

Stanovení rizikových prvků v medu

Denisa Pavlíková

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Denisa PAVLÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T10601**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení rizikových prvků v medu**

Zásady pro vypracování:

1. **Prostudujte dostupnou literaturu a informační zdroje vztahující se k zadanému tématu.**
2. **Provedte stanovení vybraných rizikových prvků ve vzorcích medů pomocí AAS.**
3. **Výsledky kriticky zhodnoťte a formulujte závěry.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] Přidal A.: Včelí produkty. MZLU v Brně, 2003. IISBN 80-7157-717-01.

[2] Conti, M., E., Botr?, F.: Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. Environmental Monitoring and Assessment, 2001, 69, pp. 267-282.

[3] Skácel, F., Bičák, T., Hajšlová, J., Kocourek, V., Tekáč, V., Tomaniová, M., Volka, K.: Bioindikátory znečištění životního prostředí v České republice. Sborník příspěvků ze XIV. Semináře s mezinárodní účastí, Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech. Praha, 2001, 145, p. 259.

[4] PŘIDAL A.: Aktuální problematika hodnocení jakosti medu [The current issues of classification and quality of honey, CZ, EN abstract], 2012, 47-55 pp. [CD] In: Jůzl M., Nedomová Š., Bubeníková A., Kozelková M. (eds.): Sborník XXXVIII. Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin "Ingrový dny". Mendelova univerzita v Brně, 1. III. 2012, 293 pp. IISBN 978-80-7375-601-71.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Roman Slavík, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

8. února 2013

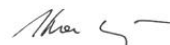
Termín odevzdání bakalářské práce:

24. května 2013

Ve Zlíně dne 8. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 24.5.2013

..... Pavlíková Denisa

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá stanovením vybraných rizikových prvků (Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) pomocí tzv. biomonitoringu neboli monitoringu s využitím živého organismu. Jako vhodný organismus je považována i včela medonosná (*Apis mellifera*) a její produkty. Zkoumaným produktem je med. Odebrané vzorky medu pochází z oblasti Napajedla a okolí, kdy rizikové prvky byly stanovovány pomocí AAS. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí statistické analýzy vícerozměrných dat a graficky vyobrazeny. Majoritní z rizikových prvků je železo, jako antropogenního původu je označeno olovo, nikl a kadmium. Výsledky byly porovnány s hodnotami akčních limitů Státní veterinární správy, čímž bylo zjištěno, že pouze olovo překračuje tuto hodnotu a označujeme ho jako problematické.

Klíčová slova: med, těžké kovy.

ABSTRACT

This thesis deals with the assessment of selected risk elements (Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) with the help of so called biomonitoring or monitoring containing life organism. As a suitable organism is also considered honey bee (*Apis mellifera*) andm their products. The examined product is honey. Samples were collected from the area around city of Napajedla, the risk elements were determined by the AAS. The results were evaluated by using multicomponental statistical analysis and charts. Iron is the major risk element, as anthropogenic origin is marked lead, nickel, cadmium. Results were compared with values of action limits from state veterinary administration. It was found that only lead exceeds this value and we mark it as problematic.

Keywords: honey, heavy metals.

Poděkování

Ráda bych tímto poděkoval svému vedoucímu práce Ing. Romanu Slavíkovi, Ph.D. za odborné vedení, věnovaný čas a poskytnutí cenných rad při konzultacích. Dále pak členům Základní organizace Napajedla Českého svazu včelařů za ochotu a pomoc při získávání potřebných vzorků. Zároveň děkuji svým rodičům za trpělivost a velkou podporu v průběhu dosavadního studia.

Prohlášení

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 VÝZNAMNÉ RIZIKOVÉ PRVKY A JEJICH ÚČINKY NA ČLOVĚKA	11
2 BIOMONITORING RIZIKOVÝCH PRVKŮ	13
3 VČELA MEDONOSNÁ A JEJÍ PRODUKTY	15
3.1 MED A JEHO CHEMICKÉ SLOŽENÍ	16
3.2 LEGISLATIVNÍ PŘEDPISY VZTAHUJÍCÍ SE K MEDU	17
3.3 SLEDOVÁNÍ RIZIKOVÝCH PRVKŮ VE VČELÁCH A JEJICH PRODUKTECH.....	18
4 VYUŽITÍ STATISTICKÉ ANALÝZY VÍCEROZMĚRNÝCH DAT PŘI BIOMONITORINGU	21
4.1 EXPLORATORNÍ ANALÝZA STRUKTURY OBJEKTŮ (EDA).....	21
4.2 URČENÍ VAZEB V PROMĚNNÝCH A OBJEKTECH	22
4.2.1 Analýza hlavních komponent (PCA)	22
4.2.2 Analýza shluků (CLU)	22
4.2.2.1 Hierarchické shlukování	23
4.2.2.2 Nehierarchické shlukování	23
II PRAKTICKÁ ČÁST	24
5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
5.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A MATERIÁLY	25
5.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE	25
5.3 PŮVOD VZORKŮ MEDU	25
5.4 ANALÝZY VZORKŮ MEDŮ	26
5.4.1 Odebírání a uchovávání vzorků	26
5.4.2 Stanovení sušiny a mineralizace vzorků	26
5.4.3 Stanovení rizikových prvků ve vzorku	26
5.5 STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ ZÍSKANÝCH DAT	27
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	28
6.1 EXPLORATORNÍ ANALÝZA	29
6.2 ANALÝZA HLAVNÍCH KOMPONENT	29
6.2.1 Graf komponentních vah	29
6.2.2 Rozptylový diagram	30
6.3 ANALÝZA SHLUKŮ	32
ZÁVĚR	34
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	36
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	40
SEZNAM OBRÁZKŮ	41
SEZNAM TABULEK	42

ÚVOD

V přírodě se nachází asi 80 kovů z periodické tabulky prvků a z tohoto počtu je přibližně 30 považováno za těžké kovy. Ty se pomocí biogeochemických cyklů pohybují v životním prostředí. Jejich negativní vlastností však pro nás je, že se v různých časech z těchto cyklů uvolňují a kumulují v živých organismech [1]. Takto se z nich snadno mohou stát rizikové prvky. Tedy prvky, které při dlouhodobém působení nebo ve zvýšené koncentraci ovlivňují organismus škodlivě.

V dnešní době se zvyšuje zájem o sledování stavu životního prostředí v souvislosti s vlivem antropogenní činnosti. Sledují se koncentrace těchto škodlivin, a to většinou pomocí technických vzorkovacích zařízení. Tyto vzorkovače jsou sice velmi přesné, ale jejich použití při kontrole větší zájmové lokality je poměrně finančně náročné. Proto se hledají jiné postupy, jak dosáhnout monitorování škodlivin s podobnými vypovídajícími výsledky. Často se využívají rostliny a organismy, které se v zájmové lokalitě běžně vyskytují a jsou zde hojně rozšířeny.

Jedním z organismů, který splňuje tuto základní podmínku je včela medonosná (*Apis mellifera*). Díky koevoluci s rostlinami se včela stala nejdůležitějším opylovačem, a tak přichází do styku se všemi složkami životního prostředí. Navíc i její produkty, které jsou využívány člověkem, mohou podat důležité informace o vlivu člověka na ekosystém.

Cílem této práce je provedení stanovení vybraných rizikových prvků ve vzorcích medů, odebraných ve snůškovém období roku 2012 ze zájmové lokality Napajedla a blízké okolí. Získané výsledky se následně zpracují pomocí různých metod statistické analýzy.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VÝZNAMNÉ RIZIKOVÉ PRVKY A JEJICH ÚČINKY NA ČLOVĚKA

Mezi rizikové prvky lze zařadit celou řadu kovů i nekovů. Nejčastěji jsou však z této skupiny zmiňovány těžké kovy, což jsou prvky o měrné hmotnosti větší než 5000 kg/m^3 [2]. Antropogenním působením se do životního prostředí dostává zvýšené množství těchto prvků. Zejména spalováním fosilních paliv, dopravy, zemědělství a metalurgického průmyslu. [3] Problém těžkých kovů je také jejich přítomnost ve všech složkách životního prostředí, v půdě, ovzduší, vodě, a také biomase. Těžké kovy vstupují do biologických cyklů, kdy dochází k jejich akumulaci (je možná i přeměna na toxickejší formu – např. jejich sloučeniny) [2].

Olovo

V atmosféře je olovo vázáno na prachové částice. Oblasti s nejvyšší koncentrací jsou v blízkosti průmyslových a městských zástaveb. Emise olova díky lidské činnosti jsou osmkrát vyšší než přirozené emise z biogeochemických cyklů. [4] Je jedním z nejznámějších toxických kovů. Snadno se absorbuje plicemi i kůží. Kumuluje se v organismu (játrech, ledvinách a kostech) a narušuje nervový systém. [5]

Kadmium

Je to jeden z málo vyskytujících se prvků. Má významné toxikologické vlastnosti [3]. Kadmium se svými chemickými vlastnostmi blízce podobá zinku, ten je jedním z biogenních prvků [6]. Kadmium po vniknutí do organismu snižuje skutečný příjem zinku z potravy pod normální hodnotu [5]. U člověka se kumuluje v ledvinách a při vyšší koncentraci kadmia v těle nastává kolaps ledvin [3, 5]. Hlavním zdrojem znečištění kadmii jsou slévárny kovů (znečištění půdy a vody) a spalovny nekvalitního uhlí (dostává se do atmosféry). Pro nás a také pro včely jsou zdrojem i fosfátová hnojiva (výrobci dodržují limity stanovené pro obsah kadmia, problémem je však používání v přemrštěném množství) [5].

Nikl

Je to toxický prvek. Zdrojem znečištění jsou i zde kovohutě, spalování olejů a nekvalitního uhlí. Velmi toxický je pro vodní organismy. Je obsažen také v pesticidech. Mimořádně toxická je sloučenina niklu – tetrakarbonyl niklu $\text{Ni}(\text{CO})_4$. Zvyšuje pravděpodobnost zhoubných nádorů a edémů plic. Je karcinogenní. [5]

Železo

Je biologicky významný prvek. Důležitý například pro přenos kyslíku (hemoglobin). Toxicologicky není významný – nejedovatý. Pokud ho jako elementární prvek vdechujeme, není rizikový. [7] Jeho jedovatost spočívá v železnatých a železitých iontech, kdy se stává toxickým [5].

Měď

Esenciální prvek, mající vliv na krvetvorbu [7]. Jeho nedostatek v organismu způsobuje anémii (ztráta schopnosti absorbovat železo z potravy). Zdrojem znečištění jsou svářecí dílny (páry) a fungicidní látky. Toxické jsou především její soli, způsobují poškození jater a ledvin. [5]

Zinek

Je nepostradatelný pro člověka (aktivátor enzymů). Jako kov je netoxický, ale není povolený ke styku s potravinami [7]. Toxické jsou zinečnaté soli, zvláště toxické jsou pára kového zinku ze sváření kovů [5].

Mangan

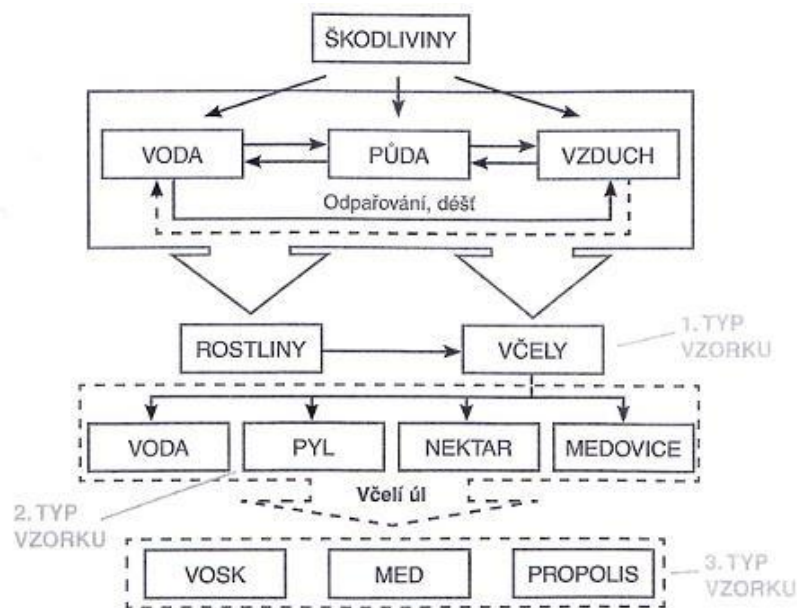
Je důležitý pro biologické funkce v lidském organismu (enzymy). Toxicita je závislá na mocenství prvku a rozpustnosti. Zdrojem znečištění jsou ocelárny a tepelné elektrárny. Při dlouhodobém vystavení Mn je právě ve své elementární podobě nejnebezpečnější (zabraňuje příjmu železa do organismu). [5, 7]

2 BIOMONITORING RIZIKOVÝCH PRVKŮ

V posledních desetiletích se zvýšil zájem společnosti o kvalitu životního prostředí, ve kterém žije. Snaží se zjišťovat dopady antropogenní činnosti na ekosystém a omezit je. S tím je spojeno shromažďování údajů o vlastnostech dané lokality neboli monitoring.

Tento monitoring můžeme provádět pomocí technických vzorkovačů, což je složité při větší ploše, často i finančně náročné [8]. Proto je na vzestupu další způsob sledování životního prostředí (tzv. biomonitoring), pomocí organismů, které v tomto prostředí žijí a jsou v něm hojně zastoupeny. Fakt, že včela medonosná v letním období tvoří včelstva o přibližně 60 000 jedincích [9], je tedy jeden z důvodů, proč je v dnešní době využívána při biomonitoringu jako ukazatel kvality životního prostředí.

Biomonitoring je postup, kdy je využito živých organismů pro stanovení kvantitativní i kvalitativní změny škodlivin v životním prostředí (viz obr. 1.) Dělíme ho dále na samotný biomonitoring a bioindikaci (u bioindikátorů se někdy sledují morfologické a histologické změny na buňkové úrovni) [8, 10].



Obrázek 1: Interakce včely medonosné s prostředím a možnosti odběru vzorků pro biomonitoring [10]

Použitím živých organismů na indikaci rizikových látek má řadu výhod. Počínaje tím, že ukazuje skutečný vliv na živočichy nebo rostliny a konče ekonomickými výhodami.

Biomonitoring je tedy velmi účinným nástrojem hodnocení toku znečišťujících látek v životním prostředí a je proto často využíván ve vyspělých zemích jako jeden z hlavních zdrojů při získávání informací o celkové zátěži ekosystému [11]. Organismy využívané pro získání těchto informací však musí splňovat určitá kritéria:

- a) stálá přítomnost v daném prostředí,
- b) výskyt v celé sledované lokalitě,
- c) stabilní populaci [8].

Nejlepším organismem je tedy pro nás nativní neboli přírodně vyskytující se druh. A tím je v našich zeměpisných podmínkách i včela medonosná [10]. Jak bylo zjištěno, velmi citlivě reaguje na změny v prostředí vyvolané antropogenní činností. Například ve 30. letech v ČR docházelo k velkým úhynům včelstev. Připisováno to bylo nějakému novému druhu nemoci, následně se však zjistilo, že se jedná o otravu arsenem z okolního průmyslu [12]. Dnes se těchto bioindikačních vlastností včely medonosné využívá cíleně a je již mnoho výzkumů, kdy se včelstvo umístí do lokality s pravděpodobnou zvýšenou koncentrací těžkých kovů. Například i na letiště v Praze byla zakoupena včelstva, aby zde pomocí nich monitorovali zvýšené koncentrace rizikových prvků [13].

V daném prostředí se včela pohybuje na ploše přibližně 10 km² [14]. A za den navštíví danou lokalitu i několikrát za den. Jelikož přichází do styku se všemi složkami prostředí, od vzduchu přes půdu až k rostlinám, je možno ji použít jako vzorkovač pro sledování celkového stavu životního prostředí.

3 VČELA MEDONOSNÁ A JEJÍ PRODUKTY

Včely v podobě jaké je známe dnes, jsou součástí našeho ekosystému již 15 miliónu let [15]. Za tuto dobu jsme si je „zdomácnili“ a rozšířili je do všech lokací, ať už městských aglomerací nebo lesních oblastí. Díky tomuto faktu jsou včely spolu se svými produkty pro nás vhodné jako bioindikátory životního prostředí, ve kterém se nachází.

Ve světě je zaznamenáno více než 16 000 druhů včel [9, 16]. Nicméně tento pojem včela se vztahuje i na hmyz, který se jen zdaleka blíží k námi známé včele medonosné (*Apis mellifera*) [3]. Rozdíl je ve způsobu života, kdy tyto formy včel žijí například samotářsky nebo jen v primitivních formách společenství [16].

Tedy na rozdíl od méně známých druhů je včela medonosná jedním z druhů hmyzu, který vytváří společenstva, jež fungují jako organizovaný celek. V takovýchto společenstvech má každý jedinec (např. u včel – matka, dělnice a trubec) přesně danou úlohu, kterou plní. Matka klade larvy a tím rozmnožuje včelstvo, trubci sloužící výhradně k oplození mladé matky a nakonec dělnice, nejpočetnější skupina, která chod úlu zajišťuje vhodnou dělbou práce. [9]

Jistě hlavním významovým prvkem včely medonosné je opylování rostlin. Zajišťuje totiž cizosprašné opylení hmyzosnubných rostlin, a to asi z 95 % [15]. Jedním z názorů včelařů je to, že bez včel by lidé přežili jen v rádech let. Rostliny, které se díky nim rozmnožovaly, by totiž postupně vymizely [3].

Důležitost jejich opylovací činnosti podporuje i fakt vzrůstající tendence zemědělců o takzvané zavčelení celé oblasti, v které vysazují své kulturní plodiny. Ať už je to řepka olejka nebo sad s ovocem. Byly zjištěny i stoupající zemědělské výnosy z míst, kde jsou umístěny včely vedle obhospodařených ploch [3]. Mimo to, včela vytváří celou řadu produktů, které člověk využívá v řadě oborů, jako jsou kosmetika, lékařství a potravinářství. Mezi nejznámější a nejvyužívanější včelí produkty patří pyl, vosk, propolis, včelí jed, mateří kašička a pro nás nejvýznamnější - med.

3.1 Med a jeho chemické složení

V každé literatuře zabývající se medem je následující definice:

„Medem se rozumí potravina přírodního sacharidového charakteru, složená převážně z glukosy, fruktosy, organických kyselin, enzymů a pevných částic zachycených při sběru sladkých šťáv květů rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice), nebo na živých částech rostlin včelami (*Apis mellifera*), které sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydrovat a zrát v plástech“ [17].

Tato charakteristika je i pevně stanovena v §7 Vyhlášky č.76/2003 Sb., kterou vydalo Ministerstvo zemědělství, kdy med zahrnuje do kategorie přírodních sladidel, cukrovinek, kakaových prášků a směsí kakaa s cukrem, čokolády a čokoládových bonbonů [18].

Producentem je tedy včela, ale ta jako jedinec by sama med nedokázala vytvořit. Tento proces vzniku je závislý na činnosti celého včelstva.

Včely tedy sbírají na rostlinách nektar (rostlinné šťávy) a medovici (tekutina, kterou vylučuje stejnokřídlí hmyz – např. mšice). Tyto šťávy přináší v medném váčku do úlu a zde si je včely předávají, dokud nedojde k částečnému zahuštění s obsahem 28-30 % vody [17]. Poté je ukládají do buňky plástu, kde se dále zahustí díky odvětrávání úlu.

Složení medu je přímo závislé na složení původního zdroje nektaru a medovice [14]. Vedle hlavních složek, kterými jsou voda a cukry, je zde i mnoho dalších látek, zastoupených ve stopovém množství, těmi jsou i rizikové prvky.

Voda

Jak už bylo řečeno, obsah vody se při zpracování včelou na konečný produkt mění. V konečném důsledku je to právě voda, která nám určuje kvalitu medu. Čím nižší procentuální zastoupení, tím lépe pro následné uchování a zaručení malého rizika zkvašení medu. Dle Českého svazu včelařů, kdy pod jeho záštitou byla vydána norma jakosti Český med, je stanoveno, aby obsah vody při vytáčení z plástů nepřekračoval hodnotu 19 % [19]. (Dodržování tohoto limitu lze snadno zkontrolovat například ručním refraktometrem)

Cukry

Zaujímají 95 – 99 % sušiny medu. Hlavní podíl tvoří jednoduché cukry – glukosa, fruktosa (převážně fruktosa). V medu jsou obsaženy i další typy cukrů. Jedním z nich je i „cukerný“ dextrin (oligosacharid) je specifický pro med (skládá se převážně z molekul glukosy). Obsah dextrinu narůstá během zrání a skladování medu (pomocí enzymů). [14, 17]

Organické kyseliny

Nejvíce je v medu zastoupena kyselina glukonová (vzniká z glukosy pomocí enzymů, vedlejší produkt je peroxid vodíku). Ostatní kyseliny (pyrohroznová, jablečná, citronová, vinná a jantarová) mají zejména rostlinný původ. [17]

Minerální látky

Jsou zastoupeny ve stopovém množství. Jsou nedílnou součástí jak medu, tak pro organismu včely. Pokud jsou obsaženy v přípustné (potřebné) koncentraci, je vše v pořádku. Nicméně vlivem antropogenní činnosti se můžou tyto koncentrace látek nezbytných v malém množství, mnohonásobně zvýšit a ohrozit včelu nebo znehodnotit med. Překročili jejich koncentrace určitou únosnou mez, pak se mohou stát látkami škodlivými i pro člověka a jeho potravní řetězec.

3.2 Legislativní předpisy vztahující se k medu

Med jakožto potravinu je kontrolován státní veterinární správou [20]. Vyšetřuje mimo jiného také na přítomnost kontaminujících látek. V předchozí verzi vyhlášky 298/1997 Sb. Ministerstva zdravotnictví spadal med do kategorie potravin typu B, pro kterou byly stanoveny přípustné koncentrace rizikových prvků pro celou skupinu potravin [21]. Tyto hodnoty jsou uvedeny v *tabulce 1*.

Tabulka 1: Přípustné koncentrace dle vyhlášky 298/1997 Sb. [21]

Rizikový prvek	Přípustná koncentrace [mg/kg]
As	3
Cd	0,5
Cu	80
Ni	6
Pb	8
Zn	80
Fe	80

Nicméně dle nových vyhlášek týkajících se medu, nejsou žádné maximální limity, které by stanovovaly množství těchto rizikových prvků.

Státní veterinární správa ale každoročně provádí kontroly v rámci monitoringu cizorodých látek, kdy sleduje hodnoty rtuti, kadmia a olova. Do roku 2005 byl také sledován arsen.

Státní veterinární správa se tedy neřídí žádnou pevně danou vyhláškou pro med, ale nařízením hlavního hygienika¹, který stanovil akční limity uvedené v *tabulce 2*:

Tabulka 2: Akční limity pro med dle hlavního hygienika¹

Rizikové prvky	Akční limit [mg/kg]
Cd	0,5
Pb	0,25
As	0,5

Díky tomu, že Česká republika je členem EU, vztahují se na nás také směrnice rady evropské unie, které se medem zabývají. Konkrétně Směrnice rady 2001/110/ES, která by měla být určující pro všechny stránky medu. Nicméně se zabývá jen označováním a rozdělením medu podle vzniku. V této směrnici se nenachází žádná zmínka o limitech nebo nejvyšších přípustných koncentracích

3.3 Sledování rizikových prvků ve včelách a jejich produktech

V naší republice se sledováním těžkých kovů zabývali již v roce 1988 v práci Starého a kol., kteří vyhodnocovali obsahy těžkých kovů v zimujících včelstvech. Autoři analyzovali vzorky s míst kontaminace a vzorky z jiných nekontaminovaných oblastí. Sledovali heterogenitu obsahu kovů, nezjistily však významné rozdíly. V roce 1989 na výše uvedenou práci navázali autoři Hřivna L. a Hlušek J., kteří pod záštitou Vysoké školy zemědělské

¹ Tuto informaci o akčních limitech poskytla MVDr. Jana Horňáčková ze Státní veterinární zprávy.

Brno, vzorkovali v období snůšky (konkrétně v červnu), a jejich zájmová lokalita bylo město Olomouc a okolí. Zjistili, že například olovo je 30 krát ve vyšší koncentraci než u nejvíce kontaminovaného vzorku ze zimujících včelstev. Jejich závěrem práce bylo doporučení včel jako indikátorů těžkých kovů, nicméně konstatují, že pro použitelnost výsledků musíme odebírat vzorky v průběhu snůšky, několikrát v tomto období a přiřazovat jim potřebné informace o okolní vegetaci a zdrojích znečištění v doletovém pásmu včel. [22]

Až v roce 2008 se znovu touto problematikou zabývá Václav Kos ve své diplomové práci, kdy pomocí včely provádí biomonitoring životního prostředí. Takto během tří let odebíral vzorky medu (pět vždy každý rok z jedné lokality) ze dvou stanovišť v Březiněvesi (Praha) a v Houserovce (Vysočina). Stanovuje těžké kovy (Cd, Pb, Hg), kdy jen u kadmia a olova prokázal vyšší koncentrace v zatíženější oblasti Březiněvesi (Praha). Závěrem konstatuje, že by bylo zapotřebí více sledovaných lokalit k úplnému prokázání, že med je vhodný jako významný bioindikátor. [3]

Na Slovensku se touto problematikou zabývala v roce 2001 Čermáková T., kdy shrnuje v minulosti zaznamenané úhyny včel díky průmyslovým exhalacím. Nicméně hlavní část její studie se zabývá poklesem těžkých kovů (konkrétně Pb, Cd, Cr, Hg, As) po roce 1990, kdy došlo k utlumení průmyslové výroby na Slovensku. [23]

V roce 2009 byla provedena studie od autorů Kacaniova a kol., kdy se zabývali hodnocením obsahu vybraných prvků (Zn, Cu, Ni, Mg, Ca, Pb, Cd) a fyzikálně-chemických ukazatelů (konduktivita, pH atd.) medu. Byly zjištěny pomocí analýzy významné korelace mezi Cu - Zn, Cu - Ni, Cu - Mg, Ca - Zn, Ca - Mg a konduktivita - obsah prvků. Navíc nebyly překročeny limity pro rizikové prvky. [24]

Stankovska a kol. v roce 2008 monitorovali stopové prvky ve 123 vzorcích medu z různých regionů Makedonie. Použili srovnání statistických parametrů (statistická analýza) pro určení prvků antropogenního a přírodního původu v medu. Jako antropogenní vyhodnotily Cd a Cu (z metalurgické výroby okolo města Veles) a jako prvky přírodního původu byly klasifikovány Mg, Mn, Ca, K, Fe, Zn, Ca. [25]

V Itálii se biomonitoringem pomocí včel zabývali v roce 2001 Conti a Botrè, kteří shledali včelu jako dobrý bioindikátor a v místech 5 stanovišť odebírali vzorky včel, medu, pylu, propolisu a vosku. Zájmová lokalita bylo město Řím a jeho okolí. Množství vzorku medu pro stanovení bylo 6-8 gramů, které byly zpracovány formou suchého zpopelnění (vysušení a následného žihání). Následné rozpuštění v 1 ml koncentrované kyselině dusičné a pře-

vedení do 20 ml odměrné baňky. Analýza těžkých kovů probíhala pomocí atomové absorpční spektrometrie. V závěru autoři vyslovují názor, že znečištění ve více kontaminovaných lokalitách je viditelné z výsledků analýzy a že tzv. nevyzrálý med (má vyšší obsah vody) může způsobit obecně nižší koncentraci těžkých kovů. [26]

V roce 2005 byla publikována jedna z velmi obsáhlých prací od autorů Porrini a kol., kteří považují včelu za dobrý „lapač“ znečištění (na její tělo se zachytávají prachové částice díky množstvím chloupků, které se za letu mohou elektrostaticky nabíjet). V jejich práci byly analyzovány jak vzorky samotných těl včel (43 vzorků), tak i medu (74 vzorků). Statistickou analýzou určili, že med poskytoval spolehlivější výsledky obsahů škodlivin ve vzorcích než samotná těla včel. Jejich výzkumy probíhají již více než 20 let, a celý kolektiv se zabývá všemi stránkami biomonitoringu škodlivých látek (pesticidy, těžké kovy, radionuklidy) v životním prostředí pomocí včel. [27]

V roce 2012 byla uveřejněna práce Perna a kol. (Itálie), kteří odebrali 78 vzorků medu, u nichž stanovovali jak organické polutanty, tak obsah vybraných kovů. Fe a Zn byly nejhojnější mezi testovanými kovy, zatímco Cd, Co a Mo byli již méně přítomny. Následně využili statistické metody pro potvrzení vztahů mezi přítomností kovů a obsahem polyfenolů v medu. [28]

V současnosti jsou poměrně hojně využívány statistické metody při analýze včel i jejich produktů. Z těchto metod je často využívána shluková analýza, faktorová analýza anebo metoda hlavních komponent, která byla využita a prezentována v roce 2012 v práci od autorů Cavazza a kol., kteří pomocí ní ověřovali pravost vzorků medů. Autoři dokázali, že pomocí statistických metod lze rozlišit medy různého rostlinného původu a poukázali na to, že tyto metody jsou méně časově náročné oproti tradičním metodám při stanovování pravosti medu [29].

V roce 2012 vyšel také článek od autorů Chua a kol., kdy se zaměřili nejprve na malajský med, a poté své výsledky srovnávali s výsledky již provedených analýz ve světě. Aplikovali multi-prvkovou metodu, která odhaluje nejčastěji se vyskytující prvky (těmi byly K, Na a dominantním prvkem bylo také železo). Zkoumali jak závislost typu medu na obsahu prvků v něm obsažených, tak hledali vztah k místu původu vzorku. Jako závěr vyvozují, že statistickou analýzou lze charakterizovat med i určit jeho původ, současně s tím bylo možno nalézt i provázanost obsahu prvků ve vzorcích s jejich fyzikálními vlastnostmi. [30]

4 VYUŽITÍ STATISTICKÉ ANALÝZY VÍCEROZMĚRNÝCH DAT PŘI BIOMONITORINGU

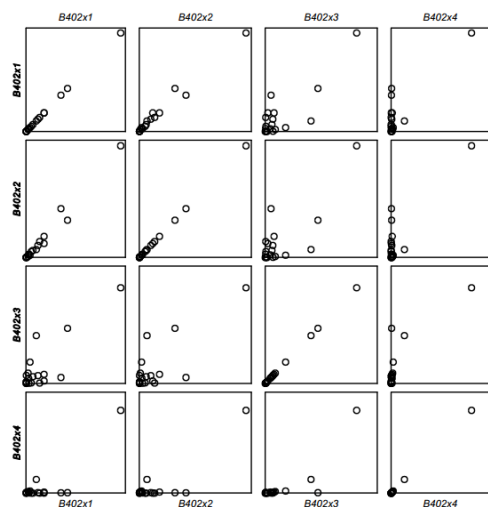
Vícerozměrná data mohou být například vyjádřena vlastnostmi produktů (potravin, oleje, slitiny atd.) pomocí analytických metod nebo stanovení charakteristiky produktu na základě měření souvisejících proměnných. Účelem vícerozměrné analýzy je často zkoumání vztahů mezi složkami náhodného vektoru (informace se skládají s náhodného skaláru a náhodného vektoru s x složkami).

Matice výchozích dat obsahuje proměnné a objekty na nichž jsou tyto proměnné (vlastnosti) měřeny. U standardní statické analýzy předpokládáme, že hodnoty v matici tvoří náhodný výběr.

Shluk objektů rozumíme jako množinu objektů se společnými nebo podobnými proměnnými znaky. Blízkost (podobnost) objektů určujeme na základě objektů v x -rozměrném prostoru proměnných. [31]

4.1 Exploratorní analýza struktury objektů (EDA)

Průzkumová analýza vícerozměrných dat je založena na vyšetření grafických diagnostik. Používáme k tomu různé techniky zobrazování vícerozměrných dat. Nejjednodušším příkladem je rozptylový diagram. Na *obrázku 2* je vyobrazen rozptylový diagram pro 20 objektů a 4 proměnné ($B402X_a$, $a=1-4$). Kdy vidíme podobnost objektů zejména u prvních dvou proměnných. Výrazné jsou i odlehlé objekty (body vzdálené od ostatních). [31]



Obrázek 2: Rozptylový diagram [31]

4.2 Určení vazeb v proměnných a objektech

Pokud máme matici $X \times Y$ provádíme průzkumovou analýzu dat, která nám umožní posoudit podobnost objektů, určit vybočující objekty a předpokládat lineární vazby. Tímto se zabývají techniky redukce proměnných na latentní proměnné, například metoda analýzy hlavních komponent. [31]

4.2.1 Analýza hlavních komponent (PCA)

Cílem metody je přeměna proměnných do menšího počtu latentních proměnných. Ty se vyznačují vhodnějšími vlastnostmi, menším počtem a pokrývají skoro celou proměnlivost vstupních proměnných. Latentní proměnné zde nazýváme hlavními komponenty (kombinace původních proměnných). Graficky lze vyjádřit výsledky následující analýzy následně:

Graf komponentních vah – zobrazí komponentní váhy pro první dvě hlavní komponenty. Porovnáváme vzdálenost mezi proměnnými, kdy krátká vzdálenost znamená silnou korelaci (vzájemný vztah). Lze najít i shluk v tomto grafu.

Rozptylový diagram komponentního skóre – zobrazí komponentní skóre neboli hodnoty prvních dvou hlavních komponent u všech objektů v rovině. Snadno lze nalézt shluk vzájemně podobných objektů a odlehlé objekty. Jde tedy o umístění objektů, kdy objekty daleko od počátku jsou extrémní a nejbližší jsou objekty nejtypičtější. Dále je zde vidět podobnost objektů (blízko sebe = podobné, daleko od sebe = nepodobné). Pokud se jedná o shluky, objekty v nich jsou si podobné, ale jsou nepodobné objektům v jiném shluku. Nicméně pokud jsou tyto shluky blízko sebe, jsou i vlastnosti podobnější. Tímto diagramem můžeme odhalit i anomálie. [31]

4.2.2 Analýza shluků (CLU)

Metoda, zabývající se vyšetřováním vícerozměrných objektů a klasifikaci do shluků (tříd). Využíváme u objektů, které se více seskupují.

Tato metoda CLU má tři hlavní cíle:

- a) Popis systematiky – je to empirická klasifikace objektů, využívá se nejčastěji, určení průzkumových cílů.
- b) Zjednodušení dat – poskytuje nám zjednodušený pohled na objekty.
- c) Identifikace vztahu – při nalezení shluků, a tím i struktury mezi objekty lépe určíme vztahy mezi objekty.

Cíle jsou ale závislé na hledání a volbě vhodných znaků k charakteristice shluků. Shluky nám totiž vystihují strukturu dat na základě vybraných znaků. Volba znaků je na základě teoretických a praktických znalostí. [32]

Podle způsobu dělíme na hierarchické a nehierarchické shlukování. Hierarchické postupně spojují objekty a jejich shluky do dalších větších shluků. Nehierarchické metody jsou takové, kdy uživatel na základě svých vlastností určí typické objekty pro nově vytvořené shluky. [31]

4.2.2.1 Hierarchické shlukování

Analýza shluků nám určuje podobnost proměnných, kdy toto analyzujeme graficky pomocí dendrogramu proměnných. Je to zobrazení hodnot v dvojrozměrném prostoru, kde osy zadané jsou proměnné. Tento dendrogram ukazuje dvojice proměnných, které jsou si velmi podobné a silně korelují. Jsou si tedy vzájemně nenahraditelné. Jak v dendrogramu číst: pokud proměnné blízko sebe jsou spojeny spojovací úsečkou nízko, jsou si značně podobné, ale pokud jsou propojené vysoko, mají malou podobnost. [31]

4.2.2.2 Nehierarchické shlukování

U tohoto postupu vyhodnocování metody CLU jsou důležité věcné znalosti uživatele. Jsou vybrány objekty, jež budou tvořit zárodky nových shluků (uměle vytvořené typické objekty). Tomuto postupu se také říká K-means shlukování. [32]

PRAKTICKÁ ČÁST

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité chemikálie a materiály

- Koncentrovaná kyselina dusičná (HNO_3), PENTA
- Destilovaná voda
- Skelná vata
- Keramické kelímky

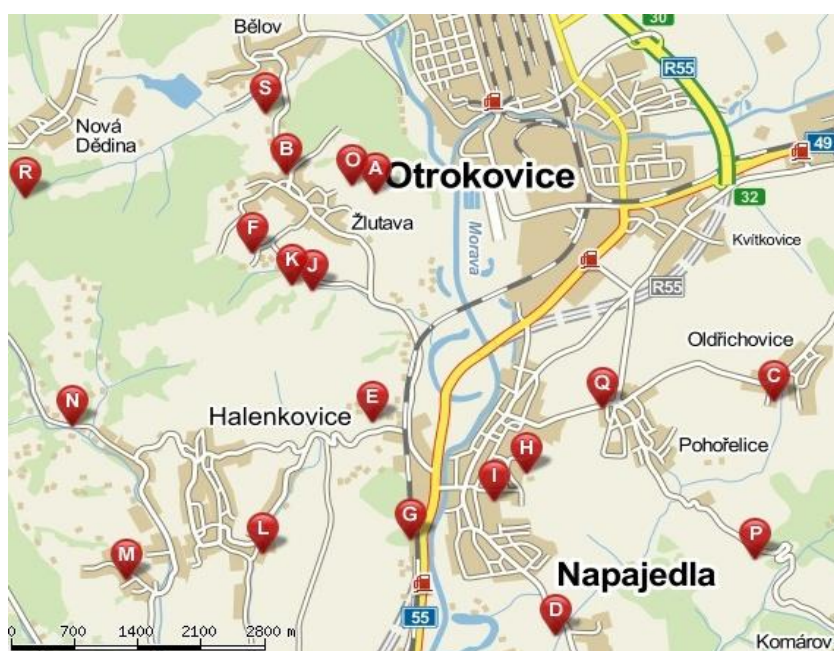
5.2 Použité přístroje

- AAS GBC 933 AA, Austrálie
- Muflová pec MP05-1.1, Jar. Merhaut, Kladno
- Analytické váhy, Preciza 120A, Švýcarsko

Ostatní přístroje a pomůcky běžně používané v chemicko-analytické laboratoři.

5.3 Původ vzorků medu

Vzorky medu byly odebírány od včelstev patřící členům Základní organizace Napajedla, spadající pod Český svaz včelařů. ZO Napajedla má pod správou samotné město Napajedla a přilehlé obce Žlutava, Halenkovice, Pohořelice, Oldřichovice a Komárov. Na následujícím *obrázku 3* jsou znázorněny místa odběrů na mapě, celkový počet vzorků je 19.



Obrázek 3: Místa původu vzorků medu

Na *obrázku 3* také vidíme rozlišené umístění stanovišť včelstev, z nichž byly odebírány vzorky medů. Místa odběru P a R jsou umístěna ve zcela zalesněné oblasti, dále pak místa A a O jsou v ovocném sadu. Naopak místa, u nichž byl předpoklad, že se zde mohou vyskytovat rizikové prvky ve vzorcích, byly stanoviště H a Q, které se nachází v zastavěných oblastech. Obdobný předpoklad platil i u vzorku ze stanoviště G, kde se blízko nachází trať železniční dopravy.

5.4 Analýzy vzorků medů

5.4.1 Odebírání a uchovávání vzorků

Vzorky medu byly odebírány do skleněných uzavíratelných lahvíček (odběr u včelaře). Dále byly dopraveny do laboratoře a zde uchovány za pokojové teploty až do doby analýzy.

5.4.2 Stanovení sušiny a mineralizace vzorků

Ze skleněné láhve bylo odebráno 4 až 6 gamů vzorku medu a přeneseno lžičkou do vyžíhaného keramického kelímku, který byl nejprve zvážen na analytických vahách. Pro jeden analyzovaný vzorek medu byly připraveny čtyři paralelní podvzorky v kelímcích, které byly zváženy. Kelímky byly následně umístěny do pece, kdy bylo provedeno sušení při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti. Po vychladnutí kelímku byly tyto znovu zváženy na analytických vahách a vypočtena hodnota sušiny.

Následně byly kelímky opět vloženy do pece, kde byla provedena suchá mineralizace spálením při 650 °C po dobu 12 h. Po vychladnutí bylo do každého kelímku k popelu přidáno 0,5 ml koncentrované kyseliny dusičné a obsah všech kelímků s podvzorky byl kvantitativně převeden do 50 ml odměrné baňky. Baňka byla doplněna po rysku destilovanou vodou a promíchána. Takto mineralizované vzorky byly uchovávány v lednici do doby provedení analýzy rizikových prvků.

5.4.3 Stanovení rizikových prvků ve vzorku

Pomocí atomové absorpční spektrometrie na přístroji AAS GBC 933AA (Austrálie), byly stanovovány následující vybrané prvky: Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, Ni, Zn.

5.5 Statistické vyhodnocení získaných dat

Pro vyhodnocení všech naměřených dat byl použit program Statistica 7 (StatSoft, Inc.), který umožňuje jak výpočet základních popisných statistických veličin, tak provádění složitějších statistických analýz jako jsou například shluková analýza, faktorová analýza nebo analýza hlavních komponent. Výsledky základní popisné statistiky jsou uvedeny níže v textu práce. Při shlukové analýze byla využita Euklidovská míra vzdáleností se shlukovací mírou nejbližšího souseda. Při analýze hlavních komponent byly použity pouze první dva faktory, které postihovaly více než 66,48 % všech vyhodnocovaných hodnot.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

V *tabulce 3* jsou uvedeny základní statistické údaje o koncentracích vybraných rizikových prvků v 19 vzorcích medů. Při porovnání obsahu olova a kadmia ve vzorcích s hodnotami akčních limitů (určeny hlavním hygienikem – Pb = 0,25 mg/kg, Cd = 0,5 mg/kg) lze vidět, že kadmium limitní hodnotu nepřesáhlo, naproti tomu obsah olova by mohl představovat problém, protože již svou minimální hodnotou přesáhlo limitní hodnotu.

Tabulka 3: Základní popisná statistika stanovovaných vzorků medu

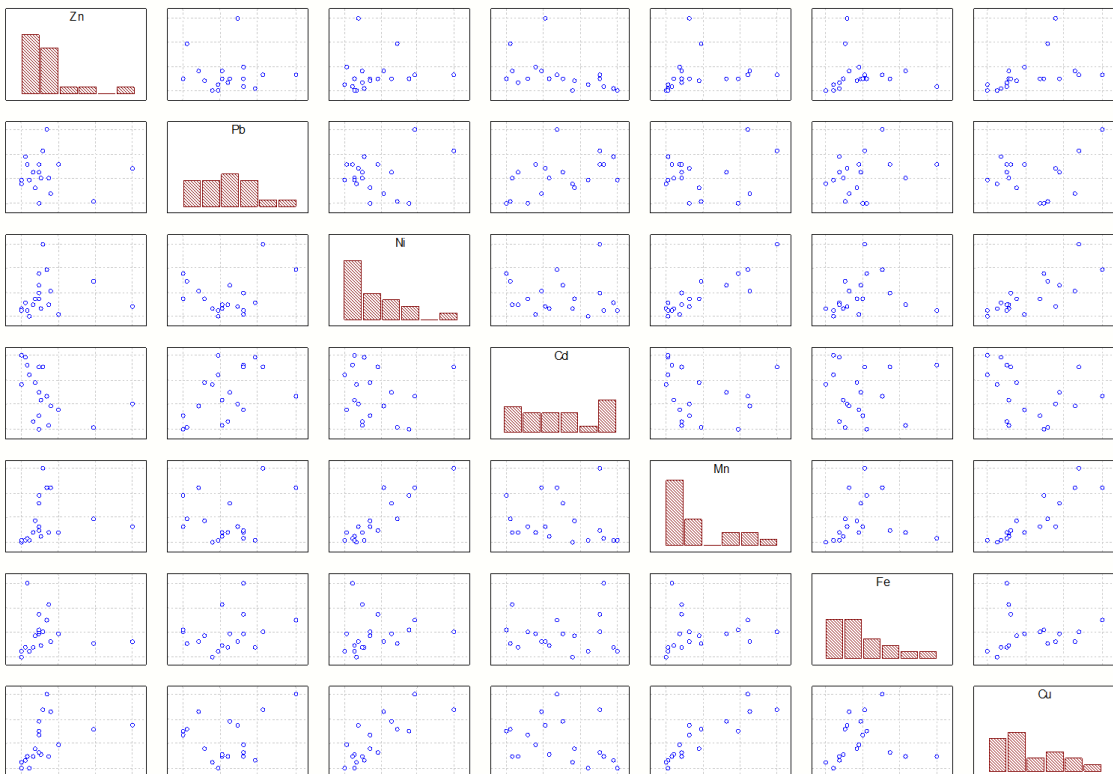
Prvek	Cu [mg/kg]	Mn [mg/kg]	Fe [mg/kg]	Ni [mg/kg]	Zn [mg/kg]	Cd [mg/kg]	Pb [mg/kg]
Průměr	1,0977	2,5064	7,8289	0,1801	1,1447	0,0199	0,4820
SD	0,6115	2,8315	5,4874	0,1458	0,8225	0,0086	0,1458
Maximum	2,4881	9,9023	21,3503	0,5690	3,8746	0,0320	0,8759
Minimum	0,4597	0,2722	1,3403	0,0247	0,4522	0,0053	0,3134

V *tabulce 3* lze také vidět, že pro již zmíněné olovo je průměrná koncentrace 0,48 mg/kg, tyto výsledky potvrzuje i výzkum Contiho [26], kdy jejich stanovená průměrná hodnota činila 0,47 mg/kg olova. I množství kadmia se shodovalo s jejich výsledky. Výsledky mého měření pro průměrnou hodnotu kadmia byly 0,0199 mg/kg a výsledek práce Contiho byl 0,013 mg/kg. Výzkum Contiho [26] se zabýval stanovováním těžkých kovů (Cd, Pb, Cr), v Itálii, konkrétně ve městě Řím (tzv. zanedbané oblasti). Nicméně zhodnotili, že tyto hodnoty patří do obecně nižších koncentrací těžkých kovů.

Dále v *tabulce 3* lze také vidět, že maximální koncentrace železa je 21,35 mg/kg, což potvrzují i výzkumy Citaka a kol. [33], kteří se zabývali stanovením těžkých kovů v medu v Turecku. Vyslovují názor, že tyto zvýšené hodnoty (v jejich případě je průměrná hodnota pro železo 81,1 mg/kg) jsou způsobeny přítomností těžkých kovů v půdě, kdy můžou být přepravovány pomocí kořenového systému do nektaru.

6.1 Exploratorní analýza

Vyobrazení více rozměrných dat na *obrázku 4* – rozptylovém diagramu korelační matice, nám udává podobnost stanovovanými rizikovými prvky. Kdy je na diagramu znázorněno 19 objektů (vzorků medu) a 7 proměnných (stanovované rizikové prvky). Podobnost vidíme zejména u Ni a Mn, a také u Mn a Fe. U Mn a Cu se také zobrazuje určitá částečná podobnost, ale jen u počátečních objektů. Ostatní proměnné jsou nepodobné.



Obrázek 4: Rozptylový diagram korelační matice pro studované vzorky medů

6.2 Analýza hlavních komponent

6.2.1 Graf komponentních vah

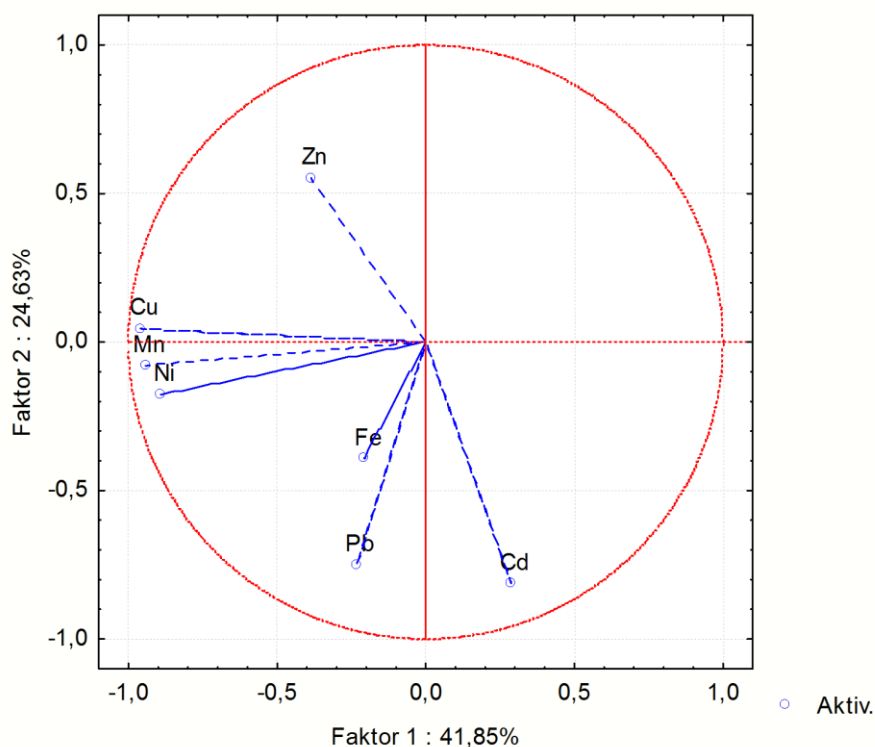
Jedním z grafických vyjádření PCA je graf komponentních vah (pro první dvě hlavní komponenty) vyhodnocený na *obrázku 5*. Každý bod v grafu odpovídá jednomu znaku (rizikové prvky) a byly porovnávány vzdálenosti mezi těmito znaky. Kdy krátká vzdálenost znamená silnou korelaci.

Interpretace obrázku vede k závěrům, že zinek negativně koreluje s kadmíem, protože leží na opačné straně od počátku. To tedy vede k závěru, že ve vzorcích kde byl přítomen zinek, nebylo nebo se v malé míře vyskytovalo kadmium a naopak.

Zde také vyhodnotit proměnlivost rizikových prvků ve vzorcích, kdy pokud jsou znaky (body) blízko počátku, jsou méně „důležité“. Tedy vyskytují se ve všech vzorcích. Vidíme tedy, že tuto podmínku nejvíce splňuje železo.

Krátká vzdálenost mezi mědí, manganem a niklem znamená jejich silnou korelaci. Vytváří nám shluk (vzájemný vztah mezi prvky). Můžeme tedy očekávat, že výskyt prvků ve vzorcích je na sobě závislý. Pokud je přítomen jeden, lze očekávat přítomnost i zbylých dvou.

Vysvětlením proč olovo a kadmium není v žádném ze shluků, může být tedy to, že jsou to antropogenní prvky, tedy nejsou ve vztahu s jinými prvky. Vyskytují se výjimečně a samostatně, takže je považujeme za kontaminaci (znečištění).



Obrázek 5: Graf komponentních vah pro studované vzorky mědů

6.2.2 Rozptylový diagram

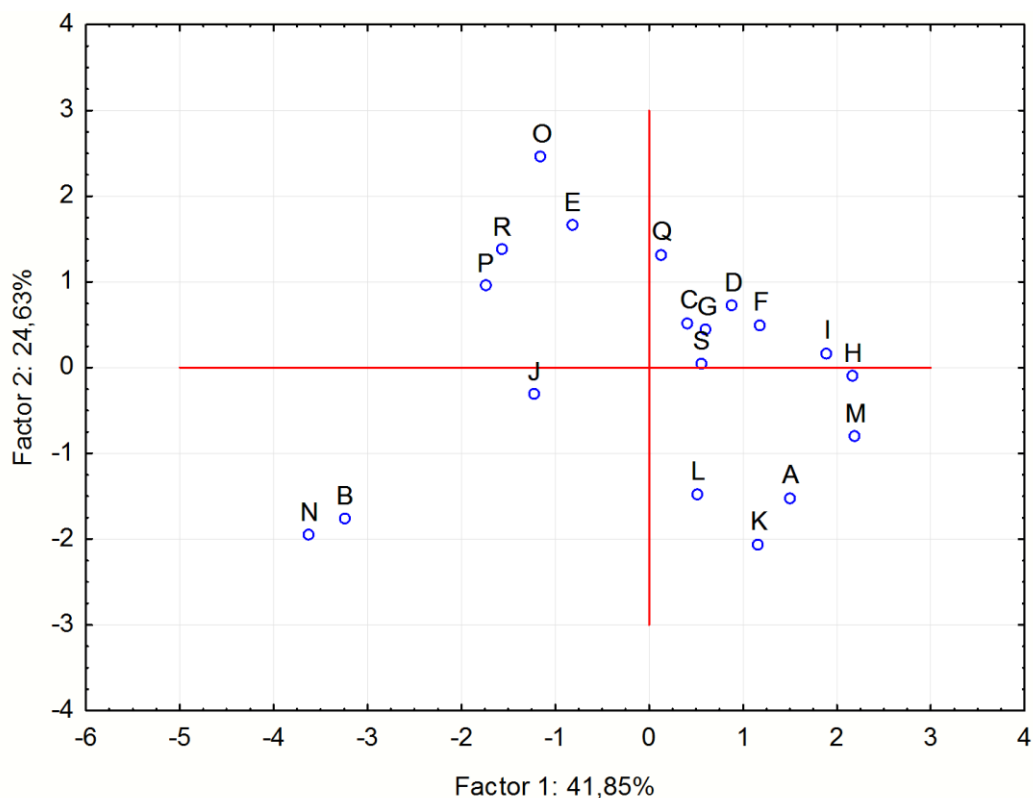
Na obrázku 6 jsou graficky vyobrazeny výsledky PCA pomocí rozptylového diagramu komponentního skóre.

Můžeme vidět shluk, který vytvořili vzorek B a N. Tento shluk je však vzdálen od počátku (respektive centra), je to tedy extrém. Lze tedy předpokládat, že tyto dva vzorky se liší od ostatních, ale vzájemně si jsou velmi podobné. To může být způsobeno například vysokou čistotou vzorku (nízkou mírou kontaminování zájmové lokality). Tyto dva odlehlé objekty nám také způsobují, že diagram není ideálně rozprostřen (což by vypovídalo o velké podobnosti vzorků).

Jako další shluk můžeme považovat vzorky E, O, P a R. Pokud je srovnáme s místy odběru (na obrázku 3), vidíme, že tyto vzorky jsou z lokalit, které jsou méně zatíženy jakýmkoli znečištěním. Všechny jsou umístěny mimo jakoukoli zástavbu, či zdroje znečištění.

Za shluk vzorků také můžeme považovat C, G a S. Opět v konfrontaci s umístěním stanoviště v zájmové lokalitě mohu určit, že všechny tři vzorky pochází z méně frekventovaných míst blízko silničních komunikací. Po uvážení tohoto faktoru jsou si tyto vzorky v tomto ohledu velmi podobné.

Celkové zhodnocení však je, že až na dva extrémy B a N jsou objekty v rozptylovém grafu komponentního skóre rozptýleny po celé ploše diagramu. Což značí velkou podobnost vlastností v závislosti na dvou hlavních komponentech.

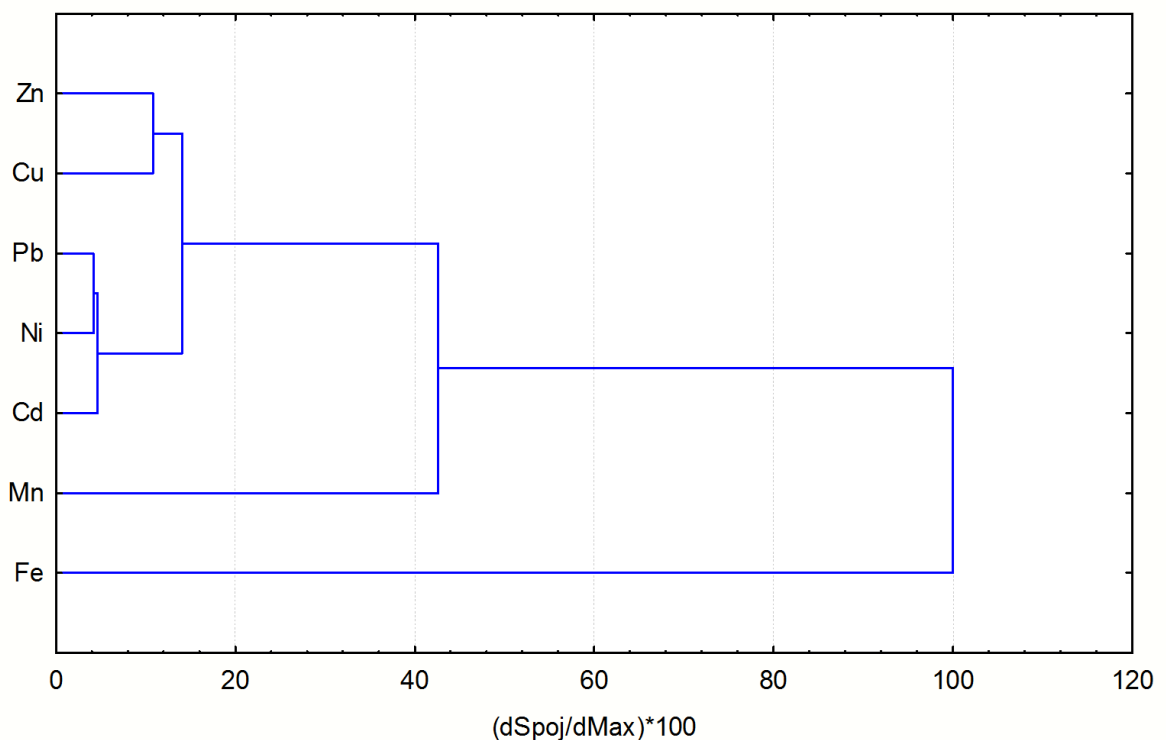


Obrázek 6: Rozptylový diagram komponentního skóre studovaných vzorků medů

6.3 Analýza shluků

Vyhodnocení metodou CLU, konkrétně hierarchickým postupem se dá graficky znázornit pomocí dendrogramu znaků (vývojového stromu) s využitím metody metriky – nejbližší soused.

Dendrogram ukazuje na podobné rizikové prvky, které je možné zařadit do společného shluku. Lze určit dva shluky. První shluk je olovo, nikl a kadmium. Dalším shlukem je zinek a měď. U prvního shluku předpokládáme, že tyto prvky mají společnou vlastnost a to nízkou míru výskytu. Jedná se tedy s vysokou pravděpodobností o antropogenní prvky. Druhý shluk zinek a měď se vyskytují již ve větším množství, můžeme tedy o mědi říci, že je esenciální. Vyskytovala se ve větší míře. Pokud by totiž patřila do shluku jedna, byla by také kontaminantem. Pokud se podíváme na Fe, je to prvek vyskytující se ve všech vzorcích a je nezávislý na ostatních znacích. Stejně tak mangan, je velmi hojně se vyskytující se, s malou podobností s ostatními znaky.



Obrázek 7: Dendrogram podobnosti proměnných (prvků) ve vzorcích medi

Porovnání výsledků z dendrogramu znaků s grafem komponentních vah:

Graf komponentních vah především odhaluje korelaci rizikových prvků, a to u Cu, Mn a Ni. Zatímco dendrogram ukazuje na podobné znaky (rizikové prvky), které je možno zařadit do společného shluku.

Oba diagramy vykazují stejné vlastnosti pro Fe, což nám může indikovat, že jej s velkou pravděpodobností nalezneme ve všech vzorcích.

ZÁVĚR

Cílem práce bylo stanovit rizikové prvky ve vzorcích medů. Vyšetřovaná oblast se nacházela v městě Napajedla a přilehlých obcích. Stanovení koncentrace rizikových prvků bylo provedeno pomocí AAS, kdy výsledky byly vyjádřeny v mg rizikového prvku na kg sušiny medu.

Pomocí popisné statistiky byla zjištěna minimální koncentrace olova 0,3134 mg/kg, což překračuje akční limit určený hlavním hygienikem Státní veterinární správy. Z pohledu koncentrace olova můžeme tedy považovat všechny vzorky vyskytující se ve sledované lokalitě za problematické. Nicméně po prostudování dostupné literatury jsem došla k závěru, že pro med v ČR nejsou žádné legislativně určené limity, které by stanovovali hodnoty rizikových prvků pro med jako potravinu. To je zřejmě způsobeno tím, že med spotřebováváme oproti jiným potravinám v malém množství. Dále hodnoty manganu a železa u dvou vzorků vykazovaly odlišnost (hodnoty byly výrazně vyšší než průměr), předpokládáme tedy, že tento fakt je ovlivněn i vlivem přírodního pozadí prvků vyskytujících se v místech odběrů medu.

Vzorky pocházely z lokalit nacházejících se blízko sebe, nicméně s rozlišnou mírou znečištění, od lesů až po městskou zástavbu. Díky vyhodnocení výsledků programem Statistica7 byl nalezen určitý předpokládaný vztah mezi těmito místy. U čtyř vzorků se nám potvrdila podobnost pro umístění nacházející se v nejméně znečištěné lokalitě (v blízkosti lesů). A dále u tří vzorků, vykazující podobnost jsme při bližším zkoumání našli stejné rysy pro umístění. Lze tedy uvažovat, že i touto formou, porovnáváním vzorků navzájem můžeme vyšetřit lokality, které podléhají určitému znečištění a klasifikovat je do shluků vykazující určitou korelaci. Můžeme tedy říci, že shluková analýza lze využít i pro určení původu vzorku.

Po provedení shlukové analýzy jsem také došla k závěrům vztahující se na samotné rizikové prvky a jejich zastoupení v medu. Se stoprocentním výskytem v každém vzorku se nám prokázalo železo. Je tedy jasné, že tento prvek je majoritní, co se týče stanovovaných rizikových prvků. Nejméně zastoupeny byly olovo, kadmium a nikl. Tyto tři prvky se vyskytovaly v medu výjimečně. Dále pak olovo a kadmium nevykazovaly žádný vztah s ostatními prvky, to mě vede k názoru, že jsou antropogenního původu.

Stanovované rizikové prvky vykazují také podobnost, a to konkrétně měď a zinek. Tyto dva prvky jsou zastoupeny ve vzorcích medů již větším podílem než zjištěné antropogenní prvky, to vede tedy k závěru, že jsou esenciální (nezbytné pro život včel).

Za zmínku také stojí fakt, že jsme objevili tendenci prvků k vzájemnému ovlivnění. A to konkrétně u případu zinku a kadmia. Pokud se ve vzorku objevilo větší množství zinku, nacházelo se tam jen nepatrné stopové množství kadmia a naopak.

Z vyhodnocení výsledků pomocí statistické analýzy lze tedy určit mnoho parametrů a objevit i na první pohled nejasné závislosti. Tím chci tedy shlukovou analýzu označit jako jednu z vhodných vyhodnocovacích metod pro monitorování životního prostředí pomocí živých organismů. Lze díky ní objevit extrémy ve stanovovaných hodnotách, následně je vyloučit ze souboru nebo se na tuto odlišnost zaměřit. Pohled shlukové analýzy na data je rozmanitý a lze z ní vyvodit mnoho informací.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KAFKA Z., PUNCOCHÁROVÁ J. Težké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy* 96, str. 611-617, 2002,
- [2] PITTER, P., *Hydrochemie*. 3. přepr. vyd. Praha: VŠCHT, 1999, 568 s. ISBN 80-708-0340-1,
- [3] KOS, V., *Bioindikace antropogenního zatížení prostředí chemickými polutanty*. České Budějovice, 2008. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Vedoucí práce Doc. RNDr. Jaroslav Boháč, DrSc. ,
- [4] CIBULKA, J., *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. 1. vyd. Praha: Academia, 1991, 427 s. ISBN 80-200-0401-7,
- [5] PROKEŠ, J., *Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2005, 248 s. ISBN 80-726-2301-X.v,
- [6] TOUŽÍN, J., *Stručný přehled chemie prvků*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2003, 225 s. ISBN 80-210-2635-9,
- [7] KUPEC, J. *Toxikologie*. Vyd. 2. Ve Zlíně: Univerzita Tomáše Bati, 2004, 176 s. ISBN 80-731-8216-5,
- [8] LOBPREIST, T., a kol. Innovative Approach to Monitoring Organic Contaminants in Aqueous Environment Using Passive Sampling Devices. *Chemické listy*, 2009, vol. 103, no.7, p.548-577,
- [9] VESELÝ, V., *Včelařství*. Vyd. 2., upr. a dopl. Praha: Brázda, 2003, 270 s. ISBN 80-209-0320-8,
- [10] SLAVÍK, R. a JULINOVÁ, M., Biomonitoring životního prostředí pomocí včel a jejich produktů - část I: rizikové prvky. *Moderní včelař: nový včelařský časopis*. 2012, IX. (2012), 3/2012 (léto), s. 102-105. ISSN 1214-5793,
- [11] SKÁCEL, F., a kol. Bioindikátory znečištění životního prostředí v České republice. *Sborník příspěvků ze XIV. Semináře s mezinárodní účastí, Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech*. Praha, 2001, 145, p. 259,
- [12] PŘIDAL, A., *Včelí produkty - cvičení*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. 57 s. ISBN 80-715-7711-1,
- [13] Tiskové centrum: Tiskové zprávy. KREJČÍ, Eva. *Letiště Praha: Letiště Václava Havla* Praha [online]. 2011 [cit. 2013-01-21]. Dostupné z:

<http://www.prg.aero/cs/o-letisti-praha/tiskove-centrum/tiskove-zpravy/letiste-praha-zalozilo-vlastni-chov-vcel/>

- [14] LAMPEITL, F., *Chováme včely: úvod do včelaření*. Zlín: Blesk, c1996, 173 s. ISBN 80-856-0696-8,
- [15] ŠKROBAL, D., a kol. *Včelařův rok*. Vyd. 3., upr. A dopl. Praha: Státní zemědělské nakladatelství Praha, 1970,
- [16] PŘIDAL, A. a ČERMÁK, K., *Včelařství*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005, 92 s. ISBN 80-715-7850-9,
- [17] PŘIDAL, A., *Včelí produkty*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. 95 s. ISBN 80-7157-717-0,
- [18] Česká Republika. *Vyhláška 76/2003*: Vyhláška, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. In: Sbírka zákonů. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1006203&docType=ART&nid=11816>,
- [19] ČSV 1/1999. *Český med: Norma jakosti*. Praha: Český svaz včelařů, 1999. Dostupné z: <http://www.medeu.cz/files/Srovn%C3%A1n%C3%AD%20sm%C4%9Brnic%20o%20medu.pdf>,
- [20] MACHOVÁ, J., *Právo ve včelaření: kapesní příručka*. Praha: Nakladatelství Orac, s.r.o., 2001,
- [21] Česká republika. *Vyhláška 298/1997 Sb.*: kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky jejich použití, jejich označování na obalech, požadavky na čistotu a identitu přídatných látek a potravních doplňků a mikrobiologické požadavky na potravní doplňky a látky přídatné. In: zákonů. Praha, 1997. Dostupné z: <http://www.sagit.cz/pages/sbirkatxt.asp?zdroj=sb99003&cd=76&typ=r>,
- [22] HŘIVINA, Luděk a Jaroslav HLUŠEK. Přínos včelstva pro indikaci těžkých kovů. *Včelařství*. 1989, leden, s. 148-149,
- [23] ČERMÁKOVÁ, T., 2001, Analýza environmentálních vplyvov na včelu medonosmú *Apis mellifera* a jej produkty. *Sborník příspěvků ze XIV. Semináře s mezinárodní účastí, Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech*.

- Praha, 232, 259pp., Dostupné z:
http://www.vscht.cz/zkp/ustav/Sbornik_kontaminanty.pdf,
- [24] KACANIOVA, M., a kol. Environmental concentration of selected elements and relation to physicochemical parameters in honey. *Journal Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 2009, vol. 44, no. 4, p. 414-422,
- [25] STANKOVSKA, E., a kol., Monitoring of trace elements in honey from the Republic Macedonia by atomic absorption spectrometry. *Environmental Monitoring and Assessment*, Jul 2008, vol. 142, no. 1-3,
- [26] CONTI, M. E., BOTRÈ F., Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2001, 69, pp. 267-282,
- [27] PORRINI, C., a kol., Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. *APIACTA*, 2003.,
- [28] PERNA, A., a kol., Metal content of southern Italy honey of different botanical origins and its correlation with polyphenol content and antioxidant activity. *International Journal of Food Science* [online]. 2012, roč. 47, č. 9, s. 1909-1917 [cit. 2013-03-17]. ISSN 09505423. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2012.03050.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2012.03050.x>,
- [29] CAVAZZA, A., a kol., High-performance liquid chromatographic phenolic compound fingerprint for authenticity assessment of honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2012, roč. 47, č. 9, n/a-n/a [cit. 2013-03-17]. ISSN 00225142. DOI: 10.1002/jsfa.5869. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.5869>,
- [30] CHUA, L. S., a kol., *Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia*. [online]. [cit. 2013-03-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.05.106. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814612009557>,
- [31] MELOUN, M., *Kompendium statistického zpracování dat: metody a řešené úlohy včetně CD* [online]. Vyd. 1. Praha: Academia, 2002, 764 s. [cit. 2013-03-09]. ISBN 80-200-1008-4. Dostupné z:
<http://meloun.upce.cz/docs/books/kompendium.pdf>,

- [32] MELOUN, M., a kol., *Statistická analýza vícerozměrných dat v příkladech*. Vyd. 2. Praha: Academia, 2012, 750 s. Gerstner, sv. 7. ISBN 978-802-0020-710,
- [33] CITAK, D., a kol. Determination of toxic and essential elements in sunflower honey from Thrace Region, Turkey. *International Journal of Food Science* [online]. roč. 47, č. 1, s. 107-113 [cit. 2013-04-24]. ISSN 09505423. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2011.02814.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2011.02814.x>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAS Atomový absorpční spektrometr.

ČR Česká republika.

ZO Základní organizace.

SD Směrodatná odchylka.

CLU Analýza shluků (Cluster analysis).

PCA Analýza hlavních komponent.

EDA Exploratorní analýza.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Interakce včely medonosné s prostředím a možnosti odběru vzorků pro biomonitoring [10]	13
Obrázek 2: Rozptylový diagram [31]	21
Obrázek 3: Místa původu vzorků medu.....	25
Obrázek 4: Rozptylový diagram korelační matice pro studované vzorky medů.....	29
Obrázek 5: Graf komponentních vah pro studované vzorky medů	30
Obrázek 6: Rozptylový diagram komponentního skóre studovaných vzorků medů.....	31
Obrázek 7: Dendrogram podobnosti proměnných (prvků) ve vzorcích medů	32

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přípustné koncentrace dle vyhlášky 298/1997 Sb. [21]	17
Tabulka 2: Akční limity pro med dle hlavního hygienika ¹	18
Tabulka 3: Základní popisná statistika stanovovaných vzorků medu	28