Med jako bioindikátor životního prostředí

Štěpán Kilián

Bakalářská práce
2023

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	**Štěpán Kilián**
Osobní číslo:	**T20456**
Studijní program:	**B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace:	**Ochrana životního prostředí**
Forma studia:	**Prezenční**
Téma práce:	**Med jako bioindikátor životního prostředí**

Zásady pro vypracování

1. Prostudujte dostupnou literaturu a informační zdroje vztahující se k zadanému tématu.
2. Proveďte optimalizaci mineralizace medu.
3. Koncentrace kovů především platiny stanovte pomocí ICP-MS.
4. Naměřená a vypočtená data zpracuje a dosažené výsledky kriticky zhodnoťte.

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

Seznam doporučené literatury:

[1] MADEJCZYK, Maria a Danuta BARALKIEWICZ, 2008. Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and FAAS/AES. Analytica Chimica Acta. ScienceDirect, 617(12), 11-17. ISSN 00032670.
[2] SILVA, Priscila Missio da et al., 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. Food Chemistry. ScienceDirect, 196, 309-323. ISSN 0308-8146.
[3] BERNARD FRAY, Laurent a Martin KUSSMANN, 2010. Mass spectrometry and nutrition research. Cambridge: Royal Society of Chemistry. ISBN 978-184-9730-365.
[4] Vědecké zdroje zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SciFinder Scholar, Medline aj.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Lenka Šenkárová, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

Ve Zlíně dne 17. února 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem 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.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

…….

podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena výskyt kovů ve vzorcích českého medu, vosku a propolisu metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Práce je rozdělena na teoretickou část, která je věnována základním poznatkům o samotných včelách a jejich produktech. Zmíněné jsou škodlivé prvky, které mohou ze životního prostředí vstupovat přes půdu do rostlin a následně včelích produktů. Práce se věnuje i samotné analýze environmentálních prvků. Praktická část je složena ze samotného měření, identifikace a kvantifikace těžkých kovů ve vzorcích. Na základě výsledků je zhodnocen stav životního prostředí v místech, kde se nachází hnízdo včelstva.

Klíčová slova: med, vosk, propolis, bioindikátor, kov, ICP-MS

ABSTRACT

The bachelor thesis focuses on the occurrence of metals in Czech honey, wax and propolis samples by inductively coupled plasma mass spectrometry. The thesis is divided into a theoretical part, which is devoted to the basic knowledge about bees and their products. Harmful elements that can enter from the environment through the soil into plants and subsequently bee products are mentioned. The work also deals with the analysis of the environmental elements themselves. The practical part consists of the actual measurement, identification and quantification of heavy metals in the samples. Based on the results, the environmental status of the bee colony nest sites is assessed.

Keywords: honey, vax, propolis, bioindicator, metal, ICP-MS

Chtěl bych poděkovat vedoucí bakalářské práce Ing. Lence Šenkárové, Ph.D., za pomoc a rady při zpracování bakalářské práce. Poděkování patří taky všem ochotným včelařům ochotným poskytnout vzorky medu. V neposlední řadě bych rád poděkoval své rodině a přátelům za podporu jak v osobním, tak akademickém životě.

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

OBSAH

ÚVOD **9**
I TEORETICKÁ ČÁST **10**
1 VČELA MEDONOSNÁ **11**
1.1 ROD *APIS* 11
1.2 VČELSTVO JAKO SUPERORGANISMUS 12
1.2.1 Plod 12
1.2.2 Matka 13
1.2.3 Trubci 13
1.2.4 Dělnice 13
1.2.5 Včelí dílo 14
1.3 ZDROJE VÝŽIVY VČELSTVA 15
1.3.1 Voda 15
1.3.2 Bílkoviny 15
1.3.3 Sacharidy 16
2 VČELÍ PRODUKTY **18**
2.1 MED 18
2.1.1 Druhy 18
2.1.2 Vznik 19
2.1.3 Využití 19
2.2 VČELÍ VOSK 20
2.2.1 Vznik 20
2.2.2 Získávání 20
2.2.3 Využití 20
2.3 PROPOLIS 20
2.3.1 Vznik 21
2.3.2 Získávání 21
2.3.3 Využití 21
3 KONTAMINACE VČELÍCH PRODUKTŮ **22**
3.1 CESTY VSTUPU POLUTANTU 22
3.2 VČELÍ PRODUKTY JAKO BIOINDIKÁTOR 22
4 TĚŽKÉ KOVY **24**
4.1 CHROM 25
4.2 NIKL 25
4.3 ZINEK 25
4.4 KADMIUM 26
4.5 PLATINA 26
4.6 OLOVO 27
5 METODY ANALÝZY ENVIRONMENTÁLNÍCH VZORKŮ **28**

5.1 ROZKLAD VZORKŮ 28
5.2 METODY VYHODNOCENÍ 29
5.2.1 Atomová absorpční spektrometrie 29
5.2.2 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) 29
II PRAKTICKÁ ČÁST 30
6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 31
6.1 ODBĚR VZORKŮ 31
6.1.1 Stanoviště Ždánice 32
6.1.2 Stanoviště Hodonín 33
6.1.3 Stanoviště Komárov 34
6.1.4 Stanoviště Hlubočany 35
6.1.5 Stanoviště Opatovice 36
6.1.6 Stanoviště Medlovice 37
6.1.7 Stanoviště Radslavice 38
6.1.8 Stanoviště Bor u Tachova 39
6.1.9 Stanoviště Tučapy 39
6.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ 40
6.2.1 Mineralizace 40
6.2.2 Kalibrace 42
6.3.1 AAS 43
6.3.2 Hmotnostní spektrometr s ICP – Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS 43
7 VÝSLEDKY A DISKUZE 44
7.1 KONCENTRACE KOVOVÝCH IZOTOPŮ VE VZORCÍCH MEDU 44
7.2 KONCENTRACE IZOTOPŮ VE VZORCÍCH MEDU 45
7.2.1 Obsah hliníku v medu 45
7.2.2 Obsah chromu v medu 46
7.2.3 Obsah manganu v medu 46
7.2.4 Obsah železa v medu 47
7.2.5 Obsah kobaltu v medu 48
7.2.6 Obsah niklu v medu 48
7.2.7 Obsah mědi v medu 49
7.2.8 Obsah zinku v medu 49
7.2.9 Obsah kadmia v medu 50
7.2.10 Obsah thalia v medu 51
7.2.11 Obsah platiny a olova v medu 51
7.3 OBSAH KOVOVÝCH PRVKŮ VE VČELÍCH PRODUKTECH 51
ZÁVĚR 53
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 55
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK 58
SEZNAM OBRÁZKŮ 59
SEZNAM TABULEK 60

ÚVOD

Antropogenní činnosti v současnosti způsobují znečištění životního prostředí, což vede ke vzniku kontaminantů, jako jsou rezidua pesticidů, perzistentní organické polutanty a kovy, které se dostávají do přírody. Je proto důležité monitorovat množství těchto kontaminantů v životním prostředí a předcházet potencionálním rizikům.

Tato práce se zaměřuje na analýzu obsahu kovových prvků v medu. Jedná se o environmentální stopovou analýzu, která poskytuje data pro hodnocení znečištění životního prostředí prioritními polutanty – těžkými kovy. Kovové prvky jsou zodpovědné za znečištění životního prostředí a jsou generovány antropogenními aktivitami, jako je těžba nerostných surovin, spalování fosilních paliv a také automobilový průmysl (např. platina) a používání pesticidů v zemědělství.

Studie z různých částí světa se zabývají využitím medu a včel jako bioindikátorů pro hodnocení koncentrace především těžkých kovů ve vzorcích pocházejících z průmyslových nebo kontaminovaných oblastí. V České republice je analýza medu obvykle prováděna z hlediska zdravotní nezávadnosti, zatímco analýza využívající med k posouzení životního prostředí není příliš častá.

Tato práce porovnává koncentraci vybraných dvanácti prvků v medu z různých lokalit v Jihomoravském, Zlínském a Plzeňském kraji mezi sebou a vyhodnocuje stav životního prostředí v dané lokalitě. Mezi vzorky jsou například medy pocházející z vojenského újezdu, ochranných pásem vodních zdrojů, z okolí frekventovaného úseku dálnice D1, nebo přímo z centra měst. Zároveň s medem byly odebrány vosk i propolis, které byly následně porovnány za účelem zjištění, který ze včelích produktů se jeví jako nejvhodnější bioindikátor.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VČELA MEDONOSNÁ

Včela medonosná (*Apis mellifera*) je světově nejrozšířenějším druhem rodu Včel (*Apis)*. Včely jsou jedním z nejznámějších zástupců vysoce eusociální společnosti, která je typická trvalou pospolitostí více jedinců téhož druhu, kdy jsou všichni jedinci oddání celému super organismu. V této společnosti se tvoří různé kasty rozdělené podle pohlaví a jejich schopnosti se reprodukovat, či podle úkolů, které momentálně plní.

Lidé mají se včelami dlouhý a provázaný vztah. Včely od pradávna hrají klíčovou roli v zemědělství a produkci potravin, zajišťují opylování plodin a produkují med, vosk a propolis. První vyobrazení včel je zachyceno na jeskynní malbě z doby kamenné zobrazující muže při vybírání medu z dutiny. Starověké civilizace, jako například Egypťané a Řekové, si uvědomovaly hodnotu včelstva a zobrazovaly jej ve svém umění a mytologie. Ve středověku v období vzniku klášterů stalo včelařství zavedenou profesí. Kromě medu byla významná i produkce vosku zejména k náboženským obřadům. S rostoucí lidskou populací roste i význam včel, které jsou nenahraditelné v procesu opylování plodin tvořící značnou část naší stravy. V poslední době se včely potýkají s vystavením pesticidům a těžkým kovům, které mohou být toxické pro samotné včelstvo, ale v krajních případech i pro lidstvo konzumací jejich produktů. [1], [2]

1.1 Rod *Apis*

Podle [1] lze zjednodušeně rozlišit těchto devět druhů.

- Rod: *Apis*
    - Podrod: *Apis*
        - Druh: *Apis mellifera* – včela medonosná
        - Druh: *Apis cerana* – včela východní
        - Druh: *Apis koschevnikovi* – včela sundská
        - Druh: *Apis nigrocinta* – včela celebská
        - Druh: *Apis nulensis* – včela sabašská
    - Podrod: *Megapis*
        - Druh: *Apis dorsata* – včela obrovská
        - Druh: *Apis laboriosa* – včela skalní

- Podrod: *Micrapis*
  - Druh: *Apis florea* – včela květná
  - Druh: *Apis andreniformis* – včela trpasličí

Podrody se liší svojí velikostí. Podrod *Apis* jsou včely střední velikosti. Dělnice podrodu *Megapis* dorůstají velikosti zhruba 20 mm a tvoří jediný plást o ploše jednoho až dvou metrů čtverečných. Oproti tomu dělnice podrodu *Micrapis* jsou přibližně osm až devět milimetrů velké a staví podstatně menší plást o ploše 0,4 m^2. Jak již bylo zmíněno, nejvíce rozšířeným druhem je včela medonosná, která se i díky lidské činnosti dostala téměř do všech zákoutí světa s výjimkou polárních oblastí, Sibiře a oblasti pouště Sahara.

Území České republiky je jako zbytek Evropy osídlen včelou medonosnou. Původním plemenem na našem území je *Apis mellifera mellifera* – včela tmavá, která patří mezi větší a chladnomilnější plemena. Interferencí člověka se v přírodě však vyskytuje jen řídce. Postupný ústup včely tmavé je způsoben dlouhodobým importem včely kraňské – *Apis mellifera carnica*. Záměrné dovážení včely kraňské je zapříčiněno mnoha důvody. Oproti včele tmavé má rychlejší jarní rozvoj, je méně agresivní, lépe využívá dostupné zdroje a je odolnější vůči parazitům jako je kleštík včelí (*Varroa destructor*). Tyto faktory spolu s mnoha dalšími nejmenovanými jsou příčinou preferencí včely kraňské před včelou tmavou včelaři.

1.2 Včelstvo jako superorganismus

Pojmem včelstvo lze rozumět trvalé a nerozlučné společenství včel, které lze chápat jako samostatný organismus. Složky tvořící včelstvo jsou nezbytnou částí celého superorganismu a nemůžou existovat osamoceně. Jelikož jsou složky na sobě plně závislé a nemohou jedna bez druhé existovat, nabízí se přirovnání k orgánům organismu. Včelstvo se skládá z plodu, matky, trubců, dělnic a včelího díla se zásobami.

1.2.1 Plod

Plodem označujeme nevyvinutého jedince. Obdobně jako u jiného hmyzu s dokonalou přeměnou rozlišujeme tři hlavní stádia vývoje, a to vajíčko, larvu a kuklu. Vývoj jedince začíná u vajíčka, které je obvykle nakladeno matkou včelstva. Po třídenní embryogenezi vzniká beznohá, velmi žravá larva. Jaký jedinec se z larvy po zakuklení vyvine, závisí na faktu, zda bylo vajíčko při položení oplozeno či ne. Z oplozených se vyvíjejí trubci, z neoplozených pak dělnice a matky. Mezi další rozhodující faktory patří doba larválního

vývoje, doba, po kterou je jedinec zakuklený, a intenzita a složení dodané potravy. Dělnice jsou krmeny v přibližně 30–60 minutových intervalech po dobu tří dnů dělničí kašičkou. Larvy budoucích matek včelstva jsou pak krmeny v intervalech 2-5 minut po celou dobu larválního vývoje. Mateří kašička je oproti dělničí bohatější na tukové látky s feromonálními účinky. [1]

1.2.2 Matka

Matka či královna včelstva je plodná samice včely medonosné. V jednom hnízdě obvykle bývá jen jedna, přechodně se jich však může vyskytovat více (např. při rojení). Primárním úkolem matky je kladení vajíček, kdy jich za jeden den naklade až 2000. Od třetího dne života matka vyráží na orientační prolety v blízkém okolí hnízda, při kterých mapuje okolní prostředí a připravuje se na snubní let. Okolo pátého dne vyráží na snubní let. Podstatou snubního letu je oplození matky trubci z různých hnízd pro pozitivní genetickou rozmanitost. Oplození probíhá za letu na tzv. trubčím shromaždišti. Matka po tomto proletu zamíří zpět do svého hnízda a po zbytek života už obvykle nevylétá, jelikož si ve svém semenném váčku dokáže uchovat až sedm milionů spermií. Matky se dožívají čtyř let, vzácně i více.

1.2.3 Trubci

Trubec je plodný samec včely medonosné. Hlavní úlohou trubců je již dříve zmíněné oplození matky. Samotní trubci nejsou schopni si sami sobě opatřit potravu a jsou odkázáni na krmení dělnicemi. V hnízdě nejsou celoročně, ale pouze v období rozmnožovacího pudu, jejich počet v tomto období narůstá až na 3000. Po oplození matky většinou umírají, někteří trubci však přežijí odtržení oplozovacího znaménka. Ty však nečeká přívětivé uvítání v hnízdě, jelikož jsou dělnicemi z hnízda vyhnáni a ponecháni svému osudu mimo hnízdo.

1.2.4 Dělnice

Neoplozené samice včely medonosné nazýváme dělnice. V plném rozvoji jich může být až 60 000. V zimě se jejich počet snižuje na 10 000. Vykonávají různé činnosti pro zajištění chodu hnízda v závislosti na svém věku. Do dvacátého dne života nazýváme dělnice mladuškami, které pracují uvnitř hnízda. Po dvaceti dnech pak vylítají z hnízda a stávají se z nich létavky specializující se na vyhledávání a sběr potravy. Mladušek jsou až 2/3 celkového počtu dělnic. Pro nás nejdůležitější jsou mladušky stavitelky, které staví voskové dílo, mladušky přejímatelky a zpracovatelky potravy tvořící med. Délka života dělnice je

proměnlivá. Letní včely při silné snůšce žijí okolo jednoho měsíce, oproti tomu včely zimní generace se mohou dožívat až devíti měsíců.

1.2.5 Včelí dílo

Včelím dílem nazýváme voskové plásty vytvořené dělnicemi stavitelkami. Svými funkcemi tvoří kostru celého včelstva.

Funkce včelího díla

- Odchov plodu
- Ukládání pylu a medu
- Udržování mikroklimatu
- Pohlcování škodlivin
- Komunikace včel

Pro samostatnou tvorbu díla však musí být splněno několik podmínek. Nejdůležitější je potřeba místa, kde budou plásty umístěny. V přírodě to bývají různé dutiny. Člověk pro pohodlný chov nabízí včelám uměle vytvořené úly. Dále pak teplota 35 °C, kterou zajišťují zahříváním a větráním. Topení se ujímají dělnice topičky, které své okolí uvnitř hnízda zahřívají vibracemi letových svalů, naopak větrání se dosahuje přesunem těchto včel do oblasti vstupu, kde stejným pohybem vytváří podtlak a tím zajišťuje ochlazení vnitřního mikroklimatu. Dále je důležité zajištění optimální vlhkosti uvnitř hnízda a samotná přítomnost dělnic stavitelek.

Vosk jakožto hlavní stavební jednotka včelího díla je produkován voskovými žlázami dělnic stavitelek na spodních zadečkových článcích. Podrobněji bude vznik vosku rozebrán v samostatné podkapitole o tvorbě vosku.

Základní jednotkou včelího díla jsou hexagonální buňky, které svým tvarem zajišťují nejefektivnější využití místa, kdy mezi buňkami nejsou žádné vzduchové mezery a dokonale na sebe přiléhají. Jak již bylo zmíněno, buňky jsou využívány k různým účelům. Buňky o specifické hloubce jsou využívány k odchovu dělnic, trubců či královen. Buňky nepravidelné, šikmé či až moc hluboké jsou pak využívány k termoregulaci nebo skladování včelích produktů. [1]

1.3 Zdroje výživy včelstva

Pro správné fungování organismu je potřeba zajistit přísun stravy. Jinak to není ani u včel, které potřebné živiny jako je voda, bílkoviny, sacharidy a lipidy získávají buďto z primárních přírodních zdrojů (pyl, nektar, voda z vodních ploch…) nebo ze sekundárních zdrojů. Sekundární zdroje potravy jsou zdroje vytvořené včelstvem z primárních zdrojů. Za příklad sekundárního zdroje můžeme považovat med. Je vhodné poznamenat, že při ideálních podmínkách včela medonosná vyhledává zdroje do vzdálenosti pěti kilometrů od svého hnízda, načež majoritní složku snůšky činí potrava nasbíraná v okolí do tří kilometrů.

Včelstvo sbírá potravu, kdykoliv je k dispozici, bez ohledu na stav zásob. Sběr zajišťují dělnice létavky. Létavky se dělí na pátračky, které objevují nové zdroje potravy a informace o těchto zdrojích předávají sběratelkám pomocí včelích tanců. Při včelím tanci je včela schopna předat druhé informaci o vzdálenosti, směru a vydatnosti zdroje. Jedním z prvních, kdo popsal význam včelích tanců, byl rakouský držitel Nobelovy ceny Karl von Frish, který odkryl mnohá tajemství komunikace, orientace a smyslového vnímaní včel. [1] [9]

1.3.1 Voda

Význam vody pro život včely je zásadní. Jedná se o univerzální rozpouštědlo, díky kterému probíhají veškeré metabolické pochody. Za pomoci vody je také včelstvo schopno udržovat ideální mikroklima hnízda (teplota, vlhkost).

Včely sbírají vodu v závislosti na akutní potřebě. Zásoby netvoří, jedním z důvodu je poměrně rychlý výpar uvnitř hnízda. Zdrojem vody pro včely mohou být přírodní vodní plochy, ze kterých spolu s vodou čerpají i minerální látky. Nemají-li včely dostupný stálý zdroj pitné vody, jsou nuceny sbírat ranní rosu.

Během vysoušení medu, kdy obsah vody v medu prudce klesá, může včelstvo využít i tuto možnost, při větších snůškách pak vypařovaná voda zcela pokryje potřebu včelstva. V krizových situacích můžou jako zdroj vody využít i vody metabolické vznikající při metabolických pochodech. Tato voda však pozbývá minerálních látek, a tak se k této možnosti včely uchylují jen v nouzových případech.

1.3.2 Bílkoviny

Bílkoviny hrají v životě včel důležitou roli. Plod potřebuje velké množství bílkovin pro svůj růst, dělnice pro tvorbu krmné kašičky, zvýšenou spotřebu mají i čerstvě vylíhlé mladušky. Získané bílkoviny z potravy jsou v žaludku včely štěpeny na samotné aminokyseliny, ze

kterých si je včela schopna syntézou vytvořit vlastní bílkoviny. Jedinou výjimkou je matka, ta přijímá od dělnic již hotové bílkoviny a nemusí je znovu syntetizovat a může veškerou energii zaměřit na rozšiřování včelstva.

Primárním zdrojem bílkovin je pyl. Pyl se do hnízda dostává na zadním páru nohou. Při přenosu pylu včelou dochází i k nesmírně důležitému opylování rostlin. Jelikož je pyl pro včely obtížně stravitelný, dochází k úpravě pylu fermentací na plástový pyl (pergu). Při fermentaci dochází k narušení obalu pylových zrn. Spotřeba pylu se u jednoho včelstva pohybuje mezi třiceti až čtyřiceti kilogramy ročně.

Odstraňováním bílkovin z těla včely vzniká podobně jako u ptáků a plazů kyselina močová, kterou lze vylučovat za značné úspory vody.

1.3.3 Sacharidy

Sacharidy jsou pro včelstvo primárním zdrojem energie. Získaná energie je využívána pro termoregulaci mikroklimatu hnízda, samotný pohyb včel a udržování metabolických pochodů.

Významnými sacharidy využívané včelstvem jsou monosacharidy glukóza (hroznový cukr) a fruktóza (ovocný cukr). Oba tyto cukry jsou základními složkami medu, medovice a nektaru. Spojením fruktózy a glukózy glykosidickou vazbou vzniká sacharóza, ta je typicky obsažena v nektaru, oproti tomu v medovici a medu se nachází už ve značně menším množství. Dalším důležitým disacharidem je trehalóza, která se uplatňuje jako transportní forma glukózy hemolymfou včely. Mezi významné oligosacharidy pro včelstvo patří melecitóza obsažená v medovici.

Hlavními zdroji sacharidů je nektar a medovice. Nektar je tekutina vytvářená převážně krytosemennými rostlinami. Nektar je vylučován na místě zvaném nektarium. Nektar se může vylučovat buď na květech rostliny, nebo mimo květ, například na řapíku. Pro opylovače je významný první případ, kdy se nektar uvolňuje na ploše květu. Nektar je složením velmi bohatý na sacharózu, fruktózu a glukózu. Nektar různých rostlin má různé složení. U některých rostlin je dominantní sacharóza, u některých naopak glukóza s fruktózou, nebo také mohou být v rovnováze. Chuť a vůně je typická pro každý druh rostliny produkující nektar, který je včelou sbírán.

Medovice je sladká, lepkavá tekutina produkována některými druhy polokřídlého hmyzu na povrch rostlin. Vznik medoviny je spojen se způsobem výživy konkrétního polokřídlého

hmyzu, hmyz svým bodavě sacím ústrojím nabodává buňky rostlinného pletiva rostliny a přijme rostlinné asimiláty bohaté na sacharidy. Přebytečné sacharidy jsou pak vylučovány z těla a následně sbírány nejen včelami. Významným producentem medovice v ČR je mšicosavý hmyz, mezi který patří mšice, mery a červy.

V medovici jsou obsažené stejné cukry jako v nektaru (sacharóza, glukóza, fruktóza) a navíc i melecitóza. Obdobně jako u nektaru je složení medovice rozdílné a tím pádem i produkovaný med má jinou chuť, vůni, ale také i míru krystalizace. U medovice záleží, jaký druh polokřídlého hmyzu medovici vytváří. Je tedy obvyklé, že různé druhy producentů medovice žijící na téže rostlině vytvářejí medovice s rozdílným zastoupením cukrů. [1] [3] [6]

2 VČELÍ PRODUKTY

Ke správnému fungování včelstva je včelami vyráběno několik produktů. Tyto produkty pak zajišťují nejrůznější funkce. K zajištění dostatečné výživy produkují med, krmné kašičky a pyl, pro stavbu hnízda vzniká včelí vosk, k jeho ochraně pak včely vyrábějí propolis podporující imunitu hnízda. Na obranu hnízda se pak v těle tvoří včelí jed. Některé z těchto produktů jsou v případě přebytku včelám včelaři odebírány a prodávány. V současné době jsou včelstvu nejčastěji odebírány tyto produkty: med, vosk, mateří kašička, včelí jed a propolis. V této kapitole se zaměříme pouze na med, včelí vosk a propolis.

2.1 Med

V dokumentu Codex Alimentarius (1989) je med charakterizován jako potravina sacharidového charakteru složená převážně z fruktózy, glukózy, enzymů, organických kyselin a pevných částic zachycených při sběru nektaru a medovice včelami, které sbírají, přetvářejí kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech. V legislativě České republiky je definice medu ukotvena v §7 vyhlášky č. 76/2003 Sb. Ministerstva zemědělství ČR platné ode dne 27. 3. 2003. [7]

2.1.1 Druhy

Med můžeme řadit do několika skupin podle hledisek zmíněných ve vyhlášce č 76/2003 Sb.

1) Podle původu

   Důležitým hlediskem je původ medu. Jak již bylo zmíněno, včely vytváří med buďto z nektaru nebo medoviny, proces přeměny nektaru nebo medoviny na med je totožný, co se ale liší, je zastoupení jednotlivých cukrů a obsah různorodých aromatických látek, éterických olejů, barviv fytoncidů atd. Rozlišujeme tedy medy **květové** (nektarové) a **medovicové.**

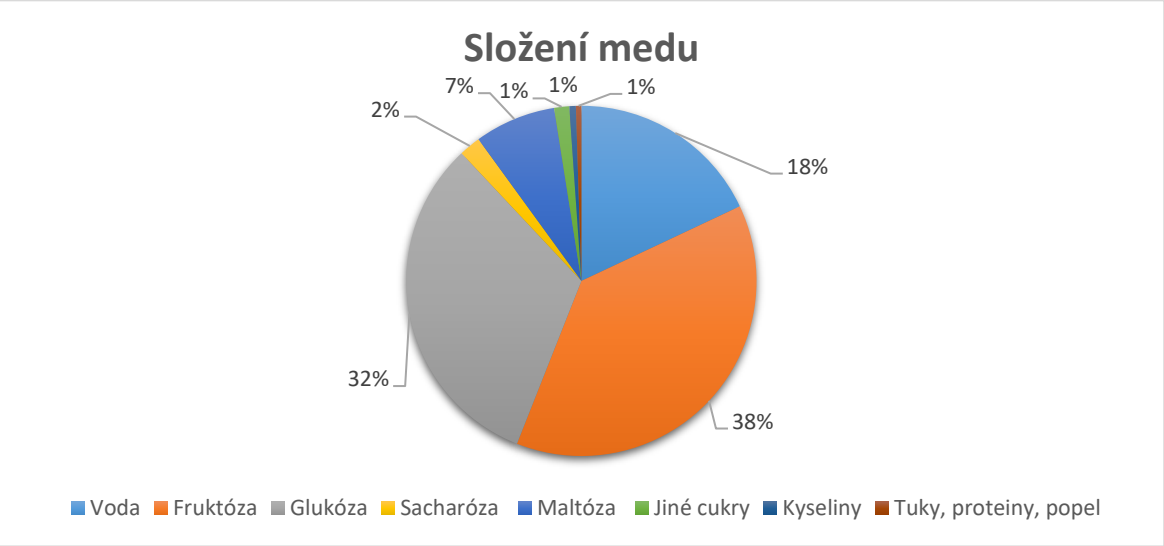
2) Podle zpracování

   Dalším hlediskem pro třídění medu je metoda zpracování. Nejčastěji se setkáváme s medem **vytáčeným**, který se získává působením odstředivé síly na med v plástech v medometu. **Plástečkový** med není stáčený, ale uložený a zavíčkovaný v plástvích, tak jak ho tam uložily včely. **Lisovaný** med se získává lisováním částí pláství obsahující med. Dále je zmíněný i med **vykapaný z plástů**, **filtrovaný** med se sníženým obsahem pylových zrn a med **pastový**, u kterého byla technicky ovlivněna krystalizace. Nakonec

vyhláška zmiňuje i med **pekařský**. Ten nelze považovat za určený k přímé konzumaci kvůli zvýšenému obsahu vody.

2.1.2 Vznik

Vznik medu je komplikovaný proces, na kterém se podílí mnoho jedinců. Včely přenášejí nektar nebo medovici (sladinu) v medném váčku do úlu, kde ji předávají dělnicím přejímatelkám. Tím se sladina zařadí do koloběhu potravy. Donesená kapka je spolknuta a následně několikrát předávána, než je uložena do zásobní buňky. Během opětovného předávání kapky sladiny již probíhají chemicko-fyzikální procesy jako je obohacování z hltanových žláz o enzymy, aminokyseliny, tuky a vitamíny. Dále dochází ke štěpení vyšších cukrů a disacharidů na monosacharidy, převážně na glukózu a fruktózu. V neposlední řadě dochází i k zahušťování medu způsobenému odpařováním nadměrné vlhkosti. Průměrné složení medu je z 18 % tvořen vodou, viz Obr. 1. [3] [6]



Obr. 1: Složení medu

2.1.3 Využití

Med má výborné nutriční vlastnosti jako doplněk stravy lidí, a dokonce se u něj prokazatelně objevují i léčivé účinky. Svými antibakteriálními účinky je vhodným přírodním lékem při nachlazení a zánětech horních cest dýchacích. Pozitivní účinky medu se projevují i u problémů spojených se zažívacími potížemi a chrání stěnu žaludku a střev. Při onemocnění ledvin je ideálním doplňkem stravy, jelikož svým téměř nulovým obsahem bílkovin ledviny nenamáhá. Med je i dobrým prostředkem pro regeneraci po fyzické námaze. Dále je med využíván napříč potravinářským, kosmetickým a farmaceutickým průmyslem.

2.2 Včelí vosk

Včelí vosk je přirozený produkt, který vzniká metabolickou přeměnou medu a pylu v těle dělnic stavitelek. Včelí vosk je tvárná, chemicky inertní látka, na dotyk není mastná a nelepí. Co se týče chemického složení, obsahuje vosk až 284 různých složek. Asi 111 z nich jsou těkavé látky tvořící charakteristickou vůni včelího vosku. Nejvíce zastoupené jsou nasycené a nenasycené uhlovodíky, monoestery (převážně kyseliny palmitové) a diestery, volné kyseliny (kyselina cerotová a neocerotová) a volné alkoholy (myricylakohol a cerylalkohol). [1], [3]

2.2.1 Vznik

Vosk je včelou stavitelkou vylučován žláznatým epitelem nacházejícím se na 3-6 článku spodní strany zadečku na tzv. voskových zrcátkách. Na povrchu zadečku vlivem vzduchu rychle tuhne do tvaru voskové šupinky. Včela pak tuto šupinku pomocí svých noh přesune ke kusadlům, na kterých ji rozmělní na vláčnou hmotu a následně připojí k včelímu dílu.

2.2.2 Získávání

Včelí vosk mohou včelaři získávat tak, že z úlu vyjmou rámky s plásty a pomocí kuřáku včely uklidní. Včelař pak seškrábne voskovou čepičku, která pokrývá med v plástech, a med vysaje. Plást se pak může roztavit, aby se získal vosk, který se pak filtruje, aby se odstranily nečistoty.

2.2.3 Využití

Včelí vosk se využívá v mnoha odvětvích. Lze jej využít jako protikorozní opatření na kovech, impregnaci dřevěných a kožených výrobků. V medicíně se využívá směs vosku, oleje a fenolu při kraniotomii pro potlačení krvácení. Dále se používal v potravinářství při balení a konzervaci potravin, u kterých zabraňoval jejich vysoušení. V kosmetickém průmyslu je včelí vosk nenahraditelnou surovinou díky jeho vlastnosti lépe zadržovat vodu v mastích a krémech. Velmi často se setkáváme se včelím voskem ve formě dekorativních vonných svící. I když byl vosk v mnoha těchto odvětvích vystřídán syntetickými vosky, byl nenahraditelnou součástí našich životů po mnoho let. [3]

2.3 Propolis

Propolis, jinými názvy také včelí tmel, smoluňka či dluž, je včelí produkt s léčivými účinky. Jedná se o směs včelího vosku a pryskyřic nasbíraných z rostlin, převážně z květních a

listových pupenů. V našich podmínkách včely sbírají propolis především na topolech, osikách, olších, břízách, vrbách, slunečnicích, dubech a některých jehličnanech. Propolis zajišťuje „dezinfekci“ vnitřních prostorů úlu, kdy pokrývají propolisem mrtvé vetřelce, které nejsou schopné vynést ven z úlu. Název propolis pochází z řečtiny: pro polis = před městem. S propolisem se tedy nejčastěji setkáváme na vstupní bráně do úlu. Včely jsou schopny propolisem tuto bránu utěsňovat v případě potřeby (případný útok slídivých včel, období intenzivních dešťů).

2.3.1 Vznik

Po odkousnutí lepkavé hmoty pupenů si včely nalepí propolis do pylového košíčku a pomocí kusadel do nich přidávají výměšky svých žláz. Tím zajistí přítomnost flavonoidů ve formě aglykonů a N-glykosidů. Tvorba propolisových hrudek je velmi energeticky náročný proces zabírající déle než půl hodiny. Po zanesení propolisových hrudek včelou do úlu jí ostatní úlové dělnice pomáhají se zbavením hrudky, jelikož včela není schopna se sama propolisové hrudky zbavit. Vznik propolisu do dnešního dne nebyl přesně popsán.

2.3.2 Získávání

K zisku propolisu existuje několik metod. Včelaři buďto oškrábávají propolis ze stěn vstupní brány úlu, nebo instalují propolisové pasti, do kterých včely ukládají propolis. V neposlední řadě jde i použít ethanolová rozpouštědla k zisku propolisu.

2.3.3 Využití

Propolis zažívá v poslední době velký nárůst popularity. K nejrozšířenějšímu použití propolisu dochází v kosmetice pro jeho regenerační účinky. Díky svým antimykotickým, fungicidním a baktericidním účinkům, se propolis uplatňuje v přírodním lékařství, a to převážně ve východních zemích, v poslední době se i zkouší využít propolis jako pesticid. Propolis má své využití i v potravinářství pro své konzervativní a antioxidační účinky.[3]

3 KONTAMINACE VČELÍCH PRODUKTŮ

V této kapitole byla věnována pozornost problematice reziduí nepůvodních látek, která se nacházejí ve včelích produktech, a to zejména v medu. Hlavním zaměřením této kapitoly je zkoumání využití včelích produktů jako spolehlivého přírodního indikátoru pro identifikaci a hodnocení znečištění životního prostředí.

Z výroční zprávy Evropského úřadu pro bezpečnost potravin z roku 2021 vyplývá, že včelí produkty jsou nejvíce zasaženy rezidui fungicidů a insekticidů. Celkově bylo nalezeno 28 pesticidů ve vzorcích, zvláštní důklad studie kladla na koncentrace thiaklopridu a acetamipridu. Oproti loňské zprávě je vyzdvižen pokles thiaklopridu, kvůli jeho plošnému zákazu na území EU. Koncentrace kovových prvků ve vzorcích včelích produktů jsou výroční zprávou považovány ze zdravotního hlediska za zanedbatelné. [8]

3.1 Cesty vstupu polutantu

Při snůšce potravy potřebné ke správnému chodu včelstva se včely vydávají až do vzdálenosti 5 kilometrů, většina letů za potravou se však odehrává v okruhu o poloměru tří kilometrů. Při těchto esenciálních cestách za obživou se včela dostává do kontaktu s ovzduším, vodou, rostlinami a půdou. V kontaminovaných oblastech může docházet k šíření polutantu v biosféře, je-li úl umístěn v takové oblasti postižené znečištěním, znečištění se projeví i ve výsledných včelích produktech i samotných včelách. Kontaminace může nastat několika cestami. Z ovzduší se polutant může přímo usadit na ochlupené tělo včely nebo na povrch květu. Dále se kontaminant z ovzduší může dostat do půdy mokrou depozicí, ze které se pomocí kořenového systému rostlin dostává zpět do květu. Nic netušící včela pak do svého organismu takovou látku přijme z pylu. Ke kontaminaci může dojít i ze závadných zdrojů vody. [5][9]

3.2 Včelí produkty jako bioindikátor

Z řady výzkumů vyplývá fakt, že medy produkované včelstvem pohybujícím se v oblasti kontaminované těžkými kovy vykazují zvýšené koncentrace těchto polutantů v jejich produktech. Včelstva jsou pak nejvíce využívaná k bioindikaci kvality ovzduší, na jehož změnu jsou velmi citlivá. Nejdrastičtějším průkazem této citlivosti byly masové úhyny včelstev. Za zmínku stojí úhyn 600 včelstev v okolí Banské Bystrice po intenzivním spalování nekvalitního uhlí uvolňujícím do ovzduší As_2O_3. Po zavedení bezolovnatých benzínů byla provedena studie sledující pokles koncentrace olova v plástovém pylu RNDr.

Tatianou Čermákovou. Během jednoho roku poklesla koncentrace olova v plástovém pylu o 50 %. Byla provedena studie na včelstvu v okolí silně zatěžovaného dopravního uzlu, zkoumající včelí produkty i samotné včely na přítomnost olova, zinku a kadmia. Výsledky prokázaly zvýšenou koncentraci kovů v mrtvých včelách nalezených poblíž úlu. Zvýšená koncentrace byla pozorována i v medu a mateří kašičce produkované tímto včelstvem. Další studie provedená v Egyptě porovnávala koncentraci několika těžkých kovů mezi vzorky odebranými v znečištěných městských oblastech a vzorky z oblastí s výrazně nižší hustotou obyvatelstva a průmyslu znovu poukazují na vyšší koncentraci polutantů ze znečištěných oblastí. [3][10][11]

Včelstva se dají vyžít jako bioindikátor i jinak než potvrzení nebo upozornění na kontaminaci životního prostředí. Bioindikační vlastnosti se dají uplatit při studii radionuklidů např. ve středisku atomového výzkumu v Los Alamos. Havárie Černobylské jaderné elektrárny znamenala velký nárůst měření koncentrací radionuklidů v přírodě po celém světě, zejména v Evropě. V roce 1990 vznikla studie italských vědců potvrzující, že pyl je nejlepším indikátorem pro radioaktivní znečištění mezi včelími produkty. Včely se využívají i jako prospektorky. Rostliny poskytující včelám nektar a pyl získávají minerální látky z vodního roztoku v půdě. Tím pomáhají těžebním společnostem odhalit přítomnost některých minerálů jako olovo, mangan, zinek, měď aj..[3][12]

4 TĚŽKÉ KOVY

Těžké kovy, stopové kovy, toxické kovy. Navzájem často zaměňované názvy skupiny kovových prvků, které představují riziko pro živé organismy. Termín stopové prvky je označení pro skupiny kovů vyskytující se přirozeně v organismu nebo životním prostředí ve velmi nízkých koncentracích, řádově v jednotkách ppm. Pro lidský organismus jimi jsou např. zinek, chrom a železo. Těžkými kovy je označována skupina kovů mající specifickou hmotnost vyšší $5g \cdot cm^{-3}$, typickým zástupcem je olovo. Označení toxické kovy je pak pro skupinu, které při překročení určité prahové hranice působí škodlivě na biotické složky ekosystému. Dle Úmluvy o dálkovém přenosu látek znečišťující ovzduší a k tomu přidruženému Protokolu o těžkých kovech z roku 1998 patří mezi těžké kovy arsen, kadmium, chrom, měď, rtuť, nikl, olovo a zinek.

V ekotoxikologii je preferován termín těžké kovy, zahrnuje prvky jako měď, zinek, kadmium, chrom, mangan, železo a rtuť. V přírodě se kovy vyskytují v elementární formě nebo ve formě solí. Jsou přirozenou součástí zemské kůry a prostřednictvím přirozených migračních pochodů mohou přecházet do živých částí ekosystému. Migrační pochody mohou mít i umělý původ (antropogenní). U některých kovů začínají antropogenní způsoby převažovat ty přírodní, např. u rtuti. Závažným problémem je i interakce těžkých kovů s mikroorganismy. Některé půdní mikroorganismy jsou schopné umožnit sloučeninu toxických kovů s komplexotvornými látkami. Tyto látky jsou pak z toxikologického hlediska nebezpečnější než jeho původní forma.

Typickou vlastností těžkých kovů v životním prostředí je schopnost bioakumulace. Schopnost konkrétní látky bioakumulace lze stanovit pomocí BCF, což je podíl koncentrace látky v živém organismu ku koncentraci látky v okolním prostředí. [13][14]

Světová zdravotnická organizace ve spolupráci s Organizací pro výživu a zemědělství stanovila maximální přípustné limity pro arsen olovo rtuť a kadmium.

Tabulka 1: Limitní koncentrace kovových prvků v medu

Prvek	**Limitní koncentrace** $[\mu g \cdot kg^{-1}]$
As	15
Pb	25
Hg	5
Cd	7

4.1 Chrom

V živých organismech je chromitý kationt Cr^{+3} přítomen pouze ve stopovém množství a je významným esenciálním prvkem. Naopak, šestimocný chrom Cr^{6+} je velmi toxický a jeho sloučeniny mohou mít karcinogenní a mutagenní účinky. Cr^{6+} poškozuje játra a může způsobovat závažnou dermatitidu, která se projevuje alergickými reakcemi. Čím se dále liší, je mobilitou, šestimocný chrom je vysoce mobilní, a to obzvláště v půdních vodách. Svou toxicitou a vysokou mobilitou se Cr^{+6} považuje za jednoho z nejvýznamnějších kontaminantů životního prostředí. Mezi antropogenní zdroje chromu patří chemický průmysl, spalování fosilních paliv, úpravny rud a hutě. Ze studie sledující koncentraci chromu ze včelstev na předměstí a centru Říma z roku 2001 vychází, že koncentrace se mírně zvýšila v centru Italské metropole. Průměrná hodnota koncentrace chromu byla naměřena 40,1 $\mu g \cdot kg^{-1}$. [13][16]

4.2 Nikl

Nikl je jedním z kovů, který může mít významné toxické účinky na lidský organismus, zejména v některých sloučeninách, jako je chlorid, dusičnan, fosforečnan nebo síran. Lidé se mohou s niklem setkat při zpracování různých niklových nebo poniklovaných součástek, což může vést k vážným zdravotním problémům, včetně rakoviny plic a nosní a krční sliznice. Chronické expozice niklu mohou způsobit poškození srdce, ledvin a centrálního nervového systému. Nikl může být zdrojem znečištění v hydrosféře, atmosféře i pedosféře. Průmyslové povozy jako jsou metalurgické závody, ale také spalovny komunálního odpadu, jsou častými zdroji kontaminace. Z článku sledujícího rozdíl koncentrací niklu v Kosovském medu odebraném na hadcových stepích, které jsou bohaté na Nikl, a na stanovištích nacházejících se mimo tyto hadcovité lokality vyplývá, že koncentrace v medu odebraném ze stanovišť na stepích byla až dvojnásobně větší. Průměrná koncentrace u medu ze stepí byla 3,96 $mg \cdot kg^{-1}$, zatímco mimo byla koncentrace pouze 1,66 $mg \cdot kg^{-1}$. [13][17]

4.3 Zinek

Zinek je měkký kov namodralé barvy, je nedílnou součástí průmyslových slitin jako je mosaz a bronz, které jsou široce využívány. Dříve se při léčbě alkoholismu podávaly léky antabus na bázi dithioharbamátů, v dnešní době se od těchto léků odstoupilo kvůli obavám z možného karcinogenního působení. Zinek patří mezi esenciální prvky, které jsou nezbytné pro lidské tělo, zvířata i rostliny. V organismech plní zinek klíčovou roli jako součást více

než dvaceti metaloenzymů a stovky dalších enzymů. Jeho přítomnost je nezbytná pro správnou funkci metabolismu bílkovin a nukleových kyselin. Sloučeniny zinku se nachází ve všech složkách abiotické části životního prostředí. Antropogenní zdroje zinku zahrnují galvanizaci, použití zinkových pigmentů v barvách a keramických glazurách, slitiny (mosaz, bronz), zemědělství, komunální odpad a kouření. V článku zkoumajícím koncentraci řady kovů, včetně zinku naměřili v polském medu koncentraci zinku v rozmezí $0{,}13 - 9{,}93 mg \cdot kg^{-1}$.[13][18]

4.4 Kadmium

Kadmium je měkký stříbřitý kov, je často používán v moderní technice díky jeho vysoké odolnosti proti korozi. Na rozdíl od zinku, který se často vyskytuje v různých zinkových rudách, kadmium není esenciálním prvkem. Kvůli podobnému atomovému poloměru zinku dochází k náhradě zinku právě kadmiem v některých biochemických strukturách a tím ovlivnění jejich funkčnosti. Je jedním z faktorů, které mohou způsobit vysoký krevní tlak, poškození ledvin, reprodukčních orgánů či destrukci červených krvinek. Kadmium se přirozeně vyskytuje v půdě jako stopový prvek, ale jeho koncentrace se kontaminací může až tisíckrát zvětšit. Některé průmyslové rostliny fungují jako hyperakumulátory kadmia (např. sója, pšenice) a v jejich pletivech se tento kov mnohonásobně koncentruje oproti půdě. Jednou z těchto rostlin je i tabák, což je příčinou významného výskytu kadmia v cigaretovém kouři. Analýzou kadmia ve vzorcích medu v Alžírsku se zajímala francouzsko-alžírská skupina vědců. Průměrná koncentrace kadmia byla rovna $0.071 \pm 0.062\ \mu g \cdot g^{-1}$. Oproti limitům platícím na území EU byla hodnota 10x překročena.

4.5 Platina

Platina, kov stříbrolesklé barvy, je dobře tažná a kujná. Většinou se vyskytuje v oxidovaných formách Pt^{2+} a Pt^{4+}. Používá se především jako katalyzátor při oxidaci organických par ve výfukových plynech automobilů v automobilovém průmyslu. Platina je také využívána v šperkařství a v chemickém a sklářském průmyslu. V automobilovém průmyslu se platina používá spolu s dalšími kovy, jako je palladium a rhodium, kvůli své schopnosti katalyzovat. Koncentrace těchto kovů ve složkách životního prostředí se v posledních desetiletích zvýšily. Některé sloučeniny platiny vykazují mutagenní, karcinogenní nebo toxické účinky.

4.6 Olovo

Olovo se v lidském těle chová jako antagonista vápníku a až 90 % se kumuluju v kostech, což negativně ovlivňuje krvetvorbu, a je příčinou anemických stavů. Pokud tělo trpí nedostatkem vápníku, akumulované olovo opouští kosti a dostává se do krevní oběhu a tím toxicky působí na další orgány. Zejména dochází k poškození jater, ledvin a reprodukčního systému. Olovo také působí neurotoxicky. Zejména u dětí, kde může být příčinnou mentální retardace. Majoritním zdrojem olova v dnešní době je těžba a úprava železných rud. Dříve byl hlavním zdroje olova v ovzduší olovnatý benzín v podobě příměsi tetraethylolova. Tato příměs byla celosvětově zakázána v roce 2008. Prudký pokles zaznamenala studie koncentrace olova ve slovenském medu, kdy již po roce od zákazu koncentrace olova klesla o 50 %. [3][13]

5 METODY ANALÝZY ENVIRONMENTÁLNÍCH VZORKŮ

K zjištění zastoupení kontaminantů a jejich koncentrace v environmentálních vzorcích se dá využít mnoha metod. Tyto metody mají předepsané normy, popisující přesný pracovní postup, aby se minimalizovala rizika neúspěšné analýzy a aby se zajistila jejich reprodukovatelnost.[19]

5.1 Rozklad vzorků

Rozklad vzorků je důležitým krokem v procesu analýzy těžkých kovů v environmentálních vzorcích. Drtivá většina analytických zařízení potřebuje převést organický vzorek do kapalného skupenství. Důvodem pro takovou úpravu je dosažení vhodnější fyzikálních (snížení viskozity, zvýšení homogenity) a chemických (uvolnění analytu z vazeb v matrici vzorku) vlastností. Metody rozkladu lze dle zvoleného postupu rozdělit na suché rozklady, mokré rozklady, oxidační tavení, oxidaci parami, redukční rozklad aj. V této kapitole se především zaměříme na Suchý a mokrá rozklad.[19]

Suchý rozklad

Princip suchého rozkladu spočívá v extrakci vzorku pomocí kyselinového roztoku a následné oxidaci organických sloučenin za vysokých teplot v přítomnosti silného oxidačního činidla (H_2SO_4, H_2O_2). Vzorek se nejprve suší a poté se smíchá s kyselinami. Vzniklá směs se umístí do rozkladového reaktoru, který podrobíme vysoké teplotě a tlaku umožňujícím oxidaci vzorku. Po dokončení je výsledná směs přefiltrována a je připravena k analýze.

Mokrý rozklad

Při mokrém rozkladu se na rozkladu podílí dva zásadní kroky. Přidáním silné kyseliny (např. HNO_3) dochází k hydrolýze. Vzniklé meziprodukty jsou oxidovány oxidačním činidlem (např. H_2O_2). Rozklad probíhá za nižších teplot než suchý rozklad. Maximální teplota je určena teplotou varu směsi reakčních činidel. Samotný rozklad může probíhat v otevřeném nebo uzavřeném systému. Výhody rozkladu v uzavřeném systému jsou nižší časová a energetická náročnost, snížení ztráty těkavých prvků, nižší spotřeba reakčních činidel a při správné manipulaci zamezení kontaminace okolního prostředí. Pro ohřev v uzavřeném systému je využíván konvenční ohřev nebo absorpce mikrovlnného elektromagnetického záření.[19]

5.2 Metody vyhodnocení

Existuje mnoho metod, které lze použít k vyhodnocení, od elektrochemických až po spektrometrické. Typickými rysy těchto moderních analytických metod jsou vysoká citlivost a selektivita a rychlost.

5.2.1 Atomová absorpční spektrometrie

Principem atomové absorpční spektrometrie (AAS) je absorpce záření volnými atomy v plynném stavu. Atomy analytu jsou do plynného stavu převáděny v atomizátorech. Volné atomy v základním stavu v plynné fázi absorbují záření o určité vlnové délce. Energetická hodnota fotonů je charakteristická pro určitý druh atomů a počet absorbovaných fotonů je mírou množství stanovovaných atomů. Metoda umožňuje stanovení více než 60 prvků.

AAS s plamenovou atomizací (F-AAS)

Princip F-AAS spočívá v převodu atomů analytu do plynného stavu pomocí plamene. Tento plamen vzniká spalováním směsi paliva (např. acetylenového plynu) a okysličovadla (např. oxidu dusnatého), která vytváří plamen o vysoké teplotě. Vzorek, který obsahuje analyt, se následně přivádí do plamene a v důsledku vysoké teploty dochází k atomizaci analytu. Při atomizaci dochází k přechodu atomů do vyšších energetických stavů. Tyto atomy se následně vracejí zpět do nižších energetických stavů a uvolňují energii ve formě elektromagnetického záření, které má specifickou vlnovou délku.

AAS s elektrotermickou atomizací (ETA-AAS)

Převod analytu do plynného stavu probíhá v ETA-AAS v elektrotermálním atomizátoru. Tento atomizátor pracuje na principu ohřevu malého množství vzorku ve speciálně odporově grafitové kyvetě. Oproti F-AAS bývá detekční limit až o tři řády nižší.

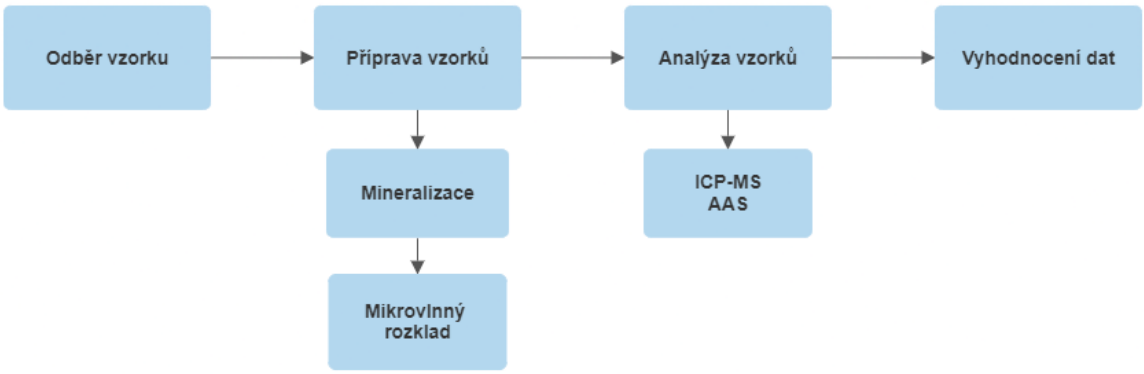
5.2.2 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

ICP-MS je metoda pro stanovení prvků s nízkými detekčními limity. Analyt je rozpouštěn a vstupuje do plazmy jako aerosol, kde je ionizován vysokým teplem při bombardování ionty a elektrony. Vzniklé ionty jsou odděleny a detekovány v hmotnostním spektrometru podle hmotnosti a náboje. Každý prvek má charakteristickou hmotnostní spektrální signaturu, což umožňuje identifikaci a kvantifikaci. ICP-MS nabízí rychlé, přesné a citlivé měření s vysokou selektivitou a schopností detekovat více prvků současně.[21]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Experimentální část byla rozdělena do několika kroků, jak lze názorně vidět na schématu v Obr. 2. Prvním krokem byl samotný odběr vzorků medu, vosku a propolisu. Vzorky byly ukládány do plastových, nebo skleněných vzorkovnic. Pří přípravě vzorků i následné analýze byl kladen důraz na to, aby se vzorky nekontaminovaly. Při manipulaci se tak výhradně používaly plastové pomůcky. Pro udržení čistoty bylo po celou dobu pracováno s ultračistou vodou, zbavenou kontaminantů (ionty, organické znečištění), které by mohly analýzu ovlivnit.



Obr. 2: Schéma postupu experimentální části

6.1 Odběr vzorků

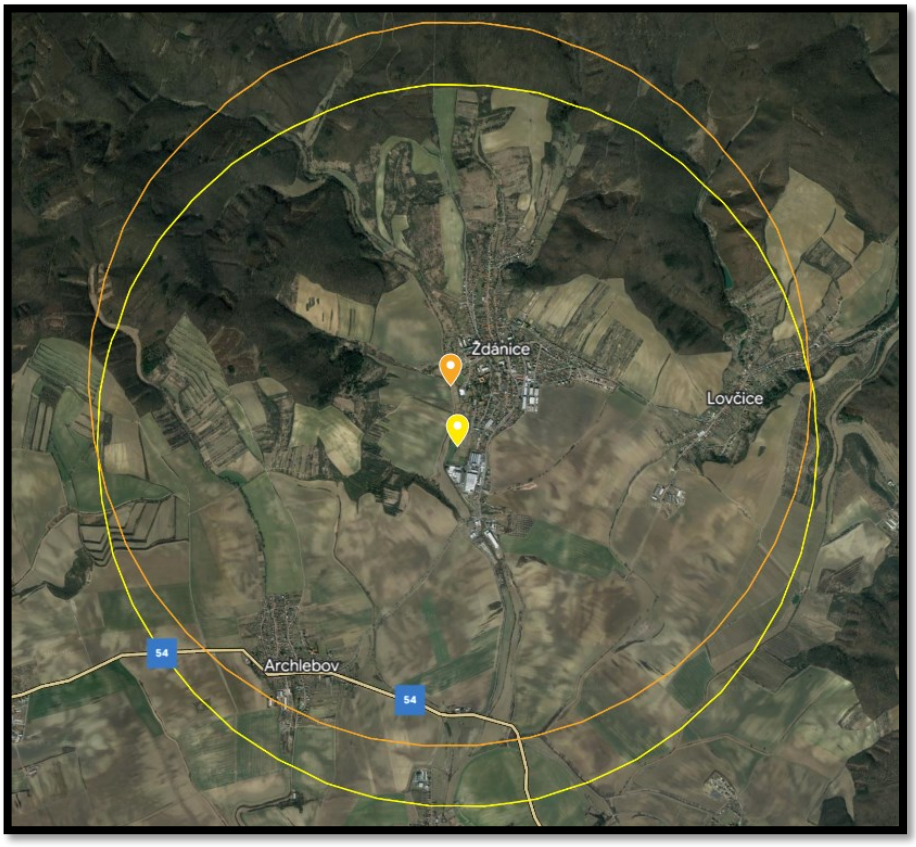
V bakalářské práci bylo celkově k analýze odebráno jedenáct vzorků převážně z Jihomoravského kraje, jeden vzorek byl poskytnut od včelaře z Bora u Tachova a dva od včelaře z Komárova ve Zlínském kraji. Na čtyřech stanovištích byl zároveň s medem odebrán i vosk a propolis, a to z důvodu sledování kovů napříč včelími produkty, jelikož jsou zpracovávány různými biochemickými pochody.

Ve vzorcích včelích produktů předpokládáme zvýšené koncentrace minerálních látek jako je železo a zinek a stopových prvků, například měď, mangan a chrom. Zvýšená pozornost bude věnována olovu a kadmiu, pro které jsou legislativně stanoveny maximální povolené koncentrace Evropskou unií nebo zákony České republiky.

V uvedených mapách je zakreslena kruhová plocha o poloměru tří kilometrů, na kterých včelstvo vyhledává svou potravu.

6.1.1 Stanoviště Ždánice

Tyto vzorky medu pochází z obce Ždánice. Jeden vzorek byl odebrán přímo v blízkosti pole, druhý pak v blízkosti malého rybníka. Úly jsou lokalizovány na periférii městské zástavby a v okolí mají včely dostupné převážně zemědělsky obdělávanou plochu a zdejší Ždánický les. Za zmínku stojí, že v doletové vzdálenosti včelstva se nachází dva průmyslové závody, a to galvanovna a kalírna. Na těchto stanovištích byl spolu s medem odebrán i vosk a propolis.



Obr. 3: Umístění včelstev – Ždánice

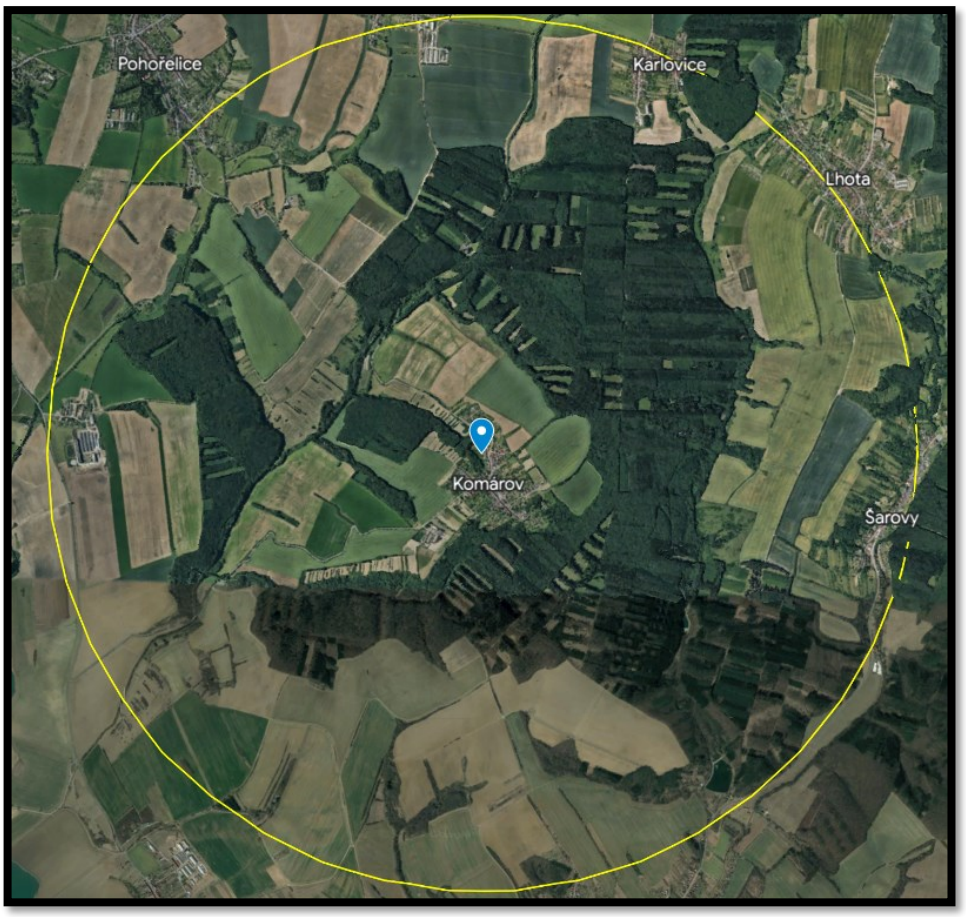
Obě včelstva byla během zimního období léčena amitrazem a v červenci 2022 kyselinou mravenčí.

6.1.2 Stanoviště Hodonín

Obr. 4: Umístění včelstva – Hodonín

Toto včelstvo je umístěno v samém srdci města Hodonín poblíž autobusového nádraží. V okolí úlu tak výrazně převyšuje městka zástavba, ve které se nachází zahrady a parky, ve vnější části kruhu jsou pak včelám k dispozici pole a lesy. Ve vyznačeném kruhu se vyskytuje také průmyslová oblast. Na tomto stanovišti se odebraly i vzorky vosku a propolisu. Včelstvo bylo léčeno v ke konci letošní zimy amitrazem a flavulinátem.

6.1.3 Stanoviště Komárov



Obr. 5: Umístění včelstva – Komárov

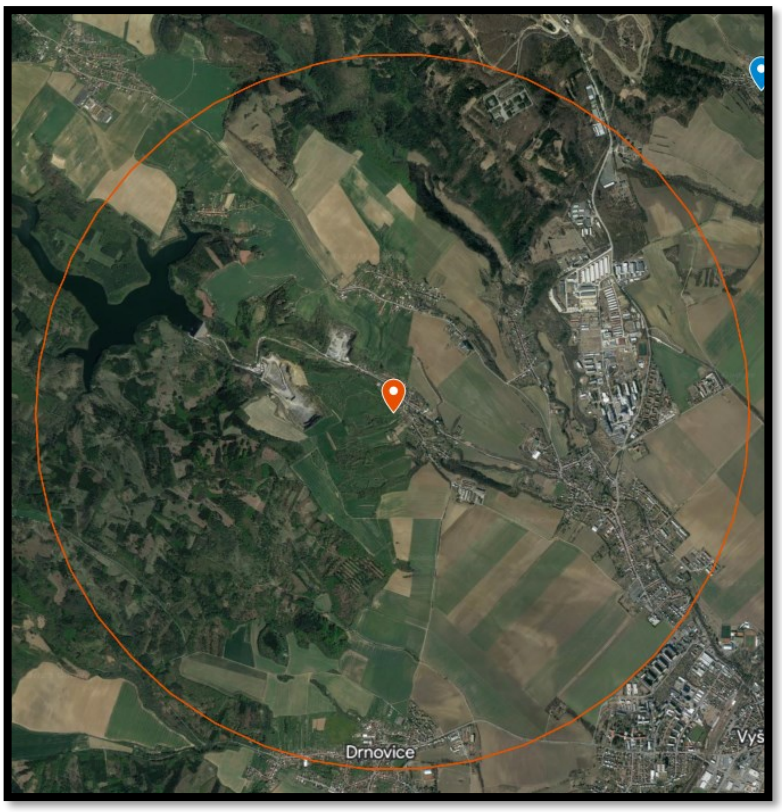
Stanoviště tohoto včelstva je položeno v obci Komárov. V okolí úlu jsou mimo zahrad spoluobčanů převážně lesy, pole a louky. Z tohoto stanoviště byl odebrán v průběhu roku jak med květový, tak i med smíšený.

6.1.4 Stanoviště Hlubočany

Obr. 6: Umístění včelstva – Hlubočany

Tyto vzorky včelích produktů pochází z obce Hlubočany. Včelstvo je umístěno v zahradě u rodinného domu. V okolí se nachází jiné zahrady, louky a převážně mnoho plochy využívané k zemědělskému užitku. Za vyznačeným kruhem doletu, kam se včely v případě nedostatku živin vydávají se nachází skládka komunálního odpadu Kozlany. Z tohoto stanoviště byl odebrán med, vosk i propolis.

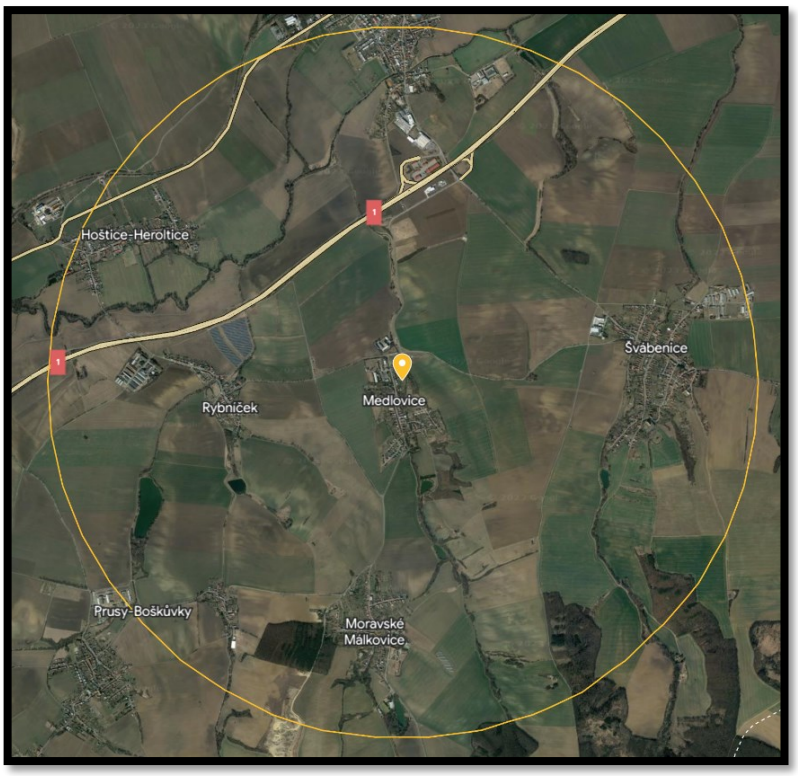
6.1.5 Stanoviště Opatovice



Obr. 7: Umístění včelstva – Opatovice

Stanovištěm tohoto medu je umístěno v obci Opatovice u Vyškova. Nejpodstatnějším rysem tohoto stanoviště je jeho umístění v přímé blízkosti vodní nádrže Opatovice, která je zásobou pitné vody pro obyvatele obcí na Vyškovsku a v okolí Bučovic. Stanoviště je umístěno v ochranném pásmu vodních zdrojů druhého stupně a velká část plochy v doletové vzdálenosti je řazena do ochranného pásma prvního stupně. Do průměrné doletové vzdálenosti lehce zasahuje i vojenský újezd Březina, dříve známý jako vojenský výcvikový prostor Dědice, který byl zřízen vládou ČSR v roce 1936.

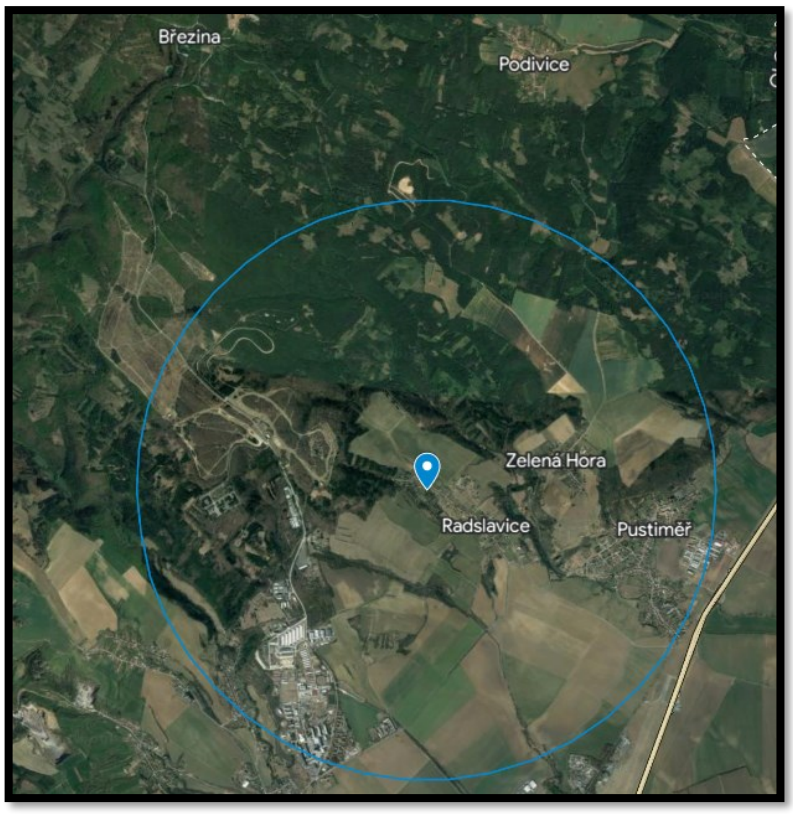
6.1.6 Stanoviště Medlovice



Obr. 8: Umístění včelstva – Medlovice

Toto stanoviště se nachází v malé obci Medlovice, v doletové vzdálenosti úlu jsou rozsáhlé lány polí, rybník a menší hájky. Dále se v okruhu doletu nachází úsek dálnice D1 a montovna automobilových dílů.

6.1.7 Stanoviště Radslavice



Obr. 9: Umístění včelstva – Radslavice

Obec Radslavice spadá spolu s medem z Opatovic pod geomorfologický útvar Drahanské vrchoviny, jejíž součástí je již zmíněný Vojenský újezd Březina, se kterým Radslavice přímo sousedí, a včelstvu se tak nabízí převážně lesní prostory, které jsou v průběhu roku intenzivně využívány ke cvičení nových uchazečů o vstup do Armády ČR, či cvičení těžké vojenské techniky.

6.1.8 Stanoviště Bor u Tachova

Stanoviště jediného medu z Čech je umístěno v okrajové části města Bor u Tachova. V okolí úlu se nacházejí louky, pole, lesy, rybníky a také městská zástavba složená z parků a zahrad

Obr. 10: Umístění včelstva – Bor u Tachova

6.1.9 Stanoviště Tučapy

Úl lokalizovaný v obci Tučapy. V blízkosti hnízda jsou převážně zahrady, zemědělsky obdělávaná pole a velmi vytěžovaná část dálnice D1.

Obr. 11: Umístění včelstva – Tučapy

6.2 Příprava vzorků

Pro úspěšné kvantitativní a kvalitativní stanovení hledaného vzorku je jej nutno rozložit a tím uvolnit z matrice vzorku hledané analyty. K tomuto stanovení byla použita metoda mineralizace „mokrou cestou“ a následný rozklad vzorku za využití mikrovlnného záření.

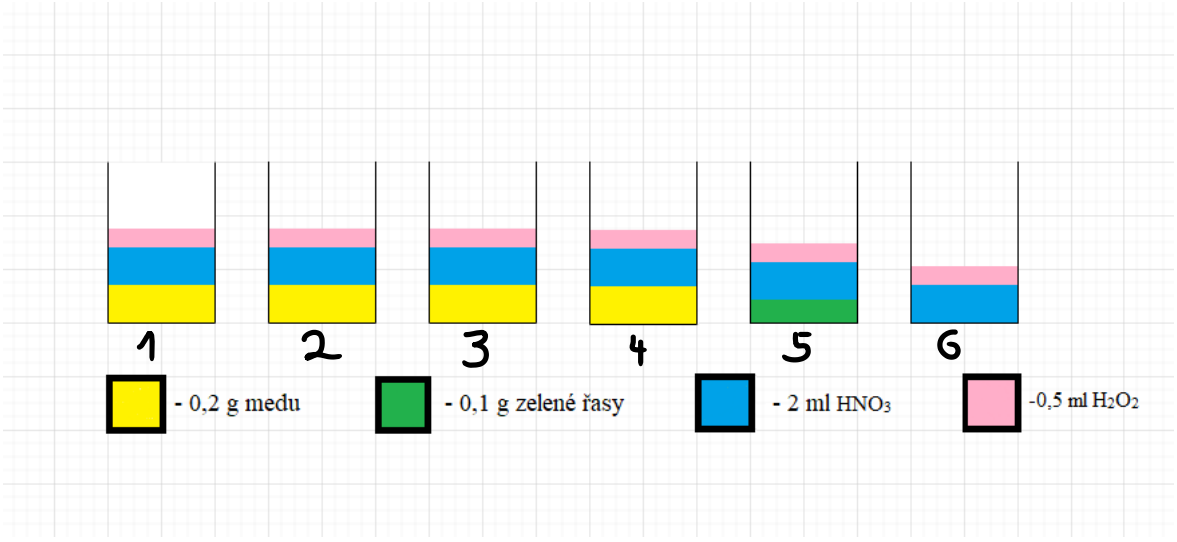
6.2.1 Mineralizace

Pro přípravu vzorku k mineralizaci byl 0,2 g biologického vzorku smíchaný s 2 ml koncentrované kyseliny dusičné 0,5 ml peroxidu vodíku v teflonovém mineralizačním kelímku. U každé sady byl zároveň proveden slepý pokus samotné rozkladné směsi a kontrolní pokus, kdy byl k směsi přidán 0,1 g zelené řasy pro kontrolu jakosti.

Použité chemikálie:

- Peroxid vodíku pro ultrastopovou analýzu, obsah minimálně 30 %. analpure-ultra, Analytika, spol. s.r.o.
- Kyselina dusičná 65 – 69 % analpure- ultra, Analytika, spol. s.r.o.
- Ultračistá voda pro AAS, HPLC
- Zelená řasa METRANAL, Analytika, spol. s.r.o.

Při manipulaci se vzorky byly použity plastové lžíce, aby se minimalizovala šance kontaminace kovy.



Obr. 12: Obsah mineralizačních kelímků

K realizaci mineralizaci byl použit mikrovlnný laboratorní systém MLS 1200, který souběžně zajišťuje rozklad šesti vzorků v teflonových nábojnicích pomocí absorbování mikrovlnného záření. Absorpce záření se projeví zvýšením teploty rozkladné směsi na bod varu a uzavřený systém, ve kterém se vzorek v kelímku nachází, má za následek zvýšení tlaku. Tyto podmínky, kterým je vzorek vystaven, vede k markantnímu nárůstu rychlosti mineralizace oproti suché mineralizaci. Mineralizace probíhala podle předem nastaveného programu, který v časových intervalech mění velikost výkonu dodávané přístroji (viz Tabulka 2).

Tabulka 2: Program při mikrovlnném rozkladu

Krok	Čas [m]	Výkon [W]
1	2	250
2	2	0
3	5	400
4	2	0
5	2	500
6	2	0
7	6	600

Po vychladnutí teflonových nábojnic na laboratorní teplotu byl objem kelímku kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 25 nebo 50 ml. Zbytek objemu baňky byl doplněn po rysku ultračistou vodou a uchován v lednici do doby, než byla provedena samotná analýza.

6.2.2 Kalibrace

Ke kalibraci použitých přístrojů byly připraveny zásobní a kalibrační roztoky kovových prvků.

6.2.2.1 Kalibrace F-AAS

Pro kalibraci AAS byly z výchozích vzorků o koncentraci $1{,}000 \pm 0{,}002\ g \cdot l^{-1}$ připraveny kalibrační roztoky čtyř prvků, jmenovitě zinek, měď, železo a mangan do 100 ml odměrné baňky. Do odměrné baňky byly přidány 3 kapky HNO_3 a doplněny po risku destilovanou vodou. Celkově byly připraveny čtyři kalibrační roztoky o koncentracích uvedené v **Chyba! N enalezen zdroj odkazů.**.

6.2.2.2 Kalibrace ETA-AAS

Ke kalibraci přístroje byl připraven kalibrační roztok tří kovových prvků, konkrétně kadmia, niklu a hliníku. Kalibrační roztoky byly připraveny z výchozích kovových roztoků o koncentraci $1{,}000 \pm 0{,}002\ g \cdot l^{-1}$. Výsledné koncentrace pro jednotlivé kovy jsou:
$c_{Cd} = 20\ \mu g \cdot g^{-1}$, $c_{Ni} = 100\ \mu g \cdot g^{-1}$, $c_{Al} = 500\ \mu g \cdot g^{-1}$

6.2.2.3 Kalibrace ICP-MS

Zásobní roztok byl připraven do odměrné baňky o objemu 250 ml. Jednotlivé prvky byly přítomné v koncentraci $10\ mg \cdot l^{-1}$. Kvůli potřebě okyselení byly do zásobního roztoku

přidány 2 ml HNO_3. K přípravě byly použity výchozí roztoky o koncentraci $1{,}000 \pm 0{,}002\ g \cdot l^{-1}$ v matrici 2% HNO_3. Následně byly do 250 ml odměrných baněk připraveny samotné kalibrační roztoky o koncentraci $1\ mg \cdot l^{-1}, 10\ \mu g \cdot l^{-1}\ a\ 1\ \mu g \cdot l^{-1}$. Seznam použitých kovových roztoků je uveden v Tabulka 3.

Dále byl připraven ladící roztok obsahující prvky Bi, In, Sc, Tb, Y. Výsledná koncentrace ladícího roztoku byla $10\ \mu g \cdot l^{-1}$.

Tabulka 3: Seznam měřených kovových prvků

Prvek	**Izotop**	**Prvek**	**Izotop**
Hliník	^{27}Al	Měď	^{63}Cu
Chrom	^{52}Cr	Zinek	^{66}Zn
Mangan	^{55}Mn	Kadmium	^{111}Cd
Železo	^{57}Fe	Thalium	^{205}Tl
Kobalt	^{59}Co	Platina	^{195}Pt
Nikl	^{60}Ni	Olovo	^{208}Pb

6.3 Analýza vzorků

Pro analýzu byly použity tři analytické postupy F-AAS, ETA-AAS a ICP-MS. Na dvou přístrojích.

6.3.1 AAS

K plamenové i elektrotermické atomové absorpční spektrometrii byl zvolen přístroj Atomový absorpční spektrometr ContrAA 800D od společnosti Analytikjena z Německa. Spektrometr je vybaven širokou škálou technologických funkcí jako je například automatická kalibrace, rychlá změna analyzovaných prvků a možnost měření při vysoké čistotě. Přes všechna pozitiva se však nepodařilo spolehlivě stanovit koncentraci kovů měřených ve vzorcích.

6.3.2 Hmotnostní spektrometr s ICP – Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS

Spektrometr Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS s využitím patentované technologie QCell (Colision cell technology – CCT) byl použit pro analýzu kovů. Tato technologie je specifická v tom, že jako kolizní plyn využívá hélium, což způsobuje rozpad molekulárních asociátů a umožňuje krátkou dobu analýzy a snížení možných interferencí. Na tomto přístroji již byla naměřena potřebná data o koncentraci analytů.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

K vyhodnocení výsledků analýz byly vytvořeny tabulky s obsahem kovových prvků u jednotlivých medů a grafy sledující koncentraci konkrétních izotopů napříč vzorky medů. Dále byly vytvořeny grafy sledující osud kovových prvků ve včelích produktech ze stejného stanoviště. Pro zachování přehlednosti se vzorkům přiřadilo číselné označení vysvětlené v

Tabulka 4

Tabulka 4 Legenda označení vzorků medu

Vzorek	**Označení**	**Vzorek**	**Označení**	**Vzorek**	**Označení**
Ždánice, květový	1	Komárov smíšený	5	Medlovice	9
Ždánice, směsný	2	Hlubočany	6	Radslavice	10
Hodonín	3	Opatovice	7	Bor u Tachova	11
Komárov květový	4	Tučapy	8		

7.1 Koncentrace kovových izotopů ve vzorcích medu

Tabulka 5: Koncentrace kovových izotopů ve vzorcích medu

Vzorek	**c** $[ng \cdot g^{-1}]$					
	^{27}Al	**^{52}Cr**	**^{55}Mn**	**^{57}Fe**	**^{59}Co**	**^{60}Ni**
1	1084±9,5	23,15±1,15	717±7	595,5±10,5	19,305±0,35	60,5±1
2	ND	24,15±1,3	771,5±14,5	567±10,5	16,785±0,85	65,65±1,1
3	ND	26,65±1,25	775,5±11,5	552±9	18,025±0,95	68,85±1,4
4	ND	23,7±1,6	713±6	544±12	16,95±0,65	60,3±1
5	ND	22,75±0,85	772±10	495±8,5	15,36±0,3	63±0,9
6	ND	23,75±1,3	745±12	559,5±10,5	17,3±0,85	66,55±1,35
7	ND	24,75±1,2	739,5±13,5	537,5±5,5	13,01±0,7	63±1,05
8	ND	22,8±0,9	778,5±11,5	545,5±8,5	18,005±0,55	63,15±1,35
9	ND	26,45±1,05	764,5±9,5	515±9	13,325±0,55	68,1±1,2
10	ND	24,9±1,25	749±11	554±8,25	17,6625±1,075	65,725±1,325
11	662±6	22±0,65	767,5±11,5	483±8	16,565±0,25	63,5±0,75

Tabulka 6: Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích medu

Vzorek	c $[ng \cdot g^{-1}]$					
	63Cu	**^{66}Zn**	**^{111}Cd**	**^{205}Tl**	**^{208}Pb**	**^{195}Pt**
1	158,5±4,55	224,5±6,95	2,5345±0,14	1,334±0,2	ND	ND
2	157,9±4,9	267,5±5,6	2,428±0,13	1,439±0,2	ND	ND
3	150±7,15	285±6,95	2,543±0,105	1,4795±0,2	ND	ND
4	156±3,6	223±6,65	2,6395±0,16	1,426±0,15	ND	ND
5	152,45±4,15	273,5±5,1	0,609±0,06	1,3925±0,25	ND	ND
6	132,9±5,8	287,5±6,9	2,5405±0,12	1,439±0,2	ND	ND
7	157±5,9	243,5±6,2	2,346±0,125	1,389±0,3	ND	ND
8	158,9±5,5	287,5±5,85	2,5555±0,1	1,45±0,15	ND	ND
9	135,5±5,85	268±5,95	2,4365±0,1	1,4835±0,2	ND	ND
10	162,25±6,675	286,5±6,825	2,476±0,1375	1,43975±0,175	ND	ND
11	131,85±3	254±3,75	2,587±0,015	1,748±0,2	ND	ND

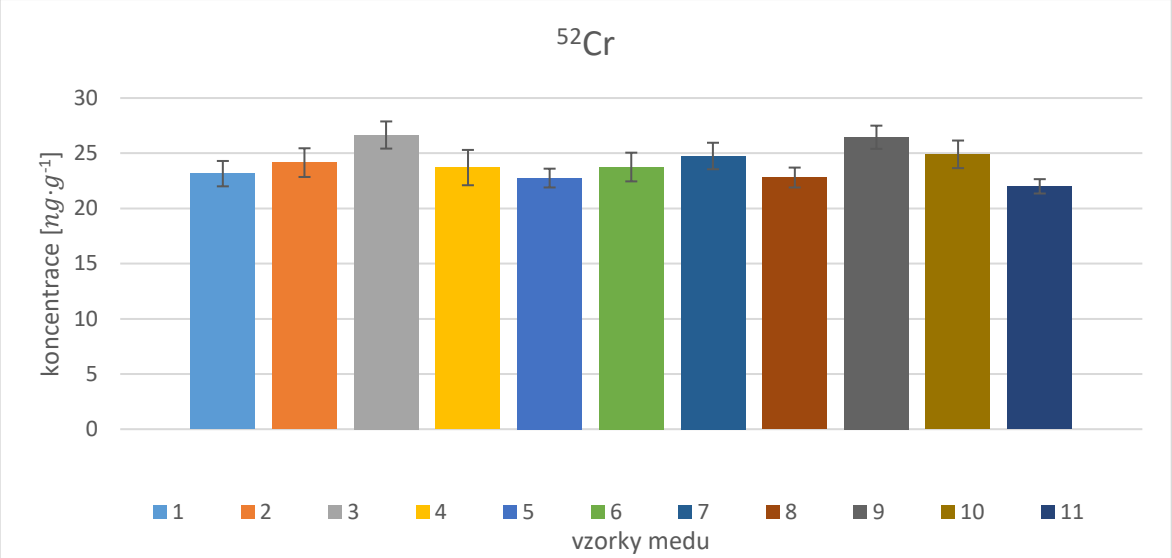
7.2 Koncentrace izotopů ve vzorcích medu

7.2.1 Obsah hliníku v medu

Ve dvou měřených vzorcích byl detekován hliník v rozmezí $650 - 1100\, ng \cdot g^{-1}$. Ve studii provedené v Polsku dvojicí Madejczyk, Baralkiewicz byl obsah naměřený obsah hliníku v rozmezí $11\,000 - 22\,000\, ng \cdot g^{-1}$. Kontaminace hliníku je teda v porovnání s touto studií zanedbatelně malá. Oba vzorky jsou z úlů umístěných v blízkosti polí, což by mohlo naznačovat, že se hliník dostává do vzorku jako součást postřiku, nebo v případě vzorku č. 1 z nedaleké galvanovny. Nulová koncentrace hliníku ve vzorku č. 2, který je odebrán v těsné blízkosti vzorku č. 1, však toto tvrzení zpochybňuje. Nejpravděpodobnější se tak jeví cesta kontaminace hliníkovými nádobami při odběru medu, nebo kontaminaci např. voskovými mezistěny, které si včelaři kupují ve velkých výrobnách, kam vosk dodává mnoho včelařů.

7.2.2 Obsah chromu v medu

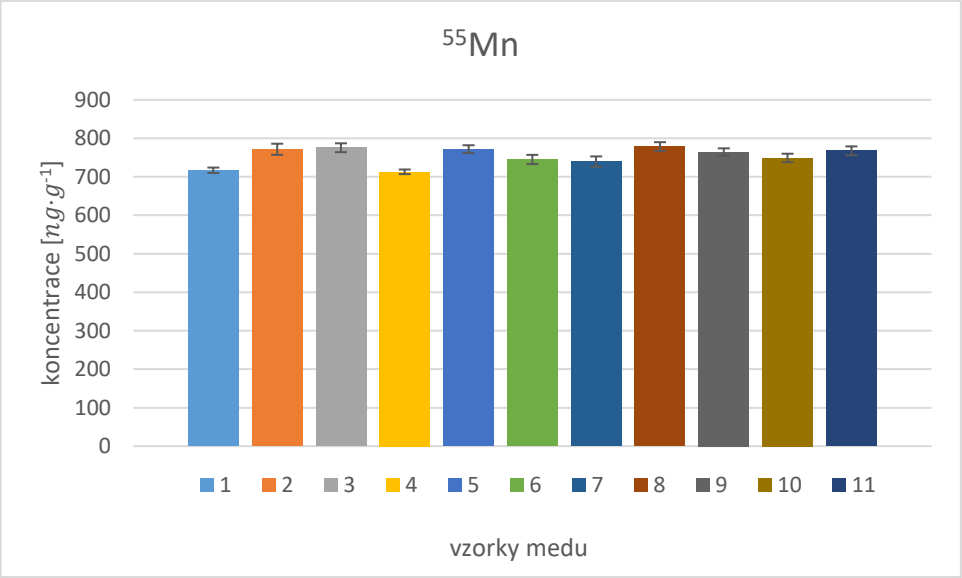
Všechny analyzované medy obsahovaly v přírodě se běžně vyskytující chrom. Koncentrace se pohybovala v rozmezí $22 - 28\, ng \cdot g^{-1}$. Oproti výše zmíněné studie o koncentraci chromu v okolí Říma jsou hodnoty zhruba poloviční. [16]



Obr. 13: Koncentrace chromu v medu

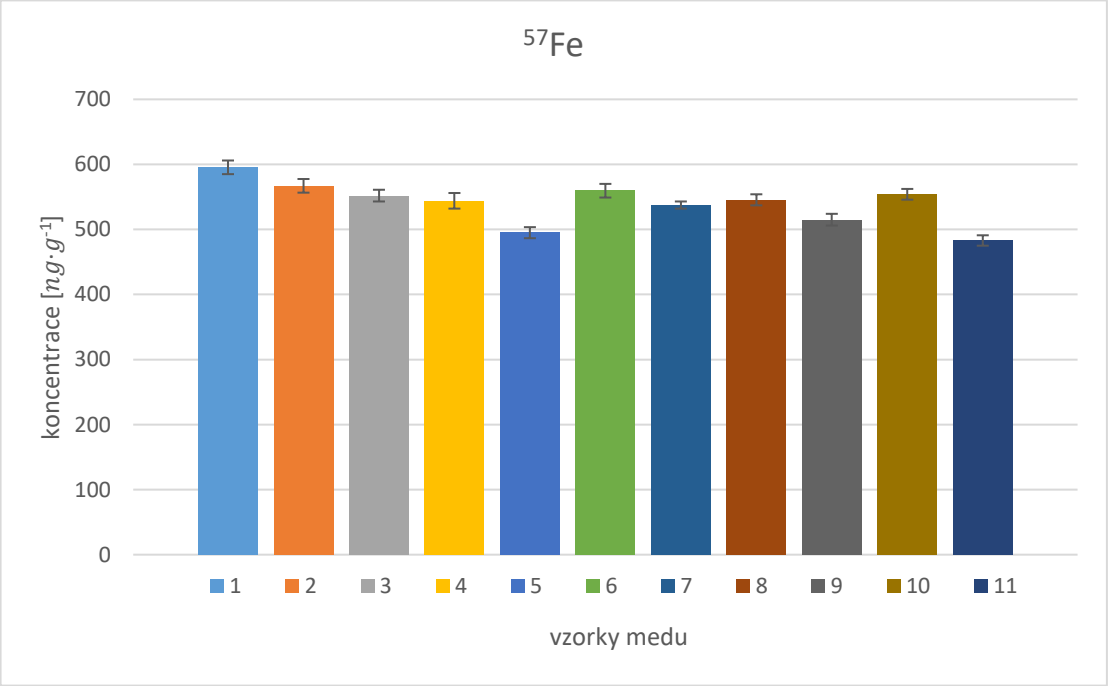
7.2.3 Obsah manganu v medu

Oproti ostatním měřeným kovům vysoce koncentrovaný mangan není žádným překvapením, jedná se totiž o přirozenou složku medu. Ve vzorcích dvou květových medů č. 1 a č. 4 se koncentrace liší o několik desítek $ng \cdot g^{-1}$ oproti medům směsným (č. 2 a č. 5), odebraným ze stejné lokality.



Obr. 14: Koncentrace manganu v medu

7.2.4 Obsah železa v medu



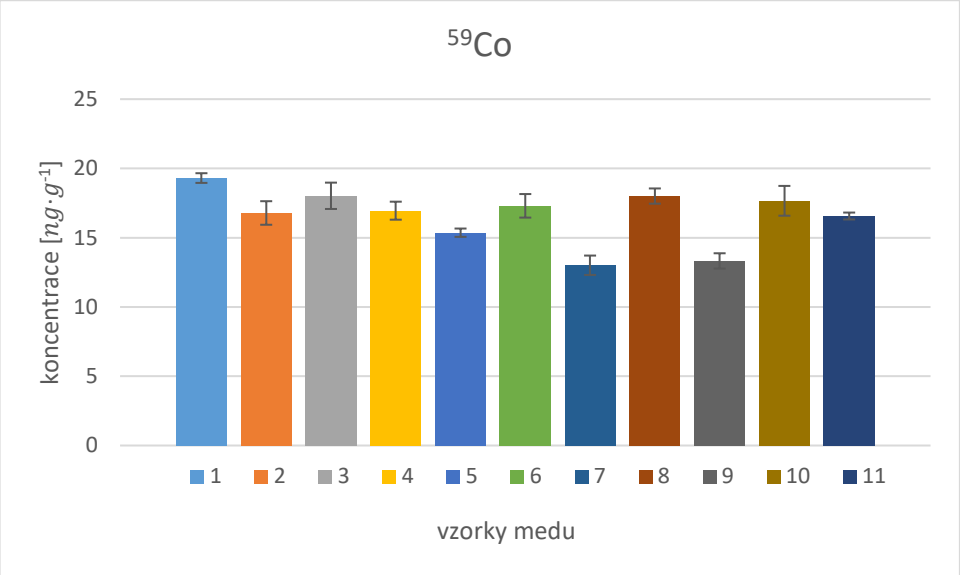
Obr. 15: Koncentrace železa v medu

Železo, stejně jako mangan je přirozeně vyskytující se prvek v medu, stejně jako u manganu byla jeho vysoká koncentrace očekávána. Nejnižší koncentrace železa jsou ve vzorku č. 11 odebraném v Čechách a ve vzorku č. 5. Snížená koncentrace železa v těchto dvou vzorcích může být způsobena typem půdního typu, na kterém se včelstvo nachází. Zbylé vzorky jsou převážně odebrány na Jižní Moravě, kde dominuje černozem obecně bohatá na minerály

včetně železa. Vzorek č. 11 je z Boru u Tachova, kde je dominantní půdní typ kambizem a vzorek č. 5 z Komárova, kde je dominantní hnědozem. Obě méně bohaté na minerály.

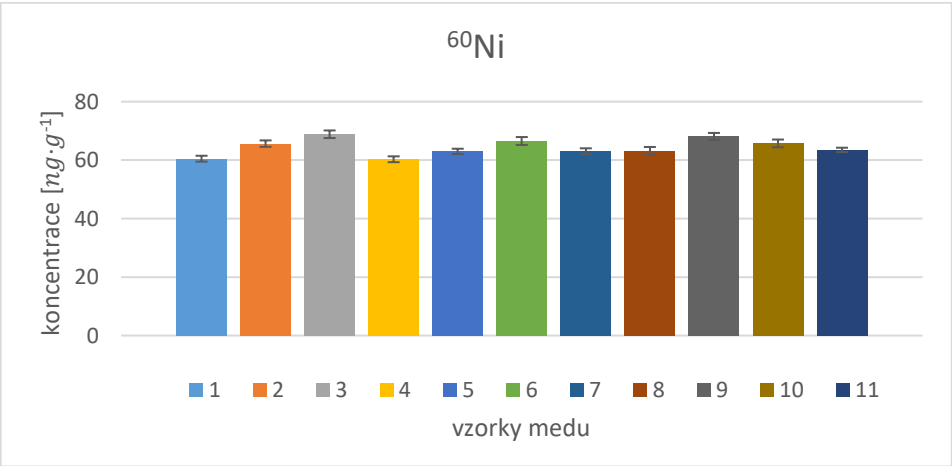
7.2.5 Obsah kobaltu v medu

Stanovovaný izotop ^{59}Co byl také obsažen ve všech vzorcích, avšak oproti předchozím kovům je koncentrace v řádech desítek $ng \cdot g^{-1}$. Oproti obdobné studii od Dagmar Šašinkové jsou naměřené koncentrace kobaltu o něco vyšší, ale nepřesahují hranici 20 $ng \cdot g^{-1}$.[22]



Obr. 16: Koncentrace kobaltu v medu

7.2.6 Obsah niklu v medu



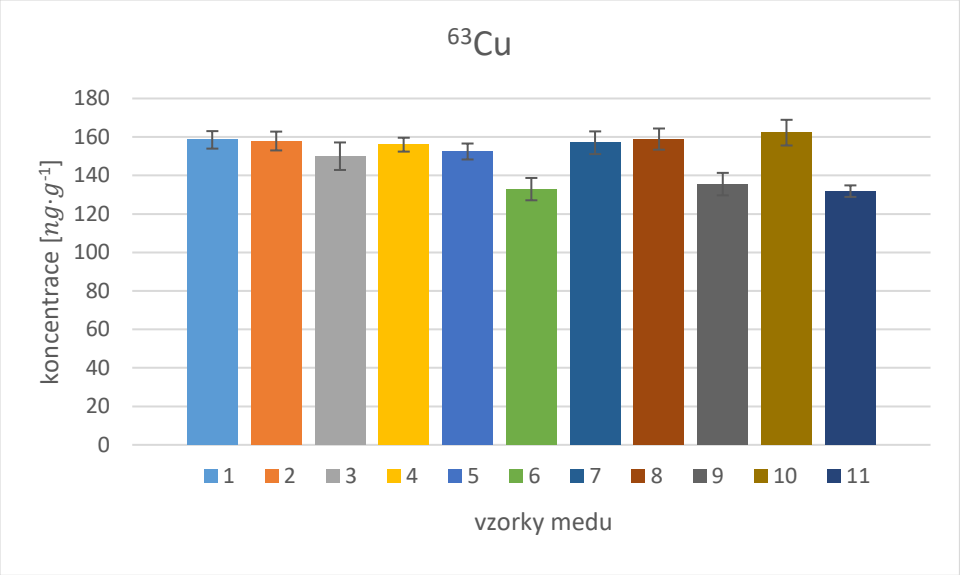
Obr. 17: Koncentrace niklu v medu

Koncentrace niklu je podobně jako u většiny předchozích vzorků stejná. Koncentrace se pohybovala od 60 $ng \cdot g^{-1}$ po 70 $ng \cdot g^{-1}$. Oproti studii obsahu niklu v medech pocházejících ze

včelstev s hadcovitou půdou, který obsahoval až $3{,}96\ mg \cdot kg^{-1}$, se koncentrace v měřených vzorcích nedá srovnávat.[17]

7.2.7 Obsah mědi v medu

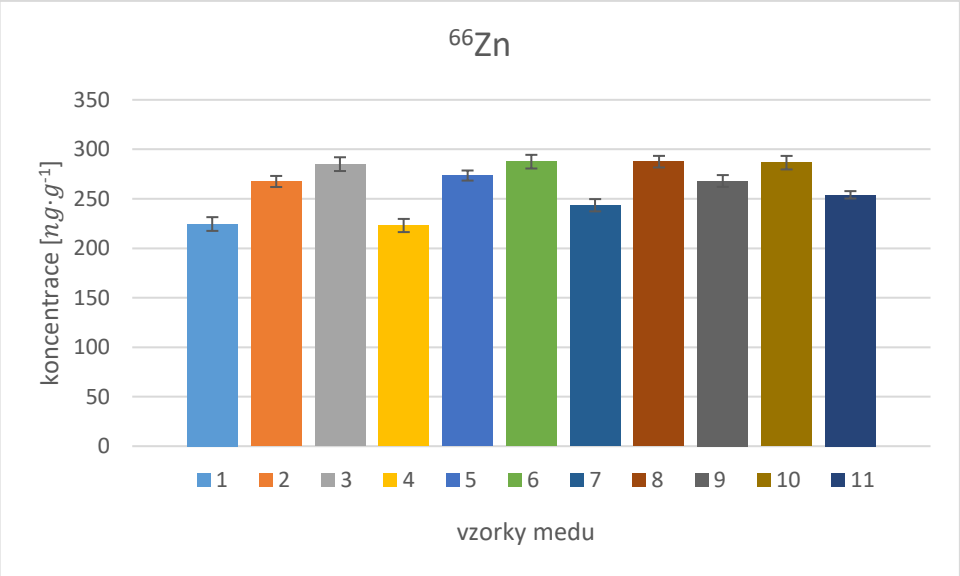
Měď je u většiny vzorků zastoupena okolo hranice 160 ng·g^{-1}. U vzorku č. 6, č. 7 a č. 11 jsou koncentrace nižší o pár desítek ng·g^{-1}. Tyto vzorky spojuje, že jsou intenzivně obklopeny zemědělskou plochou.



Obr. 18: Koncentrace mědi v medu

7.2.8 Obsah zinku v medu

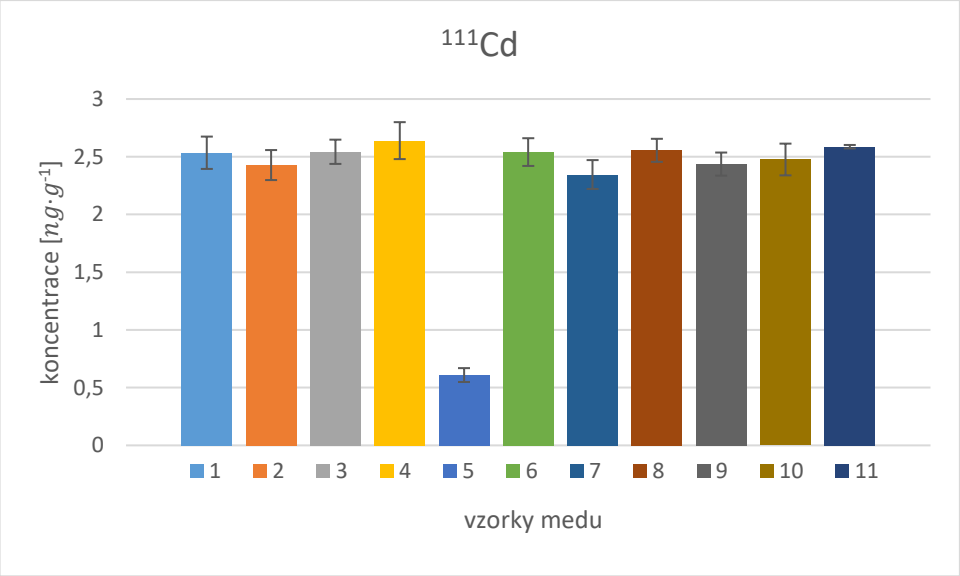
U většiny vzorků je koncentrace zinku rovnoměrná. Výjimku tvoří vzorky květových medů č. 1 a č. 4, obdobně jako v případě koncentrace manganu. Při porovnání se studií od již zmiňované dvojice Madejczyk, Baralkiewicz, při které naměřili koncentraci zinku v rozmezí $0{,}13 - 9{,}93\ mg \cdot kg^{-1}$, se nachází naměřené vzorky na spodní hranici tohoto rozmezí.



Obr. 19: Koncentrace zinku v medu

7.2.9 Obsah kadmia v medu

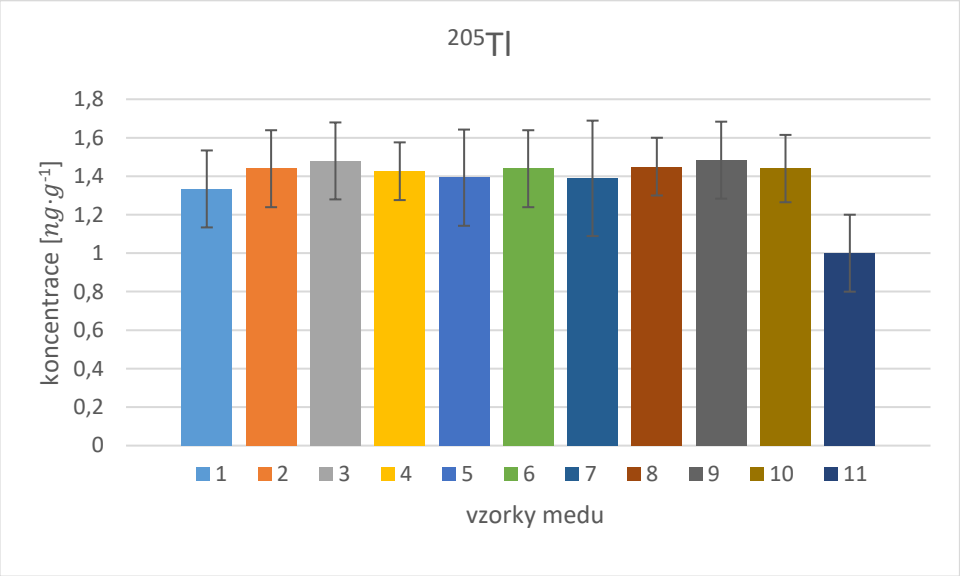
Všechny vzorky splňují limit 7 ng·g^{-1} navržený WHO a FAO. Velká propad koncentrace oproti ostatním vzorkům je viditelný u vzorku č. 5. Tento vzorek je smíšený med odebraný ze stejné lokality jako vzorek č. 4, což by mohlo poukazovat na nižší koncentraci v směsných medech. Tuto možnost však nepotvrzuje druhý směsný med odebraný na stejné lokalitě jako jeho květový protějšek (č. 1 a č. 2).



Obr. 20: Koncentrace kadmia v medu

7.2.10 Obsah thalia v medu

Thalium se ve vzorcích vyskytovalo v koncentracích od 0,5 ng·g^{-1} po 1,5 ng·g^{-1}. V živočišných organismech se vyskytuje v rozmezí $1-3\,ng\cdot g^{-1}$, tudíž naměřené koncentrace jsou v normě. Stejně jako u železa je nápadný pokles koncentrace u vzorku č. 11 z Boru u Tachova.



Obr. 21: Koncentrace thalia v medu

7.2.11 Obsah platiny a olova v medu

Platina i olovo byly pod detekčním limitem přístroje. Kontaminace ovzduší olovem od zákazu olovnatého benzínu postupně klesá, zatímco kontaminace platinou z katalyzátorů v poslední době narůstá. Podle výsledků je možné tvrdit, že odebrané vzorky jsou v prostředí, kde kontaminace olovem již zcela vymizela a kontaminace platinou se ještě neprojevila.

7.3 Obsah kovových prvků ve včelích produktech

Tabulka 7: Průměrná koncentrace kovů ve včelích produktech

Vzorek	c $[ng\cdot g^{-1}]$					
	^{52}Cr	^{55}Mn	^{57}Fe	^{59}Co	^{60}Ni	^{63}Cu
Med	24,43±1,25	752,25±11,25	568,50±10,13	17,85±0,75	65,39±1,21	149,83±5,6
Vosk	24,98±1	764,13±10,88	559,50±7,75	17,44±0,69	63,40±1,10	139,80±5,2
Propolis	23,83±0,9	735,88±10,88	493,25±8,25	16,67±0,41	63,94±0,69	141,28±4,2

Tabulka 8: Průměrná koncentrace kovů ve včelích produktech

Vzorek	$\mathbf{c}\ [\boldsymbol{ng \cdot g^{-1}}]$		
	^{66}Zn	^{111}Cd	^{205}Tl
Med	266,13±6,60	2,51±0,12	1,42±0,20
Vosk	267,88±5,86	2,55±0,09	1,80±0,18
Propolis	247,50±3,49	2,03±0,3	2,77±0,21

Podíváme-li se na koncentrace naměřených kovů v jednotlivých včelích produktech ze stejného stanoviště, můžeme si povšimnout, že téměř u všech kovů dochází k výraznému poklesu koncentrace v propolisu. Jedinou výjimku tvoří koncentrace thalia, která naopak u propolisu prudce narůstá. Snižování koncentrace kovů v propolisu může být zapříčiněna náročností výroby, na které se podílí vícero včel. Kontaminant by tak mohl zůstávat v těle včely.

U koncentrací kovů v medu a vosku se žádný uchopitelný trend nejeví. Co je u vosku ale zajímavé, je naměřená koncentrace hliníku, která je u vzorku č. 1 stejná jako koncentrace v medu (1084 ng·g^{-1}) viz Tabulka 5: Koncentrace kovových izotopů ve vzorcích medu. V propolisu koncentrace podle očekávání klesá (na 668 ng·g^{-1}).

U vzorku č. 6. pak byla naměřena koncentrace hliníku pouze ve vosku (2473 ng·g^{-1}). Toto znečištění může být způsobeno buďto již zmíněnou manipulací s hliníkovým nádobím při výrobě medu, ale také může být kontaminant přenesen, jak již bylo zmíněno, od jiných včelařů, při nákupu například voskových mezistěn do úlu.

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit koncentrace dvanácti kovových prvků, zejména platiny ve vzorcích medu a určit, jestli je med nejideálnější bioindikátor ze skupiny med, včelí vosk a propolis. Sledováno bylo celkem jedenáct vzorků medu z různých lokalit. Vzorky ze čtyř lokalit byly doprovozeny vzorky včelího vosku a propolisu odebranými ze stejných lokalit. Celkem čtyři vzorky byly městského typu, čtyři vzorky přírodního typu, jeden vzorek v blízkosti frekventovaného úseku dálnice a dva vzorky v blízkosti zemědělské plochy. U dvou vzorků se jednalo o medy květové, u ostatních o medy smíšené.

U vzorků byla provedena optimalizace minerálním rozkladem v mikrovlnném laboratorním systému MLS 1200 mega. Následně byly stanoveny koncentrace hledaných analytů pomocí ICP – Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS.

Analýzou bylo zjištěno, že dva vzorky jsou kontaminovány hliníkem. Koncentrace hliníku v těchto vzorcích byly rozmezí 650 – 1100 $ng \cdot g^{-1}$. Kontaminace vzorků byla pravděpodobně způsobena použitím starých hliníkových včelařských nádob, nebo kontaminací koupenými již kontaminovanými voskovými mezistěnami.

Běžně biogenní prvky vyskytující se v přírodě jako je mangan, železo, měď a zinek dosahovaly nejvyšších koncentrací. Koncentrace manganu se pohybovala v rozmezí 710 – 780 $ng \cdot g^{-1}$, koncentrace železa 480 – 600 $ng \cdot g^{-1}$, mědi 130 – 165 $ng \cdot g^{-1}$ a zinku 220 – 290 $ng \cdot g^{-1}$. Minoritní zastoupení tvořily kovy chrom, kobalt a nikl. Chrom byl ve vzorcích zastoupen v rozmezí 22 – 27 $ng \cdot g^{-1}$, nikl 60 – 70 $ng \cdot g^{-1}$ a kobalt 13 – 20 $ng \cdot g^{-1}$.

Mezi nejnebezpečnější stanovované prvky patří kadmium, thalium, platina a olovo. Pro olovo a kadmium jsou legislativně nařízeny limitní koncentrace. Pro kadmium je limitní koncentrace v medu stanovena na 7 $ng \cdot g^{-1}$. ve vzorcích byly naměřeny koncentrace kadmia v rozmezí 0,5 – 2,7 $ng \cdot g^{-1}$, koncentrace kadmia tedy není nadlimitní. U olova je limitní koncentrace v medu stanovena na 25 $ng \cdot g^{-1}$. Olovo však nebylo detekováno ani v jednom prvku, tudíž se jedná o bezproblémové vzorky. Thalium se ve všech vzorcích pohybovalo na koncentraci okolo 2,7 $ng \cdot g^{-1}$, ovšem u jednoho vzorku bylo kadmium zastoupeno v drasticky nižší koncentraci 0,5 $ng \cdot g^{-1}$. Důvod této odchylkou zůstává nadále předmětem studia, jelikož se nepodařilo najít uspokojivé vysvětlení tak nízké koncentrace.

Platina byla ve všech vzorcích pod limitem detekce, i když byly vybrány lokality v přímé blízkosti vysoce frekventované dálnice, kde se pohybují auta s katalyzátory obsahující platinu.

Na obsah kovů ve zkoumaných vzorcích by mohlo mít vliv typ geologického podloží, jelikož se u vzorků z Plzeňského a Zlínského kraje vyskytovaly nižší koncentrace železa, než u vzorků z Jihomoravského kraje, pro který je typické podloží černozem bohaté na minerály včetně železa.

Porovnáním koncentrací v jednotlivých včelích produktech vychází jako ideální bioindikátor med či včelí vosk, které měly průměrné koncentrace kovů skoro ve všech případech shodné. Naopak propolis vykazoval u všech měřených kovů nižší koncentrace, tudíž se k tomuto úkolu hodí nejméně z vybraných včelích produktů.

Rozdíly mezi medy ze všech oblastí byly vesměs nevýrazné, lze tak tvrdit, že při využití medu jako bioindikátoru jsou všechny lokality bez přílišného zatížení těžkými kovy.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] Kolektiv autorů. *Včelařství. Svazek II. Biologie včely medonosné, Šlechtění včel a chov matek*. České Budějovice: PSNV CZ, z.s., 2017. ISBN 978-80-270-0776-9.

[2] *Residues of Pesticides and Heavy Metals in Polish Varietal Honey* [online]. 6.8.2022 [cit. 2023-01-30]. Dostupné z: doi:10.3390/foods11152362

[3] GRUNA, Bronislav, Michal POČUCH a Jaroslav LSTIBŮREK, PRÝMAS, Lukáš, ed. *Včelařství. Svazek III. Včelí pastva a její zdroje, Včelí produkty, Medovina a nápoje z medu*. PSNV CZ, 2020. ISBN 978-80-907079-3-1.

[4] TAUTZ, Jürgen a Helga R. HEILMANN. *Fenomenální včely: Biologie včelstva jako superorganismu*. Praha: Brázda, 2016. ISBN 978-80-209-0433-1.

[5] BOGDANOV, Stefan. Contaminants of bee products. *Apidologie* [online]. 2005, 30.11.2005, **37**(1), 1-18 [cit. 2023-02-02]. Dostupné z: doi:10.1051/apido:2005043

[6] SILVA, Priscila Missio da et al., 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. Food Chemistry. ScienceDirect, 196, 309-323. ISSN 0308-8146.

[7] *Food and agriculture organization: Codex Alimentarius* [online]. [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/

[8] (EFSA), European Food Safety Authority, Luis Carrasco CABRERA, Giulio DI PIAZZA, Bruno DUJARDIN a Paula Medina PASTOR. *The 2021 European Union report on pesticide residues in food* [online]. 26.4.2023 [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7939

[9] SEELEY, Thomas D. *The Wisdom of the Hive: The Social Physiology of Honey Bee Colonies*. In: . Harvard University Press, 1995, s. 47. ISBN 9780674953765.

[10] LEITA, L., G. MUHLBACHOVA, S. CESCO, R. BARBATITINI a C. MONDINI. Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*. 1996, (43), 1-9. ISSN 0167-6369. Dostupné z: doi:10.1007/bf00399566

[11] RASHED, Mohamed Nageeb, Mohamed Tawfek EL-HATY a Siti MAZLEENA MOHAMED. Bee honey as environmental indicator for pollution with heavy metals. *Toxicological & Environmental chemistry*. 2009, (91), 389-403.

[12] TONELLI, D., E. GATTAVECCHIA a S. DHINI. Honey bees and their products as indicators of environmental radioactive pollution. *Radioanalytical and Nuclear Chemistry,*. (141), 427-436. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1007/BF0203

[13] KAFKA, Zdeněk a Jana PUNČOCHÁŘOVÁ. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy*. 2002, (96), 611-617.

[14] JULINOVÁ, Markéta. *Výskyt a vlastnosti polutantů, poznámky k vybraným kapitolám*. 1. Zlín: Univerzita Tomáše bati, 2016. ISBN 978-80-7454-584-9.

[15] ZERGUI, Anissa, Sofiane BOUDALIA a Marlie Landy JOSEPH. Heavy metals in honey and poultry eggs as indicators of environmental pollution and potential risks to human health. *Food Composition and Analysis*. 2023, (119). ISSN 0889-1575. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105255.

[16] DI FIORE, Cristina, Angelo NUZZO, Valentina TORINO, Antonio De CRISTOFARO, Ivan NOTARDONATO, Sergio PASSARELLA, Sabrina Di GIORGI a Pasquale AVINO. Honeybees as Bioindicators of Heavy Metal Pollution in Urban and Rural Areas in the South of Italy. *Atmosphere*. 2022, **13**(4), 624. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.3390/atmos13040624

[17] SALIHAJ, Muharrem a Aida BANI. *The nickel content in honey derived from serpentine and non-serpentine areas of Kosovo*. Agriculutral University of Tirana, 2017.

[18] MADEJCZYK, Maria a Danuta BARALKIEWICZ. Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Analytica Cimica Acta*. 2001, (617), 11-17. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.038.

[19] MADER, Pavel a Eva ČURDOVÁ. Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků. *Chemické listy*. 1997, (91), 227-236.

[20] Atomová absorpční spektrometrie. *Informační systém Masarykovy univerzity* [online]. Brno, 2010 [cit. 2023-05-18]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/podzim2014/C7031/um/4_AS_AAS.pdf

[21] MESTEK, Oto, 2010. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem: pracovní text pro Podzemní výukové středisko JOSEF. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.

[22] ŠAŠINKOVÁ, Dagmar. *Med jako bioindikátor životního prostředí*. Zlín, 2019. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAS	Atomová absorpční spektrometrie
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ČR	Česká republika
EU	Evropská unie
např.	například
aj.	a jiné
BCF	biokoncentrační faktor
F-AAS	Plamenová atomová absorpční spektrometrie
ETA-AAS	Elektrotermická atomová absorpční spektrometrie
ppt	parts per trilion
ppm	parts per milion
WHO	Světová zdravotnická organizace
FAO	Organizace spojených národů pro výživu a zemědělství

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Složení medu 19
Obr. 2: Schéma postupu experimentální části 31
Obr. 3: Umístění včelstev – Ždánice 32
Obr. 4: Umístění včelstva – Hodonín 33
Obr. 5: Umístění včelstva – Komárov 34
Obr. 6: Umístění včelstva – Hlubočany 35
Obr. 7: Umístění včelstva – Opatovice 36
Obr. 8: Umístění včelstva – Medlovice 37
Obr. 9: Umístění včelstva – Radslavice 38
Obr. 10: Umístění včelstva – Bor u Tachova 39
Obr. 11: Umístění včelstva – Tučapy 40
Obr. 12: Obsah mineralizačních kelímků 41
Obr. 13: Koncentrace chromu v medu 46
Obr. 14: Koncentrace manganu v medu 47
Obr. 15: Koncentrace železa v medu 47
Obr. 16: Koncentrace kobaltu v medu 48
Obr. 17: Koncentrace niklu v medu 48
Obr. 18: Koncentrace mědi v medu 49
Obr. 19: Koncentrace zinku v medu 50
Obr. 20: Koncentrace kadmia v medu 50
Obr. 21: Koncentrace thalia v medu 51

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Limitní koncentrace kovových prvků v medu 24
Tabulka 2: Program při mikrovlnném rozkladu 42
Tabulka 4: Seznam měřených kovových prvků 43
Tabulka 5 Legenda označení vzorků medu 44
Tabulka 6: Koncentrace kovových izotopů ve vzorcích medu 44
Tabulka 7: Naměřené koncentrace kovových izotopů ve vzorcích medu 45
Tabulka 8: Koncentrace kovů ve včelích produktech 51
Tabulka 9: Koncentrace kovů ve včelích produktech 52