařazen i monitoring rtuti, tato zmínka však ve vyhlášce chybí.

Sběr volně rostoucích hub je trend, který ani i po letech neupadá. Tabulka níže ukazuje, že zájem o sběr lesních plodin je víceméně stálý. Proto by bylo žádoucí provádět náhodné analýzy i volně rostoucích hub a formou mediálního rozšíření informovat houbaře, neboť většina z nich jsou pouzí nadšenci a nemají vůbec zdání o možných rizicích, pokud houby sbírají ve znečištěných oblastech.

Tab. 5 Množství sběru hlavních lesních plodin návštěvníky lesa v kg/domácnost ČR v období 1994 – 2012 [45]

Roky Year	Lesní plodiny Forest fruits						Celkem Total
	Houby Mushrooms	Borůvky Blueberries	Maliny Raspberries	Ostružiny Blackberries	Brusinky Cowberries	Bezinky Elderberries	
1994	6,15	2,95	1,11	0,70	0,17	1,03	12,11
1995	7,76	3,90	1,52	0,74	0,34	1,00	15,26
1996	4,79	2,47	0,82	0,46	0,19	0,39	9,12
1997	4,66	2,28	1,04	0,43	0,25	0,57	9,23
1998	4,63	2,69	1,28	0,61	0,16	0,68	10,05
1999	5,28	3,39	0,92	0,61	0,31	0,83	11,34
2000	6,21	2,27	1,06	0,70	0,19	0,46	10,89
2001	6,11	2,32	0,96	0,61	0,19	0,37	10,56
2002	5,55	2,84	0,94	0,56	0,24	0,55	10,68
2003	3,52	1,70	0,68	0,52	0,09	0,37	6,88
2004	4,30	1,91	0,67	0,47	0,57	0,43	8,35
2005	6,12	2,39	0,80	0,41	0,25	0,42	10,39
2006	8,17	2,96	0,92	0,49	0,32	0,41	13,27
2007	9,37	3,15	0,82	0,63	0,23	0,57	14,77
2008	4,78	1,44	0,34	0,19	0,17	0,29	7,21
2009	5,09	2,35	0,32	0,29	0,16	0,41	8,62
2010	7,75	2,94	0,67	0,57	0,08	0,22	12,23
2011	7,13	2,13	0,51	0,55	0,27	0,55	11,14
2012	7,91	1,65	0,82	0,77	0,07	0,53	11,75
Průměr Average	6,07	2,51	0,85	0,54	0,22	0,53	10,73

Evropská unie v roce 2007 doporučila limity těžkých kovů, zejména pro kadmium, olovo a rtuť. Navržená revize limitů kadmia ve volně rostoucích i pěstovaných houbách se týkala právě hodnoty $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ pro běžné houby, jako žampion (*Agaricus bisporus*), shitake (*Lentinula edodes*) a hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*). Většina členských států pro houby navrhla dokonce zvýšení limitu až na hodnotu $1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ (výhradně pro exotické druhy) [46].

5 ZÁVĚR

V bakalářské práci jsou shrnuté informace o toxických prvcích vyskytujících se v houbách volně rostoucích i uměle pěstovaných. Je zde diskutováno i ovlivnění kumulace těchto prvků v organismech hub prostředím, z něhož vyrůstají. Zmíněny jsou i metody, které se nejčastěji používají ke stanovení těchto nežádoucích prvků.

V pěstovaných houbách, které přicházejí do obchodních řetězců, provádí pravidelný monitoring obsahu olova a kadmia Česká zemědělská a potravinářská inspekce. Z výsledků jejich sledování u žampionů a hlívy ústříčné v posledních letech vyplývá, že nedošlo k výraznějšímu překročení přípustných limitů. Spotřebitelům v tomto případě nehrozí žádná zdravotní rizika.

U volně rostoucích hub se ale monitoring neprovádí. Tato oblast je v současné době zkoumána v celé řadě vědeckých prací, z jejichž závěrů plyne, že se houba chová jako bioakumulátor. Pokud má vhodné podmínky, může nakumulovat až nebezpečné hodnoty toxických prvků. Jako nejvíce rizikové můžeme označit kadmium, olovo, rtuť, měď, železo, nikl, zinek, cesium, stříbro a selen. Nejčastěji tyto prvky obsahují houby rostoucí ve znečištěných a průmyslových oblastech, na okrajích větších měst nebo u okrajů silnic. Riziko otravy sice není vysoké, neboť člověk obvykle nepozře tolik hub, aby zkonsumoval nebezpečnou nebo i smrtelnou dávku. Může si ale způsobit vážné zdravotní potíže, zvláště pokud jde o jedince oslabené, jako jsou např. děti, diabetici, celiatici a další. Důležité je také uvědomit si, že různé sloučeniny výše uvedených prvků mohou lidé užívat i v podobě suplementů, a tak docílí snadnější intoxikace organismu.

Rozhodně bychom volně rostoucí houby neměli konzumovat příliš často. Bylo by vhodné, kdyby Ministerstvo zemědělství, úřady a organizace, kterých se to týká, podpořili vznik nové vyhlášky, která by stanovovala přípustné limity toxických prvků nejen pro kadmium a olovo. Současně by uzákonili monitoring znečištění kritických oblastí a revize prováděli nejen u průmyslově pěstovaných hub, ale i u hub volně rostoucích a o výsledcích informovali i širokou veřejnost.

V poslední kapitole je uveden přehled metod používaných ke stanovení toxických prvků. Nejpoužívanější je metoda atomové absorpční spektrometrie (AAS), dále metoda atomové emisní spektrometrie s buzením v indukčně vázaném plazmatu (ICP-AES, příp. ICP-OES) a také poměrně přesná hmotnostní spektrometrie s buzením v indukčně vázaném

plazmatu (ICP-MS). Jednou z nejmodernějších a vysoce citlivých metod je instrumentální neutronová aktivační analýza (INAA), která však vzhledem k vysoké ceně zařízení a těžké dostupnosti aktivačního reaktoru má poměrně drahý provoz, a proto zatím širší praktické uplatnění nemá.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ROZSYPAL, S. *Nový přehled biologie..* Praha: Scientia, 2003, 797 s.. ISBN 8071832685.
2. ISILDAK, Ö. et al. Analysis of heavy metals in some wild-grown edible mushrooms from the middle Black Sea region. *Food Chemistry*. Turkey: 2004, č. 4, s. 547-52.
3. MIKŠÍK, M. *Poznáváme jarní houby..* Praha: Grada, 2013, 208 s.. ISBN 9788024744032.
4. SVOBODA, L. B. HLAVÍČKOVÁ a P. KALÁČ. Contents of cadmium, mercury and lead in edible mushrooms growing in a historical silver-mining area. *Food Chemistry*. České Budějovice: 2006, č. 4, s. 580-85.
5. HRDINA, V. et al. *Přírodní toxiny a jedy..* Praha: Galén, 2004. ISBN 8072622560.
6. KALÁČ, P. *Houby: víme, co jíme?* České Budějovice: Dona, 2008, 116 s.. ISBN 9788073221126.
7. MIKŠÍK, M. *1000 českých a slovenských hub*. Praha: Svojtka, 2015, 1024 s.. ISBN 9788025611906.
8. LARCHER, W. *Fyziologická ekologie rostlin..* Překlad Václav BAUER. Praha: Academia, 1988, 361 s..
9. BERNAŚ, E. G. JAWORSKA a Z. LISIEWSKA. EDIBLE MUSHROOMS AS A SOURCE OF VALUABLE NUTRITIVE CONSTITUENTS. *Acta Sci.Pol. Technol. Aliment*. Poland: 2006, č. 5.1, s. 5-20.
10. HAGARA, L. O. JINDŘICH a A. VÍT. *Houby: atlas jedlých hub s osvědčenými recepty*. Praha: Ottovo nakladatelství, 2015, 440 s.. ISBN 9788074512360.
11. KALÁČ, P. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013, č. 2, s. 209-18. ISSN 00225142.
12. OUZOUNI, P. K. et al. Determination of metal content in wild edible mushroom species from regions of Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*. Greece: 2007, č. 6, s. 480-86.

13. MOILANEN, M. et al. Does wood ash application increase heavy metal accumulation in forest berries and mushrooms? *Forest Ecology and Management*. Finland: 2006, č. 1-3, s. 153-60.
14. BENCKO, V. J. LENER a M. CIKRT. *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka*. 2. přepracované a doplněné vyd. v Grada Publishing 1. vyd. Praha: Grada, 1995. 807169150X.
15. BOROVIČKA, J. Houby a stopové prvky. *Vesmír: přírodovědecký časopis Akademie věd České republiky*. 2007, č. 8, s. 508-11. ISSN 0042-4544.
16. Stopové prvky. In: *Bezpečnost potravin A-Z* [online]. Dostupné také z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76808.aspx>
17. PROKEŠ, J. *Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie*.. Praha: Galén, 2005, 248 s.. 807262301X.
18. CIBULKA, J. *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*.. Praha: Academia, 1991, 427 s.. ISBN 8020004017.
19. BOROVIČKA, J. et al. Hyperaccumulation of silver by *Amanita strobiliformis* and related species of the section *Lepidella*. *Mycological Research*. Praha: 2007, č. 11, s. 1339-44.
20. BOROVIČKA, J. et al. Bioaccumulation of silver in ectomycorrhizal and saprobic macrofungi from pristine and polluted *Science of The Total Environment*. Praha: 2010, č. 13, s. 2733-44.
21. COCCHI, L. et al. Heavy metals in edible mushrooms in Italy. *Food Chemistry*. Italy: 2006, č. 2, s. 277-84.
22. Lanthanidy a další méně obvyklé kovy v houbách. In: *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. 2. 4. 2002. Dostupné také z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/lanthanidy-a-dalsi-mene-obvykle-kovy-v-houbach.aspx>
23. HÁLA, J. *Radioaktivní izotopy*. Tišnov: Sursum, 2013, 376 s.. ISBN 9788073232481.

24. CIBULKA, J. Cizorodé prvky v houbách. *Vesmír: přírodovědecký časopis Akademie věd České republiky*. 1996, č. 7, s. 389. ISSN 00424544. Dostupné také z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/cizorode-prvky-v-houbach>
25. FALANDYSZ, J. a J. BOROVIČKA. Macro and trace mineral constituents and radionuclides in mushrooms: health benefits and risks. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013, č. 2, s. 477-501.
26. KALACH, P. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. České Budějovice: 2001, č. 2, s. 209-18.
27. KALACH, P. Radioactivity of European Wild Growing Edible Mushrooms. In: ANDRES, S. a N. BAUMANN. *Mushrooms: types, properties and nutrition*. Hauppauge, N.Y.: Nova Science Publishers, 2012, s. 215-30. ISBN 9781614701101.
28. KOLEKTIV AUTORŮ. *Rozum do kapsy: malá encyklopedie*. 8. aktualiz. a dopl. vyd. Praha: Albatros, 2002, 628 s.. ISBN 9788000010250.
29. Bratislava: Press Foto ČSTK. 952782677017.
30. TOMŠOVSKÝ, M. *Obsah těžkých kovů v plodnicích hub* [Prezentace pro výuku předmětu Aplikovaná mykologie]. Brno: Lesnická a dřevařská fakulta MENDELU.
31. ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 298/1997, Vyhláška Ministerstva zdravotnictví, kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost Dostupné také z: <http://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=298&r=1997>
32. EVROPSKÁ UNIE. Nařízení komise č. 1881/2006ES, Nařízení komise, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Dostupné také z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:CS:PDF>
33. ČERNOHORSKÝ, T. a P. JANDERA. *Atomová spektroskopie..* Pardubice: Univerzita Pardubice, 1997. 807194114X.

34. FANG, Y. et al. Concentrations and health risks of lead, cadmium, arsenic, and mercury in rice and edible mushrooms *Food Chemistry*. China: 2013, s. 147-51.
35. DEMIRBAŞ, A. Concentrations of 21 metals in 18 species of mushrooms growing in the East Black Sea region. *Food Chemistry*. Turkey: 2001, č. 4, s. 453-57.
36. *Inovace v atomové absorpční a fluorescenční spektroskopii*. Praha: Česká společnost chemická, 2007. ISBN: 978-80-86238-33-3.
37. LOWELL, U. O. M. Integrating Research and Education. *Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA)* [online]. 18. 04. 2007 [cit. 2016-03-17]. Dostupné z: http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/INAA.html
38. BOROVIČKA, J. et al. Bioaccumulation of gold in macrofungi and ectomycorrhizae from the vicinity of the Mokrsko gold Praha: 2010, č. 1, s. 83-91.
39. ABE, A. S. YAMASHITA a A. NOMA. Sensitive, direct colorimetric assay for copper in serum. Japan: 1989, č. 35, s. 552-54.
40. Učební pomůcky vytvořené společně s financováním projektu. In: *Současné stanovení toxických a esenciálních iontů těžkých kovů* [online]. 2013 [cit. 2016-03-17]. http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/nanobiometalnet/index.html. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/nanobiometalnet/ucebni-pumucky/UP_3_Soucasne%20stanoveni%20toxickyh%20a%20esencialni%20iontu%20tezkyh%20kovu.pdf
41. VULTERIN, J. a J. ŠEVCOVÁ. *Příručka analytické chemie*. Praha: Univerzita Karlova v Praze - Pedagogická fakulta, 2003. ISBN 8072900730.
42. MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. *Zpráva o výsledcích sledování a vyhodnocování cizorodých látek v potravních řetězcích v rezortu* Praha: Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin, 2014. Dostupné také z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/publikace/Monitoring%202013%20WEB%20A.pdf>
43. MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. *Zpráva o výsledcích sledování a vyhodnocování cizorodých látek v potravních řetězcích v rezortu* Praha: Ministerstvo zemědělství,

- Odbor bezpečnosti potravin, 2015. Dostupné také z: http://www.potravininfo.cz/download/e-noviny/potraviny/mze_zpravamonitoring_2014.pdf
44. MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. *Zpráva o výsledcích sledování a vyhodnocování cizorodých látek v potravních řetězcích v rezortu* Praha: Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin, 2013. Dostupné také z: http://www.potravininfo.cz/download/e-noviny/potraviny/mze_zpravamonitoring_2012.pdf
45. eAgri. *Sběr hub a lesních plodin* [online]. 19. 09. 2013 [cit. 2016-03-17]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/lesy/casto-kladene-otazky/sber-hub-a-lesnich-plodin.html>
46. agronavigátor. *Revize limitů těžkých kovů v EU* [online]. 27. 09. 2007 [cit. 2016-03-17]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=3810&ch=1&typ=1&val=63759>

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Floristické oblasti [28]	39
Obr. 2 Schéma stavby kloboukatých hub a jejich anatomie [29]	40
Obr. 3 Periodická tabulka představující prvky, které mohou být analyzovány pomocí neutronové aktivační analýzy [37]	56

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Obvyklé obsahy významných minerálních prvků ve volně rostoucích a pěstovaných houbách v sestupném pořadí [11].....	21
Tab. 2 Obvyklé obsahy 20 stopových prvků v plodnicích volně rostoucích hub z neznečištěných oblastí, a také rody a druhy hub hromadící tyto prvky [11]	31
Tab. 3 Nynější vyhláška stanovuje maximální limity [32]	45
Tab. 4 Meze detekce měření v mikrogramech na litr [18]	60
Tab. 5 Množství sběru hlavních lesních plodin návštěvníky lesa v kg/domácnost ČR v období 1994 – 2012 [45]	62