

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Nepřímé voltametrické stanovení hliníku v potravinách a léčivech

Diplomová práce

2022

Bc. Nikol Kopecká

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Nikol Kopecká**
Osobní číslo: **C20476**
Studijní program: **N0914P360001 Bioanalytická laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**
Téma práce: **Nepřímé voltametrické stanovení hliníku v potravinách a léčivech**
Téma práce anglicky: **Indirect Voltammetric Determination Of Aluminum In Food And Drugs**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Teoretická část:

1. Informace zaměřené na základní fyzikálně-chemické a elektrochemické vlastnosti hliníku,
2. Detailní popis metabolismu hliníku a jeho vlivu na lidský organismus, možnosti intoxikace tímto kovem a jeho sloučeninami, limitní obsahy v potravinách dané legislativou,
3. Přehled dosavadního využití voltametrie pro detekci a monitorování obsahu hliníku se zaměřením na vzorky nápojů uchovávaných v hliníkových plechovkách a vybraných léčiv.

Experimentální část:

1. Seznam chemikálií a přístrojového vybavení, pracovní postup(y) přípravy roztoků,
2. Návrh příslušné metody, volba pracovní elektrody a optimalizace pracovních podmínek (s důrazem na výběr vhodného komplexačního činidla a složení nosného elektrolytu) a přístrojových parametrů
3. Experimentální ověření navržené voltametrické metody, modelová analýza vybraných vzorků
4. Vyhodnocení výsledků a pozorování se statistickým zpracováním získaných dat.

Rozsah pracovní zprávy: **35 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vyhledávejte informace především z anglicky psané vědecké literatury. Internetové zdroje používejte jen zřídka; nejlépe pro případné přejaté obrázky.

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Ivan Švancara, Dr.**
Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce: **Ing. Milan Sýs, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **18. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **6. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Nepřímé voltametrické stanovení hliníku v potravinách a léčivech jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 5.5. 2022

Bc. Nikol Kopecká

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu této diplomové práce, prof. Ing. Ivanu Švancarovi, Dr., za poskytnutí literárních pramenů a některých rad ohledně konečného vyhotovení této práce. Zvláště pak děkuji Ing. Milanu Sýsovi, Ph.D., za odborné vedení během celé diplomové práce, především experimentální části, ale i při zpracovávání výsledků do písemné podoby.

Anotace

Tato diplomová práce se zabývá vývojem nepřímé voltametrické metody pro stanovení hliníku v potravinách a léčivech. V teoretické části práce jsou popsány zdroje hliníku, jeho chování v lidském organismu a zpracován stručný přehled metod k jeho stanovení, především elektroanalytických postupů. Experimentální část se věnuje nejprve výběru vhodného činidla komplexujícího s hliníkem pomocí UV-Vis spektrofotometrické studie a techniky lineární voltametrie. Poté je pozornost zaměřena na optimalizaci metodického postupu s využitím techniky square-wave voltametrie k (nepřímému) stanovení hliníku v komplexu s morinem. V závěrečné fázi pak série experimentů dokládá možné uplatnění navržené metodiky ke stanovení hliníku v modelových vzorcích a v některých léčivech a potravin.

Klíčová slova: hliník, nepřímá voltametrické stanovení, morin, square-wave voltametrie, léčiva, nápoje

Title: Indirect voltammetric determination of aluminium in food and drugs

Annotation

This diploma thesis deals with the development of an indirect voltammetric method for the determination of aluminum in foods and pharmaceuticals. The theoretical part of the thesis describes the sources of aluminum, its behavior in the human body, and provides a brief overview of methods for its determination; especially, when using electroanalytical procedures. The experimental part is first devoted to the selection of a suitable reagent complexing aluminum by means of UV-Vis spectrophotometry and with the aid of linear voltammetry. Then, attention is paid to the optimization of the methodological procedure using the technique of square-wave voltammetry for (indirect) determination of aluminum in the complex with morin. In the final part, a series of experiments demonstrates the possible application of the proposed methodology for the determination of aluminum in model samples and in some drugs and foods.

Keywords: aluminum, indirect voltammetric analysis, morin, square-wave voltammetry, drugs, drinks

Obsah

Úvod	13
1 Fyziologický vliv hlinitých solí na lidský organismus	15
1.1 Zdroje kontaminace	15
1.1.1 Potraviny rizikové na obsah hliníku	16
1.1.2 Léčiva	17
1.1.3 Legislativa	19
1.2 Metabolismus hliníku	20
1.2.1 Absorpce	20
1.2.2 Distribuce	20
1.2.3 Eliminace	21
1.2.4 Mechanismus toxického působení hliníku na buňky	21
1.3 Onemocnění vyvolaná intoxikací hliníkem	22
1.3.1 Neurodegenerativní choroby	23
1.3.2 Kosterní choroby	24
1.3.3 Plicní choroby	24
1.3.4 Jaterní choroby	25
1.3.5 Autoimunitní syndrom indukovaný adjuvancii	26
2 Chemická a instrumentální analýza ke stanovení hliníku ve formě Al^{3+} resp. Al^{III}	27
2.1 Metody chemické analýzy	27
2.2 Metody instrumentální analýzy	28
2.3 Metody elektroanalytické a příbuzné postupy	28
2.3.1 Potenciometrické stanovení	29
2.3.2 Voltametrické stanovení	31
2.4 Stanovení hliníku na elektrodách z uhlíkových past	32
3 Experimentální část	35
3.1 Chemikálie a reagentie	35
3.2 Přístroje a zařízení	35
3.3 Příprava pracovních elektrod	36
3.4 Příprava roztoků	36
3.5 Příprava vzorků potravin a léčiv	37

3.6	Elektrochemické techniky	37
3.6.1	Lineární voltametrie	37
3.6.2	Square-wave voltametrie	37
3.7	UV-Vis spektrofotometrie	38
3.8	Titrační stanovení hlinitých solí	38
4	Výsledky a diskuze	38
4.1	Výběr vhodného komplexačního činidla	38
4.2	Optimalizace pracovních podmínek	43
4.2.1	Výběr vhodného elektrodového materiálu	43
4.2.2	Složení pracovního média	45
4.2.3	Elektrochemická detekce	45
4.3	Analytická výkonnost navržené metody	47
4.4	Analýza modelových a reálných vzorků	49
4.4.1	Interferenční studie	49
4.4.2	Analýza modelových vzorků	50
4.4.3	Analýza vzorku masti	51
4.4.4	Voltametrická analýza antacidu	51
4.4.5	Analýza nápoje skladovaného v hliníkové plechovce	52
5	Závěr	52
6	Reference	54

Seznam ilustrací a tabulek

Tabulka 1. Obsah některých hlinitých solí používaných v léčivech a jejich rozpustnost ve vodě	18
Tabulka 2. Srovnání výkonnostních charakteristik vybraných ISE pro stanovení Al^{3+} iontů na základě použitých ionoforů.....	29
Tabulka 3. Hodnoty koeficientů selektivity vybraných ISE pro detekci Al^{3+} iontů dle použitého ionoforu, $K_{Al^{3+},B}^{Pot}$	30
Tabulka 4. Výkonnostní charakteristiky vybraných voltametrických senzorů pro stanovení.....	31
Tabulka 5. Charakteristika modifikovaných CPE pro potenciometrické stanovení hliníku ...	33
Tabulka 6. Hodnoty koeficientů selektivity vybraných CPE pro detekci Al^{3+} iontů dle použitého ionoforu, $K_{Al^{3+},B}^{Pot}$	33
Tabulka 7. Srovnání dosud navržených voltametrických stanovení Al^{3+} iontů s CPE dle použitého komplexujícího činidla.....	34
Tabulka 8. Hodnoty RSD (%) po opakovaných měření s různými elektrodami za stejných podmínek	43
Obrázek 1: Přebal odborné knihy, která je věnována měřením s elektrodami z uhlíkové pasty (viz také citace [1])	13
Obrázek 2. Různé podoby hliníku v závislosti na pH vodného prostředí [5].....	16
Obrázek 3. Přenos hliníku z krevního řečiště do intracelulárního prostoru - upraveno [29]. ..	22
Obrázek 4. SWV voltamogramy obdržené na CPE modifikované HTX pro různé koncentrace hlinitých solí [75].....	34
Obrázek 5. Tvorba komplexu mezi hliníkem a morinem [107].	39
Obrázek 6. Vliv zvýšení obsahu hliníku na absorpční spektra různých ligandů. Korekce základní linie na $100 \mu mol \cdot l^{-1}$ příslušného činidla: pyrokatecholová violet (PCV; a), morin (M; b), rutin (R; c) a kyselina třísllová (TA; d) v $0,1 \mu mol \cdot l^{-1}$ AcB pH 4,5 (černá); 100 (červená), 200 (tmavě zelená), 300 (žlutá), 400 (světle modrá), 500 (fialová), 600 (světle zelená), 700 (růžová), 800 (tmavě modrá), 900 (šedá) a 1000 (hnědá) $\mu mol \cdot l^{-1}$	39
Obrázek 7. Kalibrační závislosti pro jednotlivá činidla, jmenovitě rutin (černá), pyrokatecholové violeti (červená), morinu (zelená), kyseliny třísllové (modrá).....	40
Obrázek 8. Lineární voltamogramy měřené na CPE. Černá křivka je základní linie získaná změřením AcB o pH 4,5 pro pyrokatecholovou violet (a), morin (b), kyselinu třísllovou (c), rutin (d) nebo AmBS o pH 8 pro dopamin (e) a epinefrin (f). Červené křivky pro $200 \mu mol \cdot l^{-1}$	

uvedených ligandů v daném roztoku pufru. Zelené křivky pro $200 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ uvedených komplexujících látek s $400 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoku standardu hliníku v příslušném roztoku pufru. .42

Obrázek 9. Záznamy voltametrických křivek získaných měření AcB o pH 4,5 obsahující $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu (černá); $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morin a $400 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ hliníku (červená).44

Obrázek 10. Square-wave voltamogramy $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu a $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ v $0,1 \text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB o hodnotě pH 4,5 obdrženy po 2 minutách stálého míchání při 400 rpm s amplitudou 10 (černá), 20 (červená), 30 (zelená), 40 (modrá), 50 (žlutá), 60 (fialová) mV.46

Obrázek 11. Square-wave voltamogramy $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu a $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ v $0,1 \text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB o hodnotě pH 4,5 obdrženy po 2 minutách stálého míchání při 400 rpm při amplitudě potenciálu 20 mV a zvolenou frekvencí 10 (černá), 20 (červená), 30 (zelená), 40 (modrá), 50 (žlutá), 60 (fialová), 70 (hnědá), 80 (šedá) Hz.....47

Obrázek 12. SWV voltamogramy komplexu $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu (M) s 0 (černá), 2 (červená), 5 (zelená), 10 (modrá), 20 (žlutá), 30 (fialová) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ (a) s příslušnou kalibrační křivkou (b) získanou odečtením výšek píku při +0.56 V. Potenciál amplitudy 10 mV, frekvence 70 Hz, potenciálový krok 5mV, potenciálový rozsah od 0 do +0.8 V.48

Obrázek 13. Vliv (a) kyseliny vinné a (b) EDTA na intenzitu proudu oxidačního píku pro komplex morin- Al^{3+} . $0,1 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB pH 4,5 (černá); $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morin (červená); $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morin a $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ (modrá); $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morin, $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ a $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (a) kyselina vinná nebo (b) EDTA (žlutá). Potenciál amplitudy 10 mV, frekvence 70 Hz, potenciálový krok 5mV, potenciálový rozsah od 0 do +0.8 V.50

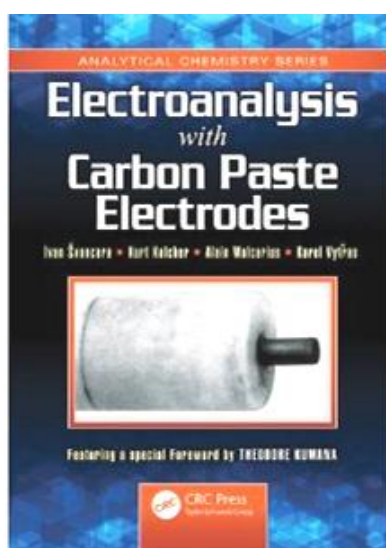
Seznam použitých zkratek

AcB	Octanový pufr
AdASV	Adsorptivní anodická strippingová voltametrie
AdCSV	Adsorptivní katodická strippingová voltametrie
AmBS	Amonný pufr
AmAcB	Octan amonný
AMC	Azitromycin
ASIA	Autoimunitní syndrom indukovaný adjuvancií
AuE	Zlatá elektroda
BiE	Bismutová elektroda
BRB	Britton-Robinsonův pufr
<i>c</i>	Koncentrace
CPtE	Potažená platinová elektroda
CSF	Chronický únavový syndrom
DNMA	2,2'-dihydroxy-1-naftyliden-1'-naftylmetylamín
DPV	Diferenčně pulzní voltametrie
DPAdSV	Diferenčně pulzní adsorptivní stripping voltametrie
FAAS	Plamenová atomová absorpční spektrometrie
GCE	Elektroda ze skelného uhlíku
GE	Grafitová elektroda
GFAAS	Atomová absorpční spektrometrie s grafitovou pecí
GWS	Syndrom války v zálivu
Hg(Ag)FE	Stříbrná amalgámová filmová elektroda
HIF-1 α	Hypoxií indukovaný faktor 1 α
HMB	E'-N'-(2-hydroxy-3-metoxybenzyliden)benzohydrazin
HMDE	Visící rtuťová kapková elektroda
HMX	1-hydroxy-3-metyl-9H-xanten-9-on
8HQ	8-hydroxychinolin
HTX	Haematoxylin
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou
ISE	Iontově-selektivní elektroda
LOD	Limit detekce

LOQ	Limit kvantifikace (také mez stanovitelnosti)
LSV	Lineární voltametrie
MAP	S mikrotubuly asociovaný protein
MMF	Makrofágová myofascitida
MSA	Merkaptojantarová kyselina
MWCNTs	Vícestěnné uhlíkové nanotrubičky
NPBS	N,N' propandiamin bis(2-salicylidenimin)
OEP	Oktaetylporfyrin
PA	Kyselina chloristá
PCV	Pyrokatecholová violet'
PME	Polyvinylchloridová membrána
PtE	Platinová elektroda
ROS	Reaktivní formy kyslíku
SBS	Syndrom nemocných budov
SO	Silikonový olej
SPCE	Tištěná uhlíková elektroda
SWV	Square-wave voltametrie
TA	Kyselina tříslivá
TEA	Triethanolamin
VLDL	Lipoprotein o velmi nízké hustotě

Úvod

Elektrochemická měření s uhlíkovými pastovými elektrodami (CPE) mají na Katedře analytické chemie Univerzity Pardubice (UPa) dlouholetou tradici a minimálně tři desetiletí představuje tento obor i poznávací značku elektroanalytické skupiny jak u nás, tak i ve světě, což lze doložit i tím, že právě pardubičtí (elektro)analytici se zásadně podíleli na vzniku vůbec první monografie o CPE (viz Obr. 1 a citace [1]), od jejíhož vydání právě letos uplyne deset let. V knize je mimo jiné odkazováno i na několik desítek diplomových prací z UPa (a předchozí VŠCHT); což jen dokládá, že rovněž naši diplomanti mají na výsledcích měření s CPE svůj podíl.



Obrázek 1: Přebal odborné knihy, která je věnována měřením s elektrodami z uhlíkové pasty (viz také citace [1])

Také v současnosti vědecko-výzkumná práce s CPE pokračuje, a to společně s příbuznými uhlíkatými konfiguracemi typu elektrody ze skelného grafitu (GCE), z uhlíkových nanotrubiček, či senzorů z litograficky tištěných inkoustů (čidla SPE). Přes stále výraznější orientaci na nejrůznější biologicky aktivní látky a jejich sledování v rámci klinické, farmaceutické a potravinářské analýzy, v pozornosti nadále zůstávají i některé polutanty ze skupiny kovů, jejich iontů a sloučenin.

To je případ i všeobecně rozšířeného hliníku, jehož ionty Al^{3+} , resp. atomy Al^{III} , jsou elektrochemicky mimořádně resistantní, elektroanalytické stanovení nesnadné, kdy často jediným východiskem je použití nepřímých postupů a metod. Jedním takových přístupem se zabývá i tato diplomová práce, mapující možnosti stanovení hliníku přes elektroaktivitu některých Al^{III} -chelátů ze skupiny hydroxylovaných polyaromátů, jako např. flavonol *Morin*

známý také z důkazových reakcí v klasické chemické analýze. Práce však není zaměřena pouze elektroanalyticky, ale její ambice jsou širší. Jednak se podrobněji věnuje elektrochemickému studiu zmíněných chelátů, jednak sonduje možnosti stanovení Al^{III} ve vybraných potravinách a nápojích, popř. i v některých farmaceutických preparátech.

1 Fyziologický vliv hlinitých solí na lidský organismus

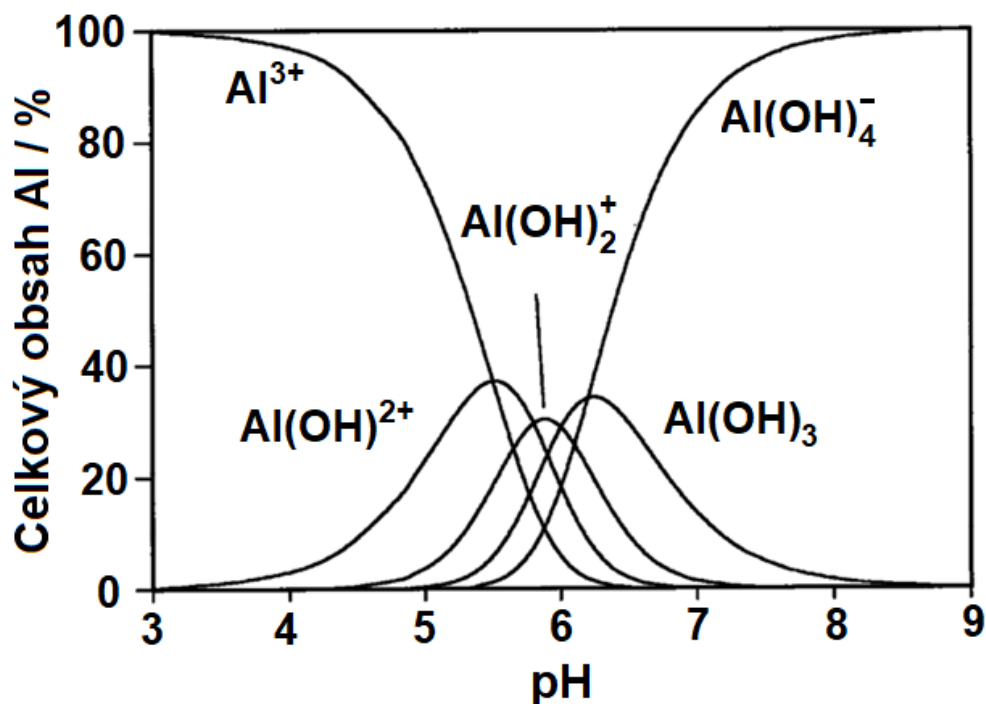
Mnoho studií se věnuje tématu toxického vlivu hliníku na živé organismy včetně člověka, zvířat i rostlin. Člověk se vystavuje jeho působení v každodenním životě ať už ve spojení s přírodními procesy nebo samotnou lidskou činností. Tento kovový prvek však postrádá v živém organismu svůj fyziologický význam. V této kapitole lze nalézt informace o tom, z jakých zdrojů se hliník dostává do lidského těla. Dále se zabývá tím, jak člověk metabolizuje hliník a jak může tento prvek nepříznivě ovlivňovat lidské zdraví.

1.1 Zdroje kontaminace

Hliník představuje hojně se vyskytující prvek v životním prostředí. Jedná se o lehký kov s výbornou tepelnou i elektrickou vodivostí. Tento kov se v přírodě vyskytuje v trojmocném stavu (Al^{3+}) v podobě oxidů, hydroxidů, křemičitanů, ale také v kombinaci s dalšími prvky jako je chlor, síra, fluor. Dále vykazuje schopnost vytvářet organické komplexy [2]. Tento kovový prvek lze nalézt ve velkém množství hornin, jejichž přirozeným zvětráváním se uvolňuje do životního prostředí. Tímto způsobem se hliník dostává do ovzduší a povrchových vod. Hliník je schopen se akumulovat v živých organismech jako jsou rostliny, jejich konzumenti, a tedy dostávat se do potravin [3].

Kromě přírodních procesů přispívá ke zvýšené koncentraci hliníku ve vzduchu a vodě také lidská činnost. Ta zahrnuje emise do ovzduší z procesu výroby hliníku, spalování uhlí, těžby, spalování odpadu a výfukových plynů motorových vozidel. Proto jsou živé organismy žijící v průmyslových oblastech vystaveny vysokým hladinám hliníku. Mezi další antropogenní zdroje hliníku patří zubní pasty, očkování, antiperspiranty a některá léčiva jako např. pufovaný aspirin a antacida [2,3].

Ve vodě může hliník nabývat různých podob v závislosti na pH, tak jak znázorňuje diagram na Obr. 2. Tento kov je velice dobře rozpustný v kyselém prostředí, a z tohoto důvodu mohou kyselé deště zvyšovat množství solubilizovaného hliníku ve vodě, rostlinách a půdě [3]. Al^{3+} je slabá Lewisova kyselina a reaguje s nukleofily včetně vody tvorbou komplexů. Při pH nižším než 4,5 se hliník vyskytuje převážně ve formě $\text{Al}^{3+} \times 6 \text{H}_2\text{O}$. Pokud se pH zvýší, dojde k sérii deprotonačních reakcí, jejichž výsledkem je vznik $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ a $\text{Al}(\text{OH})_3$. V případě, že je vodný roztok neutrální, převládá obtížně rozpustný $\text{Al}(\text{OH})_3$. Ten se však při pH 7,5 opět rozpustí a dominantní sloučeninou hliníku se stane $\text{Al}(\text{OH})_4^-$. Je také dobré zdůraznit, že chování hliníku ve vodných roztocích je důležité pro pochopení metabolismu hliníku v živých soustavách [4]. Schopnost hliníku vytvářet organické a minerální komplexy s několika stupni hydratace pomáhá jeho přenosu z pevné fáze (půda) do kapalné (voda) [3].



Obrázek 2. Různé podoby hliníku v závislosti na pH vodného prostředí [5].

1.1.1 Potraviny rizikové na obsah hliníku

Pro člověka jsou potraviny nepochybně hlavním zdrojem příjmu hliníku. Mnoho potravin v sobě kumuluje hliník přirozeně, ale většinu z toho, co člověk přijme, se dostalo do potraviny sekundárně prostřednictvím potravinářských přídatných látek [3].

Přirozeně se hliník může hromadit v rostlinách. Jeho koncentrace v ovoci a zelenině závisí především na kyselosti půdy, vody využívané k zalévání, použití hnojiv, odrůdě rostliny a působení kontaminovaného vzduchu. Ačkoliv hliník se nepovažuje za dobře vstřebatelným prvek, přesto se zjistilo, že pokud roste např. špenát či salát v půdě obsahující kolem 5 až 10 % hliníku, může v konečném důsledku tato zelenina obsahovat vyšší koncentrace tohoto prvku. Vysoký obsah hliníku dále objevuje např. v čaji, v některých bylinách, koření a bramborách [3,6].

Sekundárně se hliník vyskytuje v potravinách ve zvýšené míře z důvodu používání potravinářských aditiv. Tyto přísady se používají v procesech moření a konzervování potravin. Příkladem potravin s vysokým obsahem hliníkových aditiv jsou mléčné výrobky, snídaně cereálie, mouka, koláče, sušenky, prášek do pečiva, káva, sušené mléko, stolní soli, chléb, rýže a nealkoholické nápoje. Mezi běžně používané potravinové přísady patří fosforečnan hlinito-sodný, síran sodno-hlinitý a křemičitan sodno-hlinitý [3,6].

Další druhotné zdroje vyšší koncentrace hliníku v potravinách souvisí s procesem zpracování potravin, jejich přípravy a skladováním. Velké množství hliníku člověk přijímá nejen z důvodu jeho samotné přítomnosti v potravinách, ale také v důsledku jejich vaření v hliníkovém nádobí, z něhož dochází k vyluhování hliníku působením tepla. Za rizikové se považuje zejména vaření některých kyselých plodin (např. rajčat) v hliníkovém nádobí [3]. Ke kontaminaci potravin může dále docházet skladováním v hliníkových foliích a v hliníkových plechovkách. Velké množství studií prokázalo, že dochází v průběhu času k migraci hliníku do potraviny v důsledku kontaktu s hliníkem [6].

V jedné ze studií se uchovávala voda z vodovodu po dobu 32 hodin v hliníkové láhvi a množství hliníku se zvýšilo z 0,053 na 0,16 mg·l⁻¹. V jiné studii se zkoumalo zvýšení koncentrace hliníku v pivu a čajovém nápoji skladovaných v hliníkových plechovkách. Zde došlo k nárůstu obsahu hliníku u piva o 0,14 mg·l⁻¹ a 0,6 mg·l⁻¹ v čaji. Za důvod vyššího obsahu hliníkových solí v čaji, lze považovat nižší pH [6].

Velice se diskutuje vyvolání indukované toxicity hliníkem u novorozenců a kojenců prostřednictvím mléčných formulí. Jenom přibližně 38 % kojenců na světě je výhradně kojeno. Kojenecká výživa se využívá jako náhrada mateřského mléka [3].

Studie porovnávající obsah hliníku v mateřském mléce a kojenecké výživě odhalila, že průměrný obsah hliníku v kojenecké výživě činil 225,8 μg·l⁻¹, zatímco v mateřském mléce se hodnoty pohybovaly kolem 23,9 μg·l⁻¹ [3]. Další vědecká práce odhalila enormní obsah hliníku v mléčné výživě na bázi sóji, kde jeho koncentrace dosahovaly hodnoty až 756 μg·l⁻¹. Za důvod lze považovat hromadění hliníku v sójových bobech pěstovaných v kyselých půdách [7].

Nejnižší obsah hliníku se nachází ve speciálních mléčných formulích pro alergiky a formulích s doplňky aminokyselin, což naznačuje, že k eliminaci kontaminace hliníkem lze dosáhnout použitím vhodných přísad. V jiných mléčných výrobcích se obsah hliníku liší v závislosti na procesu zpracování potraviny, a to 0,004 ± 0,001 mg·l⁻¹ v syrovém kravském mléce, 0,732 ± 0,270 mg·l⁻¹ v sušeném mléce a od 0,027 do 5,7 mg·kg⁻¹ v taveném sýru [7].

1.1.2 Léčiva

V dnešní době se hliník přidává do léčiv jakými jsou antacida, analgetika nebo vakcíny. Tím pádem se tyto farmaceutické přípravky pro člověka stávají dalším zdrojem příjmu tohoto prvku [8].

Antacida mají význam v léčbě gastroezofageálního refluxu a pálení žáhy. Užitím maximální doporučené denní dávky antacid lze zvýšit příjem hliníku o 277 až na 3 809 mg

denně v závislosti na typu produktu [8]. Prokázalo se, že z použitých hlinitých solí v antacidech nejlépe neutralizuje žaludeční kyseliny almagát [9].

Hydroxid hlinitý se také někdy přidává do nesteroidních antiflogistik (NSAIDs, z angl. „*non-steroidal anti-inflammatory drugs*“), jenž zahrnují diklofenak, aspirin nebo ibuprofen, a to z důvodu usnadnění uvolňování účinné látky z lékových tablet. Aktivní látky v těchto léčivech představují obtížně rozpustné organické kyseliny v kyselém prostředí žaludku. Když kyselina pronikne do léčivého přípravku, dojde ke srážení aktivní látky a rychlost jejího uvolňování se zpomaluje. Hydroxid hlinitý má schopnost udržovat neutrální prostředí, které přispívá k rychlejšímu uvolňování účinné látky léku a ve větším rozsahu. To je důležité především, pokud má léčivá látka dosáhnout co nejrychleji systémového oběhu [8].

Mezi další léčivé látky s obsahem hliníku patří octan hlinitý a acetotartrát hlinitý používané jako astringenty [10]. Další využívané hlinité soli v léčivech jsou uvedeny v Tab. 1.

Tabulka 1. Obsah některých hlinitých solí používaných v léčivech a jejich rozpustnost ve vodě

Sloučenina	Chemický vzorec	Al (%)	Rozpustnost v H ₂ O (mg/ml)	Ref.
Oxid hlinitý	Al ₂ O ₃	52,9	Ne	[8,11]
Hydroxid hlinitý	Al(OH) ₃	34,6	Ne	[8,11]
Síran draselno-hlinitý	KAl(SO ₄) ₂	10,5	13,3	[12]
Octan hlinitý	Al(CH ₃ COOH) ₃	13,2	4,81	[13,14]
Acetotartrát hlinitý	C ₆ H ₇ AlO ₈	11,5	90,8	[15]
Magaldrate	Al ₅ Mg ₁₀ (OH) ₃₁ (SO ₄) ₂	12,3	Ne	[8,16]
Hydrotalcid	Mg ₆ Al ₂ (OH) ₁₆ CO ₃ ×4H ₂ O	8,9	51,2	[8,17]
Almagát	AlMg ₃ (CO ₃)(OH) ₇ ×2H ₂ O	8,6	Ne	[8,18]

Sloučeniny hliníku se také používají jako adjuvans do vakcín určených pro člověka i zvířata nebo pro hyposenzibilizační léčbu alergií [8]. Hlinité soli v očkovací látce stimulují imunitní systém prostřednictvím aktivace buněk prezentujících antigen, aktivace komplementové kaskády a sekrece chemokinů. Přidání hliníku do vakcín může proto vést k vystupňování imunitní odpovědi a vyšší a trvalejší produkci specifických protilátek proti antigenům. V dnešní době se hliník vyskytuje ve vakcínách proti tetanu, hepatitidě A, hepatitidě B, lidskému papilomaviru, *Haemophilus influenzae* typu b a infekcím způsobených *Streptococcus pneumoniae* a *Neisseria meningitidis* [19].

První vakcíny s hliníkovým adjuvans se připravovaly přidáním báze do roztoku antigenu smíchaného se síranem hlinito-draselným. Tento způsob výroby nahradila z důvodu

nízké reprodukovatelnosti, vysoké variability imunologické odpovědi a nemožnosti kontroly množství zachyceného antigenu adsorpce antigenů na předem připravené hydratované gely solí hliníku. Nejčastěji se používají gely na bázi oxyhydroxidu hlinitého a hydroxyfosfátu hlinitého. Tyto soli se obtížně rozpouští při pH 5–7. Liší se naopak v tom, že rozpustnost oxyhydroxidu hlinitého se prudce zvyšuje při pH nižším než 5, zatímco výrazné zvýšení rozpustnosti hydrogenfosforečnanu hlinitého je patrné již při hodnotě pH 6 [20].

1.1.3 Legislativa

Evropským úřad pro bezpečnost potravin v roce 2008 stanovil tolerovaný týdenní příjem hliníku na $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ hmotnosti těla. Podle této hranice by měl dospělý člověk o hmotnosti 70 kg přijmout nejvíce 70 mg hliníku týdně. Příklad příjem hliníku však také závisí na hmotnosti, věku, a celkové kondici daného jedince. Dále Světová zdravotnická organizace (WHO) v roce 2011 doporučila tolerovaný příjem hliníku $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti za týden [21].

Pitná voda obsahuje různé množství hliníku v závislosti na tom, odkud tato voda pochází, a zda se jeho soli používají v procesu úpravy vody. Síran a polychlorid hlinitý slouží totiž jako flokulační činidla k odstranění koloidních, částicových a rozpuštěných látek z vody procesem koagulace. Koncentrace hliníku se po ukončení procesu úpravy vody pohybuje kolem $0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a v případě dobrých pracovních podmínek lze dosáhnout až hodnoty $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Americká agentura pro ochranu životního prostředí (US EPA) a Evropská unie stanovila hodnotu $0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ($7,5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) jako hraniční množství hliníku v pitné vodě [6].

Co se týče vakcín, oficiální zdravotní úřady považují používání hliníkových adjuvans za velice účinné a dostatečně bezpečné. Nicméně o přidávání hlinitých solí do vakcín se stále vedou diskuze [19]. Většina hlášených nežádoucích účinků souvisí s porušením vlastní imunitní tolerance vedoucí k vyvolání autoimunitních reakcí a alergií [20]. Za náchylnou skupinu se považují především děti, které dostávají několik dávek vakcíny během krátké doby [19].

Americký zákoník federálních předpisů doporučuje, aby množství hliníku v jedné dávce vakcíny určené pro člověka nepřekračovalo 0,85 mg hlinitých iontů. Naposledy se pozměnily předpisy v roce 1981 určením hodnoty 1,25 mg jako přípustného množství hliníku v jedné dávce vakcíny. Limity se určují na základě bezpečnosti, úrovně zesílení imunitní odpovědi a poměru rizika a přínosu. Pokud se prokáže účinnost, může být hladina solí hliníku ve vakcíně vyšší [22].

1.2 Metabolismus hliníku

Lidé a další živé organismy nejsou imunní vůči stále vzrůstající zátěži hliníku. Narůstající expozice se již projevila úhynem ryb v povrchových vodách s vysokou kyselostí a omezením růstu rostlin v kyselých půdách [23]. Z důvodu zjevného toxického působení hliníku je důležité pochopení jeho chování v lidském organismu, o čemž pojednává tato podkapitola.

1.2.1 Absorpce

Hliník se do lidského organismu může dostat orálně, kůží, nosní sliznicí a plícemi [21]. Skrz svrchní vrstvu kůže proniká do lidského těla nejvíce hliníku přes potní kanálky a vlasové folikuly. V případě nosní sliznice se může hliník v podobě prachových částic nebo aerosolu rozpustit v hlenu lemující respirační epitel nebo se transportovat k zadní části krku a odtud putovat do trávicího ústrojí. Co se týče plic, ty poskytují veliký povrch pro interakce s vdechovaným hliníkem a slouží jako jedna z cest vstupu do tohoto prvku do systémového oběhu [23].

Gastrointestinálním traktem se absorbuje orálně konzumovaný hliník a také ten, který se odstraní z nosu a plic pomocí mukociliární clearance [23]. Do krevního oběhu proniká asi 0,1 % hliníku z potravin a 0,3 % z vody. Vstřebávání tohoto prvku začíná již v duodenu, nejproximálnější části tenkého střeva. Sloučeniny hliníku se při fyziologickém pH nemají prakticky schopnost včlenit do buněk střevního epitelu. V přítomnosti organických kyselin se však zvyšuje rozpustnost těchto sloučenin a tím i jejich absorbovatelnost [21]. U pacientů užívajících léčiva obsahujících hliník se zjistili jeho vyšší hladiny jak v séru, tak v moči [24]. Biodostupnost hliníku ze střevního traktu zvyšuje dále nedostatek vápníku, sodíku, železa [7] a zinku. Enterální vstřebávání hliníku dále zvyšují látky jako např. parathormon, vitamin D a maltol. Mezi látky, které naopak inhibují vstřebávání hliníku patří fosfát a fluor. Fosfát snižuje resorpci hliníku tvorbou nerozpustného trifosforečnanu hlinitého. Fluor zvyšuje vylučování hliníku močí a stolicí tvorbou snadno rozpustného hexafluoridu hlinitého, který zabraňuje vazbě na transferin [25]. Snižít absorpci hliníku lze dále vytvořením nerozpustných sloučenin s fyťátem, křemičitanem nebo polyfenoly [26].

1.2.2 Distribuce

Po absorpci může hliník putovat krevním řečištěm ve vazbě na transferin zejména do kostí, plic, svalů, jater a mozku [21]. Ostatní plazmatické proteiny jako např. albumin a globuliny váží Al^{3+} slabě a nespecificky [27]. Kromě transferinu se do distribuce hliníku mezi tkáněmi a krví zapojují ligandy jako např. citrát a fosfát [23]. Celkový obsah hliníku v těle

zdravého člověka se pohybuje v rozmezí 30-50 mg·kg⁻¹ tělesné hmotnosti a jeho normální sérové koncentrace dosahují hodnot od 1 do 3 μg·l⁻¹ [26].

1.2.3 Eliminace

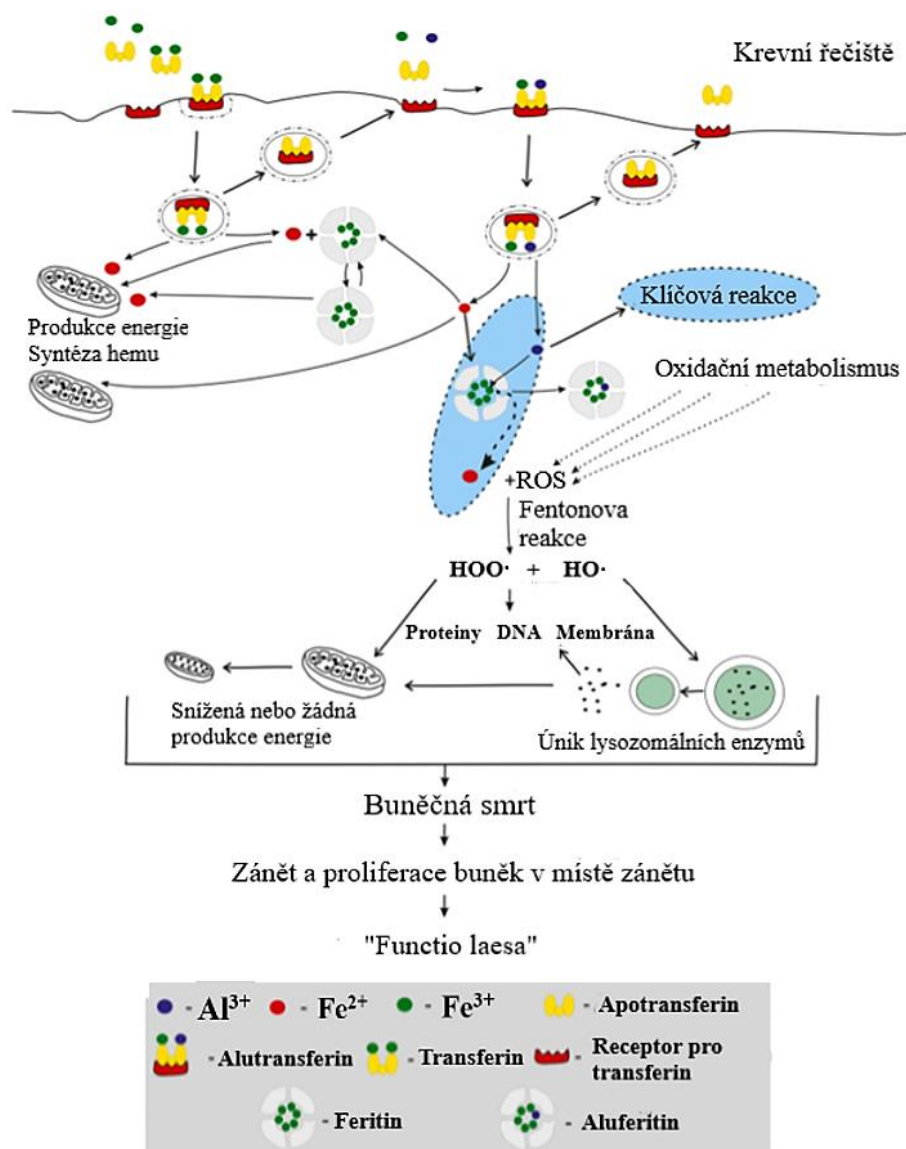
Hliník se vylučuje především močí. Literatura uvádí až 100 μg hliníku denně [28]. Trávicím traktem neabsorbovaného hliníku se tělo zbavuje výkaly. Ve velmi malé míře se hliník eliminuje z těla žlučí [26]. Za další cesty, kterými organismus vylučuje tento prvek lze považovat pot, kožní maz i sperma [23].

Poměrně málo údajů existuje o vylučování hliníku zmiňovaným potem. Lidé produkují 0,5 až 4,0 l potu denně v závislosti na fyzické aktivitě. Pocení by tedy mohlo představovat jednu z hlavních cest eliminace hliníku z lidského těla. V jedné britské studii měřili koncentrace hliníku v potu 20 dobrovolníků (10 mužů a 10 žen) průměrného věku 21 let. Obsah tohoto prvku v potu se pohyboval od 329 do 5329 μg·l⁻¹, přičemž muži vylučovali mnohem více hliníku než ženy [28].

Pokud injikujeme hliník do těla prostřednictvím vakcíny, jeho eliminace se zpomalí, protože určitá část hliníku zůstane uvnitř exponovaných makrofágů, které iniciují imunitní odpověď. Fagocyty poměrně rychle přenášejí částice hliníku do lymfoidních orgánů a poté do krevního řečiště. Z toho vyplývá, že buňky obsahující hliník se mohou dostat do vzdálených orgánů [19].

1.2.4 Mechanismus toxického působení hliníku na buňky

Hliník a železo mohou ve vazbě na transferin endocytózou vstupovat do vnitřního prostoru buněk. Následuje uvolnění železa a hliníku z transferinu. Fe³⁺ se na rozdíl od Al³⁺ redukuje ferrireduktázou na Fe²⁺ a uvolňuje se do cytoplazmy. Hliník se dále může vázat na místo železa v molekule feritinu. Tím by docházelo ke zvýšení Fe²⁺ iontů zapojující se do Fentonovy reakce. Tato reakce produkuje reaktivní formy kyslíku (ROS) poškozující peroxidací buněčné proteiny, membránové lipidy, ale i DNA. Poškození mitochondrií vede k narušení produkce energie. Dále dochází k úniku lysozomálních proteáz. Tyto děje mohou vést až k buněčné smrti, rozvoji zánětlivé reakce a nakonec k narušení funkce příslušného orgánu [29]. Důležitá část metabolismu hliníkových solí, kde je demonstrován vznik ROS, je uvedena na Obr. 3. Exley [30] v jedné ze studií dále uvádí možnost přímého toxického působení na buňky prostřednictvím poloredukovaného radikálového iontu AlO₂²⁺ vznikajícího vazbou Al³⁺ na superoxidový radikál (O^{2·-}) za fyziologických podmínek.



Obrázek 3. Přenos hliníku z krevního řečiště do intracelulárního prostoru - upraveno [29].

1.3 Onemocnění vyvolaná intoxikací hliníkem

Vzhledem k nízké vnitřní absorpci a účinné eliminaci hliníku z krve ledvinami je zdravý dospělý člověk dobře chráněn proti toxicitě požitého hliníku. Problém nastává, když tyto ochranné mechanismy selžou. Pokud ledviny nevyklučují dostatečně hliník, bude mít tento prvek tendenci se hromadit ve tkáních. Tuto skutečnost popisují nejvíce práce ze 70. let 20. století, kdy se mezi dlouhodobými dialyzovanými pacienty objevovala závažná neurologická onemocnění. Stejně tak byl nepříznivý vliv hliníku na organismus pozorován u kojenců, jejichž funkce ledvin není ještě plně vyvinuta. Mezi tkáně, ve kterých se hliník může hromadit a ovlivňovat jejich funkci patří např. mozek, kost, játra, slezina, endokrinní žlázy (příštítná tělíska) a ledviny [31,32].

1.3.1 Neurodegenerativní choroby

Stále více studií ukazuje, že hliník se zapojuje do rozvoje neurologických onemocnění jako je Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, roztroušená skleróza a amyotrofická laterální skleróza [33]. Již existují důkazy, že relativně vysoké koncentrace hliníku mohou být po nahromadění v nervové tkáni akutně neurotoxické [34]. Přesný mechanismus potřebný k vyvolání neurodegenerativních poruch však není jasně definován. Stejně tak není definováno přesné množství hliníku, které vyvolá neuropatologii. Většina studií zaměřených na souvislost mezi hliníkem a rozvojem neurodegenerativních onemocnění se týká Alzheimerovy choroby [33].

Alzheimerova choroba je věkem podmíněné neurodegenerativní onemocnění charakterizované akumulací senilních plaků a neurofibrilárních klubek v mozku. Etiologie tohoto onemocnění není zatím úplně objasněna, ale ukazuje se, že kovy vyvolaný oxidační stres by mohl hrát významnou roli v patogenezi demence Alzheimerova typu. V mozcích starších lidí a pacientů s Alzheimerovou chorobou se našlo vyšší množství oxidovaných produktů různých biomolekul včetně nukleových kyselin, proteinů, lipidů a sacharidů [35].

V několika studiích se popisuje nález hliníku v neurofibrilárních klubkách pacientů s Alzheimerovou chorobou [36,37,38]. Dále se prokázala souvislost mezi tvorbou neurofibrilárních spleteí indukovanou hliníkem prostřednictvím modifikace tau proteinu. Tau je hlavní protein asociovaný s mikrotubuly (MAP, z angl. microtubule associated protein) zralého neuronu. Funkcí MAP je interakce s tubulinem, podpora jeho sestavení do mikrotubulů a stabilizace sítě mikrotubulů. Hyperfosforylace tau tuto biologickou funkci potlačuje. V hyperfosforylovaném stavu dochází k polymerizaci do párových spirálových vláken smíšenými s rovnými vlákny tvořící neurofibrilární spleti. V této souvislosti se zjistilo, že hliník podporuje hyperfosforylaci tau inhibicí aktivity proteinové fosfatázy 2A v pyramidálních buňkách. Normální funkce tau proteinu závisí na přidání fosfátu kinázami a odstranění fosfátu pomocí proteinové fosfatázy 2A [39,40].

Co se týče dalších neurodegenerativních onemocnění, multicentrická studie kanadských a amerických vědců se zabývala po dobu 36 let analýzou obsahu hliníku v celkem 511 vzorcích neokortexu temporálního laloku mozku. Vzorky mozku pocházely od pacientů s 16-ti různými neurologickými onemocněními. Jako kontrola se použily vzorky mozku od mladší skupiny průměrného věku $10,2 \pm 6,1$ a starší skupiny průměrného věku $71,4 \pm 9,3$. Oproti zdravým kontrolám se zjistil přibližně 8,08 krát vyšší obsah hliníku u Alzheimerovy choroby, 4,53 krát vyšší u Downova syndromu a 3,69 krát vyšší u dialyzační demence.

U ostatních zkoumaných neurologických poruch se neprokázalo významné zvýšení hliníku v mozkové tkáni [41].

1.3.2 Kosterní choroby

Toxické působení hliníku na kostní aparát člověka se prokázal v 70. a 80. letech 20. století, kdy se objevila jako běžná komplikace hemodialýzy a peritoneální dialýzy u některých pacientů s chronickým selháním ledvin. Osteomalacie vznikla z důvodu vysoké hladiny hliníku ve vodě používané k výrobě dialyzační tekutiny. Hliník totiž přecházel z dialyzační tekutiny do krevního oběhu pacientů. Onemocnění kostí se projevilo i u pacientů, kteří používali nitrožilní výživu kontaminovanou vysokou hladinou hlinitých solí, protože hliník přednostně obsazuje nemineralizovaný kolagen typu I, kde by se za normálních okolností měl hromadit vápník. Tím je narušena kalcifikace kosti, což může vést k tomuto onemocnění [32]. Nahromaděný hliník lze obvykle nalézt na rozhraní osteoidní a mineralizované vrstvy kostní tkáně [27,42].

Hliník se může hromadit v kostech a působit toxicky u lidí s onemocněním ledvin, kteří perorálně požívají antacida nebo léky vázající fosfát. Normální hladina hliníku v kosti činí méně než $10 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ suché hmotnosti. Množství hliníku v kostech u lidí s poruchou funkce ledvin dosahuje více než $100 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ na sušinu [32,42].

Na rozdíl od osteomalacie způsobené nedostatkem vitamínu D se u osteomalacie vyvolané intoxikací hliníkem často vyskytuje vyšší predispozice k lámavosti kostí, rozvoj demence, mikrocytární anemie, myopatie a hyperkalcémie [42]. Vystavením dostatečně vysokým hladinám hliníku dochází k narušení tvorby a mineralizace kosti buď přímo účinkem tohoto prvku na kostní buňky nebo nepřímo účinkem na metabolismus vápníku [27], neboť hliník zhoršuje produkci parathyroidního hormonu v příštítných tělíscích.

1.3.3 Plicní choroby

Poslední dobou se s intoxikací hliníkem dávají do souvislosti onemocnění plic jako plicní fibróza, plicní alveolitida a alveolární proteinóza, astma, chronická bronchitida a chronický zápal plic [43]. Jiné skutečnosti ukazují, že hliník nemusí mít nepříznivý účinek na plicní tkáň. Nicméně je nutné zmínit skutečnost, kdy v Ontariu horníci používali hliníkový prášek McIntyre po mnoho let jako prevenci silikózy bez zjevných následků na dýchací systém [44].

Mechanismus, jakým hliník působí toxicky na plíce, není přesně znám. Jak již bylo dříve uvedeno, hliník může zvyšovat oxidační stres, a tím pádem vytvářet zánětlivá místa na plicním epitelu [43]. V jedné ze studií se u myší vystavených hydroxidu hlinitému prostřednictvím

nebulizace objevil pokles krevní destiček, vyšší počet neutrofilů, makrofágů a lymfocytů a nižší počet monocytů ve srovnání s kontrolní skupinou. Zjistilo se, že hydroxid hlinitý podporoval migraci zánětlivých buněk do plic [45].

U některých pracovníků hliníkáren analýza tkání prokázala vysoké koncentrace hliníkových vláken, což by mohlo svědčit pro zvýšené riziko rozvoje hliníkem indukované plicní fibrózy. Dále se plicní fibróza objevila u 46 z 344 pracovníků zabývajících se výrobou brusiv na bázi oxidu hlinitého. Onemocnění se projevovalo nenodulární plicní fibrózou s převahou v horní části plic, periferním emfyzémem a rupturou emfyzematózních váčků způsobující pneumotorax [44].

Inhalace hliníku se uvádí jako rizikový faktor pro rozvoj bronchiálního astmatu. Astma je chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest charakterizované recidivujícími respiračními příznaky jako dušnost, sípání, tlak na hrudi a kašel. Toto onemocnění způsobuje kombinace genetický a environmentálních faktorů. Na patogenezi astmatu se pravděpodobně podílí i hliník. V jedné ze studií popisuje zvýšená koncentrace hliníku v sérech astmatických pacientů o 47 % ve srovnání se zdravou kontrolní skupinou. Přesný mechanismus zodpovědný za změny v hladině hliníku v séru není zatím objasněn [46].

Existuje důkaz, že by se hliník mohl podílet na rozvoji astmatu prostřednictvím epigenetických změn. Egyptská studie odhalila, že pacienti s astmatem měli významně vyšší množství koncentraci hliníku v krvi a také prokázala vyšší míru metylace genu kódující beta 2 adrenergní receptor. Metylace DNA se považuje za nejkompexněji studovaný mechanismus v patogenezi astmatu. Hypermetylace genu kódující beta 2 adrenergní receptor přitom pozitivně koreluje se závažností astmatu [47].

Mezi další projevy onemocnění dýchacího systému dávaného do souvislosti s intoxikací hliníkem patří plicní alveolární proteinózu, což je vzácný stav charakterizovaný nahromaděním lipoproteinového materiálu v alveolárním prostoru a deskvamativní intersticiální pneumonie charakterizovanou intraalveolární akumulací makrofágů [44].

1.3.4 Jaterní choroby

Hliník narušuje metabolické procesy v jaterních buňkách (hepatocytech) vlivem na metabolismus železa či vyvoláním oxidačního stresu. Četné jaterní poruchy se připisují mitochondriální dysfunkci a neschopnosti hepatocytů plnit své fyziologické funkce. Ukázalo se, že narušení aerobního metabolismu, mitochondriální struktury a snížení počtu mitochondrií urychluje nástup obezity, diabetu typu II a steatózu jater [48].

Studie na zvířatech sledovaly vliv injekčně aplikovaného chloridu hlinitého na histologii jater. Africké studie ukázaly, že krysy a králci ošetřené chloridem hlinitým vykazovaly ve srovnání s kontrolou deformaci v uspořádání jaterního parenchymu, ztrátu radiálního uspořádání sinusoid kolem centrální žíly a ztrátu hexagonálního tvaru hepatocytů [49,50].

Kanadská studie zjistila se, že hliníkem vyvolaná mitochondriální dysfunkce podporuje lipogenezi a akumulaci lipoproteinu o velmi nízké hustotě (VLDL). Buňky HepG2 ovlivněné hliníkem vylučovali více cholesterolu, lipidů a proteinů než kontrolní buňky. K podobným pozorováním se dospělo i obézních jedinců, kteří mají tendenci čelit deficitu ATP a hromadění tuku. Objevila se také výrazně zvýšená hladina apolipoproteinu B100 v médiu HepG2 buněk vystavených hliníku. Elektroforetické a imunoblotové analýzy ve stejné studii dále ukázaly zvýšenou produkci lipogenních enzymů jako glycerol-3-fosfát dehydrogenáza, acetyl CoA karboxyláza a ATP-citrát lyáza [51]. Kromě toho jiná studie uvádí, že toxické působení hliníku vede k inhibici β -oxidace mastných kyselin. Oxidace mastných kyselin vyžaduje L-karnitin, jehož biosyntéza probíhá hlavně v játrech a závisí na přítomnosti ketoglutarátu a železa. Hliník má však negativní vliv jak na funkci ketoglutarátu, tak železa a tím pádem se snižuje i hladina L-karnitinu [48].

Za ústřední prvek ovlivňující metabolismus tuků v buňkách HepG2 vystavených hliníku se považuje α -ketoglutarát, který se přednostně použije ke zhášení ROS. To vede k akumulaci sukcinátu, který pravděpodobně stabilizuje hypoxií indukovaný faktor 1 α (HIF-1 α) aby se zvýšila produkce ATP glykolýzou. Tímto způsobem se snaží buňky HepG2 kompenzovat sníženou funkci mitochondrií indukovanou hliníkem [48,52].

1.3.5 Autoimunitní syndrom indukovaný adjuvancii

Autoimunitní syndrom indukovaný adjuvancii (ASIA, z angl. autoimmune syndrome induced by adjuvant) byl poprvé definován v roce 2011 jako skupina autoimunitních poruch způsobených hliníkovými adjuvancii ve vakcínách, infekcemi a chemikáliemi jako např. silikon [53,54]. Předpokládá se, že adjuvans může v organismu uvést do pohybu řetězec biologických a imunologických reakcí vedoucích u geneticky predisponovaných jedinců ke vzniku autoimunitního onemocnění [53].

ASIA se týká pěti imunitně zprostředkovaných stavů, tj. makrofágová myofasciitida (MMF, z angl. *macrophagic myofasciitis syndrome*), syndrom války v zálivu (GWS, z angl. *gulf war syndrome*), syndrom nemocných budov (SBS, z angl. *sick building syndrome*), silikonózy a autoimunitní reakce po očkování. Všechny tyto stavy sdílejí podobnou

symptomatologii zahrnujících myalgie, myozitidu, artralgie, neurologické projevy, horečku a chronický únavový syndrom (CFS, z angl. *chronic fatigue syndrome*) [55].

Za jeden ze spouštěčů ASIA se považuje právě hliník obsažený ve vakcínách, kde působí jako zesilovač imunitní odpovědi, což by mohlo poskytnout cestu k rozvoji autoimunitních reakcí [56].

2 Chemická a instrumentální analýza ke stanovení hliníku ve formě Al^{3+} resp. Al^{III}

Jak lze vydedukovat z předchozích kapitol, monitorování hladiny hliníku v různých vzorcích může mít velký význam. Z tohoto důvodu mohou analytické metody pro stanovení hlinitých solí nalézt své uplatnění při kontrole bezpečnosti průmyslových pracovišť, povrchových a pitných vod, bezpečnosti léčiv a potravin, a v poslední řadě v klinické analýze při studiu vzniku hliníkem indukovaných onemocnění.

V této kapitole se čtenáři mohou dozvědět normované postupy při přípravě vzorků k analýze, tak i jejich inovace. Dále jsou zde stručně popsány klasické, tak i instrumentální metody, které byly doposavad vyvinuté pro stanovení hlinitých solí, kdy největší důraz bude kladen na zákonem normované metody a možnosti aplikace elektrochemických přístupů.

2.1 Metody chemické analýzy

Mezi klasické analytické přístupy stanovení hliníku patří gravimetrie a volumetrie. Běžný způsob vážkového stanovení spočívá v hydrolyze hliníku s amoniakem, filtraci, žihání a vážení vzniklého oxidu hlinitého [57]. Gravimetrickou analýzu hlinitých solí lze dále provést např. precipitací s *N*-benzoylphenylhydroxylaminem [58], kyselinou dehydrooctovou [59], 8-hydroxychinolinem (8-HQ) [60]. Jedna ze studií popisuje vážkové stanovení hliníku v podobě fosfátu [61].

V odměrné analýze lze uplatnit metodu založenou na zpětné titraci nadbytku roztoku kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA) pomocí roztoku olova o stejné koncentraci. Bod ekvivalence lze poté detekovat pomocí xylenolové oranže [62]. Dále se může použít volumetrické stanovení hliníku založené na precipitaci tohoto prvku s 8-HQ následované titrací bromičnanem pro stanovení obsahu 8-HQ ve sraženině. Volumetrické stanovení hliníku lze také provést postupem zahrnujícím přidání standardního roztoku EDTA k roztoku hliníku s následnou titrací standardním roztokem železa. Indikace koncového bodu titrace se pak může uskutečnit pomocí kyseliny salicylové [63].

2.2 Metody instrumentální analýzy

Jak již bylo zmíněno dříve, pro stanovení hliníku se zpravidla volí metody jako spektrofotometrie a fluorimetrie [64]. Ve vzorcích vod, podzemních vod a málo znečištěných vod se tento prvek stanovuje spektrofotometricky v komplexu s pyrokatecholovou violetí dle platné normy ČSN ISO 10566 [65]. Studie popisují spektrofotometrické stanovení hliníku v komplexu s alizarinem [66], od něj odvozené alizarinové červené S [67] a alizarinové žluté R [68]. Komplex vytvořený mezi hliníkem a morinem [69] nebo 8-HQ [70] lze detekovat jak spektrofotometricky tak pomocí fluorimetrie. V této souvislosti se uplatnila spektrofotometrická detekce chelátu 8-HQ s hliníkem při vysokoúčinné kapalinové chromatografii s reverzní fází [71]. Dále pak fluorimetrická detekce reakce jeho derivátu 8HQ-5-sulfonové kyseliny s hliníkem za použití ionexové kapalinové chromatografie [72].

Mezi další běžně používané metody pro přímé stanovení hliníku patří atomová absorpční nebo emisní spektrometrie [64]. Použití metod plamenové atomové absorpční spektrometrie (FAAS) a atomové absorpční spektrometrie s grafitovou pecí (GFAAS) pro určení obsahu hliníku ve vodách popisuje norma ČSN EN ISO 12020 [73]. Dle normy ČSN EN 14936-2 se stanovuje obsahu hliníku v mědi a slitinách mědi metodou FAAS [74].

Optická emisní spektrometrie s indukčně vázanou plazmou (ICP-OES) patří mezi velmi rozšířenou metodu ve stopové analýze kationtů kovů ve vzorcích vody, potravin a půd. Mezi výhody této techniky patří její vysoká stabilita, možnost analýzy více prvků najednou, dobrý dynamický rozsah koncentrací a optimální selektivita [75]. ICP-OES se používá dle normy ČSN EN 17265 pro analýzu obsahu hliníku v pšeničných nudlích, sýru, játrech, červené řepě a kakaovém prášku [76]. Tuto metodu lze aplikovat i na stanovení hliníku ve vlasech a krvi, tzn. v biologickém materiálu [77]. V dalších vědeckých pracích stanovovaly hliník pomocí ICP-OES i v dětském výživě, mléčném prášku [78], energetických nápojích [79] a surovém palmovém oleji [80]. Další technika používaná pro stanovení hliníku v potravinách dle normy ČSN EN 17264 je hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) [81].

2.3 Metody elektroanalytické a příbuzné postupy

Pro stanovení hlinitých solí se obvykle používá spektrofotometrie, fluorimetrie nebo atomová emisní či absorpční spektrometrie. Tyto metody se však v praktické analýze potýkají s problémy souvisejícími s významnými efekty matrice, drahým přístrojovým vybavením a značnými iontovými interferencemi [64]. Z tohoto důvodu vzrostl zájem o použití elektroanalytických metod. Mezi výhody použití těchto technik patří jejich rychlost, vysoká

selektivita a citlivost, nízký detekční limit, relativní jednoduchost, nízké náklady na vybavení a snadná laboratorní adaptace [82].

2.3.1 Potenciometrické stanovení

Několik studií popisuje potenciometrické stanovení hliníku za pomoci fluoridu. K tomuto účelu lze použít fluoridovou iontově selektivní elektrodu (ISE). Fluoridová ISE detekuje pokles iontové aktivity fluoridu způsobený tvorbou komplexu mezi hliníkem a fluoridem [83]. Baumannová navrhla potenciometrickou titraci fluoridem sodným v ethanolu s využitím elektrody z fluoridu lanthanitého [84]. K sledování reakce mezi fluoridovými a hlinitými ionty lze také použít hliníkovou elektrodu [83]. Použití platinové elektrody elektrochemicky potažené hliníkem pomocí dusičnanu hlinitého uváděné v jedné z vědeckých prací [85] není pravděpodobně možné.

Navzdory naléhavé potřebě hliníkových ISE pro rychlé a přesné monitorování hliníku v různých průmyslových, lékařských a environmentálních vzorcích existuje v literatuře omezené množství informací o senzorech pro přímé stanovení koncentrace hliníku [86]. Z toho důvodu vzrostl zájem o vývoj selektivních membránových elektrod se zabudovanými ionofory [87]. Vybrané senzory na základě použitého ionoforu jsou uvedeny v Tab. 2.

Tabulka 2. Srovnání výkonnostních charakteristik vybraných ISE pro stanovení Al^{3+} iontů na základě použitých ionoforů

Ionofor	Směrnice (mV/řád c)	pH	Životnost	Linearita ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)	Ref.
Furil	18,5 ±0,7	0,5–3,0	2 měsíce	1,0–1,0×10 ⁴	0,13	[87]
HMX	20,0 ±0,2	3,0–8,5	3 měsíce	1,0–1,6×10 ⁵	0,60	[88]
Morin	19,7 ±0,1	3,5–5,0	2 měsíce	0,5–1,0×10 ⁵	0,32	[89]
NPBS	19,4 ±0,3	2,5–4,0	2 měsíce	0,8–1,0×10 ⁵	0,46	[90]
HMB (PME)	19,9 ±0,3	3,0–7,0	2 měsíce	0,3–1,0×10 ⁴	0,17	[91]
HMB (CPE)	20,1 ±0,4	3,0–7,0	2 měsíce	0,1–1,0×10 ⁴	0,06	[91]
AIMCM-41 (PME)	19,5 ±0,4	3,0–6,0	3 měsíce	0,1–1,0×10 ⁵	0,09	[86]

Poznámky: c; koncentrace, CPE; uhlíková pastová elektroda, CPE; potažená platinová elektroda, HMB; *E-N'*- (2- hydroxy-3- methoxybenzylidin) benzohydrazin, HMX; 1-hydroxy-3-methyl-9H-xanthen-9-on, LOD; limit detekce, NPBS; *N,N'*-propandiamin bis(2-salicylidenimin), PME; polyvinylchloridová membrána, Ref.; reference.

Citlivost u všech výše uvedených ISE je srovnatelná a pohybuje se kolem 20 mV na koncentrační řád. Většina měření se provádí v kyselé až neutrální oblasti. Jejich životnost je bohužel jen dva měsíce. Pouze ISE na bázi HMX [88] a AIMCM-41 v polyvinylchloridové membráně [86] vykazují o měsíc delší životnost.

Linearita odezvy nabývala podobného rozsahu u většiny senzorů. Nejnižšího detekčního limitu v jednotkách setin $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ se dosáhlo s platinovou elektrodou potaženou HMB [91] a senzorem tvořených polyvinylchloridovou membránou (PME) s ionoforem Al-MCM41 [86]. Hodnoty koeficientů selektivity pro interferující ionty, které jsou uvedeny v Tab. 3, dosahují u vybraných ISE poměrně nízkých hodnot.

Tabulka 3. Hodnoty koeficientů selektivity vybraných ISE pro detekci Al^{3+} iontů dle použitého ionoforu, $K_{\text{Al}^{3+},\text{B}}^{\text{Pot}}$

Interferující iont (B)	Furil	HMX	Morin	HMB (PME)	HMB (CPtE)	AIMCM-41 (PME)
K⁺	$1,6 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-1}$	$1,0 \times 10^{-3}$	$3,1 \times 10^{-3}$	$1,1 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-4}$
Na⁺	$1,6 \times 10^{-3}$	$4,3 \times 10^{-1}$	$1,7 \times 10^{-3}$	—	—	$2,3 \times 10^{-4}$
Ag⁺	$1,1 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-1}$	—	$6,4 \times 10^{-3}$	$3,9 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-3}$
NH₄⁺	—	$1,3 \times 10^{-1}$	$1,2 \times 10^{-3}$	—	—	$2,3 \times 10^{-4}$
Li⁺	$1,5 \times 10^{-3}$	—	—	—	—	$2,1 \times 10^{-3}$
Cs⁺	$1,7 \times 10^{-3}$	—	—	—	—	—
Tl⁺	$1,6 \times 10^{-3}$	—	—	—	—	—
Cd²⁺	$7,4 \times 10^{-2}$	$5,0 \times 10^{-3}$	$5,0 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-3}$	$7,4 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-3}$
Be²⁺	—	—	—	—	—	$1,1 \times 10^{-2}$
Pb²⁺	$2,0 \times 10^{-3}$	$4,6 \times 10^{-3}$	$8,0 \times 10^{-4}$	$7,5 \times 10^{-3}$	$4,8 \times 10^{-3}$	$8,4 \times 10^{-3}$
Cu²⁺	$8,5 \times 10^{-2}$	$2,1 \times 10^{-3}$	$1,2 \times 10^{-4}$	$2,1 \times 10^{-3}$	$9,7 \times 10^{-4}$	$2,1 \times 10^{-3}$
Mn²⁺	$1,8 \times 10^{-3}$	$2,2 \times 10^{-3}$	$2,5 \times 10^{-4}$	$8,1 \times 10^{-3}$	$5,3 \times 10^{-3}$	$6,5 \times 10^{-4}$
Hg²⁺	$2,2 \times 10^{-2}$	$6,2 \times 10^{-2}$	$1,0 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-2}$	$5,7 \times 10^{-3}$	—
Ni²⁺	$2,1 \times 10^{-3}$	$4,4 \times 10^{-3}$	$1,9 \times 10^{-4}$	$5,2 \times 10^{-3}$	$2,5 \times 10^{-3}$	—
Zn²⁺	$2,0 \times 10^{-3}$	$5,5 \times 10^{-3}$	$2,8 \times 10^{-4}$	$3,5 \times 10^{-3}$	$2,1 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-3}$
Ba²⁺	$1,4 \times 10^{-2}$	$5,2 \times 10^{-2}$	—	$1,6 \times 10^{-3}$	$7,9 \times 10^{-4}$	$1,4 \times 10^{-2}$
Mg²⁺	$2,2 \times 10^{-3}$	$1,5 \times 10^{-3}$	—	$5,1 \times 10^{-3}$	$1,5 \times 10^{-3}$	$3,4 \times 10^{-3}$
Sn²⁺	—	—	—	—	—	$2,5 \times 10^{-3}$
Ca²⁺	$1,7 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-3}$	—	$1,3 \times 10^{-3}$	$8,7 \times 10^{-4}$	$7,3 \times 10^{-3}$
Co²⁺	$1,8 \times 10^{-3}$	$5,8 \times 10^{-3}$	$3,9 \times 10^{-4}$	$4,6 \times 10^{-3}$	$2,2 \times 10^{-3}$	—
Fe²⁺	—	—	—	—	—	$1,1 \times 10^{-2}$
Fe³⁺	—	$2,0 \times 10^{-4}$	$3,9 \times 10^{-3}$	$5,4 \times 10^{-2}$	$1,2 \times 10^{-2}$	—
Cr³⁺	—	$5,0 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-3}$	$1,4 \times 10^{-2}$	$9,2 \times 10^{-3}$	$1,2 \times 10^{-2}$
Ti³⁺	—	—	—	$9,7 \times 10^{-4}$	$6,8 \times 10^{-4}$	—
La³⁺	—	—	—	$8,8 \times 10^{-4}$	$5,2 \times 10^{-4}$	—
Ho³⁺	—	—	—	$1,1 \times 10^{-3}$	$8,2 \times 10^{-4}$	—
Bi³⁺	—	—	—	$1,1 \times 10^{-2}$	$8,0 \times 10^{-3}$	—
Ref.	[87]	[88]	[89]	[91]	[91]	[86]

2.3.2 Voltametrické stanovení

Přímo voltametrickými metodami se hliník obtížně stanovuje z důvodu jeho redukce při velmi vysokém potenciálu ($-1,75$ vs. nasycená kalomelová elektroda; SCE) [69]. Proto se jeho stanovení provádí voltametricky nepřímou po vytvoření komplexů s elektroaktivními ligandy obsahujícími *o,o'*-dihydroxyazo nebo di-*o*-hydroxy skupiny. Komplex ligand- Al^{3+} se poté obtížněji redukuje nebo oxiduje než volný ligand, což má za následek vznik samostatného redoxního píku pro komplex [92].

Některé voltametrické senzory s použitím různých činidel pro stanovení hliníku jsou uvedeny v Tab. 4. Pro nepřímé voltametrické stanovení hlinitých solí lze použít elektrody na bázi uhlíku [92,93]. Senzory založené na visící kapkové rtuťové elektrodě (HMDE) mizí z laboratorní praxe z důvodu toxicity rtuti a nahrazují se více bezpečnými amalgámovými elektrodami [82]. Analýza hlinitých solí voltametrickými metodami probíhá většinou v kyselém prostředí. Výjimku tvoří některé postupy využívající jako komplexující činidlo alizarin [92], alizarin S [82,94] a katecholaminy jako např. L-Dopa [95].

Tabulka 4. Výkonnostní charakteristiky vybraných voltametrických senzorů pro stanovení

Senzor	Činidlo	Medium	pH	Technika	Linearita ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)	Ref.
GE	Alizarin	AmBS	8,4	DPV	0,15–10	$1,5 \times 10^{-1}$	[92]
GCE	Alizarin S	AcB	4,0	DPV	0,14–1,4	$8,0 \times 10^{-2}$	[93]
Hg(Ag)FE	Alizarin S	AmBS	9,2	DPV	0,18–1,7	$7,0 \times 10^{-3}$	[82]
HMDE	PCV	TEA/PA	6,5	LSV	0,04–0,9	$3,7 \times 10^{-3}$	[96]
GCE	L-dopa	AmBS	8,5	DPV	0,20–1,8	$7,6 \times 10^{-2}$	[95]
HMDE	8HQ	AmAcB	6,8	AdCSV	0,085–0,2	$8,5 \times 10^{-2}$	[97]
SPCE	MSA	AcB	3,6	DPV	0,041–12,4	$3,7 \times 10^{-2}$	[98]
SPCE	JS-1	AcB	4,5	DPV	0,025–0,17	$8,4 \times 10^{-5}$	[99]
GCE	TA	HCl/KCl	1–2	SWV	0,01–10	$1,0 \times 10^{-2}$	[100]
GCE	Morin	AcB	4,4	DPAdSV	0,07–13	$7,0 \times 10^{-2}$	[69]
BiE	Alizarin S	AmBS	9,2	DPV	0,15–1,5	$5,0 \times 10^{-4}$	[94]

Poznámky: AcB; octanový pufr, AdCSV; adsorptivní katodická stripping voltametrie, AmBS; amonný pufr, AmAcB; octan amonný, BiE; bismutová elektroda, DPV; diferenčně pulzní voltametrie, DPAdSV; diferenčně pulzní adsorptivní stripping voltametrie, GCE; elektroda ze skelného uhlíku, GE; grafitová elektroda, 8-HQ; 8-hydroxychinolin, Hg(Ag)FE; stříbrná amalgámová filmová elektroda, HMDE; visící rtuťová kapková elektroda, LSV; lineární voltametrie, MSA; merkaptojantarová kyselina, TA; kyselina tříslivá, TEA/PA; triethanolamin/kyselina chloristá, SPCE; tištěná uhlíková elektroda, SWV; square wave voltametrie

Pro voltametrické stanovení hlinitých solí se převážně používají pulzní techniky [92,93,94,100] a minimálně lineární voltametrie [96]. Spodní mez lineárního rozsahu (LOQ) u voltametrických metod nabývá převážně hodnot setin a desetin jednotek $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Limit

detekce (LOD) se zpravidla pohybuje v rozmezí setin až desetin jednotek $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Výjimku tvoří voltametrické techniky využívající jako JS-1 [99] a Alrizarin S [94], u kterých se dosáhlo o několik řádů nižších hodnot LOD.

Analýzy se prováděly převážně na jednoduchých maticích, jako jsou povrchové vody, minerální vody a voda z vodovodního řadu [69,93]. Ve vzorcích čaje se úspěšně uplatnil senzor založený na samo-sestavené vrstvě zlatých nanočástic modifikovaných merkaptojantarovou kyselinou na tištěné uhlíkové elektrodě (SPCE) [98]. Stanovit hlinité ionty v biologických materiálech (krev, moč, vlasy) a lécích se podařilo pomocí činidla L-Dopa elektrodou ze skelného uhlíku (GCE) [95]. Ve vzorcích rostlinného původu se pro stanovení hlinitých iontů využila adsorpce komplexu 8-hydroxyquinolinu (8-HQ) s hliníkem na rtuťové kapkové elektrodě [97].

2.4 Stanovení hliníku na elektrodách z uhlíkových past

Rovněž na elektroanalytických stanoveních iontů Al^{3+} , popř. elektrochemických studiích s některými sloučeninami typu $(\text{Al}^{\text{III}})_n\text{-L}_m$, lze demonstrovat oblibu uhlíkových pastových elektrod připravených z tradičních komponent nebo z nově syntetizovaných materiálů. Celkem jde o desítku publikovaných prací, pro něž je příznačné, že dvě třetiny pocházejí z nového tisíciletí a dokládají možnosti nových typů uhlíkových past. Navrhované metody jsou použitelné jak pro analýzu přírodních vod, tak ke stanovení v některých pevných vzorcích (kovy a slitiny), potravinách nebo ve vybraných farmaceutických preparátech.

V Tab. 5 jsou uvedeny výkonové charakteristiky modifikovaných CPEs pro potenciometrické stanovení hliníku. Citlivost uvedených elektrod se pohybuje kolem 20 mV na řád koncentrace stejně jako v případě membránových senzorů. Sensory založené na modifikovaných CPEs fungují většinou v kyselé až neutrální oblasti. Z hlediska životnosti je zde nutno uvést, že některé jednoduché modifikované CPE [101] mohou mít výrazněji delší životnost než jejich membránové analogy [86]. Všechny výše uvedené potenciometrické senzory lze použít ve stejném koncentračním rozsahu. U CPE modifikované sol-gel a zlatými nanočásticemi v přítomnosti 2,2'-dihydroxy-1-naftyliden-1'-naftyl metyl aminu (DNMA) jako ionoforu [102] se linearita odezvy pohybovala v rozsahu až osmi koncentračních řádů. V tomto případě se také dosáhlo nejnižšího detekčního limitu.

Tabulka 5. Charakteristika modifikovaných CPE pro potenciometrické stanovení hliníku

Ionofor	Směrnice (mV/řád c)	pH	Životnost	Linearita ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)	Ref.
DNMA	$20,0 \pm 0,1$	3–7	2 měsíce	5×10^{-4} – 5×10^4	2×10^{-4}	[102]
ALMCM-41	$19,8 \pm 0,4$	2–6	>4 měsíce	$1,0$ – 5×10^5	0,5	[101]
OEP	$18,4 \pm 0,5$	4–7	—	$2,5$ – 10^4	2,5	[103]
AMC	$21,3 \pm 0,2$	3–5	—	$7,0$ – 1×10^4	6,0	[104]

AMC; azitromycin, DNMA; 2,2'-dihydroxy-1-naftyliden-1'-naftyl metyl amin, OEP; oktaetylporfyrin

V Tab. 6 jsou uvedeny hodnoty selektivity některých výše zmíněných CPEs. Ze všech elektrod dosahovala nejnižších hodnot $K_{\text{Al}^{3+},\text{B}}^{\text{Pot}}$ obvykle v řádech 10^{-5} až 10^{-4} CPE modifikovaná DNMA [102]. U CPE modifikovaných pomocí OEP [103] a AMC [104] se pro většinu iontů pohybovaly hodnoty konstant selektivity v řádech 10^{-2} . U elektrody na bázi ALMCM-41 [101] interferují především Pb^{2+} a Cr^{3+} ionty.

Tabulka 6. Hodnoty koeficientů selektivity vybraných CPE pro detekci Al^{3+} iontů dle použitého ionoforu, $K_{\text{Al}^{3+},\text{B}}^{\text{Pot}}$.

Interferující iont B	DNMA	OEP	AMC
K⁺	$1,0 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-2}$	—
Na⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-2}$	—
Ba²⁺	—	—	$3,5 \times 10^{-2}$
Sr²⁺	—	—	$2,8 \times 10^{-2}$
Pb²⁺	$1,0 \times 10^{-5}$	$6,3 \times 10^{-2}$	$1,5 \times 10^{-3}$
Ca²⁺	$4,0 \times 10^{-4}$	—	$4,0 \times 10^{-5}$
Mg²⁺	$1,5 \times 10^{-4}$	—	—
Zn²⁺	$1,0 \times 10^{-4}$	$5,0 \times 10^{-2}$	$5,0 \times 10^{-4}$
Ga³⁺	$8,0 \times 10^{-4}$	—	—
Cr³⁺	$8,0 \times 10^{-4}$	—	—
Fe³⁺	$1,0 \times 10^{-3}$	$7,9 \times 10^{-2}$	—
La³⁺	$8,6 \times 10^{-4}$	—	—
Ce³⁺	—	—	$1,2 \times 10^{-3}$
Ag⁺	$1,0 \times 10^{-4}$	—	—
Tl⁺	$5,0 \times 10^{-5}$	—	—
Cu²⁺	$7,5 \times 10^{-4}$	$4,0 \times 10^{-3}$	$2,0 \times 10^{-3}$
Cd²⁺	$1,0 \times 10^{-4}$	—	$4,7 \times 10^{-2}$
Mn²⁺	$2,5 \times 10^{-4}$	—	$1,8 \times 10^{-2}$
Co²⁺	$1,0 \times 10^{-4}$	—	$3,2 \times 10^{-2}$
Ni²⁺	$4,4 \times 10^{-4}$	—	$2,0 \times 10^{-2}$
Fe²⁺	$1,3 \times 10^{-4}$	—	—
Ref.	[102]	[103]	[104]

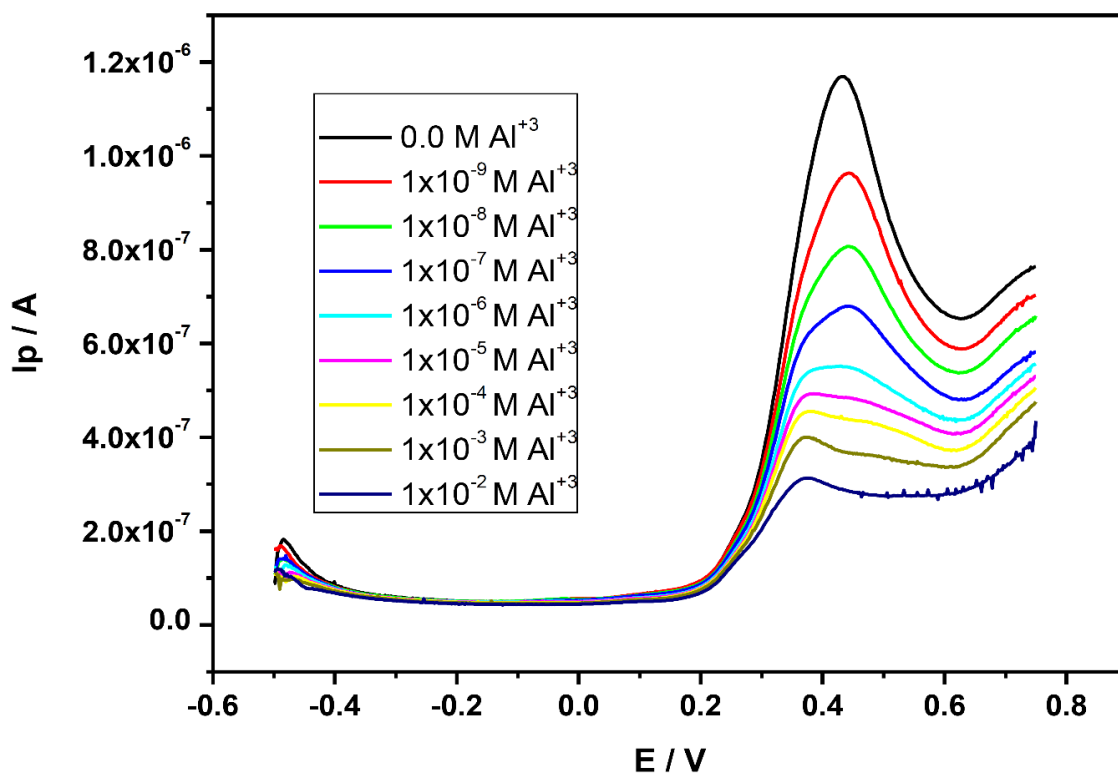
CPEs jsou převážně používány pro voltametrická měření. Níže jsou uvedeny příklady použití CPEs pro voltametrické stanovení hliníkových solí. Tab. 7 zobrazuje vlastnosti CPE dle použitého komplexujícího činidla za účelem nepřímého voltametrického stanovení hliníku.

Uvedené elektrody pracují v kyselém až slabě kyselém prostředí acetátového pufru. CPE obsahující hematoxylin (HTX) [75] vykazovala o několik řádů vyšší lineární rozsah, než nemodifikovaná CPE využívající komplexotvorné reakce mezi Al^{3+} a alizarinovou violetí [105]. Vzniklé komplexy poskytovaly anodický signál kolem +0,4 V, jak je zřejmé z Obr. 4.

Tabulka 7. Srovnání dosud navržených voltametrických stanovení Al^{3+} iontů s CPE dle použitého komplexujícího činidla

Senzor	Činidlo	Medium	pH	Technika	Linearita ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$)	Ref.
CPE	Alizarinová violet'	AcB	4,5	AdASV	1×10^{-3} –0,1	6×10^{-4}	[105]
CPE	HTX	AcB	3,1	SWV	1×10^{-3} – 1×10^4	1×10^{-3}	[75]
CPE	8-HQ	KCl	—	—	—	—	[106]

AdASV; adsorptivní anodická stripping voltametrie, CPE; uhlíková pastová elektroda, HTX; haematoxylin



Obrázek 4. SWV voltamogramy obdržené na CPE modifikované HTX pro různé koncentrace hlinitých solí [75].

Většina CPEs našla nicméně uplatnění pouze v analýze vod. Z tohoto důvodu, bylo cílem této diplomové práce nalézt vhodné komplexační činidlo a využít CPE pro stanovení hlinitých solí v složitějších maticích. Aby se demonstrovala použitelnost vyvinuté voltametrické metody, byly analyzovány některé vzorky potravin a léčiv.

3 Experimentální část

Experimentální část se věnovala optimalizaci a validaci elektroanalytické metody pro nepřímé voltametrické stanovení hliníku, kdy validace proběhla na náhodně vybraných reálných vzorcích. Nejprve bylo důležité nalézt vhodné činidlo tvořící komplex s Al^{3+} ionty, tak aby mohl být elektrochemicky monitorován. Experimentální část je rozdělena do tří základních sekcí: přehled použitých chemikálií a pracovních roztoků, instrumentace a příprava elektrod, a postup při vývoji nepřímé elektroanalytické metody.

3.1 Chemikálie a reagensy

Od firmy AppliChem GmbH byla pořízena kyselina tříslová (Darmstad, Německo). Uhlíkový prášek o velikosti částic $\geq 2 \mu\text{m}$ poskytl Graphite Týn, spol. s.r.o. (Týn nad Vltavou, Česká republika). Chelaton 3 dihydrát, chlorid amonný, kyselina boritá, xylenolová oranž byly zakoupeny od Chemapol, Lachema s.p. (Praha, Česká republika). Chemikálie 95% n-Hexan a hydroxid sodný byly obdrženy od firmy J.T. Baker (Deventer, Nizozemsko). Dusičnan hlinitý nonahydrát, dusičnan olovnatý a hexamethylentetramin byl získán od společnosti Lach - Ner, s.r.o. (Neratovice, Česká republika). Silikonový olej „LUKOOIL“ MV 8000 poskytly Lučební závody a.s. Kolín (Kolín, Česká republika). Dopamin hydrochlorid, epinefrin, 96% ethanol, ledová kyselina octová, octan sodný, a pyrokatecholová violet byly pořízeny z Merck KGaA (Darmstadt, Německo). 65% kyselina dusičná a 85% kyselina o-fosforečná, 25% amoniak byly zakoupeny od společnosti Penta (Praha, Česká republika). Vícetěnné uhlíkové nanotrubicе L.MWNTs – 1030 byly získány z Shenzhen Nanotech Port Co., Ltd (Shenzhen, Čína). Morin hydrát byl objednáán z Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan). Al_2O_3 prášek byl pořízen od Methrom (Praha, Česká republika).

3.2 Přístroje a zařízení

Chloridostříbrná elektroda a potenciostat/galvanostat Autolab PGSTAT101 ovládaný softwarem NOVA 1.11 byly pořízeny z Methrom (Praha, Česká republika). Pt-plíšek představující pomocnou elektrodu byl zakoupen od Elektrochemické detektory s.r.o. (Turnov, Česká republika). Analytické váhy KERN 770 a předvážky KERN EMB 220-1 (Burladingen, Německo). Magnetické míchadlo „lab disc“ bylo získáno od IKA (Staufen, Německo). Ultrazvuková vana K18 pocházela z Kraintek Czech (Hradec Králové, Česká republika). Automatické pipety 10-100 μl , 100-1000 μl a 1-5 ml byly pořízeny z Thermo Fischer Scientific (Carlsbad, Kalifornie). Od firmy Xylem Analytics (Weilheim, Germany) byl zakoupen WTW pH metr inoLab 720. Byl použit spektrofotometr od Shimadzu UV-2600 (Kyoto, Japonsko).

3.3 Příprava pracovních elektrod

Zlatá elektroda (AuE), platinová elektroda (PtE), elektroda ze skelného uhlíku (GCE), uhlíkové pastová elektroda (CPE) a CPE modifikovaná vícečetnými uhlíkovými nanotrubicemi (MWCNTs) byly testovány jako možné voltametrické senzory pro monitorování hladiny Al^{3+} iontů. Byly tedy připraveny dva druhy pastových elektrod. První z nich obsahovala 20 % (w/w) silikonového oleje (SO) a 80 % (w/w) grafitového prášku. Druhá CPE se skládala z 5 % (w/w) MWCNTs, 20 % (w/w) SO a 75 % (w/w) grafitového prášku.

Homogenizace se prováděla mechanicky pomocí tloučku v keramické třecí misce po dobu 15 min. Vytvořená uhlíková pasta se vtlačila do dutiny teflonového elektrodového držáku. Tento držák obsahoval kovový píst, prostřednictvím něhož se uskutečňuje elektrický kontakt. Povrch pastových elektrod se obnovoval před každým měřením vytlačováním pasty a její povrch se otíral o filtrační papír. Kvůli autohomogenizaci se čerstvě připravené CPEs použily k měření vždy až následující den. U AuE, PtE a GCE se uskutečňovala povrchová úprava před každým měřením leštěním na brusném papíře s využitím prášku z oxidu hlinitého o velikosti částic 0.3 μm . Poté se elektrody pečlivě opláchly destilovanou vodou, aby na nich nezůstaly žádné stopy hliníku, které by mohly ovlivňovat následnou analýzu.

3.4 Příprava roztoků

Veškerá měření byla prováděna v prostředí acetátového pufru (AcB) o pH 4,5, který byl připraven smícháním 0,2 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztokem kyseliny octové a 0,2 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztokem octanu sodného. Amonný pufr (AmBS) pro některá měření byl připraven smícháním patřičného množství 0,2 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ hydroxidu amonného a 0,2 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoku chloridu amonného na výsledné pH 8.

Britton-Robinsonův pufr (BRB) o koncentraci 0,1 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ byl připraven z 0,04 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoků kyseliny octové, kyseliny fosforečné a kyseliny borité. 10 ml standardní roztoku 0,01 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ hlinitých solí byl připraven navážením vypočítaného množství dusičnanu hlinitého nonahydrátu, jenž byl okyselen 1 ml 0,5 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoku kyseliny dusičné, aby nedocházelo k nežádoucí hydrolyze. Roztoky morinu, rutinu, kyseliny tříslové, dopaminu a epinefrinu o objemu 10 ml a koncentraci 0,01 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ byly připraveny odvážením jejich vypočítaného množství a rozpuštěním v 96% ethanolu. Zásobní roztok pyrokatecholové violeti byl připraven obdobným způsobem jako ostatní roztoky, ale místo ethanolu byla použita destilovaná voda.

Pro zpětnou titraci hliníku byly připraveny 250 ml zásobní roztoky o koncentraci 0,05 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ EDTA a $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ odvážením jejich vypočítané navážky a rozpuštěním

v destilované vodě. V poslední řadě 0,1% roztok xylenolové oranže použitého jako indikátor byl připraven v 50% ethanolu.

3.5 Příprava vzorků potravin a léčiv

Vzorek octanového krému značky Dr. Max byl k elektrochemické analýze připraven odvážením přibližně 1 g do 200 ml Erlenmayerovy baňky. K navážce bylo napipetováno 50 ml $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB o pH 4,5 a 20 ml 65% n-hexanu. K oddělení organické složky masti od anorganické se takto připravená baňka vložila na 60 min do ultrazvukové lázně. Poté byla pomocí automatické pipety odebrána frakce obsahující hliník a ta byla následně přefiltrována přes skládaný filtr.

Dále 250 μl suspenze antacidu Maaloxu bylo pipetováno do 10 ml odměrné baňky a doplněno po rysku AcB. Vzhledem k patrnému zákalu bylo třeba roztok přefiltrovat. Poté se 15 μl filtrátu napipetovalo do voltametrické cely obsahující 10 ml $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu. Vzorky sycených nápojů skladovaných v hliníkových plechovkách byly odplyněny v ultrazvukové lázni po dobu 15 min. Jejich pH bylo upraveno na hodnotu pH 4 přidáním patřičného množství $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ roztoku NaOH.

3.6 Elektrochemické techniky

Všechna elektrochemická měření se uskutečňovala ve skleněné nádobce s pracovním médiem o celkovém objemu 10 ml. Typ pracovního média (výběr pufru) závisel pouze na stabilitě vzniklého komplexu. Pro studium chování některých komplexů byla vybrána technika lineární sweep voltametrie (LSV). Samotná analýza pak byla ale prováděna pomocí square-wave voltametrie (SWV) z důvodu její vyšší citlivosti.

3.6.1 Lineární voltametrie

Parametry LSV byly následující: rychlost skenování $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a potenciálový krok 5 mV pro potenciálový rozsah od 0 do +1,2 V. Nejprve byl proměřen samotný AcB nebo AmBS v závislosti na použitém komplexačním činidle. Jako blank bylo do voltametrické cely pipetováno 9,8 ml pufru a 200 μl činidla. Následně byl roztok činidla a standard hliníku pipetován v poměru 1:2, tj. 9,4 ml pufru, 200 μl činidla a 400 μl standardu hliníku. Samotná voltametrická měření vzniklých komplexů se uskutečňovala vždy po dvou minutách.

3.6.2 Square-wave voltametrie

Parametry SWV byly optimalizovány, tak aby byly dosaženy, co nejlepší výkonnostní charakteristiky vyvinuté nepřímé voltametrické metody. Samotná elektrochemická detekce vzniklého komplexu se prováděla po 2 min s akumulací bez elektrody při potenciálu amplitudy

10 mV, frekvenci 70 Hz, potenciálovém kroku 5mV, a to vše pro potenciálový rozsah od 0 do +0.8 V.

3.7 UV-Vis spektrofotometrie

Spektrofotometrická měření probíhala v křemenné kyvetě vždy v prostředí AcB o celkovém objemu 3 ml. Byla provedena celá řada měření, kdy se odečítala celá UV-Vis spektra $100 \mu\text{mol l}^{-1}$ morinu (M), pyrokatecholové violeti (PCV), rutinu (R) a kyseliny tříslové (TA) v rozsahu vlnových délek od 200 nm do 800 nm. Koncentrace těchto chelatačních činidel se pohybovala v poměru vůči Al^{3+} iontům v poměrech 1:1, 1:2 a 1:3.

3.8 Titrační stanovení hlinitých solí

Vzorek octanového krému se za účelem validace vyvinuté elektrochemické metody zpracoval k titračnímu měření následovně: do 200 ml Erlenmayerovy baňky se navážil 1 g vzorku masti, k té se přidalo 5 ml kyseliny dusičné o koncentraci $6 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a celá směs se krátce povařila, dokud nebyl celý roztok čirý. Během ohřevu muselo být hrdlo baňky zakryté fritou.

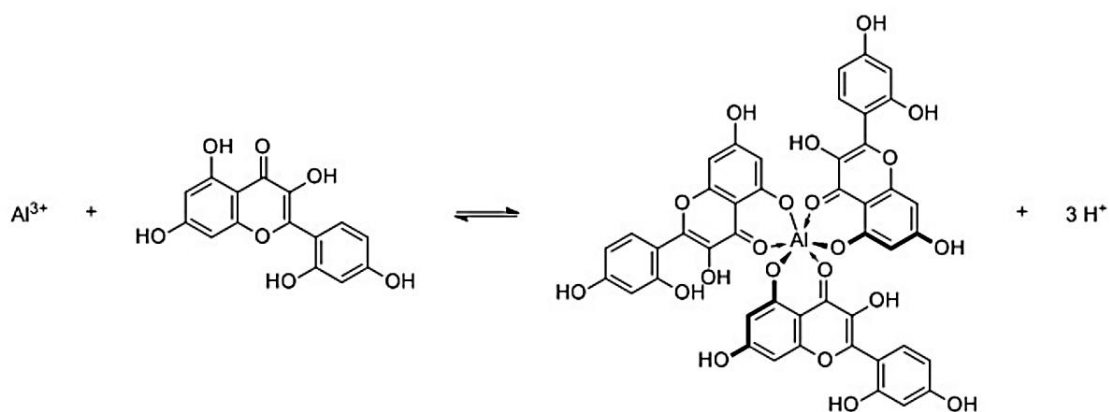
Po ochlazení se do roztoku vzorku přidalo 10 ml odměrného roztoku EDTA a směs se zředila destilovanou vodou. Poté následoval přídavek 4 g urotropinu za účelem úpravy pH na hodnotu 5-6 a pár kapek xylenolové oranže za současného dosažení čistě žlutě zabarveného roztoku. Takto připravený roztok byl titrován odměrným roztokem $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ do změny žlutého zabarvení na fialovo-růžové.

4 Výsledky a diskuze

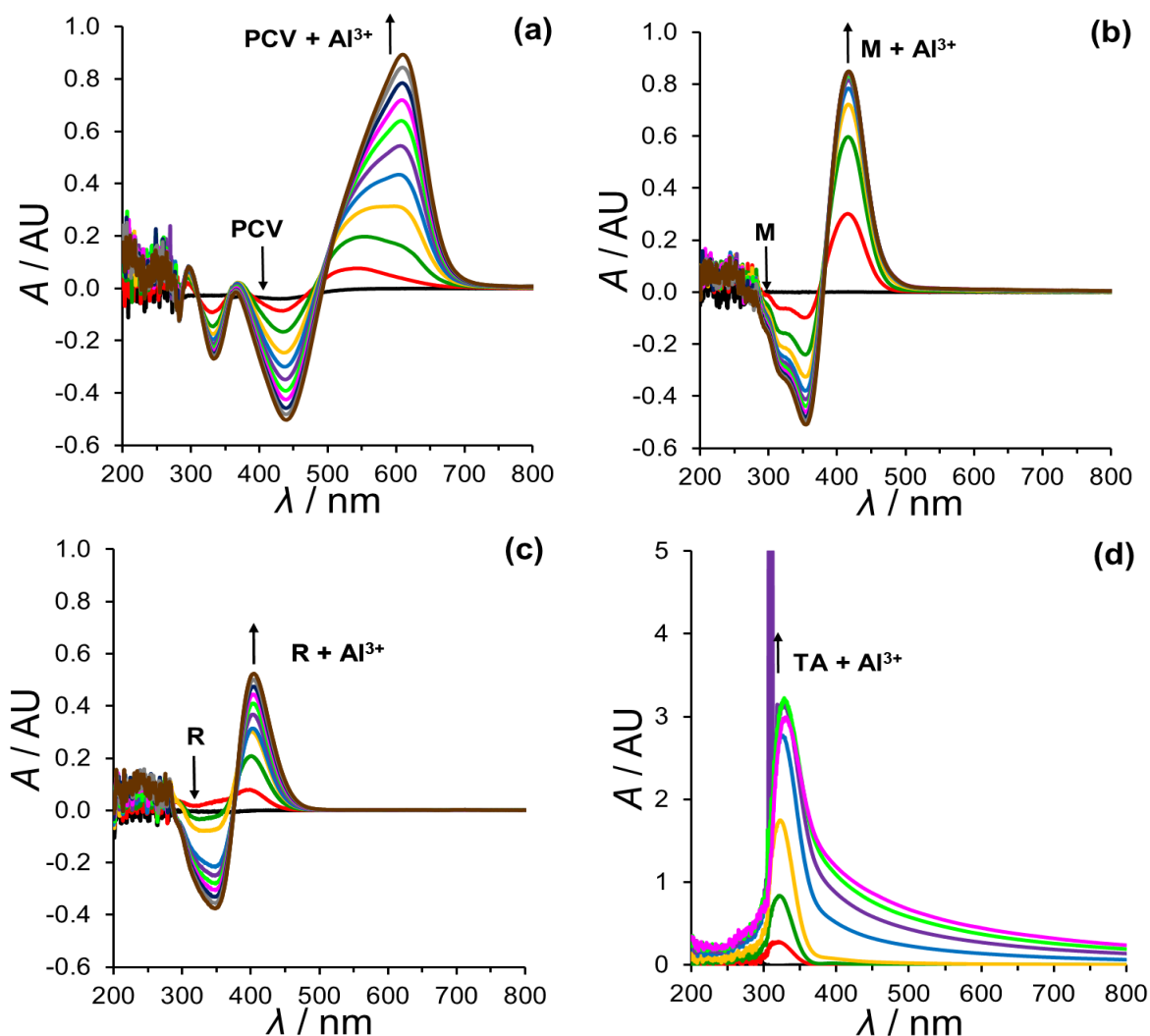
4.1 Výběr vhodného komplexačního činidla

Literatura uvádí, že morin rozpuštěný v ethanolu vytváří v kyselém prostředí acetátového pufru o pH 4,5 žlutozelený komplex, který lze analyzovat spektrofotometricky. Předpokládá se, že na jeden hlinitý iont se váží tři molekuly morinu, jak je znázorněno na Obr. 5. Tento chelát hliníku silně fluoreskuje po ozáření UV světlem [107].

Z důvodu výběru vhodného činidla vytvářejícího komplex s hliníkem byla proměřena UV-Vis absorpční spektra roztoků obsahujících konstantní množství $100 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ daného ligandu, kdy se měnila vzestupně koncentrace hlinitých solí ($100\text{-}1000 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$). Veškerá měření byla prováděna vždy po korekci základní linie na koncentraci příslušného činidla. Ze spekter byly dále odečteny absorpční maxima píku pro komplex s hliníkem a vytvořeny jejich závislosti na koncentraci kovového iontu. Takto změřená spektra zobrazuje Obr 6.



Obrázek 5. Tvorba komplexu mezi hliníkem a morinem [107].

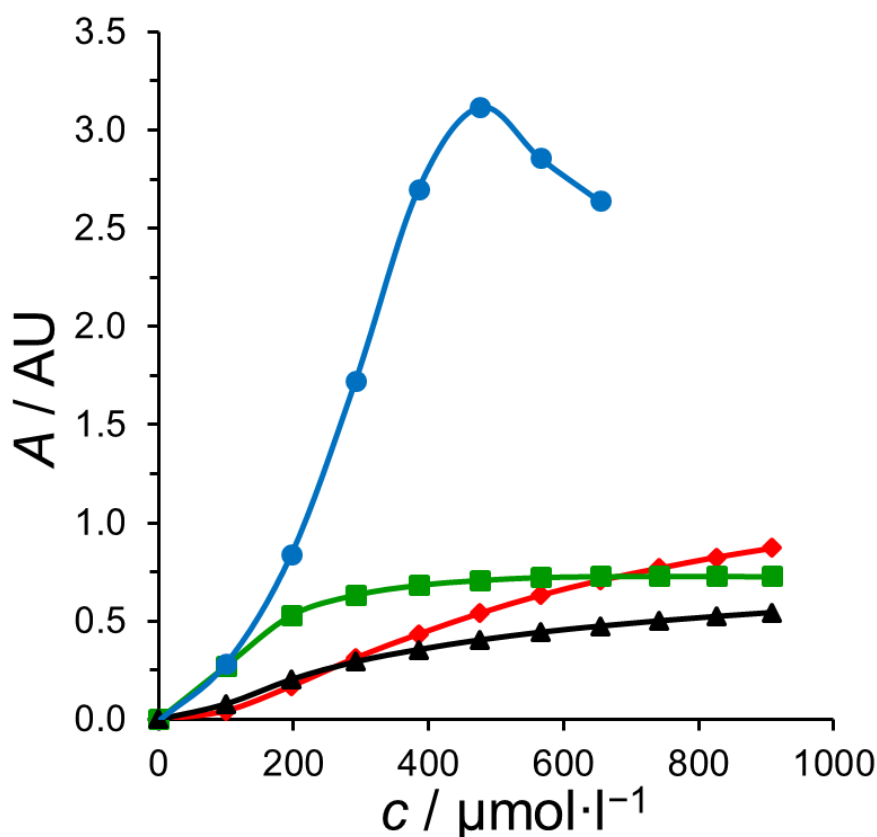


Obrázek 6. Vliv zvýšení obsahu hliníku na absorpční spektra různých ligandů. Korekce základní linie na $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ příslušného činidla: pyrokatecholová violet (PCV; a), morin (M; b), rutin (R; c) a kyselina třísllová (TA; d) v $0,1\ \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB pH 4,5 (černá); 100 (červená), 200 (tmavě zelená), 300 (žlutá), 400 (světle modrá), 500 (fialová), 600 (světle zelená), 700 (růžová), 800 (tmavě modrá), 900 (šedá) a 1000 (hnědá) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

V tomto pořadí pyrokatecholová violet', morin, rutin se absorpční maximum pro jednotlivá činidla ukázalo při vlnových délkách 448 nm, 350 nm a 339 nm. Absorpční maximum se objevilo pro komplex Al^{3+} s pyrokatecholovou violetí při $\lambda = 610$ nm, s morinem při $\lambda = 422$ nm, s rutinem při $\lambda = 405$ nm.

Jednotlivé komplexotvorné reakce byly charakteristické dvěma absorpčními pásy, kdy ten při nižší vlnové délce odpovídal spotřebě ligandu a ten při vyšší tvorbě komplexu. Jedinou výjimkou bylo použití kyseliny tříslové, u které byl pozorován pouze nárůst (jeden pás). Toto zvýšení absorbance však bylo patrné do koncentrace roztoku obsahující $476 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} Al^{3+}$. Při koncentraci hliníku $566 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ byl již zaznamenán pokles absorbance absorpčního maxima, neboť se roztok v kyvetě srážel za vzniku bílých vloček.

Po sestavení kalibračních křivek (Obr. 7) z hodnot absorbancí pro jednotlivá činidla se zjistilo, že největší citlivosti poskytuje reakce s kyselinou tříslovou, kdy citlivost klesala v pořadí pyrokatecholová violet', morin a rutin. Z těchto výsledků by se dalo usoudit, že kyselina tříslová by mohla být vhodné komplexační činidlo pro vývoj nepřímé voltametrické metody.



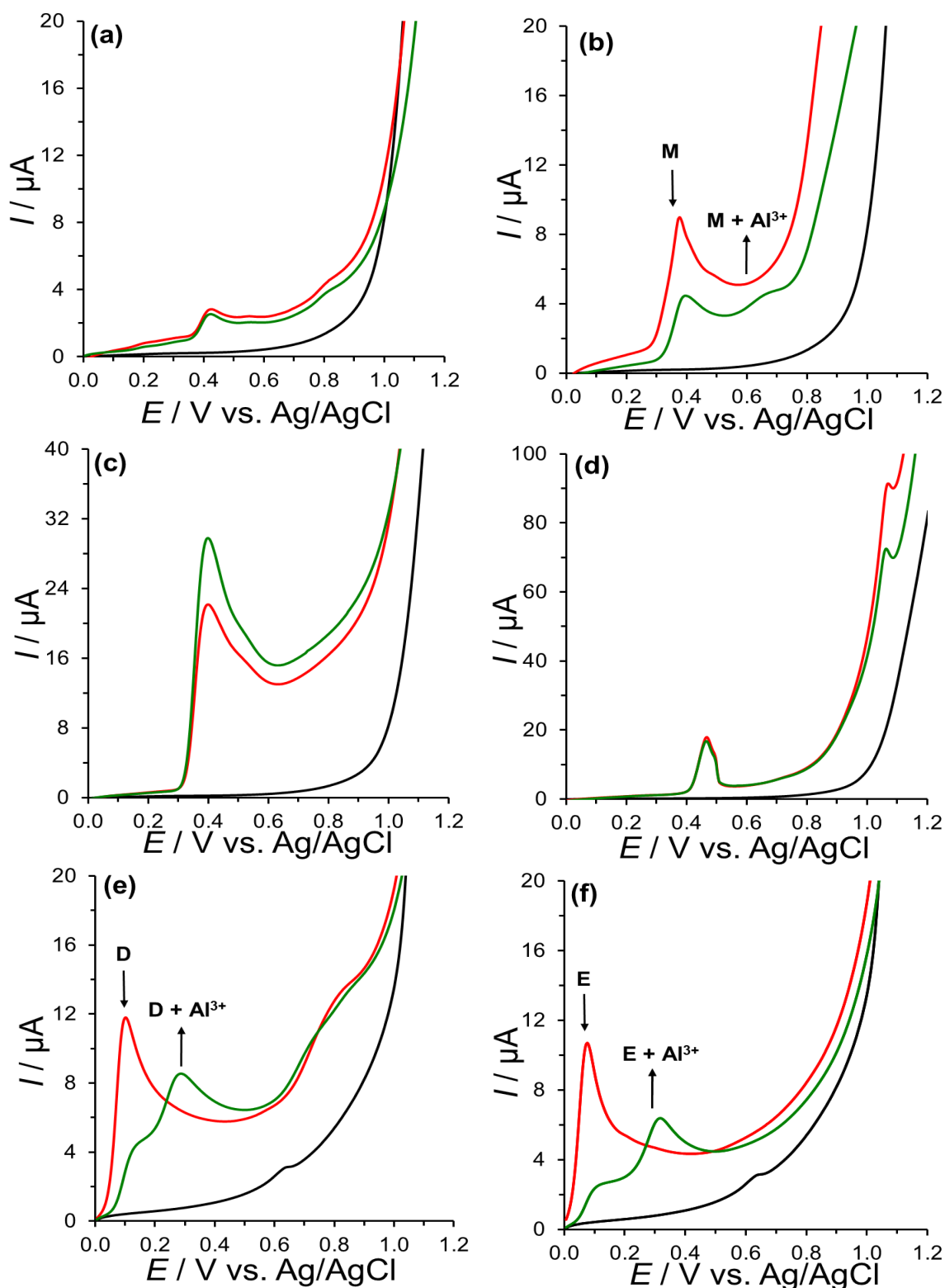
Obrázek 7. Kalibrační závislosti pro jednotlivá činidla, jmenovitě rutin (černá), pyrokatecholové violeti (červená), morinu (zelená), kyseliny tříslové (modrá).

Jak již je výše uvedeno, výběr vhodného činidla závisí především na elektrochemickém chování vzniklého komplexu, kdy se využívá skutečnosti, že vzniklý komplex se často anodicky oxiduje při vyšších potenciálech nežli samotné činidlo. Zde můžete spatřit jistou analogii se UV-Vis spektry.

Níže uvedená LSV měření byla prováděna na CPE (Obr. 8), kdy komplexační reakce probíhala vždy v roztoku, tudíž činidlo nebylo modifikátorem CPE. Koncentrace činidel a hlinitých solí byl vždy v poměru 1:2. Navíc kromě výše uvedených ligandů analyzovaných spektrofotometricky byla provedena voltametrická měření také s katecholaminy dopaminem a epinefrinem.

Na voltamogramech s pyrokatecholovou violetí, kyselinou tříslovou a rutinem je evidentní, že elektrochemický signál těchto látek se liší od základní linie získané proměřením čistého pufru, ale po přidavku hliníku se neobjevuje nový anodický pík pro komplex s hliníkem. U kyseliny tříslové byl patrný nárůst proudu píku při potenciálu +0,4 V a u rutinu naopak pokles při hodnotě potenciálu +1,0 V.

Jiná situace nastala v případě měření s morinem a katecholaminy. Jak je vidět na voltamogramu morinu (Obr. 8b) byl po přidavku hliníku detekován nový anodický pík pro komplex s hliníkem při potenciálu +0,65 V. U katecholaminů znamenal přidavek roztoku standardu hliníku pokles jejich anodického píku s hodnotou potenciálu přibližně 0,1 V a jak je vidět na Obr. 8e a 8f, ukázal se nový pík pro jejich komplex s hliníkem při potenciálu s hodnotou kolem +0,3 V. Přestože neurotransmitery představují chemicky labilní sloučeniny, snáze se oxidující vzdušným kyslíkem, dala se přednost spíše tvorbě komplexů s morinem. Z literatury je možné se dozvědět, že již byla vyvinuta nepřímá voltametrická metoda využívající komplexu s morinem pro stanovení Al^{3+} [69]. Nicméně tento přístup byl pouze ověřen při analýze vod, kde se předpokládá minimální interference doprovodných látek. V této práci je snaha o zlepšení dosavadní metody a její modifikací za použití CPE v analýze nápojů a léčiv.



Obrázek 8. Lineární voltamogramy měřené na CPE. Černá křivka je základní linie získaná změřením AcB o pH 4,5 pro pyrokatecholovou violet (a), morin (b), kyselinu tříslou (c), rutin (d) nebo AmBS o pH 8 pro dopamin (e) a epinefrin (f). Červené křivky pro $200 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ uvedených ligandů v daném roztoku pufru. Zelené křivky pro $200 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ uvedených komplexujících látek s $400 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoku standardu hliníku v příslušném roztoku pufru.

4.2 Optimalizace pracovních podmínek

4.2.1 Výběr vhodného elektrodového materiálu

Výběr elektrody se uskutečnil mezi CPE, CPE/MWCNTs, GCE, AuE a PtE. Jako měřicí technika se použila SWV s nastavením následujících parametrů: rozsah potenciálu od 0 do +1,0 V, frekvence 20 Hz, potenciálový krok 5 mV, amplituda potenciálu 25 mV, čas reakce 3 min s akumulací bez elektrody. Jako blank se použil $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu, který byl porovnáván se záznamem voltamogramu získaným proměřením AcB obsahujícího $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu a $400 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ hliníku. Získané voltamogramy ukazuje Obr. 9.

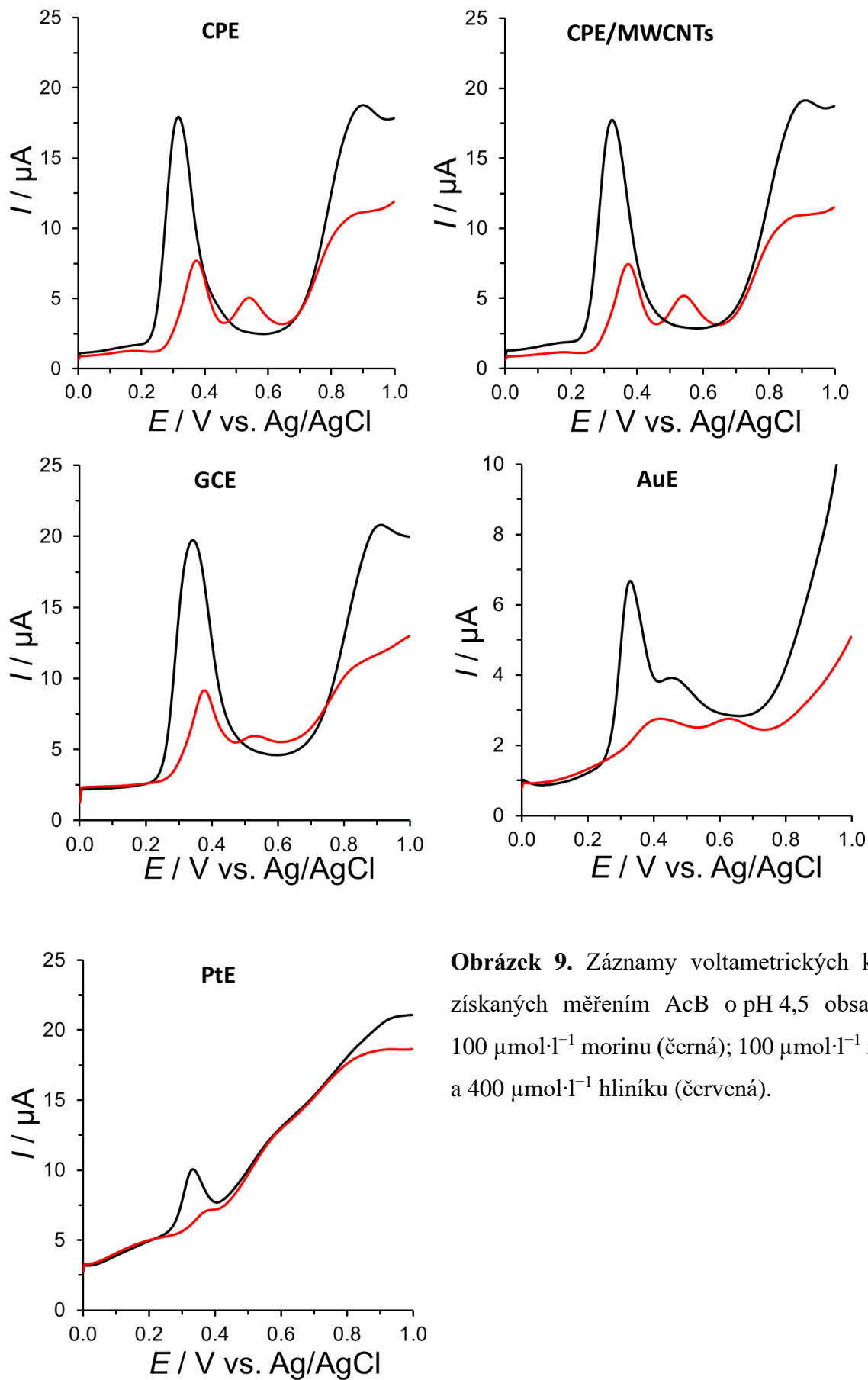
Za výše popsaných podmínek se u elektrod na bázi uhlíku (CPE, CPE/MWCNTs a GCE) objevil oxidační pík pro komplex morinu s Al^{3+} při +0,55 V. Naproti tomu samotný morin poskytoval dva viditelné oxidační píky a málo vyvinutý pík pro komplex s Al^{3+} při +0,6 V u AuE. Při měření s PtE byl detekovaný po přidavku standardního roztoku hliníku pouze pokles píku morinu, ale žádný nový oxidační pík pro komplex Al^{3+} a morinu se neobjevil.

Dále byla ověřena opakovatelnost signálu pro jednotlivé elektrody. Tato měření se uskutečňovala s použitím CPE, CPE/MWCNTs, GCE a AuE. Do voltametrické cely bylo odpipetováno 9,88 ml acetátového pufru, 20 μl zásobního roztoku morinu o koncentraci $0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a 100 μl standardu hliníku o téže koncentraci. Parametry SWV byly následující: rozsah potenciálu od 0 do +0,8 V, frekvence 10 Hz, potenciálový krok 5 mV, amplituda potenciálu 25 mV a čas reakce 2 min s akumulací bez elektrody.

Uhlíkové pasty se osvědčili lépe než GCE a kovová elektroda jak z hlediska poskytovaného elektrochemického signálu, tak z hlediska jeho stálosti po pěti opakování ($N=5$), kdy jednotlivá měření se prováděla na vždy čerstvě obnoveném povrchu. Ačkoli záznamy SWV pro CPE a CPE/MWCNTs se na první pohled neliší, při měření opakovatelnosti se ukázalo, že elektroda obsahující 5 % MWCNTs poskytovala o něco vyšší proudovou odezvu. Z toho důvodu byla takto modifikovaná elektroda vybrána k optimalizaci podmínek SWV. Hodnoty RSD (%) pro jednotlivé elektrody jsou uvedeny v Tab. 8.

Tabulka 8. Hodnoty RSD (%) po opakovaných měření s různými elektrodami za stejných podmínek

Elektroda	RSD / %
CPE	4,2
CPE/MWCNTs	2,0
GCE	12,0
AuE	23,1



Obrázek 9. Záznamy voltametrických křivek získaných měřením AcB o pH 4,5 obsahující 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu (černá); 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu a 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ hliníku (červená).

4.2.2 Složení pracovního média

Složení pracovního média může mít velký vliv na stabilitu vzniklého komplexu / chelátu a tudíž i na velikost signálu, jenž určuje citlivost vyvinuté voltametrické metody. Z tohoto důvodu bylo optimalizováno složení pracovního média. Pro tento účel byl použit $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ univerzální Britton-Robinsonův pufr (BRB) o pH hodnotách 2-12. Během těchto měření bylo zjištěno, že pH BRB nemá vliv na proudovou odezvu komplexu Al^{3+} a morinu, jelikož přítomnost Al^{3+} iontů se vůbec neprojevila. Lze tedy usuzovat, že přítomná kyselina fosforečná v BRB tvoří nerozpustné sloučeniny s Al^{3+} ionty.

Dále byly vyzkoušeny $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB a $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AmBS. Zjistilo se, že potřebnou odezvu lze získat pouze při použití AcB s hodnotami pH v rozmezí 4 až 5. Tento výsledek se shoduje s údajem uvedeným v literatuře, kde bylo optimálních podmínek dosaženo použitím AcB s hodnotou pH 4,5 [69].

4.2.3 Elektrochemická detekce

Jak vyplývá z údajů popsaných v teoretické části této práce, hliník se nepřímo voltametricky stanovuje především pomocí pulzních technik. V literatuře je již zmíněno použití diferenčně pulzní voltametrie (DPV) a diferenčně pulzní adsorptivní stripping voltametrie (DPAdSV) [69], kdy se využívá adsorpce (akumulace) vzniklého komplexu na povrch pracovní elektrody.

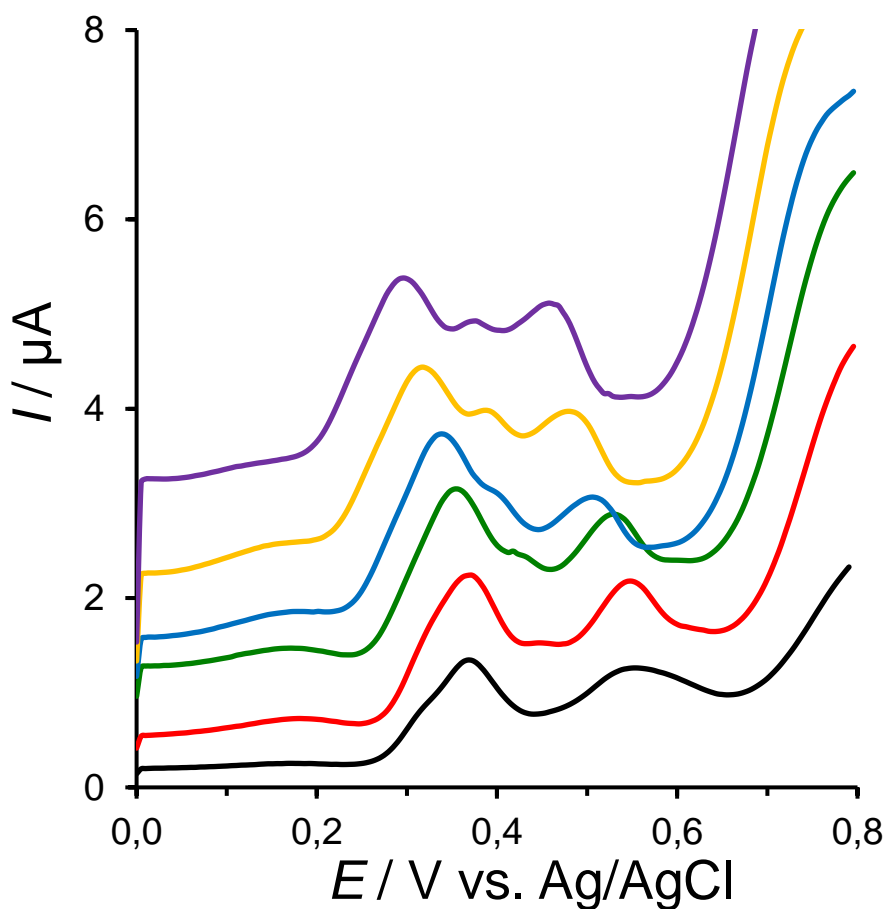
Výběr vhodné amplitudy pro SWV probíhal za následujících podmínek: rozsah potenciálu od 0 do +0,8 V, frekvence 10 Hz, potenciálový krok 25 mV, čas reakce 2 minuty s akumulací bez elektrody. Jako pracovní medium byl použit $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB o hodnotě pH 4,5 obsahující $20 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztok morinu a $100 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztok hliníku. Pracovní elektrodou byla CPE/MWCNTs. Za těchto podmínek se postupně měřilo s amplitudami nastavenými na hodnoty 10, 20, 30, 40, 50 a 60 mV.

Relativně dobrého rozlišení píků se dosáhlo při amplitudě potenciálu 20 mV a tato hodnota byla proto zvolena jako optimální pro výběr vhodné frekvence. Záznamy voltametrických křivek za analýzy při různých amplitudách zobrazuje Obr. 10.

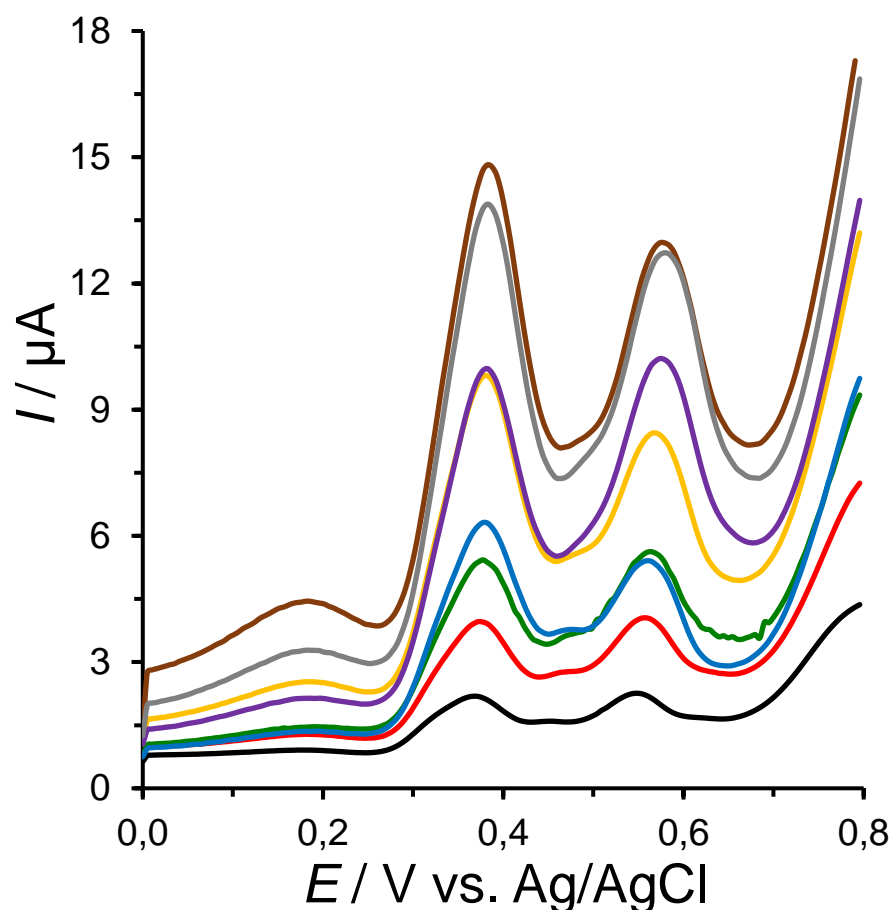
Za stejných podmínek, ale již s navolenou (optimální) amplitudou 20 mV byla provedena měření za cílem zjistit ideální frekvenci pro hodnoty v rozsahu 10-80 Hz (jednotlivé kroky po 10 Hz). Z teorie vyplývá, že frekvence má přímý vliv na rychlost polarizace pracovní elektrody. Tudíž je zřejmé, že se zvyšující se frekvenci roste i oxidační pík vzniklého komplexu, jak je patrné z Obr.11.

V tomto případě nebylo rozhodnutí volby optimální hodnoty frekvence jednoduché, jelikož s výškou signálu rostlo i pozadí základní linie, což by mohlo zhoršit stanovení Al^{3+} iontů u vzorků s jejich velmi nízkým obsahem. Proto byl nutný kompromis a zvolena hodnota frekvence 70 Hz.

Ačkoliv byla v předchozích měřeních vybrána jako přijatelná amplituda potenciálu 20 mV, bylo pro další měření z hlediska vysoké frekvence žádoucí i dobré rozlišení píků. Proto byla na úkor citlivosti stanovení zvolena nižší amplituda, tj. 10 mV se zachováním frekvence 70 Hz.



Obrázek 10. Square-wave voltamogramy $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu a $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ v $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB o hodnotě pH 4,5 obdrženy po 2 minutách stálého míchání při 400 rpm s amplitudou 10 (černá), 20 (červená), 30 (zelená), 40 (modrá), 50 (žlutá), 60 (fialová) mV.



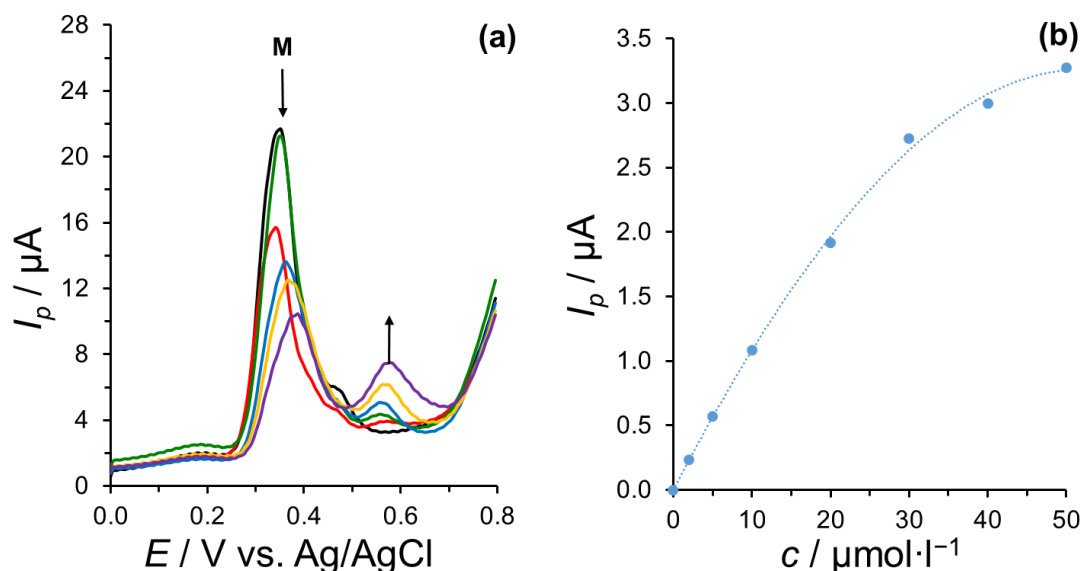
Obrázek 11. Square-wave voltamogramy $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu a $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ v $0,1 \text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB o hodnotě pH 4,5 obdrženyých po 2 minutách stálého míchání při 400 rpm při amplitudě potenciálu 20 mV a zvolenou frekvencí 10 (černá), 20 (červená), 30 (zelená), 40 (modrá), 50 (žlutá), 60 (fialová), 70 (hnědá), 80 (šedá) Hz.

4.3 Analytická výkonnost navržené metody

Za optimálních podmínek (tj. $0,1 \text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB o hodnotě pH 4,5 jako pracovní médium s přítomností $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu, doba komplexační reakce 2 min při rychlosti míchání 400 rpm, SWV na CPE/MWCNTs při potenciálovém kroku 5 mV, amplitudě 10 mV a frekvenci 70 Hz, a potenciálovém okně od 0 do +0,8 V), byla proměřena kalibrační závislost získaného anodického píku (I_p) na koncentraci (c) Al^{3+} iontů. Po grafické vizualizaci naměřených hodnot do kalibrační křivky bylo dosaženo poměrně krátkého lineárního rozsahu, a to od 2 do $30 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Obdržené voltamogramy a příslušná kalibrační závislost anodického píku při potenciálu +0,56 V jsou zobrazeny na Obr. 12

Tuto lineární závislost lze popsat rovnicí přímky $I_p = 0,0881c + 0,1249$ s $R^2 = 0,9968$. Získaná citlivost (k) o hodnotě $0,0881 \mu\text{A mol}^{-1}$ lze považovat za uspokojivou, přestože se jedná o nepřímou voltametrickou metodu. Směrodatná odchylka (s) pro pět ($N=5$)

opakovaných měření $2 \mu\text{mol l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ soli byla použita pro výpočet s detekčního limitu (LOD) jako $3s/k$ a limitu kvantifikace (LOQ) jako $10s/k$. Spočtené hodnoty LOD a LOQ činily $0,41$ a $1,25 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$. Nízká hodnota úseku (q) $0,1249 \mu\text{A}$ naznačuje, že by reálná analýza mohla probíhat pomocí metody standartního přídatku, jenž urychluje dobu analýzy a snižuje náklady na provoz.



Obrázek 12. SWV voltamogramy komplexu $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu (M) s 0 (černá), 2 (červená), 5 (zelená), 10 (modrá), 20 (žlutá), 30 (fialová) $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ (a) s příslušnou kalibrační křivkou (b) získanou odečtením výšek píku při $+0.56 \text{ V}$. Potenciál amplitudy 10 mV , frekvence 70 Hz , potenciálový krok 5 mV , potenciálový rozsah od 0 do $+0.8 \text{ V}$.

Pokud se srovnají výkonové parametry (lineární rozsah, LOQ a LOD, přesnost a správnost) vyvinuté nepřímé SWV na CPE/MWCNTs s již dříve navrženými metodami, lze dojít k závěru, že se nedošlo k žádnému výraznému zlepšení, co se týče citlivosti, ba právě naopak některé dřívější postupy jsou v tomto ohledu i lepší.

I když lze považovat tyto parametry za dostačující pro rutinní analýzu, je nutné mít na paměti, že s morinem reagují pouze volné hlinité kationty. V potravinách a léčivech se ale může hliník vyskytovat v různých formách, a to např. jako oxid hlinitý, hydroxid hlinitý, fosforečnan hlinito-sodný a křemičitan sodno-hlinitý [108], tartrát hlinitý [109], které jsou buď nerozpustné ve vodě, nebo by mohly tvořit silnější komplexy s jinými chelatačními činidly než je zvolený morin.

V léčivech, jakými jsou antacida na bázi hliníku, se obvykle nachází tento kov v poměrně velkém koncentračním rozsahu od $1,73$ do $47,61 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ [8]. Tento typ vzorků se

často musí pro voltametrická stanovení Al^{3+} zředit. V hojivých mastech se hliník vyskytuje jako octan či vlnan hlinitý, kde obsah hliníku není deklarován.

Detekční limit vyvinuté metody by mohl dle literatury také stačit pro stanovení hliníku ve vzorcích nápojů jako je Coca-Cola (medián $9,2 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$), ale i v ostatních sycených nekolových nápojích (medián $14,8 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$). Dále literatura uvádí i obsah hliníku o vzorků jakými jsou masové konzervy nebo paštiky balené v hliníkových obalech, jmenovitě $40 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro vepřové a $24 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1} \text{Al}^{3+}$ pro hovězí. Ve vymezeném lineárním rozsahu koncentrací by bylo možné také stanovit hliník v ovoci jako např. jablku, banánu a hrušce s následujícími mediány obsahu hliníku: $26,7 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a $23,7 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a zelenině jako je mrkev, rajče a cibule s následujícími mediány koncentrací hliníku: $21 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, $27,4 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$, $11,1 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ [6]. Pro určení obsahu hliníku v těchto vzorcích je však třeba také myslet na naředění vzorku v průběhu jeho zpracování a zohlednit možné interferenty.

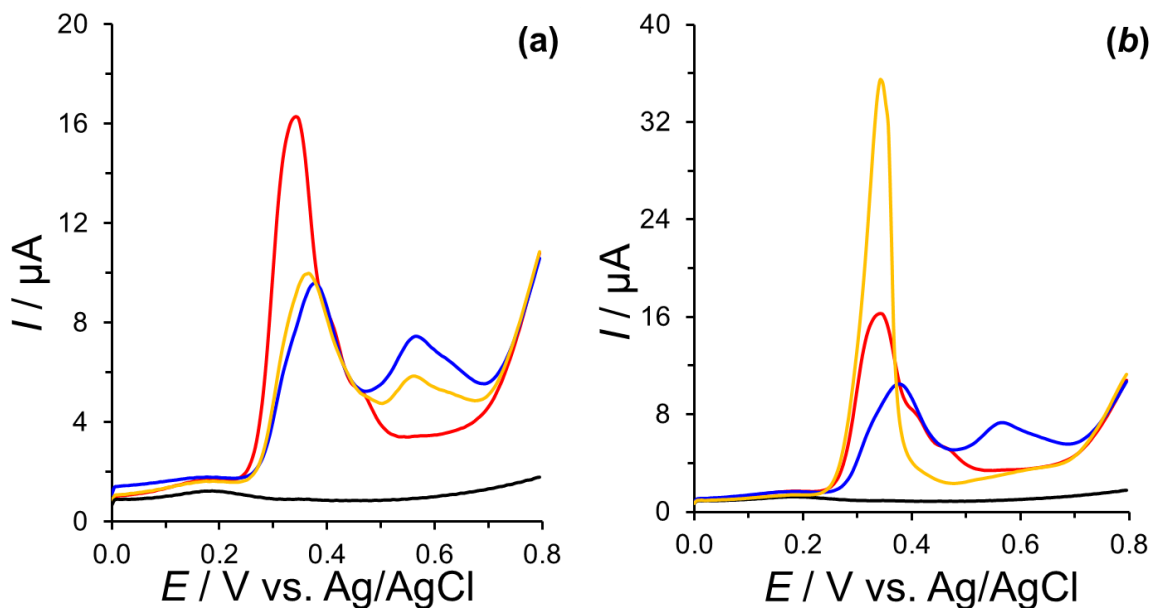
4.4 Analýza modelových a reálných vzorků

4.4.1 Interferenční studie

Ve vzorku octanové masti značky Dr. Max byl naměřen poněkud nízký obsah hliníku jak pomocí vyvinuté elektrochemické metody, tak pomocí zpětné titrace hliníku s nadbytkem EDTA titrovanou dusičnanem olovnatým. Z tohoto důvodu byla provedena analýza možných interferencí.

V octanové masti se hliník vyskytoval v komplexu s kyselinou vinnou jako acetotartrát hlinitý. Možná příčina naměření neobvykle nízkých koncentrací se proto ověřila zpětnou titrací standardních roztoků hliníku bez přítomnosti a s obsahem kyseliny vinné. Nadbytek EDTA u roztoku s přídavkem kyseliny vinné se nepodařilo ztitrovat ani po přidání poměrně velkého množství $0,05 \text{ mol l}^{-1} \text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.

Pro ověření vlivu kyseliny vinné na nepřímé voltametrické stanovení hliníku byl pracovní médium obohacen o přítomnost $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny vinné. Jak je zřejmé z Obr. 13a, tento přídavek kyseliny vinné způsobil pokles anodického píku komplexu morinu a hliníku při potenciálu $+0,6 \text{ V}$, a to přibližně o polovinu. Tato látka pravděpodobně tvoří za daných podmínek stabilnější komplex s Al^{3+} ionty než morin. Pokud byla místo kyseliny vinné přidána EDTA, pík při potenciálu $+0,6 \text{ V}$ zcela zmizel, ale naopak výrazně vzrostl pík morinu při $+0,34 \text{ V}$ jak je vidět na Obr. 13b. Z toho vyplývá, že EDTA je silnějším komplexačním činidlem než kyselina vinná nebo morin.



Obrázek 13. Vliv (a) kyseliny vinné a (b) EDTA na intenzitu proudu oxidačního píku pro komplex morin- Al^{3+} . $0,1 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ AcB pH 4,5 (černá); $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morin (červená); $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morin a $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Al^{3+} (modrá); $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morin, $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Al^{3+} a $100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (a) kyselina vinná nebo (b) EDTA (žlutá). Potenciál amplitudy 10 mV, frekvence 70 Hz, potenciálový krok 5mV, potenciálový rozsah od 0 do +0.8 V.

Některé látky se lépe rozpouští v ethanolu, ale nebylo jisté, zdali tento alkohol neovlivňuje elektrochemické stanovení hliníku. Zcela jistě je známé, že ovlivňuje mechanistické vlastnosti CPEs i těch modifikovaných. Je dokázáno, že obsah vyšší než 10% (v/v) v pracovním médiu dokáže zcela poškodit elektrodový materiál.

Proto byl studován vliv 0, 1, 5 a 10% (v/v) obsahu ethanolu na průběh anodického píku pro komplex morinu s Al^{3+} s CPE a AuE. Nastavené parametry SWV byly následující: rozsahu potenciálu od 0 do +1,0 V, frekvenci 10 Hz, potenciálovém kroku 5 mV, amplitudě potenciálu 25 mV a času 2 minuty s akumulací bez elektrody.

Jelikož byly statisticky stejné proudové odezvy komplexu morinu s Al^{3+} pro různé obsahy ethanolu, lze konstatovat, že nízká přítomnost ethanolu nemá zásadní vliv. Z důvodu nestabilního chování CPE se nedoporučuje používat vyšší obsahy ethanolu než 5% (v/v).

4.4.2 Analýza modelových vzorků

Modelový vzorek obsahoval $20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ morinu a $25 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ Al^{3+} v AcB o pH 4,5. Nejprve se průměrná hodnota tří naměřených intenzit proudu píku snímaného při potenciálu +0,6 V dosadila do rovnice kalibrační přímky. Touto metodou byla vypočítána pro koncentraci

hliníku hodnota $24,88 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. V případě metody standardních přídavek byla stanoveno $23,98 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ hliníku v modelovém vzorku. Obě zjištěné hodnoty koncentrací leží v intervalu spolehlivosti s 95% pravděpodobností.

4.4.3 Analýza vzorku masti

Vzorek octanové masti používající se na léčbu otoků a pohmožděnin zakoupeného v lékárně Dr. Max představoval složitější matici pro elektrochemické měření než výše uvedený modelový vzorek. U octanových mastí se běžně uvádí, že 1 g masti obsahuje 100 mg roztoku octanu a vinanu hlinitého. Dalšími složkami je lanolín, žlutá vazelína a čištěná voda [110]. Ve vzorku octanového krému bylo stanoveno metodou standardního přídávku (3 krát po $5 \mu\text{mol l}^{-1}$) pouze $1,79 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ hliníku. Proto bylo třeba tento výsledek ověřit. Jako validační metoda byla zvolena zpětná titrace. Za účelem tohoto měření bylo žádané vzorek krému zpracovat a rozložit zahřátím ve zředěné kyselině dusičné. Průměr tří hodnot získaných titrací ukázal stejný výsledný obsah hliníku ($1,81 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) jako elektrochemické měření s morinem. Z tohoto srovnání lze usoudit, že vyvinutá metoda poskytuje srovnatelné výsledky, a tedy u pro některé vzorky by mohla nalézt své praktické uplatnění.

Skutečnost, že by kyselina vinná mohla výrazně ovlivnit získané výsledky, bylo ověřeno titrací roztoků obsahujících určité množství acetátového pufru, EDTA a hliníku. Jeden z těchto roztoků však obsahoval přídavek 5 g kyseliny vinné. Nadbytek EDTA se v tomto případě nepodařilo ztitrovat ani po enormní spotřebě $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Z toho vyplývá, že ve větším množství by mohla kyselina vinná mít vliv na pokles elektrochemického signálu i přes přítomnost EDTA, která se jevila jako silnější interferent jak je patrné z Obr. 13.

Zde je možné předpovědět, že vyvinutá metoda by mohla být univerzálně použité pro celou škálu léčiv, kde je hliník ve formě rozpustných anorganických solí či citrátů. Pro složitější hlinité sloučeniny je nutná mineralizace, která i tak má svá úskalí, protože se může stát po ochlazení a naředění mineralizátu, že dojde k částečnému vysrážení.

4.4.4 Voltametrická analýza antacidu

Spíše pro zajímavost byl změřen vzorek antacidu v podobě suspenze Maaloxu obsahující dle hodnoty uvedené výrobcem $35 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ $\text{Al}(\text{OH})_3$. I přesto, že tato sloučenina není rozpustná ve vodě, byly v tomto antacidu nalezeny stopy volného hliníku v množství $1,89 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Lze tedy konstatovat, že vyvinutá metoda by mohla sledovat volný Al^{3+} ve vzorcích jenž může způsobovat zdravotní potíže, na rozdíl od vázaného ve formě oxidu či hydroxidu.

4.4.5 Analýza nápoje skladovaného v hliníkové plechovce

Bylo provedeno stanovení obsahu hliníku ve vzorku sycených nápojů skladovaných v plechovkách po jejich pouhém odplynění v ultrazvukové lázni a upravením pH na hodnotu 4,0 pomocí $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH. Vyzkoušena byla voltametrická detekce hliníku v následujících nápojích: Coca-Cola, Schweppes Bitter Lemon Tonic a energetickém nápoji Red Bull. Tyto vzorky představovaly složité matrice.

Pík pro komplex s hliníkem se objevil pouze u vzorku Coca-coly, ale teprve až po přidavku standardního roztoku hliníku. U dalších vzorků nápojů se tento oxidační pík neukázal ani při jednom z nejrůznějších možných příčin. Jedna z nich může být, že metoda založená na tvorbě a oxidaci morinu v komplexu s hliníkem nestačí na tyto vzorky detekčním limitem. Další možností je přítomnost interferujících látek, které omezují požadovanou proudovou odezvu.

Coca-Cola obsahuje kyselinu fosforečnou, která pravděpodobně s hliníkem tvoří ve vodě nerozpustný fosforečnan hlinitý. Tato skutečnost byla ověřena přidáním určitého množství dusičnanu hlinitého do kyseliny fosforečné za tvorby bílého zákalu. V tonicu by mohl být jednou z potíží např. obsah chininu, který dle literatury vytváří komplexy s některými ionty kovů [111]. Vyloučeny nejsou interference s dalšími látkami zejména ze skupiny organických sloučenin, nejčastěji s polyfenoly jako je právě morin. Tento problém by mohlo odstranit zpracování vzorků nápojů např. pomocí již zmíněné mikrovlnné mineralizace.

5 Závěr

Tato diplomová práce se zabývala vývojem nepřímé voltametrické metody, jež by byla vhodná pro stanovení obsahu hliníku ve vzorcích potravin a léčiv. Přestože spektrofotometrická studie komplexních reakcí ukázala, že kyselina tříslová představuje nejvhodnější činidlo pro vývoj elektroanalytické metody, byl nakonec vybrán morin, jenž reagoval s Al^{3+} ionty v poměru 3:1 a poskytoval lépe rozlišitelný anodický signál.

Ze všech testovaných elektrod (CPE, GCE, AuE a PtE) byla zvolena CPE/MWCNTs, která poskytovala reprodukovatelné výsledky z důvodu snadné obnovy povrchu (RSD = 2 %). Dále bylo zjištěno, že přítomnost MWCNTs zvyšovala zhruba o 10% signál v porovnání s CPE. Poté byly nalezeny optimální parametry SWV (amplituda 10 mV, potenciálový krok 5 mV a frekvence 70 Hz). Za těchto podmínek a za přítomnosti $20 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ morinu v AcB o pH 4,5 bylo možné dosáhnout lineárního rozsahu od 2 do $30 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ Al^{3+} . Zde je nutné poznamenat, že analytické parametry principiálně závisí na obsahu morinu a tudíž by bylo možné si celou

metodu upravit podle potřeb analýzy. Jelikož se hliník v reálných vzorcích vyskytuje v řadě forem a v různých koncentračních úrovních, má námi navržená metoda svá omezení, které je nutno mít na paměti a kterým bude ještě třeba věnovat pozornost v budoucnu, v případných návazných studiích či aplikacích.

Jinak bylo dokázáno, že přítomnost dalších komplexačních činidel (interferentů) může zásadně ovlivnit celkový výsledek analýzy. Z praktického hlediska by mohla vyvinutá voltametrická metoda nalézt své uplatnění v analýze vzorků potravin a léčiv, u nichž se hlinité kationty vyskytují ve formě rozpustných solí (citrátu, dusičnanu, octanu, atd.).

6 Reference

- [1] I. Švancara, K. Kalcher, A. Walcarius, K. Vytrás. *Electroanalysis with Carbon Paste Electrodes*. CRC Press, Boca Raton (FL, USA), 2012.
- [2] I. Igbokwe, E. Ingwenagu, N. Igbokwe, Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects. *Interdisciplinary Toxicology* **12**(2), 2019, 45-70.
- [3] R. Alasfar, R. Isaifan, Aluminum environmental pollution: the silent killer. *Environmental Science and Pollution Research* **28**, 2021, 44587–44597.
- [4] W. Dekant, Metal salts with low oral bioavailability and considerable exposures from ubiquitous background: inorganic aluminum salts as an example for issues in toxicity testing and data interpretation. *Toxicology Letters* **314**, 2019, 1-9.
- [5] W.R. Harris, G. Berthon, J.P. Day, C. Exley, T.P. Flaten, W.F. Forbes, T. Kiss, Ch. Orvig, P.F. Zatta, Speciation of aluminum in biological systems. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **48**(6), 2010, 543-568.
- [6] G.B. Alkaya, Ç Demirci, H. Şevik, A review on the relationship between aluminum content of food and Alzheimer's. *Turkish Journal of Engineering* **6**(2), 2021, 118-127.
- [7] Q. Niu. Overview of the relationship between aluminum exposure and health of human being. *Advances in Experimental medicine and biology*, 2018, 1-31.
- [8] C. Reinke, J. Breitreutz, H. Leuenberger, Aluminium in over-the-counter drugs. *Drug Safety* **26**(14), 2003, 1011-1025.
- [9] M. Garale, K. Joshi, V.K. Mishra, U. Ghotkar, Almagate: a clinical and biochemical review. *Journal of Health Research and Reviews* **7**(1), 2020, 4-9.
- [10] M. Bruze, E. Netterlid, I. Siemund, Aluminum - allergen of the year 2022. *Dermatitis* **33**(1), 2022, 10-15.
- [11] Aluminium in drinking-water: Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. In: *Guidelines for drinking-water quality*. Geneva, Švýcarsko: World Health Organization **2**, 1998.
- [12] DrugBank Online: Potassium alum [online]. Kanada: OMx Personal Health Analytics Inc, 2022 [cit. 2022-03-27]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/>.
- [13] The Merck Index Online: Aluminum acetate [online]. Royal Society of Chemistry, 2013 [cit. 2022-03-26]. Dostupné z: <https://www.rsc.org/>.
- [14] DrugBank Online: Aluminum acetate [online]. Kanada: OMx Personal Health Analytics Inc, 2021 [cit. 2022-03-26]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB14518>.

- [15] DrugBank Online: Aluminium acetotartrate [online]. Kanada: OMx Personal Health Analytics Inc, 2020 [cit. 2022-03-26]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB13789>.
- [16] Magaldrate [online]. Gujatar, Indie: Par Drugs and Chemicals Limited, 2019 [cit. 2022-04-09]. Dostupné z: <https://www.pardrugs.com/>.
- [17] DrugBank Online: Hydrotalcite [online]. Kanada: OMx Personal Health Analytics Inc, 2021 [cit. 2022-03-26]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/>.
- [18] E. Rey, C. Poves-Francés, G. Sánchez, A. Fueyo, C. Badiola, M. Díaz-Rubio. Effects of effervescent ranitidine on gastric pH: comparison with almagate and placebo in fasting and postprandial conditions. *Alimentary pharmacology and therapeutics* **20**(6), 2004, 683-688.
- [19] N. Principi, S. Esposito, Aluminum in vaccines: Does it create a safety problem?. *Vaccine* **36**(39), 2018, 5825-5831.
- [20] R. Danielsson, H. Eriksson, Aluminum adjuvants in vaccines – a way to modulate the immune response. *Seminars in cell and developmental biology* **115**, 2021, 3-9.
- [21] P. Borotová, Toxicita hliníka a jeho vplyvy na bunkový cyklus. *Reviewed scientific papers proceeding of the Research Centre AgroBioTech 2019*, 2019, 19-24.
- [22] S. Vecchi, S. Bufali, D.A.G. Skibinsky, D. T. O'Hagan, M. Singh, Aluminum adjuvant dose guidelines in vaccine formulation for preclinical evaluations. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **101**(1), 2012, 17-20.
- [23] C. Exley, Human exposure to aluminium. *Environmental Science: Processes and Impacts* **15**(10), 2013, 1807-1816.
- [24] K. Landry, Human health effects of dietary aluminum. *Revue interdisciplinaire des sciences de la santé - Interdisciplinary Journal of Health Sciences* **4**(1), 2014, 39-44.
- [25] J. Moon, A. Davison, B. Bandy, Vitamin D and aluminum absorption. *Canadian Medical Association Journal* **147**(9), 1992, 1308-1313.
- [26] J. Nie, Exposure to aluminum in daily life and Alzheimer's disease. Neurotoxicity of Aluminum. *Advantages in Experimental Medicine and Biology* **1091**, 2018, 99-111.
- [27] W.W. Koo, L.A. Kaplan, Aluminum and bone disorders: with specific reference to aluminum contamination of infant nutrients. *Journal of the American College of Nutrition* **7**(3), 1988 199-214.
- [28] C. Minshall, J. Nadal, C. Exley, Aluminium in human sweat. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **28**(1), 2014, 87-88.

- [29] A. Ćirović, A. Ćirović, D. Nikolić, A. Ivanovski, P. Ivanovski, The adjuvant aluminum fate – metabolic tale based on the basics of chemistry and biochemistry. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **68**(9), 2021.
- [30] C. Exley. The pro-oxidant activity of aluminum. *Free Radical Biology and Medicine* **36**(3), 2004, 380-387.
- [31] W.R. Harris, Z. Wang, Y.Z. Hamada, Competition between transferrin and the serum ligands citrate and phosphate for the binding of aluminum. *Inorganic Chemistry* **42**(10), 2003, 3262-3273.
- [32] G.L. Klein, Aluminum toxicity to bone: a multisystem effect?. *Osteoporosis and sarcopenia* **5**(1), 2019, 2-5.
- [33] A. Duwe, Aluminum toxicity in Alzheimer's disease, breast cancer and vaccine adjuvants. *Cellular medicine and natural health* 2018, 1-8.
- [34] S.C. Bondy, A. Campbell, Aluminum and neurodegenerative diseases. *Environmental Factors in Neurodegenerative Diseases* **1**, 2017, 131-156 [cit. 2021-11-26].
- [35] S. Yumoto, S. Kakimi, A. Ishikawa, Colocalization of aluminum and iron in nuclei of nerve cells in brains of patients with Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* **65**(4), 2018, 1267-1281.
- [36] J.R. Walton, Aluminum in hippocampal neurons from humans with Alzheimer's disease. *NeuroToxicology* **27**(3), 2006, 385-394.
- [37] B. Solomon, Calmodulin, aluminium and Alzheimer's disease. *Aluminium and Alzheimer's Disease*. Elsevier, 2001, 393-409. ISBN 9780444508119.
- [38] P.F. Good, D.P. Perl, L.M. Bierer, J. Schmeidler, Selective accumulation of aluminum and iron in the neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: a laser microprobe (LAMMA) study. *Annals of Neurology* **31**(3), 1992, 286-292.
- [39] J.R. Walton, Evidence for participation of aluminum in neurofibrillary tangle formation and growth in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* **22**(1), 2010, 65-72.
- [40] K. Iqbal, F. Liu, C.-X. Gong, I. Grundke-Iqbal, Tau in Alzheimer disease and related tauopathies. *Current Alzheimer Research* **7**(8), 2010, 656-664.
- [41] D.R.C. McLachlan, P.N. Alexandrov, W.J. Walsh, A.I. Pogue, M.E. Percy, T.P.A. Kruck, Z. Fang, N. Scharfman, V. Jaber, Y. Zhao, W. Li, W.J. Lukiw, Aluminum in neurological disease - a 36 year multicenter study. *Journal of Alzheimer's Disease and Parkinsonism* **8**(6), 2018, 1-5.

- [42] J.E. Puzas, B.F. Boyce, Metal ion toxicity in the skeleton: lead and aluminum. *Principles of Bone Biology*. Elsevier, 2020, 527-537. ISBN 9780128148419.
- [43] S. Elserougy, H. Mahdy-Abdallah, S.F. Hafez, S. Beshir, Impact of aluminum exposure on lung. *Toxicology and Industrial Health* **31**(1), 2015, 73-78.
- [44] O.A. Taiwo, Diffuse parenchymal diseases associated with aluminum use and primary aluminum production. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* **56**(5), 2014, 71-72.
- [45] E.T. Kozima, A.B.F. de Souza, T. de F. Castro, N.A. de Matos, N.E. Philips, G. de P. Costa, A. Talvani, S. D. Cangussú, F.S. Bezerra, Aluminum hydroxide nebulization-induced redox imbalance and acute lung inflammation in mice. *Experimental Lung Research* **46**(3-4), 2020, 64-74.
- [46] F.S. Al-Fartusie, M.J. Abood, H.K. Al-Bairmani, A.S. Mohammed, Evaluation of some trace elements in sera of asthma patients: a case control study. *Folia Medica* **63**(5), 2021, 797-804.
- [47] O.E. Nafea, L.A. El-Korashi, M.H. Gehad, Y.M. Yousif, L.G. Zake, Association between blood aluminum and beta-2 receptor gene methylation with childhood asthma control. *Human and experimental toxicology* **39**(10), 2020, 1301-1309.
- [48] R.J. Mailloux, J. Lemire, V.D. Appanna, Hepatic response to aluminum toxicity: dyslipidemia and liver diseases. *Experimental Cell Research* **317**(16), 2011, 2231-2238.
- [49] A.A. Buraimoh, S.A. Ojo, J.O. Hambolu, S.S. Adebisi, Effects of aluminium chloride exposure on the histology of the liver of adult witstar rats. *Journal of Pharmacy* **2**(3), 2012, 525-533.
- [50] H. Saad, M. Hassieb, S. Oda, H. Tohamy, A. Khafaga, Histopathologic study on the toxic effect of aluminium chloride on the heart, liver and kidneys of rabbits. *Alexandria Journal of Veterinary Science* **56**(1), 2018, 102-109.
- [51] R. Mailloux, J. Lemire, V. Appanna, Aluminum-induced mitochondrial dysfunction leads to lipid accumulation in human hepatocytes: a link to obesity. *Cellular Physiology and Biochemistry* **20**(5), 2007, 627-638.
- [52] R.J. Mailloux, R. Hamel, V.D. Appanna, Aluminum toxicity elicits a dysfunctional TCA cycle and succinate accumulation in hepatocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **20**(4), 2006, 198-208.

- [53] C. Perricone, S. Colafrancesco, R.D. Mazor, A. Soriano, N. Agmon-Levin, Y. Shoenfeld, Autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA) 2013: unveiling the pathogenic, clinical and diagnostic aspects. *Journal of Autoimmunity* **47**, 2013, 1-16.
- [54] R. Ameratunga, D. Gillis, M. Gold, A. Linneberg, J.M. Elwood, Evidence refuting the existence of autoimmune/autoinflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA). *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* **5**(6), 2017, 1551-1555.
- [55] Y. Segal, S. Dajan, K. Sharif, N. Bragazzi, A. Watad, H. Amital, The value of autoimmune syndrome induced by adjuvant (ASIA) - shedding light on orphan diseases in autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* **17**(5), 2018, 440-448.
- [56] O. Hen, P. David, Y. Shoenfeld, Dysautonomia following tetanus, diphtheria, and pertussis vaccine (Tdap): the first case of extreme cachexia caused by autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA syndrome) in a human. *Medicina* **57**(12), 2021, 1333.
- [57] M.N. Hale, Volumetric determination of aluminum: applied to analysis of silica-alumina catalysts. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition* **18**(9), 1946, 568-569.
- [58] S. C. Shome, Gravimetric determination of copper, iron, aluminum and titanium with N-benzoylphenylhydroxylamine. *Analyst* **75**, 1950, 27-32.
- [59] G.S. Manku, P.D. Sarpal, Dehydroacetic acid as a reagent for the separation and gravimetric determination of copper(II) copper(II), aluminium and beryllium. *Talanta* **18**(10), 1971, 1079-1082.
- [60] K. Sawlewicz, W. Smulek, Gravimetric determination of aluminium with 8-hydroxyquinoline in the presence of uranium. *Journal of Analytical Chemistry* **21**(3), 1976, 601-609
- [61] H.N. Ray, S.S. Biswas, S. Ray, Determination of aluminium in steel. *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie* **228**(2), 1967, 114-119.
- [62] J. Kragten, An improved procedure for the complexometric titration of aluminium. *Analyst* **99**, 1974, 43-49.
- [63] G.W. Milner, J.L. Woodhead, The volumetric determination of aluminium in non-ferrous alloys. *Analyst* **79**, 1954, 363-367.
- [64] G. Chen, S. Bi, L. Dai, M. Cao, Y. Chen, X. Wang, Indirect differential pulse voltammetric determination of aluminum by a pyrocatechol violet-modified electrode. *Analytical Letters* **32**(5), 1999, 865-883.

- [65] ČSN ISO 10566 Jakost vod – Stanovení hliníku – Spektrofotometrická metoda s pyrokatecholovou violetí. Praha: Český normalizační institut, 1997, 12 s. Třídící znak 757401.
- [66] M. Chamsaz, M.H.A. Zavar, M.S. Hosseini, Flotation spectrophotometric determination of aluminium with Alizarin. *Analytical Letters* **33**(8), 2000, 1625-1633.
- [67] F. Leng, Y. Jing, Q. Wei, Y. Wang, Y. LV, X. Wang, X. Zhu, Spectrophotometric method for determination of trace aluminum with application of alizarin red S. *Bulgarian Chemical Communications* **48**(1), 2016, 159-164.
- [68] M.M. Seleim, M.S. Abu-Bakr, E.Y. Hashem, A.M. El-Zohry, Facile spectrophotometric determination of aluminum(III) and copper(II) simultaneously with alizarin yellow R in aluminum-copper alloys. *Analytical Letters* **43**(1), 2010, 85-96.
- [69] O. Domínguez-Renedo, A.M. Navarro-Cuñado, E. Ventas-Romay, M.A. Alonso-Lomillo, Determination of aluminium using different techniques based on the Al(III)-morin complex. *Talanta* **196**, 2019, 131-136.
- [70] C.R. Frink, D.E. Peaslee, Spectrophotometric determination of micro amounts of aluminium in plant material with 8-hydroxyquinoline. *Analyst* **93**, 1968, 469-474.
- [71] H.-Z. Lian, S.-P. Bi, Y.-J. Chen, L.-M. Dai, M. Cao, H.-M. Li, L.-C. Tian, Direct determination of aluminum in drinking and natural waters as 8-hydroxyquinoline chelate by RP-HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **24**(2), 2007, 215-228.
- [72] J.I.G. Alonso, A.L. García, A. Sanzmedel, E.B. Gonzalez, Flow-injection and liquid chromatographic determination of aluminium based on its fluorimetric reaction with 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid in a micellar medium. *Analytica Chimica Acta* **225**, 1989, 339-350.
- [73] ČSN EN ISO 12020 Jakost vod - Stanovení hliníku - Metoda atomové absorpční spektrometrie. Praha: Český normalizační institut, 2000, 16 s. Třídící znak 757402.
- [74] ČSN EN 14936-2 Měď a slitiny mědi - Stanovení obsahu hliníku - Část 2: Metoda plamenové atomové absorpční spektrometrie (FAAS). Praha: Český normalizační institut, 2007. Třídící znak 420623.
- [75] G.A.M. Mersal, H.A. Arida, New carbon paste modified micro electrode based on haematoxylin for determination of aluminum in underground water. *International Journal of Electrochemical Science* **6**, 2011, 1116-1126.

- [76] ČSN EN 17265 Potraviny – Stanovení prvků a jejich chemických sloučenin – Stanovení hliníku optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES). Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2020, 20 s. Třídící znak 560125.
- [77] I.O. Olabanji, E.A. Oluyemi, F.O. Fatoye, J.C. Ngila, Elemental composition of blood and hair of mentally-ill patients using ICP-OES techniques. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* **5**(2), 2011, 663-679.
- [78] A. Kiani, M. Arabameri, M. Moazzen, N. Shariatifar, S. Aeenehvand, G.J. Khaniki, M. Abdel-Wahhab, S. Shahsavari, Probabilistic health risk assessment of trace elements in baby food and milk powder using ICP-OES method. *Biological Trace Element Research* 2021.
- [79] A.S. Martins, J.B.P. Junior, A. de A. Gomes, F.I.M. Carvalho, H.A.D. Filho, K.D.G.F. Dantas, Mineral composition evaluation in energy drinks using ICP OES and chemometric tools. *Biological Trace Element Research* **194**(1), 2020, 284-294.
- [80] A.N.A. Hammid, A. Kuntom, Determination of sodium, magnesium, aluminium, sulphur, potassium, calcium, nickel and antimony in crude palm oil by inductively coupled plasma mass spectrometry. *MPOB Information Series* **825**(184), 2019, 1-3.
- [81] ČSN EN 17264. Potraviny – Stanovení prvků a jejich chemických sloučenin – Stanovení hliníku pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2020, 20 s. Třídící znak 560124.
- [82] J. Zuziak, M. Jakubowska, Voltammetric determination of aluminum-Alizarin S complex by renewable silver amalgam electrode in river and waste waters. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **794**, 2017, 49-57.
- [83] J.C. Ngila, P.W. Alexander, D.B. Hibbert, Determination of aluminum ions by indirect potentiometry in a flow system. *Electroanalysis* **6**(11-12), 1994, 990-995.
- [84] E.W. Baumann, Determination of aluminum by potentiometric titration with fluoride. *Analytical chemistry* **42**(1), 1970, 110-111.
- [85] W. Khayata, N. Sarkis, A. Najjar, Potentiometric titration of aluminum using aluminum electrode. *Asian journal of chemistry* **23**(10), 2011, 4697-4700.
- [86] M. Arvand, M. Kermanian, M.A. Zanjanchi, Direct determination of aluminium in foods and pharmaceutical preparations by potentiometry using an AlMCM-41 modified polymeric membrane sensor. *Electrochimica Acta* **55**(23), 2010, 6946-6952.

- [87] M.F. Mousavi, M. Arvand-Barmchi, M.A. Zanjanchi, Al(III)-selective electrode based on furil as neutral carrier. *Electroanalysis* **13**(13), 2001, 1125-1128.
- [88] A. Yari, L. Darvishi, M. Shamsipur, Al(III)-selective electrode based on newly synthesized xanthone derivative as neutral ionophore. *Analytica Chimica Acta* **555**(2), 2006, 329-335.
- [89] V. Gupta, A. Jain, G. Maheshwari, Aluminum(III) selective potentiometric sensor based on morin in poly(vinyl chloride) matrix. *Talanta* **72**(4), 2007, 1469-1473.
- [90] Y.-H. Ma, R. Yuan, Y.-Q. Chai, X.-L. Liu, A new aluminum(III)-selective potentiometric sensor based on N,N'-propanediamide bis(2-salicylideneimine) as a neutral carrier. *Materials Science and Engineering: C* **30**(1), 2010 209-213.
- [91] S. Tajik, M.A. Taher, I. Sheikhshoaie, Potentiometric determination of trace amounts of aluminium utilizing polyvinyl chloride membrane and coated platinum sensors based on E-N'-(2-hydroxy-3-methoxybenzylidene) benzohydrazide. *Journal of AOAC International* **96**(1), 2013, 204-211.
- [92] A.J. Downard, H.K.J. Kipton, S. Xu, Voltammetric determination of aluminium(III) using a chemically modified electrode. *Analytica Chimica Acta* **251**, 1991, 157-163.
- [93] J. Di, S. Bi, T. Yang, M. Zhang, Voltammetric determination of aluminum(III) using a reagentless sensor fabricated by sol-gel process. *Sensors and Actuators B: Chemical* **99**(2-3), 2004, 468-473.
- [94] J. Kopeć, B. Baś, M. Jakubowska, The bismuth bulk annular band electrode — a new voltammetric sensor for Al(III) traces determination. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **848**, 2019, 1-7.
- [95] F. Zhang, S. Bi, J. Zhang, N. Bian, F. Liu, Y. Yang, Differential pulse voltammetric indirect determination of aluminium in drinking waters, blood, urine, hair, and medicament samples using l-dopa under alkaline conditions. *The Analyst* **125**(7), 2000, 1299-1302
- [96] D.V. Vukomanovic, J.A. Page, G.W. Vanloon, Voltammetric determination of Al(III) with adsorptive preconcentration of the pyrocatechol violet complex. *Canada Journal Chemistry* **69**, 1991, 1418-1426.
- [97] L.B. Santos, M.T. de Souza, A.T. Paulino, E.E. Garcia, E.M. Nogami, J.C. Garcia, N.D. de Souza, Determination of aluminum in botanical samples by adsorptive cathodic stripping voltammetry as Al-8-hydroxyquinoline complex. *Microchemical Journal* **112**, 2014, 50-55.

- [98] W.P. See, L.Y. Heng, S. Nathan, Highly sensitive aluminium(III) ion sensor based on a self-assembled monolayer on a gold nanoparticles modified screen-printed carbon electrode. *Analytical Sciences* **31**(10), 2015, 997-1003.
- [99] S. Rana, S.K. Mittal, N. Singh, J. Singh, C.E. Banks, Schiff base modified screen printed electrode for selective determination of aluminium(III) at trace level. *Sensors and Actuators B: Chemical* **239**, 2017, 17-27.
- [100] A.L. Suherman, E.E.L. Tanner, S. Kuss, S.V. Sokolov, J. Holter, N.P. Young, R.G. Compton, Voltammetric determination of aluminium(III) at tannic acid capped-gold nanoparticle modified electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical* **265**, 2018, 682-690.
- [101] M. Arvand, M. Kermanian, Potentiometric determination of aluminum in foods, pharmaceuticals, and alloys by AlMCM-41-modified carbon paste electrode. *Food Analytical Methods* **6**(2), 2013, 578-586.
- [102] M.H. Mashhadizadeh, H. Khani, Sol-Gel-Au nano-particle modified carbon paste electrode for potentiometric determination of sub ppb level of Al(iii). *Analytical Methods* **2**(1), 2010, 24-31.
- [103] M. Soleimani, M.G. Afshar, Octaethylporphyrin as an ionophore for aluminum potentiometric sensor based on carbon paste electrode. *Russian Journal of Electrochemistry* **50**(6), 2014, 554-560.
- [104] M.E. Mohamed, Modified carbon paste electrode for potentiometric determination of aluminium ion in spiked real water sample. *Russian Journal of Electrochemistry* **52**(8), 2016, 754-761.
- [105] P. Deng, J. Fei, J. Zhang, Y. Feng, Determination of trace aluminum by anodic adsorptive stripping voltammetry using a multi-walled carbon nanotube modified carbon paste electrode. *Analytical Letters* **44**(8), 2011, 1521-1535.
- [106] Y. Zhu, A. Bao, B. Na, G. Su, J. Wang, J. Lang, A cyclic voltammetry and PM6 semi-empirical molecular orbital method study of the capacity behaviour of an aluminum-8-hydroxyquinoline complex modified carbon paste electrode. *RSC Advances* **7**(6), 2017, 3586-3593.
- [107] Differentiation between zinc, aluminium, and magnesium ions in solution. In: *Chemistry Stack Exchange* [online]. New York: Stack Exchange Inc., 2010 [cit. 2022-04-06]. Dostupné z: <https://chemistry.stackexchange.com/>.

- [108] N.D. Priest, E. Skybakmoen, G. Jackson. The bioavailability of ingested ^{26}Al -labelled aluminium and aluminium compounds in the rat. *NeuroToxicology*. **83**, 2021, 179-185.
- [109] S. Desroches, S. Daydé, G. Berthon. Aluminum speciation studies in biological fluids. *Journal of Inorganic Biochemistry* **81**(4), 2000, 301-312.
- [110] Octanový krém: 100 mg/g krém [online]. Banská Bystrica: GALVEX, spol. s.r.o. Slovensko, 2019, ev. č. 2017/05894-Z1B. Dostupné z: <https://www.sukl.sk/>
- [111] A.C. Tella, J.A. Obaleya. Synthesis of some 3d metal complexes of quinine and their toxicological studies. *Journal of Nepal Chemical Society* **25**, 2010, 19-28.