



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

„Inovace bakalářského studijního oboru Aplikovaná chemie“
CZ.1.07/2.2.00/15.0247

Stanovení obsahu zinku v potravinovém doplňku

Biologický význam zinku je mnohem složitější než u jiných stopových prvků. Nedostatek zinku byl poprvé objeven v roce 1961 u mladých mužů v Iránu, kdy bylo pozorováno, že se u těchto lidí zvětšují rozměry hlavy, mají nízký vzrůst a sníženou sexuální schopnost. Bylo dokázáno, že všechny tyto negativní jevy jsou vyvolány nedostatkem zinku v potravě anebo jeho neúplným vstřebáváním. Zinek je nejhojnější intracelulární stopový prvek, má řadu katalytických, strukturálních a regulačních funkcí. Zinek je komponentem biomembrán, je nezbytný pro stabilizaci RNA, DNA a ribozomů, je přítomný v řadě transkripčních faktorů, stabilizuje některé komplexy hormonů s jejich receptory. V biologických systémech bylo nalezeno více než 200 Zn-enzymů ze všech 6 tříd. Jsou to např. karboanhydráza, ALP, GMD, RNA a DNA polymerázy, thymidinkináza, karboxypeptidáza, alkoholdehydrogenáza a superoxiddismutáza. Ovlivňuje syntézu RBP (retinol binding protein), uplatňuje se při tvorbě inzulinu a prodlužuje jeho hypoglykemický účinek. Má antioxidační účinky (stabilizuje buněčné membrány a snižuje tak riziko lipoperoxidace), dále je součástí enzymu superoxiddismutázy, která se podílí na zajištění antioxidační ochrany organismu. Důležité jsou i účinky detoxikační, snižuje toxický účinek olova a kadmia. Zinek je významný pro vývoj a správnou gonadální funkci u mužů, ovlivňuje spermatogenezi a produkci testosteronu. Zinek je potřebný pro syntézu nukleových kyselin, jeho deficit postihuje enzymy zapojené v jejich metabolismu a ovlivňuje tak rychlost buněčného dělení, růstu, regenerace, hojení ran apod. Dále je zinek důležitý pro udržení integrity a bariérové funkce kůže. Má komplexní účast v imunitním systému a při jeho deficitu je postižena především buněčná část imunity (pokles počtu a diferenciací T-lymfocytů, chemotaxe leukocytů a odpověď T-buněk na běžné antigeny). Projevy mírného deficitu zinku nejsou klinicky výrazné. Především u dětí bývá zjišťována retardace růstu, u dospělých potom narušení imunitních funkcí, oligospermie, komplikace gravidity (hypertenze v graviditě, předčasný porod, prodloužený porod). Závažnější deficit zinku se projevuje následujícími klinickými příznaky: poruchy růstu u dětí a dospívajících, poruchy metabolismu kostí, opožděné dospívání, poruchy vývoje pohlavních orgánů, u mužů snížení počtu a pohyblivosti spermií, u žen ovariální dysfunkce (poruchy menstruace, hormonální disbalance). Typické jsou poruchy kůže a kožních adnex (acroorificiální léze, glossitis), alopecie, dystrofie nehtů, zpomaluje se hojení ran, popálenin, vředů. Dále dochází k narušení imunity, mohou se objevit psychomotorické a psychosomatické poruchy (ataxie, poruchy řeči, deprese, emoční nestabilita). Narušeno je i smyslové vnímání, objevuje se šeroslepost, fotofobie, snížení ostrosti chuti a anorexie. Při deficitu zinku bývá zjišťována rovněž vyšší incidence nádorových a alergických onemocnění.

V organismu zdravého člověka množství zinku dosahuje přibližně 0,003 % (1,4 – 2,3 gramu). V průměru je nutno denně přijmout 10–20 mg zinku. Těhotné ženy mají zvýšenou potřebu zinku a musí denně přijmout 30 mg zinku. Zvýšenou spotřebu zinku mají i



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

„Inovace bakalářského studijního oboru Aplikovaná chemie“
CZ.1.07/2.2.00/15.0247

děti ve stádiu vývoje a růstu. Denně potřebují 10 mg zinku a pro kojence je nutný denní příjem 3,5 mg. V lidském organismu je zinek obsažen v kůži, vlasech, krvi, kostech, nehtech, játrech, ledvinách, slinivce, svalech a ve vnitřních orgánech. V potravě jsou hlavními zdroji zinku játra, tmavé maso, mléko, vaječné žloutky, ryby a další mořští živočichové (především ústřice). Z rostlinných produktů jde především o celozrnné cereálie, fazole, ořechy a dýňová semena. Obecně zinek, který je obsažen v masných produktech se lépe vstřebává. Nadbytečné množství kyselin v potravě rostlinného původu může být překážkou pro vstřebávání zinku v tenkém střevě. V biologických systémech se vyskytuje ve dvojmocné formě.

Atomová absorpční spektrometrie je metoda vhodná pro stanovení zinku v potravinách i jiných matricích biologického původu. K přípravě vzorků lze použít rozklad na suché cestě, rozklad na mokré cestě za atmosférického tlaku, tlakový rozklad nebo mikrovlnný tlakový rozklad kyselinou dusičnou nebo solubilizaci hydrolyzou vzorku zředěnou kyselinou chlorovodíkovou nebo dusičnou. Kapalný vzorek je zmlžován do plamene acetylen-vzduch a je měřena absorpce záření volnými atomy zinku na rezonanční čáře 213,9 nm. Koncentrace zinku v analyzovaných roztocích se z naměřených absorbancí určují metodou kalibrační křivky.

Pomůcky a přístroje:

Atomový absorpční spektrometr Contr AA 300, váhy s přesností na 0.1 mg, odměrná baňky 100 ml, odměrné baňky 50 ml, automatická pipeta 1 ml, pipety 5 ml dělené, pipety 2 ml dělené, špachtle.

Chemikálie:

Standardní roztok Zn o koncentraci 50 mg/l, kyselina sírová, peroxid vodíku, deionizovaná voda.

Postup:

Nejprve si v suché a čisté kádince o objemu 25 ml zjistíme hmotnost 1 tablety potravinového doplňku. Hmotnost zaznamenáme. Tuto tabletu rozmělníme v třecí misce. Do suché a čisté kádinky o objemu 25 ml pak odvážíme přibližně 100 mg potravinového doplňku s přesností na 1 mg. Přesnou hmotnost zaznamenáme. V digestoři přidáme do misky 5 ml koncentrované H_2SO_4 a poté opatrně přidáme 2 ml 30% peroxidu vodíku. Pokud se ve zbytku v kádince již neobjevuje tuhý podíl, mineralizaci ukončíme. Pokud je ještě patrný tuhý zbytek, přidáme další 3 ml koncentrované H_2SO_4 a poté opatrně přidáme 1 ml 30% peroxidu vodíku. Při práci s koncentrovanou H_2SO_4 a peroxidem vodíku pracujeme vždy s předepsanými ochrannými pomůckami – obličejovým štítem a gumovými rukavicemi. Mineralizát po ochlazení převedeme kvantitativně do 100 ml odměrné baňky za pomoci deionizované vody, kterou



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

„Inovace bakalářského studijního oboru Aplikovaná chemie“
CZ.1.07/2.2.00/15.0247

současně doplníme baňku po rysku a po uzavření důkladně promícháme. Z odměrné baňky s roztokem mineralizátu odebereme 5 ml vzorku do odměrné baňky o objemu 50 ml a doplníme po rysku destilovanou vodou.

Příprava kalibračních roztoků:

Do 50 ml odměrných baněk se postupně odměří 0.25 ml, 0.50 ml, 0.75 ml, 1.00 ml, 1.25 ml, 1.5 ml a 2 ml zásobního roztoku Zn o koncentraci 50 mg/l a doplní se po rysku deionizovanou vodou. Koncentrace Zn v jednotlivých kalibračních standardech jsou tedy 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50 a 2.00 mg/l.

Příprava atomového absorpčního spektrometru k měření:

- kontrola vloženého hořáku (používá se 5 cm hořák pro plamen acetylen - vzduch)
- zapnutí přístroje Contr AA 300 do zásuvky a jeho spuštění tlačítkem na boční straně
- zapnutí počítače
- otevření hlavního ventilu tlakové láhve s acetylenem (výstupní tlak v rozmezí 93 – 96 kPa, nesmí být vyšší ani nižší)
- zapojení vzduchového kompresoru do zásuvky a jeho spuštění (výstupní tlak 350 – 450 kPa)
- uvede se do chodu ventilátor odtahu
- aktivuje se program ovládání přístroje
- kontrola vlnové délky
- zapálení plamene
- načtení metody měření (metoda Zn)

Měření:

Po přípravě spektrometru k měření a případné optimalizaci lze přikročit k vlastnímu měření. Pro měření daného prvku je nutné v řídicím počítači otevřít soubor samotné metody měření (již provedeno) a dále vytvořit soubor do kterého budou naměřená data ukládána. Po startu měření je nutné nastavit nulovou hodnotu absorbance při nasávání kalibračního blanku. Následuje měření standardů a po dokončení kalibrace měření jednotlivých vzorků. Mezi jednotlivými roztoky se sací kapilára přístroje ponoří na několik sekund do kádinky s demineralizovanou vodou. Výsledky měření jsou udány vypočtenou koncentrací vyjádřenou v $\mu\text{g/ml}$ resp. mg/l , průměrnou absorbancí a relativní směrodatnou odchylkou.