

VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE

Fakulta chemicko-inženýrská

Ústav analytické chemie



STANOVENÍ STOPOVÝCH PRVKŮ VE VZORCÍCH ČESKÉHO MEDU

Vypracovala: Kristina Matějková

Vedoucí práce: prof. Ing. Oto Mestek, CSc.

Anotace

Med je všeobecně považován za výživově hodnotnou potravinu. Cílem této práce bylo stanovit obsah vybraných kovových prvků, esenciálních i toxických, ve vzorcích českého medu metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a posoudit hodnoty naměřených koncentrací s ohledem na možný vliv na lidské zdraví. Dalším cílem bylo posouzení vztahu mezi naměřenými obsahy prvků a lokalitou původu medu, a to pomocí analýzy hlavních komponent.

Z provedených rozborů vyplývá, že obsah jednotlivých prvků ve zkoumaných vzorcích by neměl být zdraví ohrožující. Dále bylo zjištěno, že geografický původ medu se do jisté míry odráží v jeho složení, vliv však není natolik jednoznačný, aby bylo možné na základě stanovení sledovaných prvků zpětně jednoznačně určit původ medu.

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Experimentální část.....	2
2.1. Přístrojové vybavení.....	2
2.2. Softwarové vybavení.....	2
2.3. Použité chemikálie	2
2.4. Příprava roztoků	2
2.5. Odběr vzorků.....	4
2.6. Příprava vzorků	4
2.7. Příprava slepých pokusů	4
2.8. Podmínky měření	5
2.9. Stanovení meze detekce	5
2.10. Stanovení opakovatelnosti metody.....	6
2.11. Stanovení výtěžnosti metody	6
3. Výsledky a diskuse.....	7
3.1. Mez detekce	7
3.2. Opakovatelnost metody.....	7
3.3. Výtěžnost metody.....	8
3.4. Stanovení koncentrací sledovaných prvků ve vzorcích	8
3.5. Posouzení obsahu stanovovaných prvků ze zdravotního hlediska.....	11
3.6. Analýza hlavních komponent a rozbor souvislostí složení a původu	12
4. Závěr	15
5. Seznam zkratk	16
6. Použitá literatura	16

1. Úvod

Med je lidstvu znám odedávna. Zpočátku byl vybírán z hnízd divoce žijících včel, jak o tom svědčí například přibližně 15 tisíc let staré malby v Pavoučí jeskyni ve Španělsku zobrazující vybírání medných plástů včelstvu žijícímu ve skalní dutině. Později člověk přešel od sběru k chovu. Nejstarší úly vytvořené člověkem byly nalezeny na Blízkém východě.^{1, 2} Na našem území pak pravděpodobně nejstarší záznamy o chovu včel pocházejí z 9. století.³

Již v dávných dobách byl med velice ceněn, a to nejen pro svou sladkou chuť, byly mu taktéž prisuzovány léčivé, někdy až zázračné účinky.^{1, 2} I v dnešní době je med velmi oblíbený nejen jako sladidlo. Neobsahuje totiž zdaleka jen sacharidy, ale i řadu dalších biologicky aktivních látek pocházejících z nektaru rostlin (květový med) a ze mšic (medovicový med) a dále řadu metabolických produktů včel.

Přibližně ze 75% se med skládá z monosacharidů, 10 – 15% tvoří disacharidy. Dále obsahuje proteiny, jejichž množství závisí na druhu včel, ale obecně se pohybuje se v desetinách až jednotkách procent. Významnou částí bílkovin v medu jsou včelí enzymy ze třídy hydrolas, štěpící sacharidové řetězce, a dále enzymy s baktericidním účinkem. Obsaženy jsou i volné aminokyseliny. Je přítomna i řada organických kyselin majících původ jednak v nektaru, a jednak vzniklých při enzymatických reakcích během zpracování nektaru na med. Procentuálně poměrně malou, avšak biologicky významnou složku medu tvoří minerály a stopové prvky. Jejich obsah je dán jednak druhem medonosných rostlin a jednak prostředím, ve kterém rostlina vyrostla. Jednu z klíčových rolí zde hraje složení půdy.⁴

Pro své blahodárné složení je med používán jako prostředek pro posílení imunity či k podpoře organismu při nachlazení nebo jiném oslabení. Může však obsahovat i složky nežádoucí, a to jak látky organické (rezidua pesticidů, apod.), tak i například těžké kovy.^{4, 5}

Na sledování výskytu vybraných stopových prvků, včetně některých těžkých kovů, byla zaměřena tato práce. Cílem bylo jednak vyhodnotit obsah stopových prvků v českém medu s ohledem na možná zdravotní rizika a jednak se pokusit najít souvislosti mezi složením a geografickým původem medu.

Pro výzkum bylo použito celkem 44 vzorků medu z různých lokalit v České republice a z několika míst na Slovensku. Byl sledován obsah 11 prvků – hliníku, kadmia, kobaltu, mědi, manganu, niklu, zinku, olova, thallia, chromu a železa. Z nich Fe, Mn, Zn, Cu, Cr a Co jsou dle prací^{6, 7} ve stopovém množství biogenní, naproti tomu Pb, Cd a Tl jsou považovány za silně toxické. Při posuzování toxicity je však nutné brát v úvahu i formu, ve které se daný prvek vyskytuje (důležitá je například rozpustnost sloučeniny) a dávku. I stopově biogenní prvky tak mohou být ve vyšších dávkách či nevhodných formách nebezpečné.

2. Experimentální část

2.1. Přístrojové vybavení

Měření byla provedena na hmotnostním spektrometru s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) ELAN DRC-e (Perkin Elmer, Concord, Kanada).

K navažování vzorků byly použity analytické váhy Metler AE200 (Mettler Toledo, Griefensee, Švýcarsko).

Rozklady vzorků byly provedeny v mikrovlnném rozkladném zařízení Speedvawe4 (Berghof Products + Instruments GmbH, Eningen, Německo).

2.2. Softwarové vybavení

Hmotnostní spektrometr byl ovládán přes komunikační rozhraní softwaru ELAN ICP-MS Instrument Control Version 3.4 (Perkin Elmer, Kanada).

Ke zpracování dat byly použity programy MS Office 2010 (Microsoft, USA).

Analýza hlavních komponent byla provedena pomocí programu The Unscrambler verze 10.2 (Camo, Norsko).

2.3. Použité chemikálie

Demineralizovaná voda Milli-Q (Millipore, Bedford, USA)

Kyselina dusičná 65% Suprapur® (Merck, Darmstadt, Německo)

Standardní roztoky Al, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb, Tl, Cr, Fe, Bi, Rh; každý o koncentraci $1,000 \pm 0,002$ g/l (při 20 °C) ve 2% (v/v) HNO₃ (Analytika spol. s.r.o., Praha, Česká republika)

Argon technický 4.6 (Siad spol. s.r.o., Braňany, Česká republika)

Methan 5.5 (Siad spol. s.r.o., Braňany, Česká republika)

2.4. Příprava roztoků

Sledované prvky byly ve vzorcích stanovovány metodou kalibrační závislosti. K potlačení vlivu matrice bylo využito vnitřních standardů (IS) - pro stanovení olova a thallia byl jako IS použit bismut, pro stanovení ostatních prvků rhodium.

Základní roztoky byly připraveny takto:

Roztok IS

Do 100 ml polyethylenové lahvičky naplněné vodou byly přidány 2 ml HNO₃ a napipetováno po 0,25 ml standardních roztoků Rh a Bi.

Koncentrace Rh a Bi v tomto roztoku byla přibližně 2,5 mg/l.

Základní roztok A

Do skleněné odměrné baňky o objemu 100 ml zcela naplněné vodou byly přidány 2 ml HNO_3 a napipetovány roztoky kovů:

0,5 ml standardních roztoků Cd, Co, Cr a Pb

0,1 ml standardního roztoku Tl

Baňka byla poté doplněna vodou po rysku a roztok byl převeden do 100 ml polyethylenové lahvičky, kde byl přechováván.

Koncentrace kovů v tomto roztoku byly 5 mg/l Cd, Co, Cr a Pb; 1 mg/l Tl.

Základní roztok B

Do skleněné odměrné baňky o objemu 100 ml zcela naplněné vodou byly přidány 2 ml HNO_3 a napipetovány roztoky kovů:

0,5 ml standardních roztoků Cu, Fe, Mn a Ni

1 ml standardních roztoků Al a Zn

Baňka byla poté doplněna vodou po rysku a roztok byl převeden do 100 ml polyethylenové lahvičky, kde byl přechováván.

Koncentrace kovů v tomto roztoku byly 5 mg/l Cu, Fe, Mn a Ni; 10 mg/l Al a Zn.

Pracovní roztok A

Jde o mezistupeň mezi základním roztokem A a kalibračními roztoky. Byl připravován čerstvý před každou přípravou kalibračních roztoků.

Do skleněné odměrné baňky o objemu 50 ml zcela naplněné vodou byl přidán 1 ml HNO_3 a napipetováno 2,5 ml základního roztoku A. Baňka byla poté doplněna vodou po rysku.

Koncentrace kovů v tomto roztoku byly 250 ng/ml Cd, Co, Cr a Pb; 50 ng/ml Tl.

Kalibrační roztoky

Do plastových odměrných baněk o objemu 50 ml zcela naplněných vodou byl přidán 1 ml HNO_3 a 1 ml roztoku IS. Dále byly napipetovány objemy Pracovního roztoku A a Základního roztoku B dle tabulky 1, baňky byly poté doplněny vodou po rysku.

Kalibrační roztoky byly připravovány čerstvé před každou sérií měření. V závislosti na koncentracích stanovovaných prvků ve vzorcích nebyly vždy připravovány roztoky KAL3 a KAL4.

Tabulka 1: Kalibrační roztoky

Označení roztoku	Pipetovaný objem (ml)		Koncentrace kovů (ng/ml)
	Pracovní roztok A	Základní roztok B	
KAL0	0	0	0
KAL1	1	0,5	Cu, Fe, Mn, Ni: 50
			Al, Zn: 100
			Cd, Co, Cr, Pb: 5
			Tl: 1
KAL2	0	1	Cu, Fe, Mn, Ni: 100
			Al, Zn: 200
KAL3	0	2	Cu, Fe, Mn, Ni: 200
			Al, Zn: 400
KAL4	0	5	Cu, Fe, Mn, Ni: 500
			Al, Zn: 1000

2.5. Odběr vzorků

Studované vzorky medů byly získány přímo od včelařů během sezony roku 2015. Mezi chovatele byly distribuovány balíčky s plastovými vzorkovnicemi vylouženými v kyselině dusičné a s pokyny pro odběr vzorku. Medy měly být podle pokynů odebírány přímo při stáčení, a to buď odkapáním do vzorkovnice rovnou z plástů, stočením z výpusti medometu nebo stočením z konve se sítí. Vzorkovnice měly být poté ihned uzavřeny. Pro účely práce měly být poté popsány místem a datem odběru, případně předpokládaným druhem medu.

2.6. Příprava vzorků

Do rozkladné nádoby byl přesně navážen přibližně 1 g vzorku medu. Med byl dávkován pomocí automatické pipety s uříznutým koncem špičky, čímž byl zajištěn větší otvor špičky. V případě tuhých medů předcházela navažování horká vodní lázeň, aby došlo k jejich ztekutění. K naváženému vzorku byly přidány 3 ml vody a 1 ml HNO_3 . Nádobka byla poté umístěna do rozkladného zařízení. Rozklad probíhal pomocí programu uvedeného v tabulce 2.

Tabulka 2: Parametry rozkladu vzorků. Výkon je uveden v procentech z maximálního výkonu rozkladného zařízení.

Etapa	Teplota (°C)	Tlak (bar)	Doba trvání (min)	Výkon
1	130	30	2	60%
2	180	60	2	70%
3	240	100	7	90%
4	50	60	48	0%

Rozložený vzorek byl poté kvantitativně převeden do 50 ml plastové odměrné baňky, byl přidán 1 ml roztoku IS a doplněna voda po rysku.

Z každého vzorku byly připraveny dvě navážky.

2.7. Příprava slepých pokusů

Příprava slepých pokusů probíhala stejně jako příprava vzorků a společně s ní. Pouze do rozkladných nádobek se slepými pokusy nebyl navažován med.

2.8. Podmínky měření

Všechna měření pomocí ICP-MS probíhala za podmínek uvedených v tabulkách 3 a 4, a to ve dvou etapách. V první etapě byly měřeny Al, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Zn, Pb, Tl a to bez použití reakčního plynu. Ve druhé etapě pak byly zjišťovány koncentrace Cr a Fe s pomocí reakčního plynu – methanu.

Tabulka 3: Parametry měření stopových prvků pomocí ICP-MS bez použití reakčního plynu

Parametr	Hodnota
Příkon do plazmatu	1100 W
Průtok Ar zmlžovačem	0,7 l/min
Průtok pomocného Ar	1 l/min
Průtok plazmového Ar	11 l/min
Měřené izotopy	analyty: ^{27}Al , ^{111}Cd , ^{59}Co , ^{65}Cu , ^{55}Mn , ^{60}Ni , ^{66}Zn , ^{208}Pb , ^{205}Tl
	vnitřní standard: ^{209}Bi , ^{103}Rh
Doba odečtu	50 ms na izotop
Počet odečtů na opakování	10
Počet opakování na repliku	1
Počet replik	10

Tabulka 4: Parametry měření Cr a Fe – s použitím reakčního plynu

Parametr	Hodnota
Příkon do plazmatu	1100 W
Průtok Ar zmlžovačem	0,7 l/min
Průtok pomocného Ar	1 l/min
Průtok plazmového Ar	11 l/min
RPQ	0,8
Průtok methanu	0,7 ml/min
Měřené izotopy	analyty: ^{52}Cr , ^{56}Fe
	vnitřní standard: ^{103}Rh
Počet odečtů na opakování	10
Počet opakování na repliku	1
Počet replik	20

2.9. Stanovení meze detekce

Pro stanovení meze detekce (LOD) byly spočteny průměrné hodnoty obsahu stanovovaných prvků v 11 slepých pokusech a výběrové směrodatné odchylky těchto obsahů. Meze detekce pro jednotlivé prvky pak byly spočteny podle vzorce:

$$LOD_i = \bar{x}_{sl,i} + 3 \cdot s_{sl,i} \quad (1)$$

kde $\bar{x}_{sl,i}$ je průměr naměřených koncentrací i -tého prvku ve slepých pokusech a $s_{sl,i}$ je výběrová směrodatná odchylka těchto hodnot.

2.10. Stanovení opakovatelnosti metody

Jak již bylo uvedeno výše, z každého vzorku byly připraveny a proměřeny dvě navážky. Vzorků bylo dohromady 44, každý prvek byl tedy stanoven 88-krát (44 dvojic). Pro stanovení opakovatelnosti byly pro každý prvek využity všechny dvojice koncentrací, které byly nad limitem detekce. Výpočet směrodatné odchylky opakovatelnosti pro každý prvek byl pak proveden podle vztahu:

$$s_i(y) = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n ((y_{ij1} - y_{ij2}) / \bar{y}_{ij})^2}{2 \cdot n}} \quad (2)$$

kde $s_i(y)$ je směrodatná odchylka opakovatelnosti pro i -tý prvek, n je počet použitých dvojic, y_{ij1} a y_{ij2} je j -tá dvojice naměřených hodnot pro i -tý prvek, $\bar{y}_{ij}$ je průměr z dvojice y_{ij1} a y_{ij2} .

Z výpočtu byly vyloučeny odlehlé výsledky a byla stanovena výsledná relativní směrodatná odchylka opakovatelnosti.

2.11. Stanovení výtěžnosti metody

Vzhledem k tomu, že nebyl nalezen certifikovaný referenční materiál (CRM) medu, byla výtěžnost stanovena metodou standardního přídávku. Bylo připraveno a proměřeno šest navážek (o hmotnosti přibližně 1 g) jednoho vzorku medu a šest navážek (taktéž o hmotnosti přibližně 1 g) téhož vzorku obohacených o přídatek 0,5 ml základního roztoku B a 0,5 ml pracovního roztoku A. Se všemi dvanácti navážkami bylo dále nakládáno postupem uvedeným v odstavci „Příprava vzorků“ a měřeny byly za podmínek z odstavce „Podmínky měření“. Byly tak primárně stanoveny koncentrace v roztocích použitého vzorku a vzorku s přídatkem. Tato data byla dále zpracována následujícím způsobem:

Pro každý prvek byl z hodnoty jeho koncentrace v měřeném roztoku navážky bez přídávku spočten hmotnostní zlomek w_i (v ng/g) ve vzorku podle vzorce:

$$w_i = \frac{x_i - \bar{x}_{sl,i}}{m} \cdot 50 \quad (3)$$

kde x_i je koncentrace i -tého prvku v měřeném roztoku v ng/ml, $\bar{x}_{sl,i}$ je průměr koncentrace daného prvku ve slepých pokusech měřených ve stejné sérii v ng/ml, m je navážka v g, koeficient 50 vychází z objemu, ve kterém bylo měření prováděno.

Pro každý prvek byl pak spočten průměr jeho hmotnostních zlomků ve vzorcích medu bez přídávku $\bar{w}_{ibp}$ a výběrová směrodatná odchylka těchto zlomků s_{ibp} . Dále bylo nutné přepočítat koncentraci prvků v roztocích navážek (které byly přibližně 1 g) s přídatkem na korigované koncentrace x_{ipk} v dotyčných roztocích, pokud by navážka činila přesně 1 g. Toho bylo dosaženo použitím vztahu:

$$x_{ipk} = x_{ip} - \bar{x}_{sl,i} + (1 - m) \cdot \frac{\bar{w}_{ibp}}{50} \quad (4)$$

kde x_{ip} je koncentrace i -tého prvku ve vzorku s přídatkem.

Z x_{ipk} byly spočítány korigované hodnoty hmotnostních zlomků v pokusech s přidavkem w_{ipk} podle vzorce:

$$w_{ipk} = x_{ipk} \cdot 50 \quad (5)$$

Z hodnot w_{ipk} získaných pro jednotlivé pokusy pak byla získána průměrná hodnota $\bar{w}_{ipk}$ a výběrová směrodatná odchylka s_{ipk} .

Hmotnostní zlomek přidavku $w_{i,prid}$ byl spočten na základě koncentrace a objemu přidávaného pracovního a základního roztoku.

Výtěžnost metody v_i pro každý prvek pak byla získána ze vztahu:

$$v_i = \frac{(\bar{w}_{ipk} - \bar{w}_{ibp})}{w_{i,prid}} \quad (6)$$

3. Výsledky a diskuse

3.1. Mez detekce

Zjištěné hodnoty meze detekce jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5: Zjištěné hodnoty meze detekce pro jednotlivé prvky. Hodnoty jsou uvedeny v ng/ml měřeného roztoku a v ng/g vzorku pro navážky hmotnosti 1g.

	Al	Cd	Co	Cu	Mn	Ni	Zn	Pb	Tl	Cr	Fe
roztok (ng/ml)	11,8	0,00253	0,00696	0,159	0,145	0,204	0,958	0,0925	0,000398	0,158	3,37
vzorek (ng/g)	592	0,126	0,348	7,97	7,24	10,2	47,9	4,62	0,0199	7,88	168

Z tabulky 5 je patrné, že nejvyšší mez detekce má hliník, což je způsobeno jeho vysokým přirozeným pozadím. Stejně tak u ostatních prvků je patrné, že mez detekce se odvíjí mimo jiné od toho, do jaké míry jsou tyto prvky běžné v pracovním prostředí.

3.2. Opakovatelnost metody

Vypočtené hodnoty relativní směrodatné odchylky opakovatelnosti jsou uvedeny v tabulce 6. Výpočet byl proveden vždy ze všech dvojic hodnot, ve kterých koncentrace přesáhla limit detekce. Výsledný počet dvojic, ze kterých byla opakovatelnost vypočtena, je taktéž uveden v tabulce 6.

Tabulka 6: Relativní směrodatné odchylky opakovatelnosti ($s_{r,i,opak}$) pro jednotlivé prvky a počet zdrojových dvojic n .

	Al	Cd	Co	Cu	Mn	Ni	Zn	Pb	Tl	Cr	Fe
$s_{r,i,opak}$	6,0%	12,2%	2,0%	2,6%	1,1%	8,4%	6,7%	23,7%	2,1%	8,3%	5,1%
n	20	43	44	44	44	44	44	18	44	6	44

Z tabulky 6 je vidět, že relativní směrodatná odchylka opakovatelnosti je pro některé prvky (zvláště pak pro olovo) překvapivě velká. Pravděpodobným vysvětlením je nehomogenita vzorků, respektive nerovnoměrné rozložení některých prvků v nich. Z analýzy použitou metodou získáváme pouze informace o obsahu prvků ve vzorcích (resp. v konkrétních navážkách) a nedozvíme se nic o formě, v jaké jsou ve vzorku obsaženy. Právě na formě však může záviset rovnoměrnost rozložení prvku ve vzorku. Takto si lze vysvětlit nízkou opakovatelnost právě například u olova, kde se předpokládá, že se v prostředí vyskytuje adsorbované na prachových částicích, z velké části jako pozůstatek z dob, kdy se přidávalo do benzínu.

3.3. Výtěžnost metody

Vypočtené hodnoty výtěžnosti jsou uvedené v tabulce 7 spolu s daty, ze kterých byly získány.

Tabulka 7: Data získaná z experimentu pro určení výtěžnosti metody: průměr hmotnostních zlomků prvků ve vzorcích mezi bez přídavku $\bar{w}_{ibp}$ a související směrodatné odchylky s_{ibp} ; průměr korigovaných hmotnostních zlomků ve vzorcích s přídavkem $\bar{w}_{ipk}$ a související směrodatná odchylka s_{ipk} , dále hmotnostní zlomek přídavku $w_{i,prid}$ a výsledná výtěžnost v_i . Hodnoty hmotnostních zlomků i směrodatných odchylek jsou uvedeny v ng/g.

Prvek	Al	Cd	Co	Cu	Mn	Ni	Zn	Pb	Tl	Cr	Fe
$\bar{w}_{ibp}$	3100	8,49	41,1	295	3273	242	1299	8,92	1,27	8,68	1682
s_{ibp}	247	0,43	0,5	2	50	5	137	2,10	0,02	1,39	145
$\bar{w}_{ipk}$	7780	131,58	165,8	2726	5771	2683	6078	135,45	27,03	140,15	4226
s_{ipk}	152	3,18	4,1	44	45	26	314	2,25	0,36	6,05	188
$w_{i,prid}$	5000	125	125	2500	2500	2500	5000	125	25	125	2500
v_i	93,6%	98,5%	99,7%	97,2%	99,9%	97,7%	95,6%	101,2%	103,0%	105,2%	101,8%

Z tabulky 7 je patrné, že pro téměř všechny studované prvky je výtěžnost velmi dobrá. Hliník je hojně přítomen v pracovním prostředí a má taktéž ze všech sledovaných prvků nejvyšší mez detekce. Vzhledem k těmto skutečnostem považují výtěžnost 93,6% za uspokojivou.

3.4. Stanovení koncentrací sledovaných prvků ve vzorcích

Dva roztoky připravené ze dvou navážek pro každý vzorek byly proměřeny za uvedených podmínek a naměřené koncentrace sledovaných prvků v roztocích byly přepočteny na hmotnostní zlomky v původních vzorcích. Tabulka 8 uvádí průměrné hmotnostní zlomky (ng/g) prvků v jednotlivých vzorcích.

Tabulka 8: Průměrné hmotnostní zlomky studovaných prvků v medech různého původu. Lokalita medu je specifikována obcí, okresem a krajem kromě pražských medů (označené *).

Označení vzorku	Lokalita - obec, okres, kraj	Popis medu dodaný včelařem	Obsah prvků ve vzorcích (ng/g)										
			Al	Cd	Co	Cu	Mn	Ni	Zn	Pb	Tl	Cr	Fe
17	Radlice, Praha 5, Praha*	směs květů, bez řepky	n. d.	0,412	6,35	230,0	384	n. d.	419	6,09	0,529	n. d.	657
10	Hvězdonice, Benešov, Středočeský		n. d.	0,443	3,90	78,3	367	n. d.	217	4,84	2,990	n. d.	456
11	Prášiily, Klatovy, Plzeňský	květový, hlavně javor	665	0,179	0,532	129,0	2290	n. d.	201	n. d.	0,037	n. d.	400
13	Křivenice, Mělník, Středočeský	květový, blízkost tepené elektrárny	1830	0,927	7,90	114,0	394	21,5	511	4,69	0,886	n. d.	1440
14	Rokycany-město, Rokycany, Plzeňský	směs květů	n. d.	0,696	17,50	162,0	553	62,9	285	n. d.	1,460	22,40	1890
12	Putim, Písek, Jihočeský	květový, stanoviště u polí a luk	n. d.	0,285	8,39	75,3	593	30,2	202	n. d.	1,810	9,30	479
6	Zvole, Žďár nad Sázavou, Vysočina		1370	2,520	17,00	148,0	1150	94,6	384	n. d.	1,350	10,50	787
1	Řepiště, Frýdek-Místek, Moravskoslezský	louky, řepková pole, ovocné stromy	798	0,873	9,28	100,0	485	n. d.	386	102,00	3,870	n. d.	2480
4	Blažkov, Žďár nad Sázavou, Vysočina	směs květů, řepka	1330	4,020	23,30	167,0	1550	75,4	562	5,51	5,060	n. d.	912
2	Blažkov, Žďár nad Sázavou, Vysočina	květový, řepka	n. d.	0,583	6,22	61,9	363	13,2	247	7,01	2,840	11,20	423
3	Blažkov, Žďár nad Sázavou, Vysočina	květový směs	n. d.	0,659	3,14	45,5	270	n. d.	187	32,60	4,060	12,00	579
5	Zvole, Žďár nad Sázavou, Vysočina		683	1,610	11,40	87,4	782	51,1	369	n. d.	0,996	15,00	718
7	Blažkov, Žďár nad Sázavou, Vysočina	směs květů, řepka	n. d.	0,238	2,63	26,8	201	n. d.	132	n. d.	3,910	n. d.	339
8	Blažkov, Žďár nad Sázavou, Vysočina	hlavně řepka	n. d.	0,205	3,59	25,4	169	n. d.	120	n. d.	1,430	n. d.	320
9	Zvole, Žďár nad Sázavou, Vysočina	květový směsný	1090	3,130	13,30	80,4	777	26,5	2580	12,50	2,750	n. d.	1650
15	Smrkovice, Písek, Jihočeský	květový	n. d.	0,779	5,30	95,4	306	14,3	313	n. d.	0,864	n. d.	1400
16	Hliněný Újezd, Klatovy, Plzeňský	květový, zemědělská krajina	n. d.	0,211	4,73	47,5	197	n. d.	188	n. d.	0,968	n. d.	542
19	Cibulka, Košíře, Praha 5, Praha*	směs květů - vilová čtvrť, zahrady, les	n. d.	0,263	3,63	148,0	408	154,0	294	n. d.	0,238	n. d.	451
20	Košíře, Praha 5, Praha*	ovocné stromy, hlavně třešeň ptačí	n. d.	0,453	4,73	245,0	696	182,0	392	19,30	0,400	n. d.	827
21	Petřín, Praha 1, Praha*	směs květů	n. d.	0,137	2,67	64,2	194	10,4	164	n. d.	0,207	n. d.	337
22	Prokopské údolí, Praha 5, Praha*	akát, lípa	n. d.	0,134	3,75	73,1	296	35,4	206	77,40	0,129	n. d.	1300
23	Horní Rožínka, Žďár nad Sázavou, Vysočina		2480	5,610	34,60	199,0	2740	184,0	657	n. d.	2,880	n. d.	1090
27	Tesárske Mlyňany, Zlaté Moravce, Nitranský, SR	ovocné stromy, řepka	n. d.	0,224	7,11	23,5	306	n. d.	172	n. d.	2,360	n. d.	542
28	Šírkovice, Rimavská Sobota, Banskobystrický, SR	akát	n. d.	0,219	4,12	99,8	746	19,5	378	n. d.	1,490	n. d.	688
29	Sušany, Rimavská Sobota, Banskobystrický, SR	akát	n. d.	0,481	4,59	219,0	2810	31,3	402	13,60	0,668	n. d.	815
30	Čerenčany, Rimavská Sobota, Banskobystrický, SR	medovice	2240	4,530	18,10	907,0	14900	126,0	725	38,00	1,260	n. d.	2620
31	Tlmače, Levice, Nitranský, SR	akát	n. d.	0,176	1,42	69,8	228	31,0	194	n. d.	0,133	n. d.	411
32	Místek, Frýdek-Místek, Moravskoslezský	květový	n. d.	0,480	2,82	59,2	349	n. d.	281	n. d.	6,780	n. d.	443
33	Sebranice, Blansko, Jihomoravský		8230	14,600	74,20	612,0	7410	707,0	1850	n. d.	4,160	n. d.	3020
24	Věžná, Žďár nad Sázavou, Vysočina	krajina bez intenzivního zemědělství, louky, lesy	2680	5,060	31,40	213,0	2550	189,0	671	n. d.	1,070	n. d.	1160
26	Horní Rožínka, Žďár nad Sázavou, Vysočina		1830	4,000	31,80	179,0	2370	98,9	514	n. d.	1,440	n. d.	936
34	Zvole, Žďár nad Sázavou, Vysočina		3200	7,450	38,90	266,0	3400	232,0	1080	13,50	1,230	n. d.	1450

Tabulka 8 – pokračování

Označení vzorku	Lokalita - obec, okres, kraj	Popis medu dodaný včelařem	Obsah prvků ve vzorcích (ng/g)										
			Al	Cd	Co	Cu	Mn	Ni	Zn	Pb	Tl	Cr	Fe
38	Radotín, Praha 16, Praha*	akát	n. d.	0,219	2,47	122,0	407	44,4	224	n. d.	0,107	n. d.	681
39	Slivenec, Praha 16, Paha*	lípa	1070	0,357	6,52	177,0	398	39,2	267	10,50	0,359	n. d.	1430
40	Novodvorská, Praha 4, Praha*	lípa, akát, jedlý kaštan	n. d.	0,259	4,10	137,0	936	35,7	301	7,32	0,179	16,90	713
41	Praha*		n. d.	0,138	3,70	80,3	180	15,8	215	n. d.	0,336	n. d.	395
42	Horní Rožínka, Žďár nad Sázavou, Vysočina		9600	22,800	141,00	816,0	11900	608,0	3210	21,10	1,870	8,27	3890
44	Pržno, Frýdek-Místek, Moravskoslezský		6340	26,100	50,40	1030,0	13000	514,0	2430	82,00	3,370	8,08	4940
45	Pržno, Frýdek-Místek, Moravskoslezský		5380	31,000	66,50	1200,0	15100	579,0	2510	75,60	2,700	7,95	4840
36	Břevnov, Praha 6, Praha*	pravděpodobně lípa	715	0,352	2,32	168,0	329	18,8	297	8,51	0,380	n. d.	844
37	Holešovice, Praha 7, Praha*	pravděpodobně akát	n. d.	n. d.	1,03	108,0	146	10,4	298	n. d.	0,136	n. d.	451
25	Horní Rožínka, Žďár nad Sázavou, Vysočina		1890	3,930	32,40	205,0	2370	108,0	578	n. d.	1,440	n. d.	965
43	Pržno, Frýdek-Místek, Moravskoslezský		1130	2,930	7,98	171,0	1550	99,3	517	9,49	1,530	n. d.	1310
35	Frýdek-Místek, Moravskoslezský		n. d.	0,963	2,74	114,0	467	11,4	1170	84,20	2,980	n. d.	1400

3.5. Posouzení obsahu stanovovaných prvků ze zdravotního hlediska

Ze stanovovaných prvků je mezinárodně v potravinách nejvíce kontrolován obsah olova a kadmia. Pro posouzení rizikovosti obsahu těchto stopových prvků ve vzorcích byl proto využit text nařízení Evropské komise z roku 2008⁸ vycházející z údajů Světové zdravotnické organizace (WHO). Podle tohoto textu byl v roce 1992 Vědeckým výborem schválen tolerovatelný týdenní příjem olova 25 µg/kg tělesné hmotnosti a kadmia 7 µg/kg tělesné hmotnosti. Text dále uvádí maximální přípustné limity koncentrací pro jednotlivé druhy potravin. Údaje pro med k dispozici nejsou, nicméně hodnoty pro olovo se pohybují (v mg/kg čerstvé suroviny) do 0,020 pro mléko a kojeneckou výživu přes 0,2 pro obiloviny a luštěniny až po 1,5 pro mlže. Limity pro kadmium (v mg/kg čerstvé suroviny) se pohybují od 0,050 pro maso, ovoce a zeleninu kromě listové přes 0,20 pro listovou zeleninu až po 1,0 pro mlže a hlavonožce.⁸ Srovnáním těchto hodnot s hodnotami zjištěnými (viz tabulka 8) vidíme, že z hlediska obsahu olova by pro dospělou populaci neměl být problematický žádný ze zkoumaných vzorků, avšak 4 vzorky (z celkových 6) z Moravskoslezského kraje by neprošly přísnými limity pro kojeneckou výživu stejně jako 1 vzorek (z celkových 10) z Prahy a po jednom také z Českomoravské vrchoviny (z celkem 12) a ze Slovenska (z celkem 5). Limit pro potraviny, které nepatří mezi základní (předpisy jsou pro tyto potraviny zřetelně mírnější než pro potraviny označované jako základní), uváděný zdrojem¹⁶ však činí 8 mg/kg čerstvé suroviny. Tento limit splní všechny zkoumané vzorky. Srovnáme-li nejpřísnější nalezený limit pro kadmium (tj. 50 µg/kg suroviny pro maso), zjistíme, že všechny zkoumané vzorky se nacházejí pod úrovní tohoto limitu.

Pro ostatní stanovované prvky nebyly nalezeny limity stanovené Evropskou unií či WHO, jejich kontrola se řídí pouze místní legislativou, u některých existují pouze doporučené denní příjmy.

Z údajů Státního zdravotního ústavu plyne údaj o denním zdravotním limitu pro hliník, který činí 143 µg/kg tělesné hmotnosti.⁹ Dle zdroje¹⁰ existuje v ČR vyhláška, která stanovuje limitní obsah hliníku v zelenině, a to na 0,1 mg/kg zeleniny plodové a kořenové a 0,15 mg/kg zeleniny listové. Pro mléko je pak limit 1 a pro maso 10 mg/kg.¹⁶ Z tabulky 8 zjistíme, že v mnoha vzorcích se obsah hliníku pohybuje v řádech tisíců µg/kg, limit stanovený pro maso však nikde překročen není.

Nejvyšší přípustný obsah v mědi je vyhláškou¹¹ stanoven pro oleje a margaríny na 0,1 mg/kg suroviny, pro živočišné tuky a oleje lisované za studena 0,4 mg/kg. Jiná vyhláška¹² stanovuje maximální přípustný obsah v pitné vodě na 1 mg/kg. Zdroj¹⁶ dále uvádí limit 10 mg/kg pro zeleninu a 20 mg/kg obecně pro základní potraviny. Z tabulky 8 plyne, že pouze v případě dvou vzorků z Pržna je překročen obsah 1 mg/kg.

Pro zinek je nejvyšší přípustný obsah v potravinách stanoven vyhláškou¹¹ na 5 mg/kg pro ovocné šťávy. Dle¹⁶ jsou však limity pro další potraviny o poznání vyšší, a to 50 mg/kg pro základní potraviny. V žádném ze zkoumaných vzorků se však obsah zinku ani nepřiblížil hodnotě 5 mg/kg.

Nejvyšší přípustný obsah železa stanovuje vyhláška¹¹ na hodnoty od 1,5 mg/kg v margarínech po 5 mg/kg v olejích lisovaných za studena. Pro ostatní potraviny nejvyšší přípustné množství stanoveno není.¹⁶ Jedná se oproti ostatním zkoumaným prvkům o nejen v lidském organismu přirozeně hojně zastoupený prvek. Lze tedy očekávat jeho relativně vysoké obsahy i v potravě. Limity pro olej se tak pro med nezdají být příliš relevantní – v olejích se železo přirozeně nevyskytuje, a tak se uvedený limit váže spíše ke kontrole znečištění v průběhu lisování, než k obsahu v organické hmotě. Nicméně nejvyšší naměřené hodnoty ve zkoumaných vzorcích nepřesahují 5 mg/kg medu.

Pro nikl je dle prací ^{13, 14} limitní obsah niklu v pitné vodě 0,02 mg/kg, v základních potravinách pak 2 mg/kg ¹⁶. Vzorek medu s nejvyšším zastoupením niklu (vzorek ze Sebranic) obsahoval přibližně 0,7 mg/kg tohoto prvku.

Pro thallium nastává dle ¹⁵ zdravotní riziko při dlouhodobém příjmu více než 10 µg denně. Med s nejvyšším obsahem thallia (vzorek z Frýdku-Místku, č. 32) obsahoval necelých 7 µg/kg.

Maximální přípustný obsah chromu ve vodě je dle zdroje ¹³ stanoven na 0,05 mg/kg, v základních potravinách dle ¹⁶ 0,2 mg/kg. Ve všech zkoumaných vzorcích byl obsah chromu nižší, než je limit pro pitnou vodu.

Limity pro mangan nalezeny nebyly. Dle zdroje ¹⁷ jsou přiměřené denní dávky manganu pro děti od jednoho do deseti let věku 1,0 – 3,0 mg a pro dospělé 2,5 – 5,0 mg. Na stejném místě je uvedeno, že otrava manganem z potravy v podstatě nehrozí, zmíněny jsou spíše zdravotní potíže související s jeho nedostatkem.

Doporučená denní dávka kobaltu nebyla stanovena a je konstatováno, že jeho denní příjmy z potravy jsou velmi nízké (5 – 10 µg).¹⁷

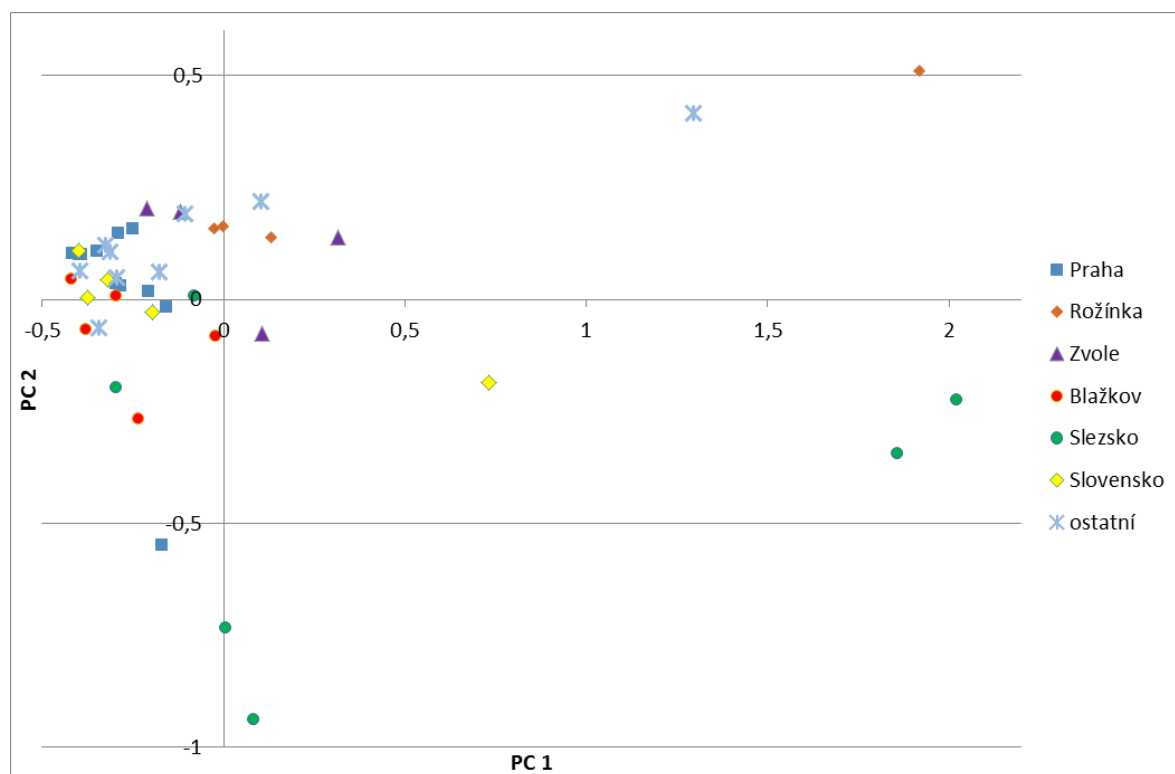
Vzhledem k tomu, že se jednak žádné z výše uvedených limitů netýkají přímo medu a jednak jde o limity stanovené nejen s ohledem na zdraví, ale i na jejich splnitelnost ⁸, je třeba brát uvedené hodnoty i srovnání s obsahy ve vzorcích spíše orientačně. Dále je třeba vzít v úvahu, že jak potřeba esenciálních prvků, tak tolerance vůči toxicitě se u jednotlivých jedinců může lišit v závislosti na věku, pohlaví, zdravotním stavu apod. Celkový příjem sledovaných prvků záleží na složení stravy konkrétní osoby a v neposlední řadě je jak pro využití u esenciálních prvků tak pro toxicitu podstatná forma, ve které se dotýčný prvek vyskytuje.

3.6. Analýza hlavních komponent a rozbor souvislosti složení a původu

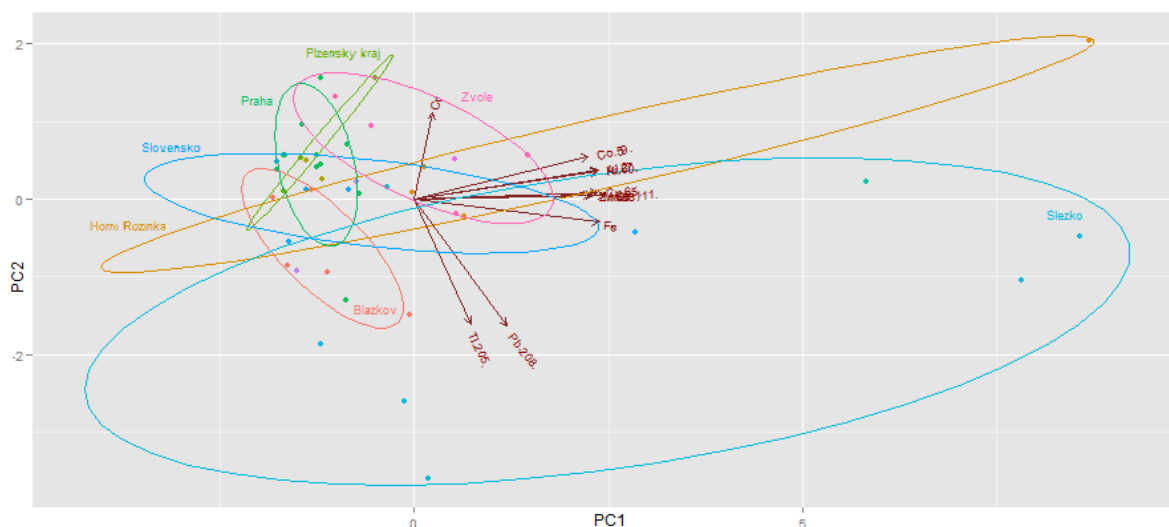
Výsledky uvedené v tabulce 8 byly zpracovány v programu The Unscrambler. Nejprve bylo provedeno normování dat vydělením maximální hodnotou obsahu pro každý prvek, aby se na následné vícerozměrné analýze podílely relativní rozdíly mezi zastoupením jednotlivých prvků ve vzorcích a nikoli jejich absolutní hodnoty, kdy by byl zcela potlačen vliv variability v medech všeobecně méně zastoupených prvků. Ve druhém kroku pak byla provedena samotná analýza hlavních komponent. Její výstupy jsou uvedeny v tabulce 9 (hodnoty zátěží pro jednotlivé prvky) a obrázcích 1 a 2. Pro ověření oprávněnosti vytvoření průměrů ze zjištěných dvojic hmotnostních zlomků jednotlivých prvků ve vzorcích byla dále provedena analýza hlavních komponent pro nezprůměrované výsledky. V grafu komponentního skóre bylo patrné, že body znázorňující opakovaná měření jednoho vzorku jsou si vždy blíží než body odpovídající výsledkům pro různé vzorky. Zprůměrování výsledků je tedy oprávněné a dále se již budu věnovat jen výsledkům uvedeným v obrázcích 1, 2 a tabulce 9.

Tabulka 9: Zátěže pro stanovované prvky podél první a druhé hlavní komponenty. První hlavní komponenta popisuje 63% a druhá 11% variability dat.

Prvek	PC 1	PC 2
Al	0,3440	0,2244
Cd	0,3520	0,0455
Co	0,2570	0,2243
Cu	0,3420	0,0030
Mn	0,3884	0,0136
Ni	0,3654	0,2246
Zn	0,3310	0,0321
Pb	0,2086	-0,8408
Tl	0,1053	-0,3043
Cr	0,0735	0,1499
Fe	0,3476	-0,1536



Obrázek 1: Graf komponentního skóre vzorků v rovině tvořené první (PC 1) a druhou (PC 2) hlavní komponentou. První hlavní komponenta popisuje 63% a druhá 11% variability dat.



Obrázek 2: Grafický výstup rozložení vzorků podél prvních dvou hlavních komponent se znázorněním elips vyjadřujících 68% pravděpodobnost výskytu vzorku z dané lokality. Dále jsou zde vektorově znázorněny zátěže pro jednotlivé prvky.

Grafy uvedené v obrázcích 1 a 2 byly sestaveny tak, že jednotlivé vzorky byly vyneseny do souřadnic PC 1 a PC 2 a následně označeny podle svého geografického původu. Skupiny byly vytvořeny tak, aby v každé byly alespoň čtyři různé vzorky. Vzhledem k nerovnoměrnosti rozložení zdrojů získaných medů po České a Slovenské republice tak vznikly skupiny sdružující různě velké oblasti. Vzorky, pro které nebylo možné vytvořit smysluplnou skupinu, jsou označeny jako „ostatní“.

Ze získaných grafů je patrné, že výskyt studovaných prvků ve vzorcích není na lokalitě jejich původu nezávislý. Je například vidět, že medy pocházející z Prahy jsou si až na jednu výjimku složením velice blízké, a pokud se podíváme na vektory zátěží, vidíme, že je spojuje relativně nízký obsah prakticky všech stanovovaných prvků. Vzhledem k rozmístění pražských lokalit a faktu, že včely pro snůšku létají obvykle v okruhu do 2 km od úlu* je přitom zřejmé, že ve vzorcích jsou zastoupeny medy z mnoha různých pražských lokalit. S ohledem na tento fakt je poměrně překvapivé, že vzorky z Blázkova a Zvole jsou od sebe v rovině PC 1 a PC 2 poměrně jednoznačně oddělené. Blázkov a Zvole jsou přitom dvě malé obce na Českomoravské vrchovině vzdálené od sebe přibližně 2,5 km. Doletové okruhy včel z obou vsí se tak překrývají. Získané výsledky tedy svědčí o tom, že včely z obou obcí mají pravděpodobně dostatek zdrojů nektaru v bezprostřední blízkosti svých stanovišť, a nemají tedy potřebu létat daleko. Zajímavým faktem vyplývajícím z těchto výsledků pak je, že zdroje stopových prvků mohou být v některých případech velice lokální záležitosti. Vzhledem k tomuto poznatku by zajímavé výsledky mohlo přinést i podrobnější zmapování jiných míst, respektive analýza medů z více zdrojů v rámci dalších jednotlivých obcí tak, aby bylo možné vytvoření geograficky užších skupin, než jsou srovnávány v obrázcích 1 a 2. I ze srovnání širokých skupin z obrázků 1 a 2 je však možné vyčíst další zajímavé poznatky. Ačkoli se od sebe jednotlivé vzorky z oblasti Slezska zřetelně liší, je z vektorů a tabulky zátěží a rozmístění vzorků v rovině PC 1 a PC 2 zřejmé, že jsou mezi nimi více zastoupeny vzorky obecně bohatší na stopové prvky, zvláště pak thallium či olovo, než je tomu v jiných oblastech. Dále z grafů vidíme, že získané vzorky ze Slovenska spadají v osách PC 1 a PC 2 do oblasti, kde se obecně vyskytuje největší seskupení vzorků, a nijak zvlášť tedy nevybočují. Horní Rožínka je obcí nedaleko Zvole a Blázkova, v bezprostřední blízkosti Zvole.

* Jsou však v principu schopny doletět mnohem dále – mezi včelaři se tvrdí, že za zvlášť lákavou snůškou jsou ochotny doletět i 5 – 8 km. Děje se tak však prý jen ve výjimečných případech.

Jak je vidět v obrázku 1, tři ze čtyř vzorků z Horní Rožínky jsou si velice blízké, čtvrtý se však velmi liší, čímž značně zvětšuje pravděpodobnostní elipsu v obrázku 2. U ostatních třech vzorků lze konstatovat, že se obsah studovaných prvků v nich významně neliší od obsahu ve Zvoli.

Obecně lze říci, že většina vzorků je si svým složením relativně blízká, a tak ačkoli je závislost obsahu studovaných prvků na lokalitě zřejmá, není možné pouze na základě výskytu těchto prvků zpětně jednoznačně určit geografický původ vzorku.

4. Závěr

Byly proměřeny obsahy 11 vybraných kovových prvků ve vzorcích medů z České a Slovenské republiky. Pro tento experiment byly zjištěny meze detekce. U většiny prvků se použitá metoda ukázala být dostatečně citlivou pro stanovení koncentrací ve všech zkoumaných vzorcích. Koncentrace hliníku, niklu, olova a chromu byly v některých vzorcích pod limitem detekce. Byla též stanovena opakovatelnost metody, kde se projevilo, že ne všechny prvky jsou ve výchozím materiálu homogenně rozložené. Z experimentu vyplývá, že zvláště olovo se ve vzorcích vyskytuje značně nerovnoměrně. Dále byla stanovena výtěžnost metody, čímž bylo ověřeno, že naměřené koncentrace jsou přesné a nejsou zatíženy systematickou chybou.

Naměřené hodnoty koncentrací studovaných prvků byly posouzeny z hlediska zdravotního rizika pro člověka. Ze stanovovaných prvků jsou za nejrizikovější považovány olovo a kadmium. Zjištěné koncentrace kadmia ve vzorcích jsou hluboko pod limity stanovenými Evropskou unií. Obsah olova v žádném ze vzorků nepřekročil limity pro potraviny určené dospělým, sedm vzorků však překročilo limit pro stravu nejmenších dětí. Výskyt ostatních prvků by na základě údajů a limitů plynoucích z české legislativy neměl být nebezpečný. Je však nutné zmínit, že potravinářské limity pro koncentraci prvků v medu neexistují, a tak byly naměřené údaje srovnávány s limity pro jiné potraviny. Z hlediska zdravotního rizika je taktéž velice podstatná forma, ve které se daný prvek v potravíně vyskytuje, což je parametr použitou metodikou nezjistitelný.

Na základě proměření koncentrací studovaných prvků ve vzorcích byla též posouzena souvislost mezi geografickým původem medu a těmito koncentracemi. Ukázalo se, že rozdíly ve složení mezi jednotlivými lokalitami jsou patrné. Téměř všechny medy z Prahy jsou si zastoupením sledovaných prvků velmi blízké a spojuje je obecně relativně nízká koncentrace napříč prvky. Bylo též zjištěno, že i mezi sousedními vesnicemi mohou být zřetelné rozdíly ve složení, jako tomu je v případě obcí Blažkov a Zvole v okrese Žďár nad Sázavou. Studie též naznačuje, že medy pocházející z Moravskoslezského kraje jsou na stanovované prvky obecně bohatší.

Do budoucna je dalším cílem tohoto výzkumu prozkoumat další aspekty ovlivňující složení medu, zvláště vliv zpracování při stáčení a typ obalu. Zajímavé výsledky by taktéž mohlo přinést studium vlivu druhu medonosných rostlin, zde však je situace komplikovaná, neboť není snadné zjistit, na jaké rostliny včely právě létají a jednodruhové medy se získávají těžko.

5. Seznam zkratk

CRM – certifikovaný referenční materiál

ICP-MS – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

IS – vnitřní standard

LOD – mez detekce

PC – hlavní komponenta

WHO – Světová zdravotnická organizace

6. Použitá literatura

1. Včelařské potřeby. <http://vcelarske-potreby.on-line-obchod.cz/historie-medu> (accessed Oct 31, 2015).
2. Včelařské potřeby. <http://vcelarske-potreby.fyzmatik.cz/info/historie-vcelarstvi> (accessed Oct 31, 2015).
3. Semerádová, N. Med, jeho složení a uplatnění ve výživě. Bakalářská práce, Masarykova univerzita v Brně, 2013.
4. Da Silva, P. M.; et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry* **2016**, *196*, 309–323.
5. Dorne, J. L. C. M.; Fink-Gremmels, J. Human and animal health risk assessments of chemicals in the food chain: Comparative aspects and future perspectives. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2013**, *270* (3), 187–195.
6. Anorganické škodlivé látky. http://tresen.vscht.cz/kot/wp-content/uploads/5_inorganic.pdf (accessed Nov 01, 2015).
7. Benda, V.; Babůrek, I.; Kotrba, P. *Základy biologie*, 1st ed.; Vysoká škola chemicko-technologická v Praze: Praha, 2006.
8. NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. *Úřední věstník Evropské unie*.
9. Ruprich, J.; Řehůřková, I. Podklady pro novináře Oboru hygieny výživy a bezpečnosti potravin a Odboru laboratoří hygieny výživy a bezpečnosti potravin, 2010. Státní zdravotní ústav.
http://www.szu.cz/uploads/documents/szu/aktual/tiskova_zprava/hygiena_vyzivy_a_bezpecnost_potravin.pdf (accessed Nov 01, 2015).
10. Kopec, K. *Zelenina ve výživě člověka*, 1st ed.; Grada Publishing, a.s.: Praha, 2010.
11. Vyhláška č. 305/2004 Sb., kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách. *Portál eAGRI - resortní portál Ministerstva zemědělství*.
12. Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. *Portál eAGRI - resortní portál Ministerstva zemědělství*.
13. Codex Alimentarius Commission: Report of the Eight Session of the Codex Committee on Natural Mineral Waters, Lugano, 2008.

14. Nikl. Informační portál bezpečnosti potravin.
<http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92068.aspx> (accessed Nov 1, 2015).
15. Thallium. Informační portál bezpečnosti potravin.
<http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92211.aspx> (accessed Nov 1, 2015).
16. Velíšek, J. *Chemie potravin 3*, 1st ed.; OSSIS: Tábor, 1999.
17. Velíšek, J. *Chemie potravin 2*, 1st ed.; OSSIS: Tábor, 1999.