

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra botaniky a fyziologie rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Spektroskopické hodnocení obsahu těžkých kovů (kadmia)
u máku setého (*Papaver somniferum* L.)**

Diplomová práce

Vaniščáková Anna Bc.

Rostlinná produkce

RNDr. Milan Skalický, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Spektroskopické hodnocení obsahu těžkých kovů (kadmia) u máku setého (*Papaver somniferum* L.)“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne: 21.4.2024

Bc. Vaniščáková Anna

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala RNDr. Milanu Skalickému, Ph.D, Ing. Vlastimilu Mikšíkovi, Ph.D., doc. Ing. Ondřeji Drábkovi, Ph.D., Ing. Karlu Němečkovi, Ing. Pavlu Ševčíkovi, Ing. Čestmíru Mílkovi a Mgr. et Mgr. Kláře Černé za cenné rady, konstruktivní kritiku, uvedení do metodických, fyzikálních a statistických problematik, a ochotu, práci, energii a čas, který investovali do mých dotazů, a členům rodiny za bezbřehou trpělivost a podporu.

Spektroskopické hodnocení obsahu těžkých kovů (kadmia) u máku setého (*Papaver somniferum* L.)

Souhrn

Česká republika má dle dostupných studií významný problém s množstvím kadmia přítomným v půdě. Problém je natolik závažný, že starší přísnější limit 0,8 mg/kg kadmia v semeni olejiny, a i nově nastavený volnější maximální limit 1,2 mg/kg kadmia v semeni máku neposkytuje jistotu, že vypěstovaný mák limit kadmia nepřesáhne.

Ruční rentgenovo-fluorescenční spektrometr, schopný analýzy prvků měřeného materiálu v rámci sekund až minut, by přinesl výhodu pro pěstitele máku. Předložená diplomová práce se zabývá měřením kadmia v makovém semeni, přesností XRF spektrometrie analyzátozem VANTA BAS Rudice s.r.o. v porovnání s nepřenosnými laboratorními metodami chemické analýzy (ICP-OES, INNA) a účinností tohoto přístroje při zjišťování kvality dováženého potravinářského máku.

V rámci této práce se spektrometrem VANTA nepodařilo naměřit žádné Cd. Nejnižších hodnot Cd sigma bylo dosaženo při kombinaci parametrů měření, kterými byly invertovaná metoda, kyvetka s prolenovou 4 μm folií, mák - mletý elektrickým mixérem BOSCH 180 W, prodloužená doba měření fáze 1. / fáze 2. = 480/120 s.

Analyzátor VANTA naměřil u 4 různých vzorků modrého máku hodnoty Ca, K, Fe jedenapůlkrát až třikrát vyšší než hodnoty měření stanovené metodou ICP-OES. Pro 3 různé vzorky bílého máku změřil hodnoty Ca a K jedenapůlkrát až třikrát vyšší a hodnoty Fe a Zn o necelou polovinu vyšší než hodnoty stanovené metodou ICP-OES.

Při sledování trendu mezi hodnotami měřenými metodou OCP- OES a HHXRF VANTA pro směs máků známých odrůd se ukázalo, že v případě měření Cu, Zn, Ca, K se body grafu 3 s trendem vyjadřujícím rozdíl prvkového obsahu mezi metodami ICP-OES a HHXRF VANTA od sebe nevzdalovaly na více než 33 %, ale u prvků Fe a P byl mezi metodami výrazný rozdíl. Při měření Mn si oba přístroje zachovávaly stejný trend, ale měli výrazně rozdílné hodnoty výsledků. Do vysokých hodnot u Ca, K, se podepsuje kalibrace přístroje, která je zaměřena na těžší prvky. Kalibrace spektrometru HHXRF VANTA je určena na vzorky půdy, kovů a polokovů. Lehké prvky hůře detekuje.

Klíčová slova: mák, makové semeno, kadmium, spektroskopické metody, AAS, ICP-OES, ICP-MS, XRF

Spectroscopic evaluation of heavy metal (cadmium) content in poppy (*Papaver somniferum* L.).

Summary

According to available studies, the Czech Republic has a significant problem with the amount of cadmium present in the soil. The problem is so serious that the older, stricter limit of 0.8 mg/kg of cadmium in oilseed, and even the newly set, more relaxed maximum limit of 1.2 mg/kg of cadmium in poppy seed, does not provide assurance that the cultivated poppy will not exceed the cadmium limit.

A handheld X-ray fluorescence spectrometer, capable of analyzing the elements of the measured material within seconds to minutes, would benefit poppy growers. This thesis deals with the measurement of cadmium in poppy seeds, the accuracy of XRF spectrometry with the VANTA BAS Rudice s.r.o. analyzer in comparison with non-portable laboratory methods of chemical analysis (ICP-OES, INNA) and the effectiveness of this device in determining the quality of imported food poppy.

Within this work, no Cd could be measured with the VANTA spectrometer. The lowest Cd sigma values were achieved with a combination of measurement parameters, which were the inverted method, cuvette with prolene 4 μm foil, poppy seeds - ground with a BOSCH 180 W electric mixer, extended phase 1 / phase 2 measurement time 480/120 s.

The VANTA analyzer measured the values of Ca, K, Fe in 4 different blue poppy samples one and a half to three times higher than the values determined by the ICP-OES method. For 3 different samples of white poppy, it measured Ca and K values one and a half to three times higher, and Fe and Zn values less than half higher than the values determined by the ICP-OES method.

When observing the trend between values measured by the OCP-OES method and HHXRF VANTA for a mixture of known poppy varieties, it was shown, that in the case of measuring Cu, Zn, Ca, and K, the points on graph 3 expressing the difference in elemental content between ICP-OES and HHXRF VANTA methods did not deviate from each other by more than 33%. However, there was a significant difference between the methods for Fe and P elements. Both instruments maintained the same trend when measuring Mn, but they had significantly different result values. The calibration of the instrument plays a role in high values for Ca and K, which is focused on heavier elements. The calibration of the HHXRF VANTA spectrometer is intended for soil, metals, and metalloid samples. It detects lighter elements less effectively.

Keywords: poppy, poppy seed, cadmium, spectroscopic methods, AAS, ICP-OES, ICP-MS, XRF

Obsah

1 Úvod	7
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	8
3 Literární rešerše	9
3.1 Mák setý - rostlina, pěstování, kadmium v máku	9
3.1.1 Norma kadmia v makovém semeni, pančování máku	12
3.1.2 Obsah kadmia v semenech máku a potravinách:	13
3.1.3 Rizikové prvky	15
3.1.4 Fytoremediace	16
3.2 Spektrometrie, spektrofotometrie, používané metody pro rostlinné vzorky	18
3.2.1 Termíny spektrometrických analýz potřebné pro porozumění měření	19
3.2.2 Příprava vzorku pro ICP metody a spektrometrie ICP-OES, ICP-AES, ICP/MS ...	20
3.2.3 NAA - neutronová aktivační analýza	21
3.2.4 XRF - rentgenová fluorescenční spektrometrie	22
3.3 Přenosný ED-XRF spektrometr VANTA™ Series	25
3.3.1 Popis, účel, měřicí metody analyzátoru VANTA	25
4 Metodika	29
4.1 Druhy a popis vzorků	32
4.1.1 Vliv polohy HHXRF VANTA a vzorku na měření -standardní / invertní.....	33
4.1.2 Měření různými metodami zpracování	34
4.1.3 Vliv doby měření na přesnost výsledků	34
4.2 Zpracování a analýza dat	36
5 Výsledky	37
5.1 Analýza výsledků: přesnost měření spektrometru VANTA	37
5.1.1 Ovlivnění přesnosti měření metodami standardní a invertní	41
5.1.2 Ovlivnění přesnosti měření dobou měřících fází	42
5.1.3 Ovlivnění přesnosti měření přípravou vzorku.....	43
5.1.4 Doplnkové analýzy.....	44
5.2 Analýza výsledků: množství kadmia v českém máku	45
5.3 Analýza výsledků: komparace se zahraničními zdroji	46
6 Diskuze	49
7 Závěr	58
8 Literatura	59
9 Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Tato diplomová práce má ověřit, zda by HHXRF spektrometr VANTA BAS Rudice s.r.o. byl schopen „Metody expresního stanovení“ ke zjištění partií máků na polích kontaminovaných kadmiiem v době, kdy byla plánována změna povolených limitů kadmia v potravinách z 0,8 miligramů na přísnější limit. Tedy posoudit, do jaké míry je tato metoda konkurenční vůči běžným laboratorním metodám stanovení kadmia v rostlinném materiálu.

Kadmium v půdě je v České republice dlouhou dobu sledovaný fenomén. Jeho hodnoty v půdě a ovzduší jsou místně zvýšeny v oblastech antropogenního znečištění (dopravou, v blízkostech současných a starých oblastí těžby) a přiváděny do potravního řetězce méně kvalitními hnojivy se špatně hlídanými obsahy rizikových prvků. Velká část pro rostliny dostupného kadmia přichází z atmosférického znečištění a další část je přítomná ve vodě (Rashid et al. 2023).

Kouření tabákových cigaret je možným a přijímaným způsobem sebeotravy, kterému lidé běžně podléhají. Kadmium je v lidském organismu ukládáno do kostí, poškozuje ledviny a buňky sítnice a v případě bývalých kuřáků se v jejich tělech jeho zbytky dají vysledovat i po 5 letech (Puklová 2005; EFSA 2009). Díky tomu, o jak intenzivní problém s efektem na lidské zdraví se jedná, je rozumné sledovat jeho vstupy do lidského organismu, jelikož nejsnazším způsobem, jak se v malých dávkách dobrovolně kontaminovat kadmiiem, je konzumovat potraviny, které mají jeho obsah zvýšený. Bylo prokázáno, že kadmium se do různé míry vyskytuje v mnoha obilných produktech, semenech, čaji a bylinkách (Olsson et al. 2002). Významným následkem vstupu kadmia do rostlin, které jsou každodenní složkou naší potravy, je, že spolu s těmito rostlinami v potravě přijímáme i rizikové prvky, které rostlina z kořenů translokovala do listů či je bioakumulovala po celé své nadzemní části. Rostliny svůj metabolismus s postupem času adaptovaly a vyvinuly si strategie díky nimž přežívají na na prvky bohatých či kontaminovaných půdách. Plodinou, jíž se tato práce zabývá je mák setý (*Papaver somniferum* L.), který je řazen mezi rostliny hyperakumulující tento potenciálně rizikový prvek. Výsledky práce mají aplikační potenciál pro pěstitele máku. O výsledky měření ve smyslu ověření skutečnosti, zda je analyzátor VANTA BAS Rudice s.r.o. využitelný ke spektrometrickému hodnocení kadmia v makovém semeni, má zájem sdružení pěstitelů máku (Český modrý mák z.s.).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem diplomové práce je experimentálně posoudit vhodnost použití ručního kufříkového ED-XRF spektrometru VANTA ke změření obsahu těžkých kovů (kadmia) v semeni máku setého ve srovnání s měřením obsahu těžkých kovů (kadmia) klasickými laboratorními metodami. Práce je založena na předpokladu, že výsledky dosažené pomocí spektrometru VANTA budou shodné, či velmi blízké hodnotám zjištěným laboratorním měřením. Účelem tohoto srovnání je zjištění měřitelnosti kadmia spektrometrem VANTA a její užitečnosti a ekonomičnosti jako rychlého přenosného měření přímo v terénu (před sklizní, nákupem, během transportu).

H1: Spektroskopické metody mají shodnou přesnost jako laboratorní metody.

H2: V pěstovaných odrůdách máku na území ČR je nulové množství kadmia.

H3: Účinnost ručního spektrometru je dostačující pro zjišťování kvality dováženého potravinářského máku.

3 Literární rešerše

3.1 Mák setý - rostlina, pěstování, kadmium v máku

Pěstování máku setého se v na našem území věnujeme déle než od 8. století př.n.l. Dle Mikšíka & Lohra (2020) v jeho pěstování na potravinářské účely máme dlouhou tradici. Mák je z historického pohledu považován za léčivou rostlinu, ačkoliv v dnešní době ho v České republice vnímáme spíše jako zdroj potravin. V trhu s makovinou - farmaceuticky využitelnými částmi rostliny máku bez semen dominují ve světovém měřítku státy Austrálie, Francie, Turecko a Španělsko (INCB 2015) a jejich dominance v pořadí vyjmenovaných závisí na typu opiového alkaloidu, na který pěstováním cílí. Naše zákony silně regulují pěstování vysokomorfinových máků (Mikšík & Lohr 2020).

Mák můžeme dělit do skupin podle mnoha různých kritérií. Patří mezi ně obsah opiových alkaloidů, pěstební forma máku, typy máku a jejich užitná forma. Dle množství opiových alkaloidů je možné mák označit jako vysokomorfinový a nízkomorfinový. Podle termínu výsevu na pole jako mák jarní a ozimý. Dle užitné formy na potravinářský a farmaceutický - technický, opiový a ornamentální (Mikšík & Lohr 2020). Labanca et al. (2018) rozdělují mák do tří skupin dle použití a obsahu alkaloidů. Označila je za průmyslové, kulinářské a duální, z níž duální mají vlastnosti onou skupin (autoři druhy zobrazila pomocí Vennova diagramu).

Typy máku dle barvy semene u nás pěstované jsou modrý mák (dříve častý 'Major', 'MS harlekýn', 'Aplaus', z modernějších odrůd dnes 'Emanuel' a 'Olaf'), bílý mák (pěstují se odrůdy 'Orel' a 'Sokol', dříve 'Racek' a 'Albín'), okrový mák, ('Redy' a 'Akvarel', pěstovány zřídka), ještě se dále může pěstovat žlutá a šedá forma (Mikšík & Lohr 2020).

Semeno máku je velmi bohaté na obsah benefičních prvků, a na množství nenasycených mastných kyselin, z toho zvláště na kyselinu linolovou, která zaujímá až 75 % celkového obsahu oleje. Olejnatost makového semene (bílého i modrého) bývá udávána mezi hodnotami 42-47 % (Mikšík 2022). Je z nutričního hlediska velmi bohaté na všechny základní živiny, zvláště na vápník, fosfor a draslík (viz tabulka na obrázku 1).

Semena/ořechy	Tokoferoly	Ca	P	Mg	K	Zn	Fe
Mák	2,3	1357	936	395	832	6,8	8,8
Len	5,0	195	722	291	762	-	17,1
Sezam	2,3	96	701	352	438	8,6	9,9
Dýně	1,0	43	1174	535	807	7,5	15,0
Slunečnice	50,3	135	709	367	603	2,2	12,3
Chia	8,2	631	860	335	407	4,6	7,7
Vlašské ořechy	3,1	96	377	159	575	3,4	2,7
Mandle (neloupané)	25,0	252	481	247	791	2,9	3,8
Lískové ořechy (neloupané)	25,2	181	153	153	648	2,2	5,8
Arašídý (loupané)	11,9	70	384	182	572	3,2	3,0

Obrázek 1: Porovnání obsahu mikroživiny (mg/100g) u máku a jiných olejnin (upraveno dle Sabolová 2020)

Potravina	Velikost porce	Průměrný obsah vápníku (mg/100g)	Předpokládána vstřebatelnost (%)	Množství vstřebeného vápníku (mg)
Mléko	250 ml	124	30	93
Jogurt bílý	150 g	178	30	80
Sýr Eidam 30 %	50 g	952	30	143
Špenát	100 g	100	5	5
Brokolice	100 g	77	61	47
Kapusta	100 g	152	50	76
Mandle	50 g	252	21	26
Sezam	15 g	96	21	3
Mák	30 g*	1357	5 a 21**	20 a 85

*odpovídá přibližně 4 makovým buchtám

**není známa přesná hodnota vstřebatelnosti vápníku pro mák, proto je uvažována co nejnižší hodnota a hodnota, která odpovídá vstřebatelnosti vápníku se sezamu

Obrázek 2: Porovnání vstřebatelnosti vápníku v potravinách (převzato dle Sabolová 2020)

Obsahově (živinami v ppm) se může řadit mezi superpotraviny, ale v běžné populaci takto zatím není mák vnímán (Mikšík 2022).

Melo et al. (2020) řadí makové semeno mezi funkční potraviny, kvůli jeho nutričnímu obsahu, ale podle českého využití tohoto výrazu by tak měly být nazývány až teprve výrobky z něj zpracované.

Mikšík (2020) cituje ve své práci, že česká populace zkonsumuje ročně na hlavu přibližně kolem 400 g semen máku, podobně to vidí také data statistického úřadu z roku 2020 (Český statistický úřad 2020). V loňském roce byla výměra osevních ploch máku 26250 ha, tedy velmi blízká předloňské hodnotě, s výnosem 0,69 t/ha. V posledních pěti letech osciluje mezi hodnotami 0,66 a 0,84 t/ha (Český statistický úřad 2024). Obsahově je makové semeno velmi bohaté na množství Ca, P, K a Mg. Sabolová (2020) zkomponovala tabulku vstřebávatelnosti živin, z různých potravin se zaměřením na situaci u máku, specificky vápníku, a poskytuje srovnání dostupnosti vápníků pro lidský organismus v porovnání s jeho obsahem v potravině samotné (obrázek č. 2). Dle Kučerová (2010) dostupnost vápníku pro lidský organismus odpovídá hodnotě mezi 10-20% z množství prvku získaného analýzou z makového semene.

Tabulka 1 představuje přehled oficiálních databázových hodnot nutričního složení dostupných pro modrý a bílý mák. V kategorii česká databáze jsou uvedeny hodnoty publikované Centrem pro databázi složení potravin (2020). Hodnoty poskytnuté Mikšíkem (2024c, pers. comm.) představují nejaktuálnější zdroj informací zpracovaný certifikovanou laboratoří v Postoloprtech v roce 2019 (modrý mák, odrůda 'Aplaus') (viz příloha 4). Slovenská databáze prezentující měření z roku 2002 (Online potravinová databáza 2023) společně s USDA (USDA Food Composition Databases 2019) představují zahraniční zdroje organizovaných souborů informací. Citované údaje české databáze vychází z oficiálních dat slovenské databáze, kromě obsahu Na v máku, který se liší a navazuje na analýzu Státního veterinárního ústavu v Praze (Centrum pro databázi složení potravin 2020). Hodnoty Cu a Zn uvedené v slovenské databázi mají stejný původ jako ostatní nutriční hodnoty, které česká databáze ze zdrojů slovenské již přejala, ale hodnoty těchto dvou prvků nebyly převzaty.

Tabulka 1: Nutriční obsah semene modrého máku a bílého máku

Prvek	Databáze obsahu makro a mikroprvků (mg/kg)					
	Modrý mák				Bílý mák	
	Česká databáze	Mikšík (Český modrý mák z.s.)	Slovenská databáze	USDA	Mikšík (Český modrý mák z.s.)	Slovenská databáze
Cd		0,518			0,161	
Se				13,5		
Cu		19,5	10,3	16,3	25,5	10,3
Zn		87,3	67,9	79	119	67,9
Fe	88	96,6	87,5	97,6	106,7	87,5
Ca	13570	15000	13570	14400	14800	13570
P	9360	10100	9360	8700	10600	9360
K	8320	8300	8320	7190	7800	8320
Mg	3950	3800	3950	3470	3700	3950
Na	40	< 100	140	260	< 100	140
Mn		73		67,1	83,7	

Zdroje: Mikšík (2024c, pers. comm.); USDA Food Composition Databases (2019); SR: Online potravinová databáza (2023), ČR: Centrum pro databázi složení potravin (2020)

Od uplynutí 1 kalendářního roku od doby nabytí platnosti Čl. II zákona č. 273/2013 Sb. nebylo možné na území České republiky pěstovat mák s maximálním obsahem morfinu vyšším než 0,8 %. Výjimkou bylo jeho pěstování pro výzkumné a pokusné účely, zachování genetické rozmanitosti a šlechtění nových odrůd (Zákon č. 167/1998 Sb., 1998).

Labanca et al. (2018) zmiňují, že existence 5 chirálních center ve struktuře morfinu způsobuje, že jeho organická syntéza je natolik finančně náročná, že opiový mák bude nadále pěstovaný na makovinu – pro získání opiových alkaloidů na farmaceutické účely. Beaudoin & Facchini (2014) souhlasí, že jsou to chirální centra, která činí syntetickou výrobu farmaceuticky využitelných alkaloidů finančně nerentabilní. Jako opiové alkaloidy označujeme látky patřící mezi fenatreny a benzylochinoliny (EFSA 2015).

Metody vedoucí k částečnému a většímu množství odstraněných opiových alkaloidů z povrchu makového semene (25-100 % dle EFSA 2018) jsou úpravy suchým teplem, mytím, máčením, mletím a tepelným zpracováním. Podle Shetge (2020) je pro odstranění nadpoloviční většiny přítomných opiových alkaloidů potřeba tepelná úprava a promytí makových semen. Úpravou na páře, nebo mletím nedošlo k jejich významnému snížení (Shetge et al. 2020).

Zákony české republiky udávají povinnost hlásit výměru máku, který se chystáme vysít a předpokládanou výměru v příštím roce (povinnost ohlásit do května roku, v němž bude mák sklizen), dále hlásit množství sklizeného makového semene a makoviny, pokud by jeho výměra byla vyšší než 100 ha (Zákon č. 167/1998 Sb. 1998). Také odpovědnost za zacházení s makovinou po její sklizni je regulována tímto zákonem.

3.1.1 Norma kadmia v makovém semeni, pančování máku

V České republice donedávna platil stanovený limit maximálního obsahu kadmia v makovém semeni o hodnotě 0,8 mg/kg spolu maximální hodnotou morfinových alkaloidů na povrchu makového semene v hodnotě 25 mg/kg (Vyhláška č. 399/2013 Sb. 2013). Hodnota na povrchu makového semene byla změněna na limit 20 mg/kg v roce 2023 (Evropská Unie 2014).

Dle nařízení komise (EU) 2021/1323 ze dne 10. srpna 2021, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity kadmia v některých potravinách jsou maximální povolené hodnoty výskytu kadmia v máku v celém semeni 1,2 mg/kg čerstvé hmotnosti a u zpracovávaného semene 0,1 mg/kg čerstvé hmotnosti.

Knápek et al. 2011 ve své práci doporučili, aby byl limit kadmia v makovém semeni stanoven na 1 mg/kg, jelikož měl obavy, že s vyšším limitem bude snadné překročit tolerovatelný týdenní příjem tohoto prvku, který byl EFSA (2009) stanovený na hodnotu 2,5 µg Cd/kg na kilogram tělesné hmotnosti. EFSA (2009) také přednesla varování, že v případech rizikových skupin obyvatel, mezi které patří děti, kuřáci, a lidé žijící v oblastech s vyšším obsahem kadmia, může být tohoto limitu dosaženo dvakrát rychleji. Z 208 sledovaných vzorků máku přesahovalo hodnotami kadmia tehdejší povolený limit v České republice 22 % vzorků (Knápek et al. 2011).

Při nahlédnutí do přílohy 2.: Obsah kadmia v makových semenech ve vybraných půdách v ČR, metoda AAS (upraveno dle Mikšík 2024a, pers. comm.), je zřejmé, že pouze 1 z 15 vybraných vzorků makových semen měl nižší hodnotu kadmia v semeni než 0,5 mg/kg kadmia. V roce 2019 stále platil původní limit pro kadmium v makovém semeni 0,8 mg/kg, proto by polovina z těchto 15 vzorků nebyla schopna tehdejší limit splnit. I poté, co byl tento maximální limit navýšen na 1,2 mg/kg měl 1 z těchto vzorků vyšší hodnotu (lokace Kaménka) a vzorky ze tří dalších lokalit se limitní hodnotě blížily. Vzhledem k tomu, že mák patří mezi rostliny hyperakumulující kadmium, je takto častá existence kadmia v půdě a jeho vysoké hodnoty v makovém semeni závažným problémem pro pěstitele máku (Mikšík & Lohr 2020).

V České republice je dlouhodobě sledovaný přísun semen technického šedého máku z míst mimo republiku, mezi semena našich potravinových máků. Jelikož ostatní státy nemají tak silně regulované možnosti týkající se vysokomorfinového máku, a v Čechách je o mák jako potravinu zájem, dostává se k nám tento málo sladký, nepříliš aromatický až nahořklý mák namíchaný spolu se sladkými modrými odrůdami. Toto míchání, pančování se děje proto, aby

se dosáhlo na nižší hodnoty opiových alkaloidů na povrchu semene v celkovém objemu smíchaného máku (Mikšík & Lohr 2020).

Pomoc proti nákupu pančovaného máku, má poskytnout chráněné zeměpisné označení Český modrý mák, které bylo zřízeno ze strany spolku pro Český modrý mák. Představuje ujištění, že kupujeme certifikovaný český produkt, který má slibovanou kvalitu a nebude v Čechách ani mimo ně kazit dobré jméno naší tradiční olejninu. Toto označení bylo nahlášeno mezi CHZO- chráněná zeměpisná označení v Evropské Unii v únoru 2021. Kdokoliv, kdo může prokázat český původ svého vypěstovaného máku si může o tuto značku zažádat, a zvýšit lukrativitu svého produktu. Tato certifikace spolu s cejchem České cechovní normy, kterým se pěstitelé máku zavazují k dodržování konkrétních pěstebních a zpracovatelských postupů by měla pomoci veřejnosti s rozeznáním kvalitního máku z pohledu opiátů a nutričních hodnot. Od roku 2022 má CHZO také Český bílý mák (Mikšík 2023).

3.1.2 Obsah kadmia v semenech máku a potravinách

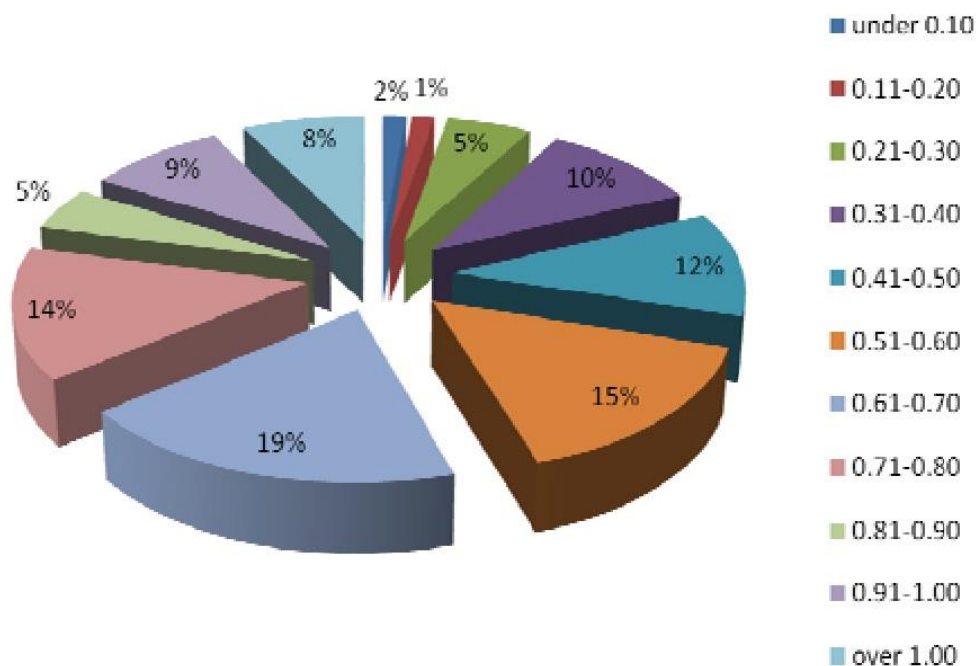
Obsah kadmia v semenech máku byl zjištěn v rozsahu 0,090 až 2,300 mg/kg, (Salamon & Fejer 2011) a 0,278 - 0,750 mg/kg konkrétně v suchém semeni dle Větrovcová et al. (2016). Knápek et al. (2011) naměřili v nezpracovaných semenech máku obsah kadmia průměrně v hodnotě 0,64 mg/kg (i medián) a v hodnotě 0,079 mg/kg v máku kuchyňsky zpracovaném (medián 0,069 mg/kg).

Dle pětileté studie z let 2004-2009 byla stanovena průměrná hodnota kadmia 0,64 mg/kg, hodnoty obsahu kadmia v makovém semeni se pohybovaly od 0,087 do 1,61 mg/kg. V této studii bylo zastoupeno 88 % vzorků z České republiky. Autoři nepozorovali zásadní rozdíl v obsahu kadmia mezi vzorky z České republiky a ze zahraničí (Knápek et al. (2011).

Obsah kadmia (AAS) v nezpracovaných makových semenech se dle Hoffmann & Blasenbrei (1986) nacházel mezi hodnotami 0,040 až 1,960 mg/kg, s průměrnou hodnotou 0,739 mg/kg a mediánem 0,654 mg/kg. V tepelně zpracovaném máku (svařená hmota, polotovar) se hodnoty vyskytovaly v rozmezí 0,010 až 0,991 mg/kg s průměrem 0,317 mg/kg a mediánem 0,366 mg/kg. V hotovém makovém pečivu (makové koláče, pečený produkt) byly hodnoty nejnižší, a to 0,010 až 0,473 mg/kg s průměrem 0,107 mg/kg a mediánem 0,088 mg/kg, což ale také souviselo také s tím, že v hotovém pečivu se vyskytoval jen určitý podíl máku.

Knápek et al. (2011) tvrdili, že barva a původ makových semen nemají vliv na koncentraci kadmia v nich.

Podle Mikšík a Kuzmeniak (2022) se do makového nápoje připraveného z makových semen a vody uvolní 60 % kadmia původně přítomného v semeni máku, doporučují konzumovat pouze mák české provenience, ale ne z důvodu nižšího obsahu kadmia, ale kvůli (podlimitnímu) obsahu opiových alkaloidů. Podle Olsson et al. (2002) je více než 80 % kadmia přijatého v potravě obsaženo v rostlinné stravě. Speciálně zmiňuje celozrnné obiloviny a výrobky z nich, zeleninu kořenovou, zeleninu všeobecně a brambory, z údajů vyplývá, že lidé s pestrá vegetariánskou dietou mohou potenciálně získávat větší množství kadmia skrze stravu, než lidé konzumující živočišné a rostlinné produkty současně. Podle EFSA (2009) je vyšší příjem kadmia spojen s konzumací vodních bezobratlých a vnitřností. Vstupuje do živých organismů, a tudíž do potravního řetězce z mnoha různých zdrojů hlavně skrze environmentální kontaminanty (Özkutlu 2008). V potravním řetězci zůstává dlouhou dobu.



Obrázek 3: Procentuální výskyt koncentrací kadmia v makovém semeni v mg/kg; celkem 208 vzorků (upraveno dle Knápek et al. 2011)

Bylo prokázáno, že kadmium se do různé míry vyskytuje v mnoha obilných produktech, semenech, čaji a bylinkách (Olsson et al. 2002).

Vyskytuje se ve stopových množstvích přirozeně v půdě (Adriano 1986). Mezi rostlinami a půdou se potenciálně rizikové prvky - kovy, polokovy a stopové prvky pohybují velmi rychle, zvláště kadmium. Jejich nebezpečnost tkví v tom, že jsou pro organismus škodlivé i v malých množstvích. Marchetti (2013) studovala vliv kadmia a olova na VDCC - napětím ovládané vápníkové kanály zodpovědné za transport vápníku mezi buňkami, kde kadmium silně reguluje schopnost signalizace buňky omezením množství transportovaného vápníku. V tělech kuřáků zůstává kadmium ještě pět let poté, co přestali kouřit (EFSA, 2009).

Dle více různých autorů je za rozvojem vážných chorob v plicích játrech a ledvinách a buňkách sítnice navýšený příjem kadmia (z Özkutlu 2008, EFSA 2009, Puklová 2005).

Díky tomu, o jak intenzivní problém s efektem na lidské zdraví se jedná, je rozumné sledovat jeho vstupy do lidského organismu a nejsnazším způsobem, jak se v malých dávkách dobrovolně kontaminovat kadmium, je konzumovat potraviny, které mají jeho obsah zvýšený.

3.1.3 Rizikové prvky

Sousloví „těžké kovy“ je historickým termínem, jehož název vycházel ze skutečnosti, že hustota těchto prvků je vyšší než $3,5 - 7 \text{ g.cm}^{-3}$. Podle Duffuse (2003) do této skupiny byly mnoha autory zařazovány prvky podle velkého množství nesouvisejících charakteristik, pokud o nich bylo možné hovořit jako o těžkých, toxických látkách či kovech. Zdaleka ne pro všechny popisované prvky platila všechna tato kritéria současně, kromě hustoty mezi kritérii figurovala relativní atomová hmotnost zařazující prvky těžší než sodík, případně těžší než vápník s atomovým číslem 40. V takto formulované skupině dominovaly prvky se značně velkou relativní atomovou hmotností jako již tradičně zmiňované kadmium (Cd), rtuť (Hg), a olovo (Pb). Další používanou charakteristikou byla hodnota atomového čísla a definice na základě dalších chemických vlastností - reaktivity s mastnými kyselinami, dithizonem, nebo jejich označení za toxické pro okolní procesy a zvířata (Duffus 2003).

Pro každý konkrétní prvek je však dána toxicita jeho dávkou a formou. Prvková analýza je schopná diagnostikovat přítomnost prvku, ale již nám nedá informaci o oxidačním čísle, v němž se prvek nachází, a o jeho formě, která může mít výrazně odlišný vliv na metabolismus organismů. World Health Organization (1980) prezentovala příklady, které podporovaly toto tvrzení, kde cín v anorganické formě je relativně neškodný pro živé organismy ale jako organická sloučenina cínu se využíval jako moluskocid a na nátěry lodí (jako fungicid). V roce 1988 World Health Organization ukázala totéž na formách chromu. Toxicitu prvku pouze v jeho konkrétní šestivazné formě, kde je pro něj buněčný membránový systém snadno průchozí a třívazné, kdy se chová jako benefiční prvek v živočišných organismech (World Health Organization 1988).

Modernějším přístupem, ačkoliv je více než 40 let starý, je návrh Phippse (1981) opírající se o vlastnosti prvků vyjádřené jejich umístěním v periodické tabulce prvků. Tento návrh vychází z toho, že valenční elektrony definující ochotu konkrétního prvku reagovat s různými látkami se nacházejí ve specifické periodě a specifickém orbitalu, a již ze samotné této pozice v periodické tabulce můžeme určit oxidační čísla prvku a jeho reaktivitu. O rozdělení benefičních a potenciálně rizikových prvků se ve své práci pokoušeli také Nieboer and Richardson (1980), kteří tyto prvky vnímali funkčně jako ionty a dělili je do tří skupin, dle chemických vlastností a preferenční reaktivity: prvky O, S a N mezi skupinu (třidu) A - tvrdé ionty, skupinu (třidu) B - měkké ionty a třetí skupinu „hraniční a střední prvky“ v iontové formě. „A“ skupina se vyznačuje vysokou pohyblivostí a preferencí pro iontové vazby s kyslíkem (- OH, - COOH, fosfátovou skupinou), skupina „B“ je typická tvorbou kovalentních vazeb, preferujících síru a dusík (- SH, - S₂, - NH₂), tato skupina obsahuje prvky ochotné hromadit se v organismu a působit toxicky. Jsou mezi ně zařazovány prvky dnes prezentované jako mikroprvky a stopové prvky, tedy typickou vlastností těchto látek je setrvávání v potravních řetězcích a v přírodě, tzn. jejich perzistence. Při příjmu toxických kovů kořenovým systémem rostliny může existence těchto prvků zasahovat do vodního režimu rostliny, příjmu dalších prvků, jejich a svého transportu do nadzemních částí, ovlivňuje výnos a růst rostliny a akumuluje se v ní (Rashid et al. 2023).

Rashid et al. (2023) dále zmiňuje případy jejich zásahu do struktury chloroplastu, jeho složení v membránových systémech buňky, poměru mezi koncentracemi chlorofylu,

metabolismu fotosyntézy, růstu a vývoje rostliny skrze ovlivnění enzymů a proteinů s nimi asociovanými.

V kontrastu s výše psaným se novější práce na téma stopových, benefičních, potenciálně rizikových, esenciálních a toxických prvků zcela nevyhýbají použití termínu těžké kovy a stále tento zavádějící termín používají, do současnosti se jedná o existující „klíčové slovo“ (sousloví) přijímané ve vědeckých periodících.

Kadmium - zdroje

Kadmium je jedním z hlavních představitelů tradičních „těžkých kovů“, potenciálně rizikovým prvkem splňujícím podmínky toxicity při nízkých koncentracích, velké molekulární hmotnosti a vysoké hustotě prvku. Vyskytuje se v půdě v nízkých koncentracích a představuje v České republice dlouhodobě sledovaný fenomén. Jeho původ je přírodní i antropogenní. V oblastech vykazujících antropogenní znečištění (dopravou, těžbou) jsou jeho hodnoty v půdě a ovzduší místně zvýšeny. Do potravního řetězce může být přiváděno také méně kvalitními hnojivy s nedostatečně kontrolovanými obsahy rizikových prvků. Značná část pro rostliny dostupného kadmia má původ v atmosférickém znečištění, roli hraje také jeho přítomnost ve vodě (Rashid et al. 2023).

Chizzolla (1997) prováděl pokus s mákem, pšenicí a keříčkovými fazolemi pěstovanými v kyselé zahradní půdě. Mák dosáhl 1,4 mg/kg obsahu kadmia, ačkoliv začínal na půdě s velmi slabým zamořením kadmia, a keříčkové fazole byly schopny kadmium zcela vyloučit ze svého kořenového systému. Zmiňuje, že vysoká hodnota kadmia naměřená v rostlině máku by mohla mít souvislost s pH půdy ve které rostla, jelikož kadmium je za určitých podmínek pH velmi dostupné pro rostliny Chizzolla (1997).

Nížejší pH půdy, je dáváno do spojitosti s vyšší dostupností kadmia pro rostliny (Škarpa et al. 2008) také při nízkém obsahu organických látek v půdě se stává kadmium pro rostlinu více dostupným. Mnoho autorů ve svých měřeních poukázalo na to že léčivé rostliny, či zelenina s vyšším obsahem kadmia se spíše nacházely v průmyslově rozvinutějších a kratší dobu osídlených oblastech a obsahy se taktéž lišily na základě toho, o jakou část rostliny se jednalo (Meena et al. 2019; Yusuf et al. 2003) a že je možné ovlivnit obsah rizikových prvků ve výsledném produktu, pokud dodržíme bezpečná pravidla sběru vzorků a vyhneme se vnější kontaminaci (Meena et al. 2019).

3.1.4 Fytoremediace

Chizzolla (2012) upozorňuje na nutnost věnovat pozornost pečlivé volbě lokace, odrůdy, režimu hnojení, aby se nezvyšovala akumulace kadmia plodinou. Dále doporučuje věnovat pozornost vztahu zinku a kadmia a jejich vzájemné interakci.

Redoxní potenciál a pH jsou podle autorů Kashem & Singh (2000) nejintenzivnější proměnné s jejichž pomocí je možné nepřímo kontrolovat a regulovat rozpustnost těžkých kovů v půdě.

Baker (1981) uvedl dvě strategie rostlin rostoucích na půdě obsahující kovy – metalopyty, a rozdělil tyto rostliny do 3 kategorií na akumulátory, indikátory a exkludery v závislosti na obsahu kovů a jejich poměru v nadzemní a podzemní části rostliny, udržování této hladiny v poměru k hladinám v půdě a intenzitě příjmu a transportu kovů rostlinou.

Tyto strategie byly dále rozvíjeny: Ma et al. (2001) hyperakumulující rostliny popisuje jako rostliny schopné translokace či bioakumulace, a zmiňuje faktory - BF (BAF) faktor bioakumulace mezi nadzemní částí rostliny a kořeny, a popisuje poměr TF (translokační faktor mezi půdou a rostlinou). Kováčik (2006) upřednostnil termín fakultativní metalofyt a metal excluder, jeho studie se týkaly heřmánku a na základě rostlin studovaných při růstu v kadmíem přirozeně zamořené půdě považoval za vhodný titul pro heřmánek výraz Cd excluder. Ma et al. (2001) doporučuje využití kapradiny *Pteris vittata* k extrakci arsenu z půdy.

Větrovcová et al. (2016) zmínili možnost snížení akumulace množství kadmia v semeni vhodně zvolenou technologií pěstování.

Dong et al. (2019) studovali vliv křemíku na příjem kadmia rostlinou. Jejich studie, provedená na *Pennisetum glaucum* a *Pennisetum glaucum* × *P. purpureum* vedla k zjištění, že se aplikací křemíku sníží ukládání kadmia do kořenových i listových částí studované rostliny, zvýší pH půdy a stabilizují část kadmia v půdě do nereaktivní formy pro rostliny.

Zhou & Li (2022) v případě pšenice doporučují soustředit se na kultivary s nižší schopností přijímat kadmium, využití regulátorů růstu, nanoaplikaci ZnO a Fe, aplikaci kompostů, biocharu, hnojiv s konkrétními mikroprvky, podporu živých organismů v půdě pro jejich spolupráci s jednobuněčnými organismy a žížalami.

Lachman et al. (2006) u máku odrůdy 'Opál' pozorovali vztah mezi konkrétním opiovým alkaloidem a stopovým prvkem. Specificky naměřili přímou závislost mezi kadmíem a narkotinem, a zinkem a narkotinem v semeni, a mezi morfinem a kadmíem v makovině. Autoři indikovali, že zvýšený stres způsobený přítomným kadmíem by mohl spouštět abiotickou stresovou reakci a snížila by rostlina produkovala alkaloidy, o kterých by bylo možné spekulovat jako o látkách účastnících se obranné strategie rostliny. Dále však pozorovali opačný vztah v makovině, kde byl obsah papaverinu se zinkem a kodeinu se zinkem v negativní korelaci vůči sobě. Zvažovali, že tato situace může být ve vztahu pozitivním vlivem zinku na růst a metabolismus sacharidů a bílkovin.

Břendová et al. (2016) zmínila, že vliv biocharu na hyperakumulující rostliny (originál zmiňuje „potential accumulating plants“) je potřeba zkoumat déle, jelikož se zdá, že podporuje jejich schopnost přijímat kovy z půdy. Abedi & Mojiri (2020) ve své práci o pšenici hovořili o vlivu organických látek v půdě hnojených biocharem na retenci kadmia touto půdou, kde KVK půdy, DTPA extrahovatelné kadmium a obsah kadmia v pšenici vykazovali pozitivní korelaci se snížením obsahu kadmia v zrně rostliny. Testovali vliv biocharu s hnojem, biocharu s vápencem a oxidy zinku a samotného biocharu. Ve všech případech se snížilo množství kadmia v semeni i v těle rostliny.

3.2 Spektrometrie, spektrofotometrie, používané metody pro rostlinné vzorky

Spektroskopie je vědním oborem zkoumajícím vzájemné vztahy látek s elektromagnetickým zářením. Následným zkoumáním záření, které je absorbováno nebo vyzářeno získáme informace o tom, o které látky se jedná porovnáním proti referenčním hodnotám pro konkrétní materiály či prvky, jelikož všechny látky mají přiřaditelná konkrétní energetická spektra. Tento obor se dělí na mnoho disciplín, které jsou rozlišeny dle konkrétních parametrů. Nejčastěji jsou děleny dle charakteristiky elektromagnetického záření, podle látek, které jsou jim studovány či dle charakteru analyzovaného spektra.

K prvkové analýze rostlinných vzorků jsou nejčastěji používány metody atomové hmotnostní spektrometrie a optické emisní spektrometrie s indukovanou plazmou (AAS, ICP-OES; ICP-AES, ICP-MS), mimo spektrometrické metody se zvláště na detekci konkrétních molekul využívá kapalinová chromatografie následovaná spektrometrickou detekcí chromatogramu (pomocí hmotnostní nebo absorpční spektrometrie). Tyto analýzy byly hojně používány na detekci elementů v půdě i rostlinném materiálu. (ICP-AES: Cu, Fe, Mn a Zn, ICP OES - Cd, (Özkutlu 2008, makové semeno; GF-AAS, Knápek (2011), LOD = 0,003 mg/kg, makové semeno; Marchetti (2013), použila na analýzu množství kadmia (v buněčné kultuře) metodu FAAS (konkrétně přístroj Perkin-Elmerův spektrofotometr s grafitovou pecí).

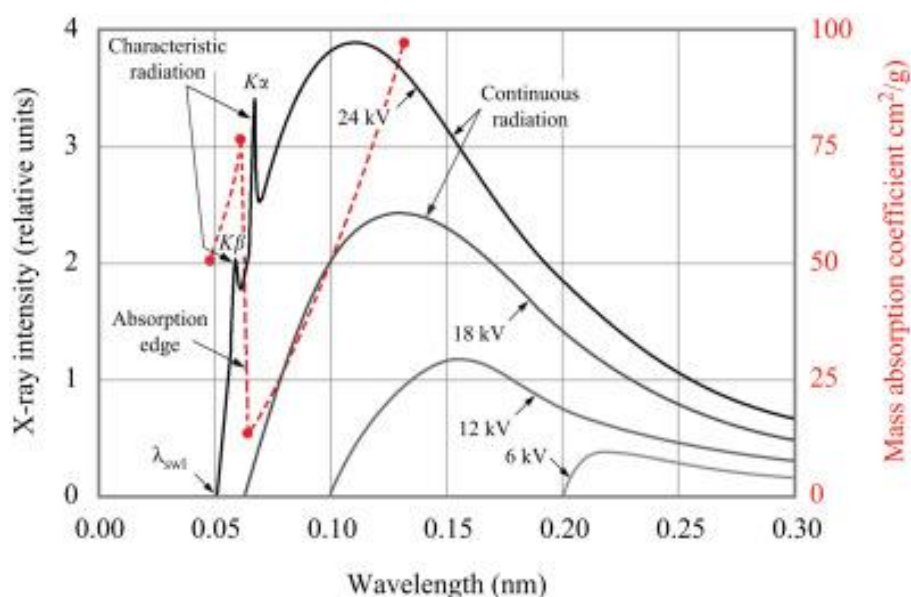
Všechny tyto metody jsou vázány na prostor laboratoří, jelikož potřebují stabilní zázemí bez otřesů se stálou teplotou a vlhkostí prostředí a kvůli přesnosti měření omezení vnějších prvkových vstupů mimo analyzovaný vzorek (nároky na čistotu prostředí, prašnost, cizí částice) a přístup k reagensům používaným k analýze. Dalším parametrem je nutnost připravit vzorky pro tyto metody analýzy, jelikož jsou velmi často převáděny do roztoku, a to také vyžaduje specifické laboratorní vybavení vázané na zdroj elektrické energie, nebo zdroje reagensů.

Společnými znaky atomové spektrometrie pro metody AAS, ICP-OES, ICP-AES je dodání energie elektronu pomocí plamene, nebo plazmy, na které reaguje elektron excitací z původní hladiny na vyšší. V případě AAS dojde po excitaci elektronu k přijetí (absorpci) radiace a vyzáření energie charakteristické pro konkrétní prvek, v případě ICP-OES se excitovaný elektron vrací na původní stabilní hladinu a vyzáří nadbytečnou energii (Kirkbride, 2000).

U metody XRF je zdrojem energie pro budoucí excitovaný elektron rentgenové záření, nebo ionizující záření, které je generováno na anodě přístroje. Tento excitovaný elektron se na původní hladinu nevrací, ale pro zachování energetické rovnováhy jeho místo zaujme elektron z vyšší energetické hladiny (slupky). Kvůli zaujmutí místa pak tento elektron vyzáří foton – x- radiaci. Na potřebu zaplnit volné místo mohou zareagovat všechny okolní slupky, jelikož dle Bain et al. (1994) energie, která je dostačující na excitaci elektronu z hladiny K je schopna excitovat dostupné elektrony ze sfér s vyšším hlavním kvantovým číslem. (Elektron, který vyrovnává energii na slupce k zanechá neobsazené místo na hladině, ze které se odloučil a na jeho odchod reaguje zase elektron z další hladiny)

K, L, M, N, O jsou starší názvy „čísel“ period (hlavních kvantových čísel). Rentgenové záření, či energie plazmy excituje valenční elektron často z s-orbitalu z hladiny K, a v závislosti na tom o jakou metodu se jedná se buď elektron vrací zpět a vyzáří přebytečnou energii kterou měříme, nebo opustí prvek úplně a nahrazuje ho na původní hladině elektron z vyšší hladiny který také vyzáří při přechodu energii kterou měříme (Bain et al., 1994).

V teorii spektra je popsána křivka prvku pomocí spektrální čáry s dvěma píky. $K\alpha$ a $K\beta$, viz obrázek X.. Na svislé ose se nachází intenzita, na ose vodorovné se nachází vlnová délka λ (vyjádřená v angströmech nebo nanometrech, angstrom = 0,1 nm). (Může tam být i E energie v kV, která popisuje konkrétní prvek).



Obrázek 4: Spektrum rentgenového záření emitovaného z prvku Mo. Z pravé strany je vložena osa grafu s hodnotami hmotnostního absorpčního koeficientu příslušného filtru (upraveno dle Saini & Kaur 2021).

Z intenzity spektrálních linií (čar) charakteristických pro konkrétní prvky se provádí stanovení množství jednotlivých prvků (Dean 2005).

Pokud je elektron, který zaplňuje uvolněné místo původem z L vrstvy, zobrazí se emise z něj jako K-alfa spektrální čára. Pokud je elektron reagující na volné místo na K vrstvě původem z M vrstvy, zobrazí se emise z něj jako $K\beta$ spektrální čára (Bain et al., 1994).

Ruční XRF spektrometry mají v sobě předřadné filtry schopné odstínit $K\beta$ čáru, abychom byli schopni vidět přehlednější grafické zobrazení složek zkoumaného materiálu.

3.2.1 Termíny spektrometrických analýz potřebné pro porozumění měření

Limitní hodnota kvantifikace, LOQ - je hodnota udávající jaké množství analyzované látky lze s definovanou přesností ještě stanovit, případně udává nejnižší bod kalibrační křivky (LCL) (EFSA 2009). Je definována koncentrací látky, kdy tato látka vyvolá odezvu měřicího přístroje, která je větší než desetinásobek úrovně šumu pozadí.

Maximální hodnota prvku v potravinách, ML - Dle Annex of Regulation (EC) No. 1881/2006 (EFSA, 2009) stanovuje, jaké maximální množství sledovaného prvku se nachází v zpracované či originální potravině, bere ohled na metodu zpracování (změny v koncentraci).

Limit detekce (LOD) je hodnota udávající, jaké množství stanovované látky je možné ještě spolehlivě prokázat (EFSA 2009). Je definován jako koncentrace látky, při níž látka vyvolá odezvu měřicího přístroje větší, než je trojnásobek úrovně šumu pozadí.

Certifikovaný referenční materiál (CRM) tvoří materiál a vzorky, které již byly v minulosti změřeny konkrétními metodami a jsou známy jejich hodnoty sloužící k nastavení kalibrace spektrometrů a ověření, zda přístroj měří správně (Dean 2005). V případě analyzátoru VANTA probíhá kontrola proti CRM automaticky, není třeba jí spouštět (BAS Rudice s.r.o. 2023a). Vhodná volba referenčního materiálu (RM) je zásadní pro správné zhodnocení vzorku, je třeba mít u něj obdobné chemické vlastnosti ve smyslu valence a vaznosti a velmi podobné složení matrice (De Goeij et al. 1983).

Spektrální interference - jev probíhající při atomové emisní spektrometrii. Je dělen na dvě hlavní kategorie dle původce interference. Částečné či plné překrytí signálu sledovaného prvku prvkem jiným (spectral overlap) a efekt matrice (Dean 2005).

Problém interference překryvem signálu je řešen zvýšením rozlišení provedeného měření a přeměření, nebo volbou jiné emisní spektrální čáry. Zvýšení rozlišení spektrometru dle Dean (2005) nemusí být realizovatelné, doporučuje tedy změnu matematického modelu, který pomáhá diagnostikovat - přepočítat signál prvku. Volbu jiné spektrální emisní čáry prvku a proměření pozadí v blízkosti problematické vlnové délky doporučuje jako spolehlivé řešení problému.

Problém interference signálu způsobeného maticí prvku bývá spojen s přípravou analyzovaného vzorku pro ICP analýzu. Dean (2005) zmiňuje, že látky rozpuštěné v kapalném vzorku mohou v některých případech ovlivnit jeho zplynování a pumpování vzorku dále do přístroje. Také existence EIE - snadno ionizovatelných prvků (příkladem „alkalické kovy“) ve zdroji plazmatu mohou vnášet falešně pozitivní data.

3.2.2 Příprava vzorku pro ICP metody a spektrometrie ICP-OES, ICP-AES, ICP/MS

Analyzátoři ICP-OES, ICP-AES a kapalinová chromatografie vyžadují pro svůj chod jistou přípravu vzorku. ICP-OES a ICP-AES jsou typem optické / (atomové) emisní spektrometrie, která analyzuje vzorek destruktivní metodou. Tato forma spektrometrie využívá plazmu (argon) jako zdroj energie k excitaci elektronů ze vzorku a po jejich návratu na původní hladinu energie opticky zkoumá vyzářenou energii pomocí 2 detektorů ze dvou pozic. Vzorek je potřeba převést do roztoku, naředit a poté analyzovat. Testovaný materiál musí být očištěn.

Dle Özkutlu (2008) pro analýzu ICP-OES byl vzorek omyt deionizovanou vodou a usušen vzduchem, poté vysušen horkým vzduchem (70°C) a rozemlet. Pro převedení do roztoku je k testovanému materiálu přidána kyselina dusičná 65% a peroxid vodíku 30% a je mikrovlnně rozložen. Tento nyní již tekutý vzorek je přefiltrován a naředěn deionizovanou vodou. Přístroj je zkalibrován pomocí referenčních materiálů, vygenerují se jejich křivky a poté je vzorek přeměřen. Nebulizér spektrometru z kapalného vzorku vytvoří jemnou mlhu, která je

přivedena ke spirále s argonem. Zahřátý plyn ve spirále ve formě plazmy pomocí vysoké teploty dodá dostatek energie elektronům vzorku, aby došlo k jejich excitaci na vyšší energetickou hladinu. Excitované elektrony vzorků se později vrátí na svou původní hladinu a nadbytečnou energii vyzáří. Tato energie je přečtena dvěma detektory z různých směrů a na základě intenzity a vlnové délky energie snímaného záření je vykreslena spektrální křivka prvků. Özkutlu (2008) tuto metodu použil na měření kadmia, Cu, Fe, Mn and Zn a tyto prvky byly metodou ICP-AES měřitelné v hodnotách desítek mg/kg, kadmium toutéž metodou v jednotkách $\mu\text{g}/\text{kg}$ nebylo možné u máku změřit, bylo mimo detekční hodnoty přístroje (LOD), pro metodu ICAP-OES také u kadmia u máku nedosáhli změřitelných výsledků. Měřili obsah kadmia v semenech a částech rostlin používaných jako koření a v případě makových semen (*Papaver somniferum* L). U jiných rostlin byli schopni naměřit hodnoty kadmia v semeni stejnou metodou ve škále od 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (pískavice) po 128 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (len).

Ćwieląg-Drabek et al. (2020) k analýze rostlinného materiálu (zeleniny) a půdy použili ICP-OES a v případě příliš nízkých hodnot sledovaných kovů vzorek znovu proměřili pomocí AAS analýzy.

Bravo et al (2022) využili ICP-AES ke zjištění obsahu kadmia v půdě i v kakaových bobech (za použití přístroje ThermoICAP-6500 s LOQ = 0.28 mg/kg suché hmoty). Chaves et al. (2010) stejně jako Knápek et al. (2011) rozdělil prvky které sledoval do více skupin, kvůli spolehlivému limitu detekce přístroje, se kterým pracoval. Děлил je podle koncentrace, ve které se předpokládáně měly v rostlině nacházet. Ty prvky v zeleninových semenech, u kterých očekával vyšší koncentrace byly analyzovány v ICP-OES. Ostatní prvky s malým výskytem i malou hmotností zpracovával na ICP-MS.

ICP/MS analýza oproti ostatním ICP metodám nepracuje s excitovanými elektrony jako se zdrojem emisí, ale využívá k měření analyzovaném obsahu informace o jejich atomové hmotnosti a náboji. Pracuje s detekcí kladných jednomocných iontů a poměřuje podíl atomové hmotnosti a náboje. Tato analýza je vhodná na detekci molekul organických látek i na elementární analýzu. Oproti ostatním zmíněným metodám ICP je schopna zpracovávat výrazně větší množství prvků současně, ale s nárůstem rozdělení analytu na konkrétní detekované prvky klesá jejich citlivost měření (Dean 2005). Tento problém dle Dean (2005) neumíme řešit. Masson et al. (2010) referoval, že při dobré shodě mezi hodnotami měřených a certifikovaných materiálů je využitelnost ICP/MS k detekci základních prvků v rostlinném materiálu vhodná, pokud se podaří upravit vliv interference matrice. Je zásadní zvolit vhodný standard, proti kterému bude vzorek poměřován.

ICP-MS analýza je preferovanou (nejpodrobnější data dle nich udávající) metodou pro FDA (Food and Drug Administration) (Palmer et al. 2009).

3.2.3 NAA - neutronová aktivační analýza

Neutronová aktivační analýza (Kučera 2011) patří mezi velmi přesné metody měření. Je radioanalytickou technikou umožňující měřit stopové prvky velkých skupinách dat (Klímová et al. 2022). INAA, kde instrumentální znamená nedestruktivní, je neutronová aktivační analýza využívající záření gama γ . (Jako destruktivní NAA se označuje radiochemická forma této metody) (Brabec 2005). Vzorek je ozářen proudem neutronů a měří se emise gama záření při

jeho přechodu na nuklid. Změřená Energie vypovídá o typu radionuklidu, a intenzita o jeho koncentraci. Tato metoda byla dokonce použita na certifikaci referenčních materiálů chemického složení ve spolupráci s institucemi NIST (National Institute of Standards and Technology, USA) a MAAE (Mezinárodní agentura pro atomovou energii), je schopna detekce prvků i ve velmi malých hodnotách. Tato přesnost je získána pomocí interní verifikace, což je schopnost této metody porovnat mezi sebou měření různých izotopů téhož prvku, které byly aktivovány použitím různých jaderných částic k ozáření (De Goeij et al. 1983).

NNA se často využívala na kontrolu sporných analytických dat, a opravovaly se podle ní referenční hodnoty dříve stanovených doporučených hodnot (Kučera 2007), například hodnoty stopových prvků stanovených metodou AAS pro sušené mléko (De Goeij et al. 1983), které využívala v té době W.H.O. jako standard pro lidskou výživu.

3.2.4 XRF - rentgenová fluorescenční spektrometrie

Rentgenová fluorescenční spektrometrie je v porovnání s výše zmíněnými metodami velice rychlá a levná. Nevyžaduje speciální prostředí ani reagentie, pouze velkou datovou knihovnu referenčních hodnot a matic a správnou kalibraci (výpočetními algoritmy). Její největší výhodou je pravděpodobně nedestruktivnost měřeného materiálu. Dokáže pracovat s pevnými vzorky a nevyžaduje jejich převádění do roztoku (Frydrych & Jurowski, 2023). Detekovatelnost měřených hodnot z velké části závisí na softwaru konkrétního přístroje, jelikož XRF spektrometry určují shodu spektra vzorku a informace z datové knihovny referencí podle výpočetního nastavení – kalibrace.

Hlavní finanční zátěží je nákup samotného přístroje a kalibrace. Provoz samotného zařízení je velmi levný (Frydrych & Jurowski 2023).

Podle Frydrych & Jurowski (2023) je využití pXRF metody přesnější z pohledu detekce množství elementů, která je oproti FAAS metodě (FAASallow) vyšší u pXRF.

Palmer et al. (2009) doporučují měřit vzorky potravin k analýze pXRF metodou, a poté přeměřit pomocí ICP-MS, kterou považují za „zlatý standard“ ke kterému je možno srovnávat hodnoty měření. Nedestruktivnost pXRF měření umožňuje také měřit následnou analýzou tentýž vzorek.

XRF spektrometrie se nejčastěji využívá ve dvou podobách. Jako ED – energiově disperzní a jako WD vlnově disperzní. (Palmer et al. 2009)

Panalytical Epsilon 5 EDXRF je příkladem laboratorního (stacionárního) EDXRF analyzátoru schopného měřit nižší než ppm koncentrace prvků. Jolly et al. (2013) zkoumali vzorky zeleniny pomocí Panalytical Epsilon 5 EDXRF Spectrometer Systému, s rentgenkou schopnou generovat 600 W a energií detektoru 140 eV.

Typ vzorku a jeho zpracování může ovlivnit kvalitu výsledků. Množství organických látek ve vzorku, jeho heterogenita, vlhkost a výška vzorku také ovlivňují výsledek měření (Ravansari et al. 2020). Stabilita přístroje během analýzy ovlivňuje úhly, pod kterými je na vzorek posláno záření a úhel v kterém snímá detektor, případné oddálení vzorku od měřící

komory, kdy se dostane mezi povrch vzorku a rovinu snímání vrstva vzduchu ovlivní měření. Místo které je v takové situaci snímáno není přímo na povrchu vzorku (Ravansari et al. 2020).

Pro analýzu vzorku půdy USEPA (2000b) doporučili vytvořit homogenní vzorek tím že půdu usušili, semleli a proseli přes síto s výslednou velikostí částic menší než 250 μm . Tím by se mělo zamezit k vzniku chyb způsobených čtením nerovnoměřených míst ve vzorku, které zesilují signál.

Pokud chceme dosáhnout na přesnější měření, tak blanka měřící komory musí být z takového materiálu, aby neinterferovala s radiací z rentgenky a odečtem fluorescenční emise (Ravansari et al. 2020). Zvláště u lehkých prvků, které emitují slabší fluorescenční záření je známým faktem, že blanka na vzorkovnici, rostoucí vzdálenost od měřící komory a krytka komory mohou zvýšit ztrátu fluorescenčního záření a odečtené emise jsou pak nižší (utlumení nebo rozptýlení signálu). Těžší prvky (s vyšší denzitou, níže položené v periodické tabulce prvků) tento problém nemívají (Kalnicky & Singhvi 2001; Parsons et al. 2013).

Při porovnání velikosti vzorku potřebného pro pXRF analýzu a ICP-OES analýzu, je velikost vzorku mnohonásobně vyšší u ICP-OES techniky, což vede k tomu, že pro dosažení srovnatelných výsledků mezi těmito dvěma měřeními, je potřeba navýšit množství měření pXRF tak aby byly hodnoty měřených objemů blíže k sobě. Pak budou tato měření pravděpodobně snadněji srovnatelná (Ravansari et al. 2020). Velmi výrazně se to podepisuje na výsledcích měření lehčích prvků (Ravansari et al. 2020).

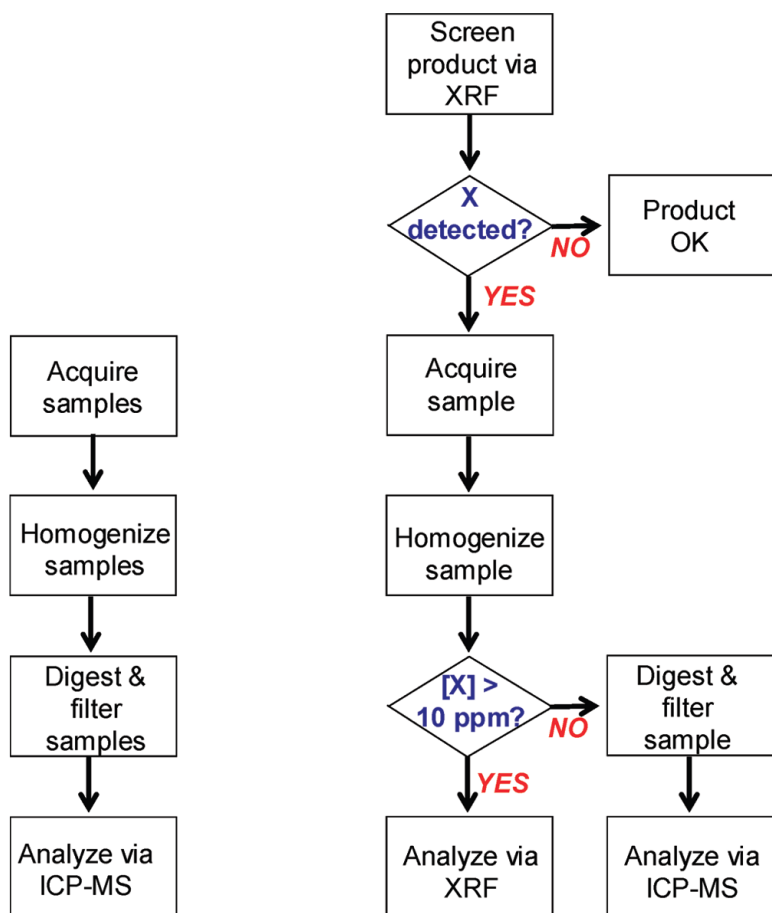
Doba měření ovlivňuje přesnost výsledku a jejich LOD. S rostoucí dobou se zlepšuje limit detekce, ale od určitého bodu již rostle pouze šum zastírající signál a LOD zůstává stejný. Ke zpřesnění kvality měření je třeba si zvolit na jaké prvky se chceme nejvíce zaměřit a dobu měření pak cílit podle jejich fyzikálních vlastností (Kahoul et al. 2011; Kalnicky & Singhvi 2001; Parsons et al. 2013; Potts & West 2008)

LOD udávaný pXRF spektrometrem je unikátní ke zrovna měřenému materiálu a komponentům a kalibraci přístroje a závisí na délce měření. Ideálně je dobré proměřit limit detekce ve 3 opakováních na certifikovaném referenčním materiálu, který má příslušné vlastnosti blízko hodnotám námi měřeného vzorku (Parsons et al. 2013).

Velikost částit vzorku a denzita vzorku silně ovlivňují měření (Liu et al. 2018)

Angelo et al. (2002) problém s velikostí částic vzorku a jeho denzitou řešili pomocí originální tvorby pelet, očekávali vylepšení zlepšení absorpce záření rentgenky. Pokusili se vytvořit peletu o váze 150 mg. V nerezovém válci stlačili práškový vzorek kyseliny borité na výšku 5 mm tlakem 11 $\text{T}\cdot\text{cm}^{-2}$ a vytvořenou peletu uzavřeli do folie firmy Mylar o tloušťce 6 μm . Jejich zvolená jemnost mletí byla dosažena v achátové třecí misce s tloučkem (0,074 mm).

Dle Angelo et al. (2002) se snížením výšky vzorku zůstane intenzita fluorescenčního záření zachována, vyžaduje však z pohledu pXRF spektrometru nekonečně hustý vzorek.



Obrázek 5: Plánování spektrometrických analýz podle úspěšnosti detekce (upraveno dle Palmer et al. 2009)

3.3 Přenosný ED-XRF spektrometr VANTA™ Series

3.3.1 Popis, účel, měřicí metody analyzátoru VANTA

VANTA je ruční (handheld) energiově-disperzní rentgenový fluorescenční spektrometr (HHXRF) dodávaný firmou BAS Rudice s.r.o., navržený na analýzu chemického složení a identifikaci prvků v testovaném materiálu (BAS Rudice s.r.o. 2023a). Je schopen identifikace a nedestruktivní analýzy kovů, slitin a detekuje prvky periodické tabulky mezi hořčíkem a uranem.

Tento analyzátor byl testován na odolnost proti pádu a splňuje armádní standard U.S. Department of Defense methods (MIL-STD-810G), má IP 64 protekci proti vniknutí prachu, je chráněný vůči stříkající vodě ze všech úhlů, a byl navržen na práci v teplotách od - 10 °C do + 50 °C. Je určený pro náročné podmínky provázející použití v terénu. Umožňuje analýzu přímo u vzorku, pokud by se nacházel ve větší vzdálenosti od laboratoří, případně pokud by nebylo možné ho z místa odebrat, pokud by vzorek měl rozměry či charakteristiky, které by komplikovaly nebo prodražovaly jeho transport. Měřicí otvor/pracovní komora analyzátoru je chráněná prolenovou blankou z materiálu prolen 6, kterou lze snadno vyměnit (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

Primárně je zaměřený na analýzu složení kovových materiálů a určování pravosti složení a kvality porovnáním proti normám (BAS Rudice s.r.o., 2017). Dle konkrétního modelu a nastavení jsou používány ke geologickému průzkumu, rozlišování kovových šrotů (recyklace odpadních materiálů), určování pravosti kovů a slitin včetně drahých kovů (ověřování shody a k pozitivní identifikaci materiálu), ochranu spotřebitele (přítomnost rizikových látek). V závislosti na potřebách měření je vyráběn pro různé metody měření (GeoChem 1, Alloy, Precious metals (měřeno jednou fází); Alloy Plus, Geo-Chem 2, ROHS (měřeno dvěma fázemi), případně jsou možné ještě kombinace dalších fází měření (ROHS2), (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

Tento přístroj je možné pořídit v různém hardwarovém a softwarovém nastavení, s velmi odlišnou kalibrací a metodami měření. Od toho se odvíjí i jeho cena (Evident Life Science 2021a). Ševčík (2024b) pers. comm. doporučuje obrátit se na dodavatele přístroje a seznámit ho s požadavky na citlivost, typy materiálů a plánovaný záměr. Dodavatel poté po praktické ukázce přístroje a proměření plánovaných vzorků navrhne optimální řešení hardwarové a softwarové konfigurace analyzátoru.

Konkrétně, přístroj vlastněný katedrou botaniky na České zemědělské univerzitě v Praze, má mezi svými analytickými přístroji spektrometr VANTA s grafenovým SDD detektorem a metodou měření Soil-GeoChem, určenou na diagnostiku prvkového složení materiálů - Element Suite. Jeho nastavené maximální budící napětí je 40 kV, hardwarově je ale schopný po překalibrování přístroje generovat budící napětí 50 kV. Metoda Soil-GeoChem umožňuje měření ve 2 fázích, kde 1 fáze, první beam měří prvky od titanu po uran včetně lehkých elementů LE, které ale nerozlišuje a 2. fáze – second beam je schopen tyto lehké elementy rozdělit na konkrétní prvky. První fáze má budící napětí 40 kV, druhá fáze má budící napětí 10 kV.

Element Suite - Soil-GeoChem	
Fáze1: 40.0 kV	
Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, W, Au, Hg, Pb, Bi, Th, U, LE	
Fáze2: 10.0 kV	
Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, Ti, Mn	

Obrázek 6: Konkrétní fáze měření a v nich měřitelné prvky v testovaném analyzátoru VANTA (upraveno dle Ševčík 2024b, pers. comm.)

Výrobce umožňuje rozšíření vybavení o analytický stativ, který uživateli dovolí měřit v pozici pistole mířící směrem vzhůru se stejnou přesností po delší časový úsek a má uzavíratelnou komoru na vzorek, která zvyšuje bezpečnost operátora v její blízkosti (Evident Life Science 2021b, Shields 2018). Případně také nabízí samostojný stativ menšího rozměru pro měření v pozici pistole mířící dolů. Pro (čistě) laboratorní použití je možné doplnit VANTA analyzátor o pracovní stanici, do které je analyzátor přímo připojen a drží spektrometr ve stabilní pozici. Disponuje také výrazně větší stíněnou komorou na vzorky. Grafenový SDD (Silicon Drift Detector, s technologií Axon u přístroje VANTA) je schopen rozlišení 137 eV. Spektrometr má nastavitelné časy měření nejmenší nastavitelná jednotka maximální doby měření 1 fáze je 60 sekund (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

S každým čtyřnásobným prodloužením doby měření fáze se přesnost tohoto měření dvakrát zvýší (BAS Rudice s.r.o. 2023a; Potts and West 2008). „*Nicméně po určitém čase již ke zlepšení přestane docházet. Nemá smysl mít čas měření jednoho vzorku delší než jednotky minut na každou fázi*“ (Ševčík 2024a, pers. comm.).

Interval spolehlivosti je oblastí, v níž se za určité pravděpodobnosti (spolu s předem zvolenou hladinou významnosti) nachází, skutečná hodnota měřeného prvku. Variabilita měření prvků (σ) se s rostoucí přesností výsledků zmenšuje (při zachování intervalu spolehlivosti). V případě VANTA spektrometru je 99,7 % interval spolehlivosti charakterizován přičtením kladné a záporné hodnoty trojnásobku průměrných hodnot σ naměřených pro konkrétní prvek. Zmenšující se hodnota 3 σ pro měřený prvek poukazuje na snižující se nepřesnost měření, značí, že se snižuje variabilita rozptylu obsahu prvku směrem k průměrné hodnotě, a tedy i interval hodnot obsahu, v němž se nachází 99,7 % naměřených hodnot (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

U neorganických materiálů mohou být výsledky dostupné již po pár vteřinách. V průměru je doba měření je velmi krátká v řádu minut. Základní startovní nastavení Geo – SoiChem je 60 sekund pro 1. fázi a 100 sekund pro fázi 2. (BAS Rudice s.r.o. 2023a). Pro bezpečnost operátora spektrometru je doporučeno dodržet bezpečnostní vzdálenost 1,8 m od aktivně měřícího přístroje a omezit čas strávený v jeho blízkosti, když produkuje ionizující záření. Rentgenové záření generované VANTA zastaví až tří milimetrový plát nerezové oceli. Z toho důvodu je zakázáno měřit vzorky držené v ruce a mířit měřícím okénkem směrem k tělu.

Je možné měřit vzorek i v pozici, kdy se testovaný materiál nachází na vrchní části měřicí komory – invertní metodou (měřicí komora je namířená směrem vzhůru), ale za této situace se celé tělo operátora musí nacházet pod přístrojem.

Výstupem měření zobrazeným na displeji spektrometrů jsou hmotnostní % a ppm hodnoty měřených prvků. Je tato funkce spuštěná umožní spektrometr VANTA zobrazit směrodatné odchylky či násobky směrodatných odchylek k měřenému prvku. Podle BAS Rudice s.r.o. (2023a) je tato funkce užitečná k okamžitému zhodnocení, zda je zkoumaný vzorek v mezích normy (zda po přičtení konfidenčního intervalu ± 3 sigma konkrétního prvku k výsledku měření splňuje vzorek předepsanou / zvolenou normu). Metoda Geo-SoilChem neumožňuje nastavené normy měnit.

Pro práci s analyzátoři VANTA je nyní nově dostupné živé zobrazení, což je placený program stažitelný do chytrého mobilního telefonu (android i IOs), který umožňuje zrcadlit displej VANTA na displej telefonu a přepínat funkce a charakteristiky analýzy případně spouštět opakované testy, aniž by došlo ke změně pozice vzorků a měřicího přístroje.

Práce se vzorky

Tato forma rentgenové spektrometrie (ED) měří u zkoumaných vzorků do rozličných hloubek v závislosti na materiálu vzorku. V případě velice hustých materiálů jako jsou kovy, bude měřit nejbližší část vzorku k měřicí komoře tedy jeho povrch, může tedy analyzovat pokovení nebo nátěr a nepodává tím informaci o vnitřním složení. U některých slitin kovů může dojít k tomu, že budou mít na povrchu zcela jiné složení než uvnitř. V takovém případě je vhodné vzorek upravit pro měření opracováním části měřeného povrchu. V případě materiálů s nižší hustotou bude rentgenové záření procházet do větší hloubky. Přístroj tedy podává informaci ne o homogenním složení celého sledovaného objektu, ale materiálovém složení povrchu. Pro sypké materiály typu jemné zeminy a plasty je doporučena velikost vzorku 1,5 cm, pro těžké slitiny 1 mm (BAS Rudice s.r.o. 2023a). Pro vzorek jemně namletého a na peletu stlačeného máku (dosažení vyšší denzity vzorku) byla Ševčíkem (2024b), pers. comm. doporučena výška vzorku 1,5-2 cm.

XRF spektrometrie je zařazena mezi takzvané nedestruktivní metody analýzy, tudíž vzorky pro ni není potřeba nijak připravovat. Nanejvýše je třeba přihlídnout k tomu, že vzorek by měl mít čistý povrch, jelikož přístroj bude analyzovat jako první nejbližší vrstvu vzorku. V případě vzorku větších rozměrů se měřicí okénko přiloží na analyzovaný povrch vzorku a spustí se analýza. Pokud by byly měřeny vzorky menších rozměrů například zeminy, špony či úlomky, je třeba tyto vzorky vložit buď do originální kyvety od výrobce nebo do komory analytického stativu. Kyvetu, případně drobné vzorky je třeba pečlivě vycentrovat na měřicí okénko pistole VANTA abychom se vyhnuli kontaminaci dat měřením těla kyvety, případně nezvyšovali odchylky měřené přístrojem díky neviditelným či nedetekovatelným prvkům nebo nehomogenitě materiálu k čemuž může dojít, pokud je vzorek velmi drobný a mimo osovou linii ionizujícího záření. Vyšší přesnosti je dosaženo, pokud vzorek překrývá celé pole měřicího okénka. Je také doporučeno „napolohovat“ vzorek tak, aby byla jeho nejtlustší část v ose měření, případně proměřovat najednou větší množství takovýchto chemicky shodných vzorků. Na plášti přístroje v blízkosti měřicího okénka se nachází dvoucentimetrová ryska, která

pomáhá správnému přiložení květy. Vzorek by měl být co nejbližší měřicí komoře, ale neměl by se přímo dotýkat prolenové fólie, aby nedošlo k její deformaci a zašpinění. Kvalita měření je mimo jiné ovlivněná čistotou této prolenové fólie. Tuto fólii ti možné snadno vyměnit za novou nebo ji očistit lihem. V obou případech se fólie z měřicí komory snímá s přístrojem položeným na bok, aby nedošlo ke kontaminaci komory analyzátoru. Důvodem pro potřebu těsného přiložení vzorku k měřicí komoře je poloha rentgenky a kamery vůči rovině vzorku. Pokud by vzorek nepřiléhá k měřicímu okénku kamera by snímala jinou oblast a rostla by chyba měření (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

Pro úspěšné měření lehkých elementů je nutné mít homogenní vzorek a v případě pokovených povrchů je potřeba ochrannou vrstvu (pokovení) odstranit, aby docházelo k měření V požadované části vzorku. Je třeba velké přesnosti v polohování vzorků na nebo pod měřicí komorou, abychom doměření nevnegli chybu tím, že bychom analyzovali i měřicí nádobku. Blanka měřicí komory musí být neustále bez kontaminace. Na této prolenové blance (měřicí komory analyzátoru) nesmí zůstat z předchozího měření žádné cizorodé látky. Je možné sejmout z analyzátoru a očistit ji lihem. Pokud nedojde k jejímu poškození je zcela bezpečné ji znovu použít (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

4 Metodika

Měření bylo uskutečněno pomocí ED-XRF spektrometrie pomocí analyzátoru VANTA (Element suite), a poté porovnáváno s výsledky dodanými metodami ICP-OES a INNA pro Cd, za účelem posouzení přesnosti zjišťování obsahu benefičních a potenciálně rizikových prvků a kadmia analyzátozem VANTA.

ICP-OES a INNA nebyly v této práci proměřovány, využili jsme již poskytnutých výsledků analýz poskytnutých Mikšíkem (2024a,b,c,d), pers. comm. Srovnání přesnosti měření bylo poté zhodnoceno pomocí statistických metod.

1. Spektrometrická metoda analyzátor VANTA – pXRF spektrometrie

Úvodní informace o měření a zpracování hodnot

Nejprve byla prováděna analýza na zpřesnění metodiky měření pro organický sytký vzorek přístrojem VANTA (Olympus) od dodavatele BAS Rudice s,r,o. Přístroj je vybaven grafenovým SDDetektorem (Silicon Drift Detector) s technologií Axon, 4 wattovou RTG lampou s anodou s budícím napětím 40 kV,. V první části měření byly pro jednu odrůdu máku MS Harlekýn (Dřetovice) proměřeny všechny dostupné vzorkovnice v základním čase měření (60/120 s), v pozici měření standardní (vzorkovnice je pod spektrometrem, měření probíhá směrem dolů, možný vliv podkladové vrstvy pod vzorkem, např. stůl). Dále bylo toto měření zopakováno pro pozici invertovanou, kdy spektrometr míří směrem vzhůru, vzorek je nad spektrometrem, tudíž se odstraní vliv podložky.

Z výsledků porovnání zmíněných metod a vzorkovnic byla zvolena forma měření s nejpřesnějšími výsledky, který byla dále použita pro následné analýzy. Kritériem přesnosti byla nižší hodnota sigmy (směrodatné odchylky prvků identifikované analyzátozem VANTA), jelikož klesající hodnota sigma vede ke zpřesnění měření.

V druhé části měření byly nejpřesnější metodou a vzorkovnicí (invertní, kyvetka s prolenovou folií) proměřeny hodnoty téhož máku mletého dvěma způsoby. Za metody zpracování makového semene bylo zvoleno mletí v nerezovém mlýnku (značky Orion) a mletí v elektrickém mlýnku na kávu (BOSCH) o výkonu 180 W. Porovnáním získaných hodnot nsigma (nižší odchylky) a s využitím post hoc testů (Scheffého test) byl zvolen postup mletí, aplikovaný na další měření.

Ve třetí části měření byly za takto zjištěných parametrů (metoda měření, vzorkovnice, mletí) proměřeny vzorky 7 odrůd máků (dle tabulky 2. varianty 7 a 8) pro 2 různě nastavené měřicí časy. Prostřednictvím jednovýběrového t-testu bylo zjišťováno, zda čtyřnásobné prodloužení doby měřicí fáze vede ke zpřesnění výsledků měření (čas měření splňující podmínku nižších hodnot nsigma byl použit v následujících měřeních).

Takto definované parametry testového designu byly následně využity na XRF měření hodnot pro analýzu zvolených hypotéz.

2. Další metody - ICP-OES spektrometrie, INNA

Analýza pomocí ICP-OES a INNA nebyla v rámci této diplomové práce prováděna. Výsledky analýzy vzorků máku MS Harlekýn (Dřetovice, Kladensko 2019) (varianta 9 P) byly poskytnuty katedrou pedologie České zemědělské univerzity v Praze spektroskopickou

analýzou ICP-OES. Měření bylo provedeno pomocí analyzátoru DUO iCap 7000, (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Výstupem měření byl dokument MS Excel s hodnotou kadmia 0,45 mg/kg Cd v makovém semeni (Mikšík 2024d, pers. comm.).

Výsledky INNA pro Cd vzorku máku MS Harlekýn (Dřetovice, Kladensko 2019) (varianta 9 P) byly poskytnuty již vyhotovené metodou Instrumentální neutronové aktivační analýzy na oddělení jaderné spektrometrie v Ústavu jaderné fyziky AV ČR proti certifikované normě: NIST SRM 1566a - Oyster Tissue (INAA) $4,075 \pm 0,472$ (s certifikovanou hodnotou $4,15 \pm 0,38$) a nalezeným obsahem kadmia o hodnotě $0,552 \pm 0,015$ ppm v semenech máku. (Mikšík 2024b, pers. comm.).

Poskytnuté výsledky analýz ICP-OES a INNA budou využity k porovnání s v této práci měřeními výsledky analýzy pomocí spektrometru VANTA.

Tabulka 2: Přehledová tabulka - Varianty nezávisle proměnných a jejich interakce

		Nezávisle proměnné		Doplňkové informace - konstantní		
		Testové varianty	Upřesňující faktory	Odrůdy	Čas měření	Pozice
V A N T A	Varianta 1	Standardní metoda	A Víčko s otvorem	MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Standardní
			B PP blanka	MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Standardní
			C Potravinová fólie	MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Standardní
	Varianta 2	Invertní metoda	D Víčko s otvorem	MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Invertní
			E PP blanka	MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Invertní
			F Potravinová fólie	MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Invertní
			G Prolenová fólie	MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Invertní
	Varianta 3	Nerezový mlýnek (Orion)		MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Invertní
	Varianta 4	Elektrický mlýnek (BOSCH 180 W)		MS Harlekýn (Dřetovice)	60/120 s	Invertní
	Varianta 5	Měřicí fáze 1		Všechny odrůdy máků uvedené ve variantě 7 a 8	240/60 s	Invertní
	Varianta 6	Měřicí fáze 2			480/120 s	Invertní
	Varianta 7	Modrý mák	H MS Harlekýn (Dřetovice)		480/120 s	Invertní
			I MS Harlekýn (VOPOL)		480/120 s	Invertní
			J Neznámá odrůda (Bio Nebio)		480/120 s	Invertní
K Major (Rosibee)			480/120 s	Invertní		
Varianta 8	Bílý mák	L Orel (VOPOL)		480/120 s	Invertní	
		M Orel (O.M.P.)		480/120 s	Invertní	
		N Neznámá odrůda Fyton		480/120 s	Invertní	
Varianta 9	ICP-OES	O Aplaus				
		P MS Harlekýn (Dřetovice)				
		Q ZEVOS Předboj				
		R Kostelec				
		S Orel				
Varianta 10	INNA	T MS Harlekýn				
		U ZEVOS Předboj				
		V Kostelec				
Varianta 11	AAS	X Odrůda nespecifikovaná				

Varianty 1-8 jsou data měřená v této práci. Varianty 9, 10 a 11 jsou data poskytnutá od Mikšík (2024a,b,c,d, pers. comm.)

4.1 Druhy a popis vzorků

Vzorky

Zvolenými vzorky byla semena celého modrého a celého bílého máku, vypěstovaná v České republice.

Vzorky máku byly pořízeny v obchodech se zdravou výživou v Praze Bubenči (mák modrý, neznámá odrůda (Bionebio), mák modrý Major (Rosibee, farma Rosických) nebo zakoupeny přímo od pěstitele mák modrý MS Harlekýn (VOPOL s.r.o., ČMM), mák bílý Orel (VOPOL s.r.o., ČMM), a přes internetový obchod mák bílý, (FYTON). Nejvíce testovaným mákem byl MS Harlekýn (Dřetovice, Kladensko) poskytnutým Mikšíkem 2019. (dále označovaným jako MS Harlekýn, Dřetovice), ke kterému byly dříve naměřeny ICP-OES analýzy na katedře pedologie České zemědělské univerzity v Praze a hodnoty INNA analýzy naměřené v Jaderném ústavu Akademie věd v Řeži u Prahy.

Mletí

Porcelánová miska s tloučkem, makový mlýnek nerezový (Orion), elektrický mlýnek na kávu BOSCH 180 W.

Porcelánového tloučku a misky nebylo využito, protože všechny dostupné porcelánové misky měly značně poškozený vnitřní povrch, a byla od nich očekávána kontaminace úlomky z povrchové vrstvy misky a tloučku.

Mechanický mlýnek na mák byl doporučen z literární rešerše (Mikšík & Kuzmeniuk 2023), jako nejlepší metoda zpřístupnění živin ze semene pro lidskou výživu. Je díky posuvnému šroubu, pružinové podložce a pružině možno silně utáhnout na požadovanou jemnost mletí. Tím, že má regulovatelnou nastavitelnost mletí pomocí šroubu, je možné, že během dotažení máku dojde ke zkřivení mlecího kužele mírně mimo středovou osu a omílání vlastních stěn a kužele mlecího ústrojí.

Elektrický mlýnek nebo velmi silně utážené mlecí ústrojí mlýnku mechanického dokáží z olejnatých semen částečně extrahovat jejich tekutou – olejovou frakci. Uvolnění oleje by mohlo pomoci s přípravou makové pelety s vyšší denzitou a homogeností, protože tekutá složka uvolněná ze semen bude lnout s k pevným složkám a umožní vzorek máku slinout do velmi pevného útvaru s vyšší homogenitou.

Prezentovaná měření byla výsledkem mletí v elektrickém mlýnku BOSCH 180 W s nerezovým mlecím ústrojím, který byl vybrán, jelikož u něj nebyla předpokládána kontaminace vzorku mlecí metodou.

Úprava vzorku

Ve všech prezentovaných měřeních jsme se pokusili vytvořit vzorek doporučené výšky (BAS Rudice s.r.o. 2023; Ševčík 2024, pers.comm.) 1,5-2 cm. Ten byl pomocí nástroje o vhodném průměru po dobu 1 minuty opakovaně tisknut do kyvetky přetažené potravinovou

folií na spodním konci. Po splnění časového limitu byl díky potravinové folii možnost peletu opatrně vytlačit z kyvetky a vsunout ji do měřicí kyvetky s příslušným víčkem (A-G).

Metody získávání dat

Proměřením makových semen pomocí EDXRF spektrometrie pomocí analyzátoru VANTA byly získány hodnoty prvkové analýzy.

K porovnání s daty XRF spektrometrie sloužily Mikšíkem (2024a,b,c,d) pers.comm. dodané výsledky měření z certifikované laboratoře Postoloprty - prvkové analýzy ICP-OES z roku 2019 pro odrůdy Aplaus, Orel (Mikšík 2024c, pers. comm., viz příloha 4) a analýza laboratoře Katedry pedologie a ochrany půd ČZU z roku 2020 pro odrůdu HS Harlekýn (Dřetovice) a místa odběru Kostelec a ZEVOS Předboj (Mikšík 2024d, pers. comm., viz příloha 5). Výsledky naměřené Kumaravel & Alagusundaram (2014).

Ze zahraničních zdrojů byla pro komparaci zvolena databáze USDA - oficiální vládní zdroj složení potravin pro USA (USDA Food Composition Databases 2019).

Jako referenční hodnoty obsahu sledovaných benefičních a rizikových prvků v semeni máku byla použita Česká databáze (Centrum pro databázi složení potravin 2020) a Slovenská potravinová databáze (Online potravinová databáze (2023)).

Rešeršně USDA Food Composition Databases (2019) neposkytují zdroj prezentovaných dat ani metodu měření. Česká databáze složení potravin uvádí jako zdroj prvkového obsahu v případě P, K, Ca, Mg, Fe Slovenskou potravinovou databázi; Cu, Zn a Mn jsou v slovenské databázi také vyjádřeny, ale česká databáze jejich hodnoty neprezentuje. Slovenská potravinová databáze udává zdroj dat - subjekt, který měření provedl, a specifikuje původ dat, zda se jednalo o certifikovanou laboratoř, či jiný zdroj (srov. Centrum pro databázi složení potravin 2020; Online potravinová databáze 2023). Data pro Slovenskou potravinovou databázi pochází z: Kompilovaná databáza nutričného zloženia potravín potravinovej banky dát, Výskumný ústav potravinársky, 1996-2002; Compiled food composition database. Typ zdroje F (potravinové tabulky, databáze složení potravin nebo soubor dat). Informace neprokazují metodu měření, odrůdy vzorků ani počet opakování.

4.1.1 Vliv polohy HHXRF VANTA a vzorku na měření -standardní / invertní

Ve všech případech měření bylo dbáno na správné polohování kyvetky k měřicí komoře, aby nebylo měření kontaminováno materiálem nádoby. Analyzátor VANTA byl vzepřen do stabilní polohy pomocí laboratorního vybavení a zajištěn proti pohybu.

K měření vzorků byla dodavatelem analyzátoru poskytnuta vzorkovnice - plastová kyvetka (2,6 cm, s vnitřní výškou do 2,5 cm s těsnícími/zvyšujícími kroužky)

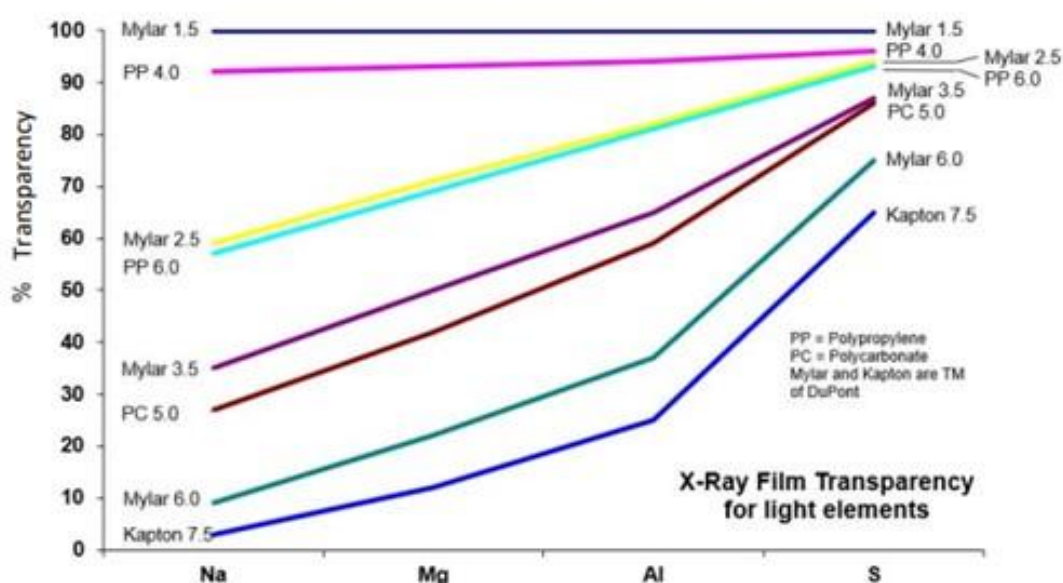
Ke kyvetce byla dodána také originální víčka s malým otvorem A a kruhové polypropylenová folie B o poloměru 3 cm („PP blanka“) - forma víčka kyvetky (viz obrázek 4, fialová linie PP 4 µm). Za další formou neoriginálního víčka kyvetky byla zvolena běžná polypropylenová potravinová folie C, kterou jsme použili s původní kyvetkou. Pro poslední

sety měření byly z katedry Pedologie a ochrany půd zapůjčeny originální kyvetky s prolenovou fólií D přikoupenou k přístroji DELTA BAS Rudice s.r.o.

Ve všech výše popsaných vzorkovnicích byl proměřen vzorek máku MS Harlekýn (Dřetovice) (7-H) dvěma metodami polohy spektrometru s časem měření 60/120s (fáze1/fáze2).

Při metodě první označené jako standardní (viz tabulka 2, varianta 1) byl sběr dat učiněn s využitím tří druhů laboratorních pomůcek: A - kyvetky s víčkem s otvorem (n = 3), B - kyvetky opatřené originální blankou PP barvy (n = 4) a C - kyvetky s potravinovou fólií (n = 3).

Při invertní metodě (varianta 2) byla pro porovnání provedena měření s využitím stejných nástrojů: D (n = 9), E (n = 3), F (n = 4) a navíc také s kyvetkou opatřenu prolenovou fólií 4 µm (n = 5).



Obrázek 7: Transparentnost fólií použitelných pro XRF spektrometrii (BAS Rudice s.r.o. 2024a, pers. comm.)

4.1.2 Měření různými metodami zpracování

V rámci přípravy vzorku byly testovány dva druhy mlýnků - mechanický nerezový (varianta 3) (n=8) a elektrický (varianta 4) (n=8) 180 W mlýnek Bosch (Dřetovického máku 7-H) (metoda měření invertní, čas: f1/f2 = 60/120, kyvetka s prolenovou fólií). Ocel je legována pomocí mnoha různých prvků zvláště Ni, Ti, V, Cr, Mo, W, Co, Al, Cu, Nb, Mn a Si. Obsah Si v oceli zvyšuje její křehkost. Výrobce mlýnku Orion neudal druh nerezové oceli, testovali jsme všechny z výše zmíněných prvků. Nad limitem detekce analyzátoru VANTA se nacházely prvky Mo, Cu, Nb, Mn, Fe a Si, které byly využity pro analýzu.

4.1.3 Vliv doby měření na přesnost výsledků

Všechny typy modrých a bílých máků namletých elektrickým mlýnkem Bosch bylo provedeno proměření invertovanou metodou, v kyvetce s prolenovou blankou ve 2 různých

délkách času měření. Varianta 5: fáze 1/ fáze 2 = 240/60 s. Varianta 6: fáze 1/ fáze 2 = 480/120 s. Pro každý ze 7 máku bylo provedeno trojí opakování (n=3).

Metodika Měření Cd (ICP-OES), INNA

Metodika je popsána pro informování o názvu přístroje, použitých reagentech, kalibračních materiálech, a obecně o průběhu měření typu ICP-OES. Měření nebylo součástí této práce. Metodika ICP-OES použitá v práci Ronevaldova et al. (2023) je příkladem metodiky použité k této analýze a její popis byl poskytnut katedrou pedologie a ochrany půd na ČZU v Praze, kde toto měření bylo provedeno. Použitým vzorkem jsou semena máku MS Harlekýn (Dřetovice, Kladensko) (Mikšík 2024d, pers. comm.).

První laboratorní spektroskopickou metodou byly vzorky proměřeny v přístroji DUO iCap 7000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA, metodou ICP-OES s výkonem 1.15 kW, předřazeným nebulizérem a rychlostí toku pomocného plynu 0,5 a 1 l/min. Metoda byla zvolena tak, aby bylo dosaženo přesných výsledků pro hodnoty mědi, železa, manganu, selenu a zinku. Vzorek máku byl ponechán při laboratorní teplotě v neuzavřené nádobce z Teflonu (Savillex, USA) spolu s 10 ml 65 % HNO₃. Tato nádobka byla uzavřena a zahřáta po dobu 2 hodin na 120°C. Takto rozložený, do kapalného stavu převedený vzorek byl kvantitativně přelit do 50 ml baňky na dolítí a po rýsku doplněn deionizovanou vodou (s vodivostí 18.2 M Ω). Celkový vzorek poté přefiltrován přes 0.45 μm Nylonové (disk) filtry (Cronus, UK). Do ICP-OES bude tento roztok poslán ve formě mlhy (nebulizován). Kvalita měření byla zajištěna dodržáním standardních laboratorních praktik, mezi které patří: opakované měření, měření kontrolních vzorků, posílených standardů, a certifikovaného referenčního materiálu NIST SRM 1575a Pine Needles a NCS DC 73,351 Tea. Výsledky měřených hodnot byly vyjádřeny v tabulkovém editoru MS Excel jako průměrné hodnoty ± SD (standard deviation), které byly získány ze 3 nezávislých měření makových semen v suché hmotnosti v mg/100 g, výsledky daného měření jsou prezentovány v příloze 5.

Druhou laboratorní metodou, kterou byl analyzován obsah kadmia ve vzorcích téže odrůdy máku a o které pouze referuji byla INAA (instrumentální neutronová aktivační analýza). Měření byla provedena v prostorách laboratoří Jaderné spektroskopie v AV ČR, Fyzikálním ústavu v Řeži u Prahy a její výsledky poskytnuty Mikšíkem (2024b), pers. comm. do této práce. K porovnání hodnot kadmia byl zvolený certifikovaný referenční materiál NIST SRM 1566a, který je uvedený v tabulce. č. 11 a v plném znění v příloze 3.

4.2 Zpracování a analýza dat

Extrakce údajů z analyzátoru VANTA byla provedena prostřednictvím softwaru VANTA Data management BAS Rudice s.r.o. 88, později aktualizovaného na verzi 89 (BAS Rudice s.r.o. 2023a, BAS Rudice s.r.o. 2023b) Z možných výstupů programu byl vybrán tabulkový editor Microsoft Excel. Výsledky měření spektrometru jsou vyjádřeny v hmotnostních procentech, udávajících množství chemických prvků ve vzorku, spolu se směrodatnou odchylkou pro jednotlivá měření. Pro porovnání s hodnotami v databázích byla hmotnostní procenta převedena na ppm, v uvedeném případě mg/kg. Výsledky lze považovat za metrické proměnné. Rozbor dat včetně deskriptivní statistiky byl proveden pomocí programu Statistika 12. V rámci testové statistiky byl prezentovány vybrané charakteristiky polohy a rozptylu: aritmetický průměr, statisticky vypočítaná směrodatná odchylka (SD) a ve vybraných případech také sigma (σ), která představuje průměrnou hodnotu směrodatné odchylky pro konkrétní prvek a měření uvedenou analyzátozem VANTA (nsigma).

K analýze dat byly využity parametrické statistické postupy. Ověření hypotéz bylo provedeno prostřednictvím jednovýběrového t-testu umožňujícího porovnat střední hodnoty naměřených dat s konstantami získanými z vybraných databází. Analýza dat k upřesnění faktorů souvisejících s metodikou postupů měření spektrometrem VANTA byla zajištěna pomocí t-testů pro dva závislé a pro dva nezávislé výběry doplněných v indikovaných případech analýzou rozptylu při jednoduchém třídění (ANOVA) a příslušnými post hoc testy (Scheffého test). Za ukazatel míry účinku bylo v případě t-testů pro dva nezávislé výběry zvoleno *Cohenovo d* představující standardizovaný rozdíl středních hodnot porovnávaných skupin prostřednictvím společné směrodatné odchylky. Platnost výsledku statistických testů byla ověřována na hladině významnosti $\alpha=0,05$. Při prezentaci tabulek testové statistiky (t testy, post hoc testy) jsou výsledky signifikantně významné označeny červenou barvou písma (Beranová et al. 2012; Hendl 2004). K názorné ilustraci výsledků byly prezentovány sloupcové a spojnicové grafy generované programem Microsoft Excel.

5 Výsledky

V následující kapitole jsou prezentovány výsledky statistických testů a analýz, jež byly využity k ověření předložených hypotéz.

5.1 Analýza výsledků: přesnost měření spektrometru VANTA

Hypotéza 1: Spektroskopické metody mají shodnou přesnost jako laboratorní metody.

Tabulka 3: Porovnání prvkového složení modrého máku v českých zdrojích

Modrý mák v ČR - obsah vybraných makro a mikroprvků (mg/kg)									
Prvek	Vybrané zdroje					Vlastní vzorky			
	Česká databáze	ICP-OES (9)				VANTA (7)			
		* O	P	Q	R	H	I	J	K
	Aplaus	MS Harlekýn	ZEVOS Předboj	Kostelec	MS Harlekýn	MS Harlekýn	Bio Nebio	Major	
Cd		0,518	0,45	0,32	0,3				
Ni			13,1	1,9	2,4				
Cu		19,5	32,9	39,3	36,5	28,0	17,9	18,1	20,5
Zn		87,3	94,1	116,1	103,3	119,5	117,3	94,6	118,7
Cr			0,8	0,9	0,7				
Fe	88,0	96,6	75,1	65,5	68,6	213,2	153,3	208,1	133,6
Ca	13570,0	15000,0	12627,2	14877,6	14275,1	23255,3	28582,7	24634,0	24566,3
P	9360,0	10100,0	7636,7	9030,8	8928,8	9291,1	9198,8	8824,2	8459,1
K	8320,0	8300,0	9448,6	9388,1	9402,0	35254,7	27054,0	33332,5	30793,6
Mg	4950,0	3800,0	2914,4	3191,5	3320,1				
Na	40,0	< 100	158,1	165,8	94,6				
Mn		73,3	69,5	66,6	86,1	62,2	95,5	54,1	90,5
S			2872,3	3158,5	3050,2	4099,6	4374,9	4439,6	4498,6

Zdroje: * Mikšík (2024d, pers. comm.); ČR: Centrum pro databázi složení potravin (2020); varianty viz tabulka 2

Ve srovnání s tabulkou 1 (databázové hodnoty) nejsou v tabulce 4 a dalších uvedeny prvkové obsahy: Cr, Na, Mg, které se nacházely pod limitem detekce spektrometru VANTA, navíc je ve vybraných analýzách uveden obsah Mo v modrém a bílém máku (tabulka 4).

Tabulka 4: Porovnání prvkového složení bílého máku v českých zdrojích

Bílý mák v ČR - obsah vybraných makro a mikroprvků (mg/kg)				
Prvek	ICP-OES	VANTA		
	S	L	M	N
	Orel	Orel	Orel	Fyton
Cd	0,161			
Cu	25,5	23,1	25,1	30,9
Zn	119,0	149,4	145,9	134,5
Fe	106,7	150,4	152,7	154,2
Ca	14800,0	30048,7	26729,6	25827,2
P	10600,0	7914,7	7600,0	8468,5
K	7800,8	23627,7	28186,2	29503,5
Mg	3700,0			
Na	< 100			
Mn	83,7	83,8	118,2	69,2
S		4331,6	4276,7	4187,5

Tabulka 4: S ,L, M, N – varianty viz tabulka 2

Tabulka 5: Jednovýběrový t-test k porovnání měření pomocí XRF spektrometrie (VANTA) s metodou ICP-OES (modrý mák MS Harlekýn - Dřetovice)

Proměnná	Konstanty ICP-OES (var. 9-P)	Průměr VANTA (var. 7-H)	SD VANTA	t	sv	p	Cohenova d
Cu	32,94	27,98	1,69	2,54	5	0,1263	-2,93
Zn	94,10	119,50	3,17	-6,94	5	0,0202	8,01
Fe	75,14	213,19	59,305	-2,02	5	0,1813	2,33
Ca	12627,18	23255,32	1629,10	-5,65	5	0,0299	6,52
P	7636,69	9291,08	634,56	-2,26	5	0,1525	2,60
K	9448,63	35254,71	1634,4	-13,67	5	0,0053	15,79
Mn	69,51	62,22	5,64	1,12	5	0,3789	-1,29
S	2872,29	4099,58	320,33	-3,32	5	0,0800	3,83

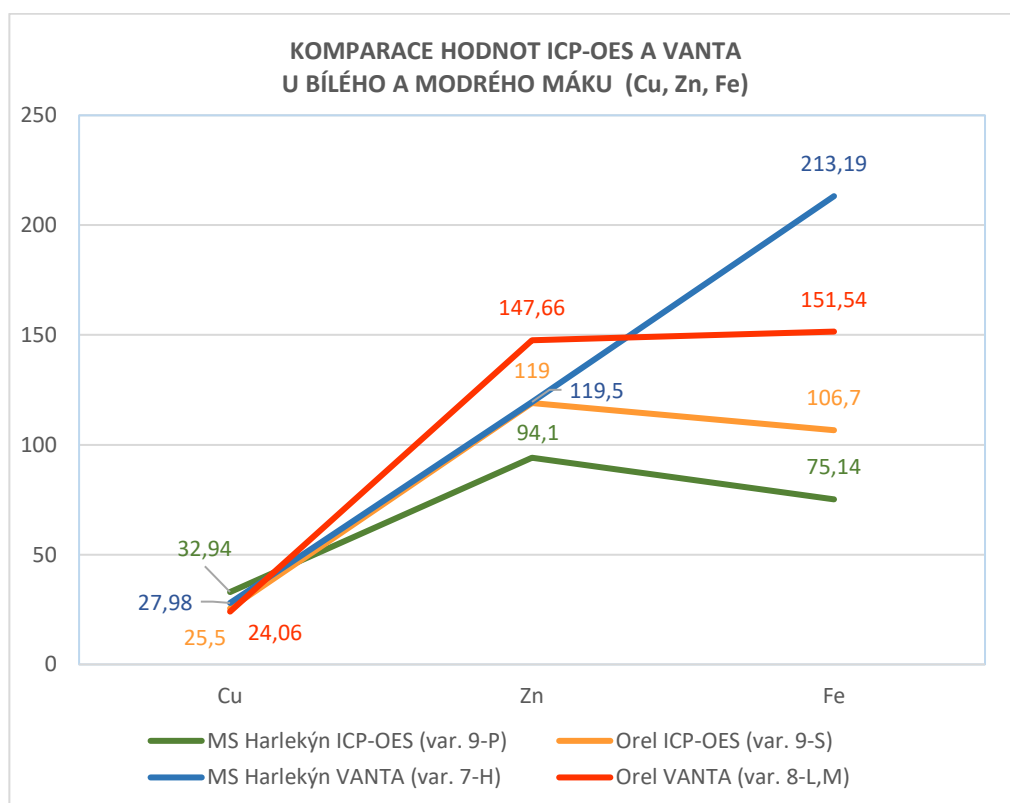
Tabulka 5: 9-P, 7-H – varianty viz tabulka 2

Tabulka 6: Jednovýběrový t-test k porovnání měření pomocí XRF spektrometrie (VANTA) s metodou ICP-OES (bílý mák Orel)

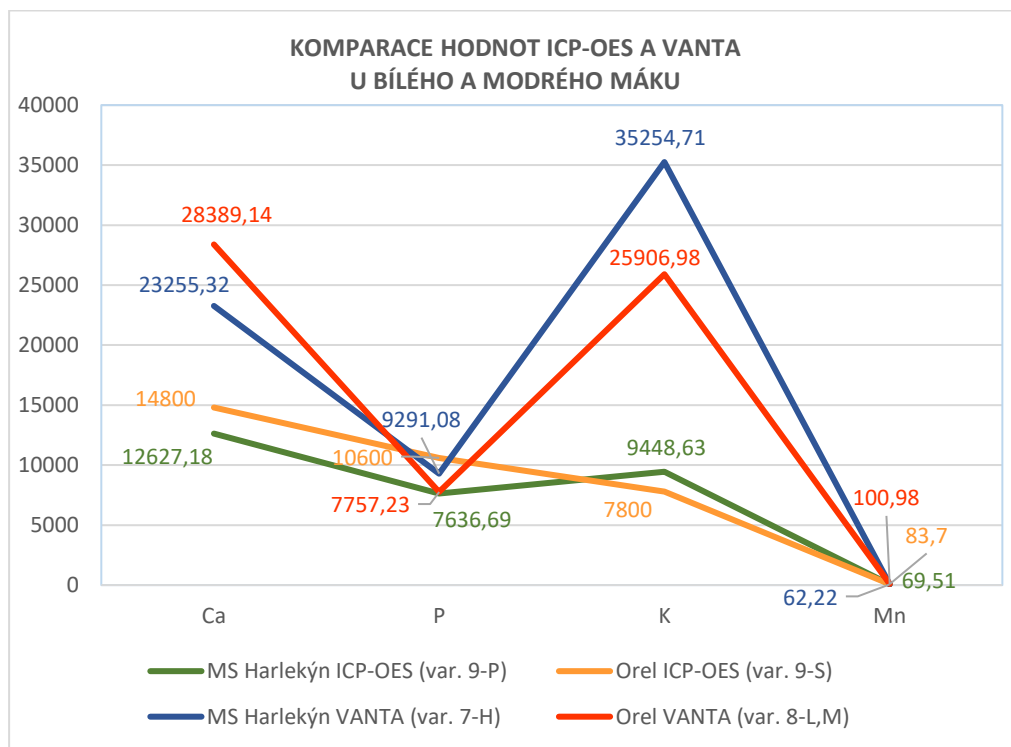
Proměnná	Konstanty ICP-OES (var. 9-S)	Průměr VANTA (var. 8-L,M)	SD VANTA	t	sv	p	Cohenova d
Cu	25,50	24,06	1,86	0,72	5	0,5060	-0,77
Zn	119,00	147,66	7,50	-3,54	5	0,0166	3,82
Fe	106,70	151,54	10,17	-4,08	5	0,0095	4,41
Ca	14800,00	28389,14	1919,55	-6,55	5	0,0012	7,08
P	10600,00	7757,23	645,90	4,07	5	0,0096	-4,40
K	7800,00	25906,98	3192,95	-5,25	5	0,0033	5,67
Mn	83,70	100,98	19,50	-0,82	5	0,4492	0,89

Tabulka 6: 9-S, 8-L,M – varianty viz tabulka 2

Statisticky významné rozdíly mezi výsledky měření metodou ICP-OES a XRF spektrometrií VANTA byly u modrého máku i bílého zjištěny u obsahu zinku, vápníku a draslíku, u bílého máku byla ověřena signifikantní diskrepance také v případě železa a manganu.



Graf 1: Porovnání obsahu Cu, Zn a Fe u modrého (MS Harlekýn) a bílého máku (Orel) analyzovaného metodami ICP-OES a XRF spektrometrie (VANTA), varianty viz tabulka 2

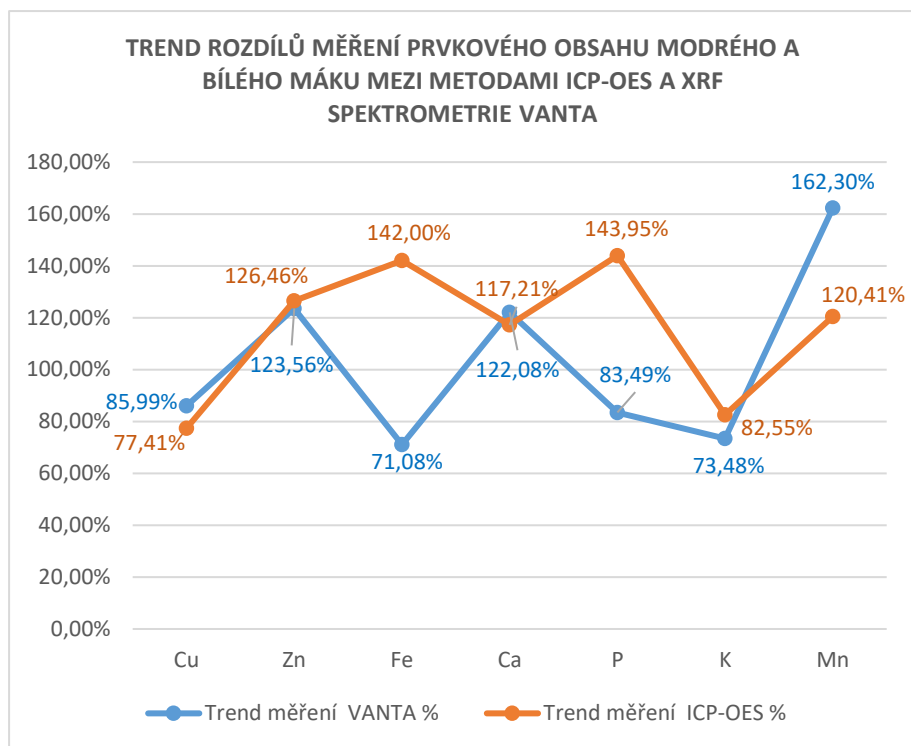


Graf 2: Porovnání obsahu Ca, P, K a Mn u modrého (MS Harlekýn) a bílého máku (Orel) analyzovaného metodami ICP-OES a XRF spektrometrie (VANTA), varianty viz tabulka 2

Tabulka 7: Trendy při měření směsi modrého a bílého máku (MS Harlekýn, Orel) metodami ICP-OES a XRF spektrometrie (VANTA)

Proměnná	ICP-OES			VANTA		
	var 9-P	9-S	Trend měření	7-H	8-L,M	Trend měření
	MS Harlekýn	Orel		MS Harlekýn	Orel	
Konstanty	Konstanty	Průměr	Průměr			
Cu	32,94	25,50	77,41 %	27,98	24,06	85,99 %
Zn	94,10	119,00	126,46 %	119,50	147,66	123,56 %
Fe	75,14	106,70	142,00 %	213,19	151,54	71,08 %
Ca	12627,18	14800,00	117,21 %	23255,32	28389,14	122,08 %
P	7636,69	10600,00	143,95 %	9291,08	7757,23	83,49 %
K	9448,63	7800,00	82,55 %	35254,71	25906,98	73,48 %
Mn	69,51	83,70	120,41 %	62,22	100,98	162,30 %

Varianty viz tabulka 2, barevně odlišena změna od 100 %



Graf 3: Porovnání trendů měření při komparaci modrého (MS Harlekýn) a bílého máku (Orel) metodami ICP-OES a XRF spektrometrie (VANTA)

Na základě t-testu porovnávajícího měření pomocí XRF spektrometrie (VANTA) s metodou ICP-OES u stejných odrůd modrého a bílého máku nebylo platnost hypotézy o srovnatelnosti výsledků možné zamítnout u prvků mědi, manganu a síry, jež byla zařazena pouze do analýzy související s modrým mákem. Diskrepance vyšší než 5 směrodatných odchylek byla registrována u měření prvků vápníku, draslíku a v případě modrého máku také u zinku. Porovnání trendů měření (viz graf 3) poukázalo na rozdíly u hodnot železa a fosforu, kde ICP-OES analýza poskytla výrazně vyšší hodnoty v případě bílého máku, spektrometrie VANTA naopak u modrého.

5.1.1 Ovlivnění přesnosti měření metodami standardní a invertní

K dosažení co nejpřesnějších výsledků byly porovnávány dva hlavní způsoby měření prezentované manuálem spektrometru VANTA a to standardní metoda (shora) a invertní metoda (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

Testová statistika ANOVA nepotvrdila signifikantní rozdíl mezi souhrnnými výsledky měření prvků (Si, P, S, Mn, Fe, Cu, Zn, Zr, Nb, Mo, K, Ca, U) provedeného standardní metodou za pomoci rozdílných laboratorních pomůcek (viz tabulka č. 2, upřesňující faktory A, B, C), $F = 3,394$, $p = 0,25$. Rozdíly středních hodnot potvrzené prostřednictvím ANOVA testu u konkrétních chemických prvků analyzovaných standardní metodou za použití třech druhů laboratorních pomůcek byly dále ověřeny pomocí Scheffého post hoc testu k upřesnění vzájemných interakcí nezávislých proměnných. V příloze 6 jsou uvedeny pouze signifikantní závěry porovnání - analýza 1 až 8 standardní metoda (u Si, P, S a K nebylo testování provedeno).

V rámci měření obsahu chemických látek invertní metodou byly vzájemně porovnávány výsledky čtyř druhů laboratorních pomůcek (viz tabulka 2, upřesňující faktory D, E, F, G). Při porovnávání invertních měření prvků (Si, Fe, Cu, Zn, Zr, Nb, Mo, K, Ca) upozornil test analýzy rozptylu při jednoduchém třídění (ANOVA) na signifikantní rozdíly mezi souhrnnými výsledky, $F = 8186,42$, $p < 0,00$. K analýze obsahu fosforu, síry a manganu invertní metodou byly využity pouze poslední tři jmenované laboratorní pomůcky (viz tabulka 2, varianty E, F, G). Naměřené hodnoty za použití víčka s otvorem (varianta 2D) byly u těchto prvků nulové, z tohoto důvodu byly výsledky klasifikovány jako chybná měření a vyřazeny z testové statistiky (včetně souhrnné statistiky ANOVA). Výsledky Scheffého post hoc testů účinnosti použitých invertovaných metod jsou obsahem přílohy 6, analýzy 9 až 22.

5.1.2 Ovlivnění přesnosti měření dobou měřících fází

Tabulka 8: T-test pro závislé vzorky k porovnání měření k v rozdílných měřících fázích

Proměnná	Průměr měření 240/60 (var. 5)	Průměr měření 480/120 (var. 6)	SD měření 240/60 (var. 5)	SD měření 480/120 (var. 6)	Průměr rozdílu měření	SD rozdílu měření	t	sv	p
Cu	21,34	21,12	4,15	4,43	0,22	0,63	1,19	11	0,2573
Zn	112,99	112,51	11,51	11,31	0,47	1,34	1,22	11	0,2465
Fe	176,40	177,05	43,16	45,08	-0,65	7,39	-0,30	11	0,7663
Ca	25196,07	25259,56	2383,70	2496,51	-63,49	315,87	-0,70	11	0,5007
P	8924,70	8943,29	525,71	543,02	-18,59	121,96	-0,53	11	0,6180
K	31719,65	31608,71	3222,90	3418,07	110,94	397,90	0,97	11	0,3549
Mn	74,62	75,57	18,73	19,53	-0,95	2,67	-1,23	11	0,2440
S	4361,21	4353,16	264,81	263,34	8,05	58,29	0,48	11	0,6416

Varianty viz tabulka 2

Tabulka 9: T-test pro závislé vzorky k porovnání sigmy prvků analyzovaných v rozdílných měřících fázích

Proměnná	Průměr měření 240/60 (var. 5)	Průměr měření 480/120 (var. 6)	SD měření 240/60 (var. 5)	SD měření 480/120 (var. 6)	Průměr rozdílu měření	SD rozdílu měření	t	sv	p
Cu sigma	0,50	0,36	0,02	0,01	0,15	0,00	134,28	11	0,0000
Zn sigma	0,58	0,41	0,02	0,02	0,17	0,01	83,35	11	0,0000
Fe sigma	1,76	1,24	0,13	0,10	0,52	0,04	43,80	11	0,0000
Ca sigma	29,29	19,54	5,74	1,33	9,76	5,80	5,83	11	0,0001
P sigma	34,56	24,26	1,31	0,76	10,30	0,90	39,55	11	0,0000
K sigma	81,12	56,34	4,86	1,72	24,77	4,55	18,84	11	0,0000
Mn sigma	2,08	1,47	0,10	0,08	0,61	0,03	71,58	11	0,0000
S sigma	15,19	10,63	0,73	0,40	4,56	0,51	31,23	11	0,0000

Varianty viz tabulka 2

V souvislosti se ukazatelem sigmy určujícím přesnost měření byly signifikantní rozdíly zjištěny u všech prvků při porovnání závislých vzorků lišících se nezávislou proměnnou ve formě délky měření.

5.1.3 Ovlivnění přesnosti měření přípravou vzorku

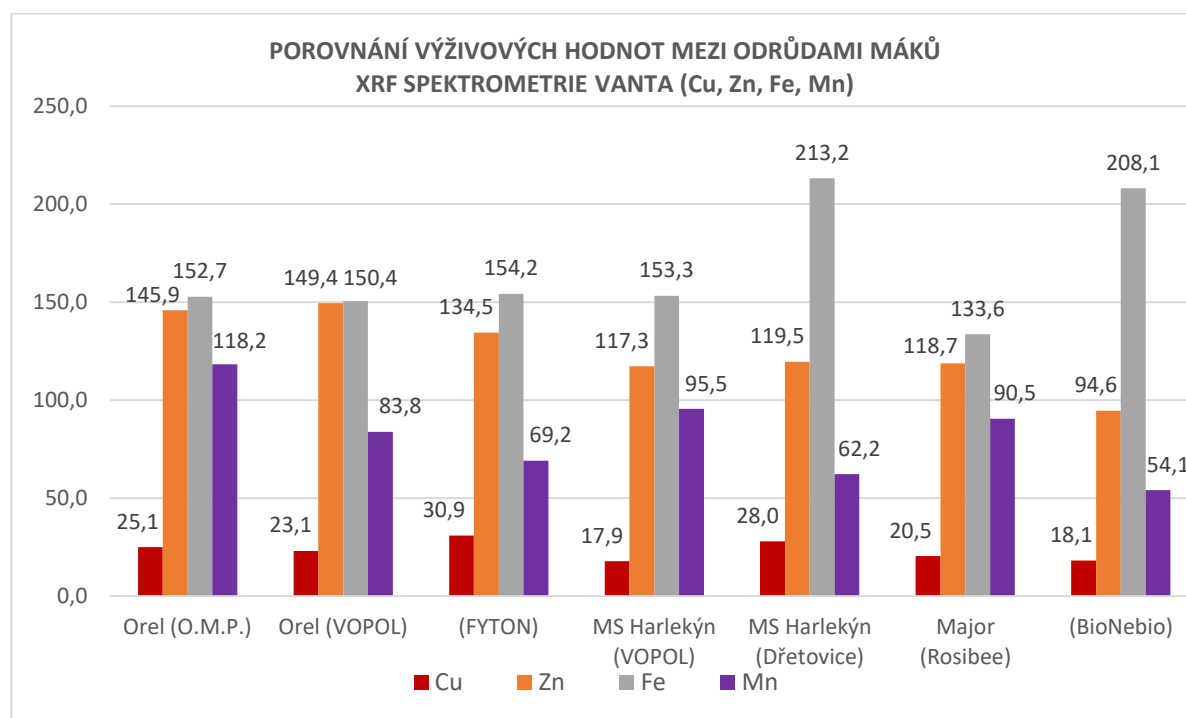
Tabulka 10: Dvouvýběrový t-test k porovnání metod přípravy vzorku

Proměnná	Průměr nerez. mlýnek (var. 3)	Průměr elektr. mlýnek (var. 4)	SD 1	SD 2	t	sv	p	Cohenovo d
Si	2283,57	1864,86	112,74	100,42	7,84	14	0,0000	3,92
Mn	59,65	62,30	4,52	4,82	-1,14	14	0,2753	-0,57
Fe	314,36	214,73	37,92	34,90	5,47	14	0,0001	2,74
Nb	4,04	3,56	0,47	0,27	2,46	14	0,0274	1,23
Cu	28,58	27,82	1,59	1,21	1,09	14	0,2961	0,54
Mo	2,49	1,56	0,50	0,34	4,38	14	0,0006	2,19

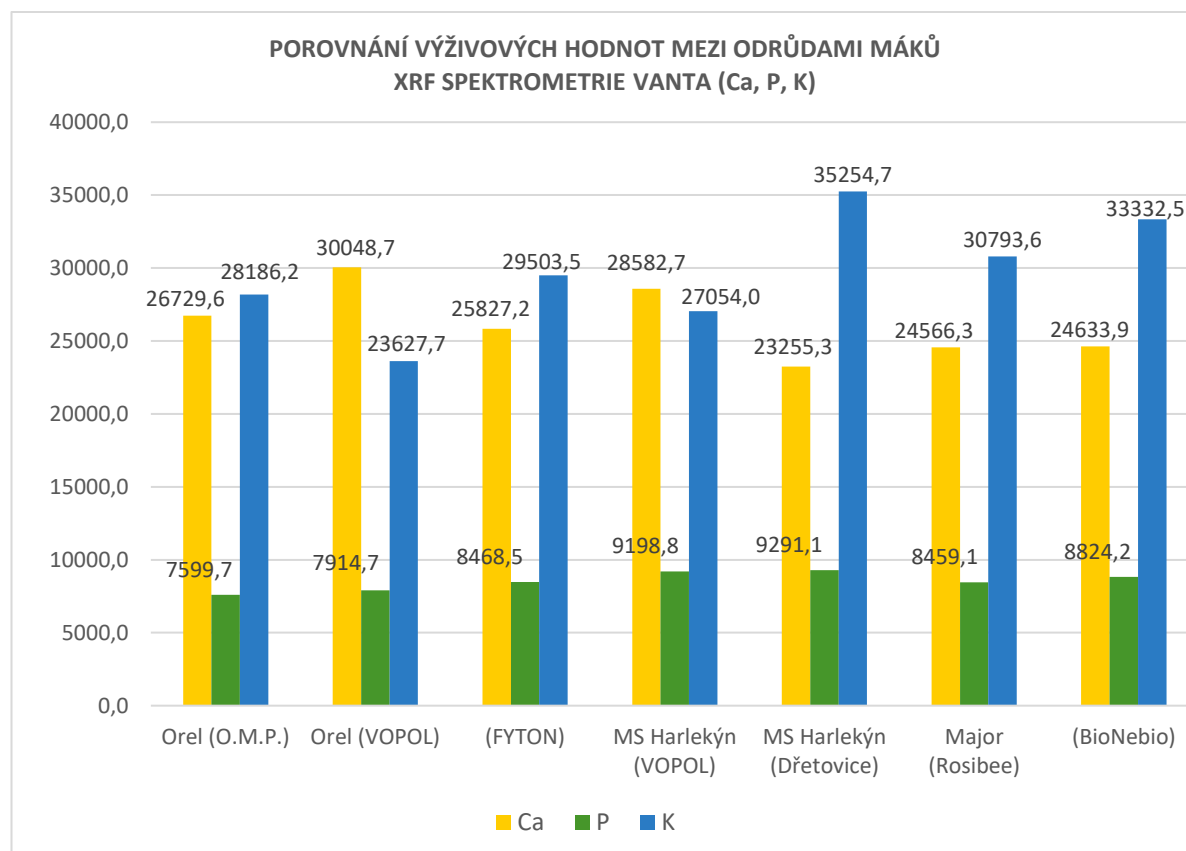
Varianty viz tabulka 2

Významné rozdíly pro porovnávání dvou prostředků mletí máku specifikovaných v tabulce č. 2 - varianta 3 a 4 byly zaznamenány u niobu, železa, molybdenu a křemíku. Rozdíly středních hodnot manganu a mědi při porovnání vzorků získaných odlišným druhem mletí nebyly statisticky významné.

5.1.4 Doplnkové analýzy



Graf 4: Porovnání výživových hodnot Cu, Zn, Fe, Mn mezi odrůdami modrého a bílého máku měřeními XRF spektrometrií (VANTA) (var 7 , var 8)



Graf 5: Porovnání výživových hodnot Ca, P, K mezi odrůdami modrého a bílého máku měřeními XRF spektrometrií (VANTA) (var 7, var 8)

5.2 Analýza výsledků: množství kadmia v českém máku

Hypotéza 2: V pěstovaných odrůdách máku na území ČR je nulové množství kadmia.

Při 262 měřeních zahrnujících obě metody nastavení spektrometru standardní i invertní za použití plastové nádoby (plastový kelímek PP, originální kyvetka, všech typů víčka a folií), u celého, mletého i třeného semen bílého i modrého máku byl bez výjimky naměřen nulový obsah kadmia.

Tabulka 11: Přítomnost kadmia v makovém semeni na území ČR - vybrané zdroje

Metoda		Modrý mák				
		Aplaus 2019	MS Harlekýn 2019 7-H, 9-P, 10-T	ZEVOS Předboj 2019	Kostelec 2018	Různá místa ČR Průměr n(15) 2019
Varianta 7	VANTA (ED-XRF)		0			
Varianta 9	ICP-OES	0,518	0,45	0,32	0,30	
Varianta 10	INNA		0,552 ± 0,015	0,231 ± 0,021	0,475 ± 0,025	
Varianta 11	AAS					0,826

Zdroje: * Mikšík (2024a,b,c,d, pers. comm.) varianty viz tabulka 2

Laboratorní protokol pro AAS měření kadmia v máku z různých míst v ČR je součástí přílohy 2, měření metodou INNA je prezentováno v příloze 3 a ICP-OES analýza v příloze 5 (Mikšík 2024a,b,d, pers. comm.).

5.3 Analýza výsledků: komparace se zahraničními zdroji

H3: Účinnost ručního spektrometru je dostačující pro zjišťování kvality dováženého potravinářského máku.

Tabulka 12: Porovnání prvkového složení modrého máku v zahraničních a českých zdrojích

Modrý mák - obsah vybraných makro a mikroprvků (mg/kg)										
Prvek	Zahraníční data				Česká databáze	Data Česká republika				VANTA
	USDA USA	* ESPANA Španělsko	** Indie	Sk databáze		*** ICP-OES (var. 9)				
						O	Q	P	R	
						Aplaus	ZEVOS Předboj	MS Harlekýn	Kostelec	
Cd					0,518	0,32	0,45	0,3		
Ni		13,0				1,9	13,1	2,4		
Se	13,5									
Cu	16,3	31,2		10,3	19,5	39,3	32,9	36,5	28,0	
Zn	79,0	62,3	2,6	67,9	87,3	116,1	94,1	103,3	119,5	
Cr		1,0				0,9	0,8	0,7		
Fe	97,6	92,8	5,5	87,5	88,0	96,6	65,5	75,1	68,6	213,2
Ca	14400,0	13110,3	690,5	13570,0	13570,0	15000,0	14877,6	12627,2	14275,1	23255,3
P	8700,0	7575,5	3980,0	9360,0	9360,0	10100,0	9030,8	7636,7	8928,8	9291,1
K	7190,0	7542,2	746,7	8320,0	8320,0	8300,0	9388,1	9448,6	9402,0	35254,7
Mg	3470,0	3195,3	287,2	3950,0	4950,0	3800,0	3191,5	2914,4	3320,1	
Na	260,0	77,6	81,2	140,0	40,0	< 100	165,8	158,1	94,6	
Mn	67,1	60,4				73,3	66,6	69,5	86,1	62,2
S		3103,3					3158,5	2872,3	3050,2	4099,6

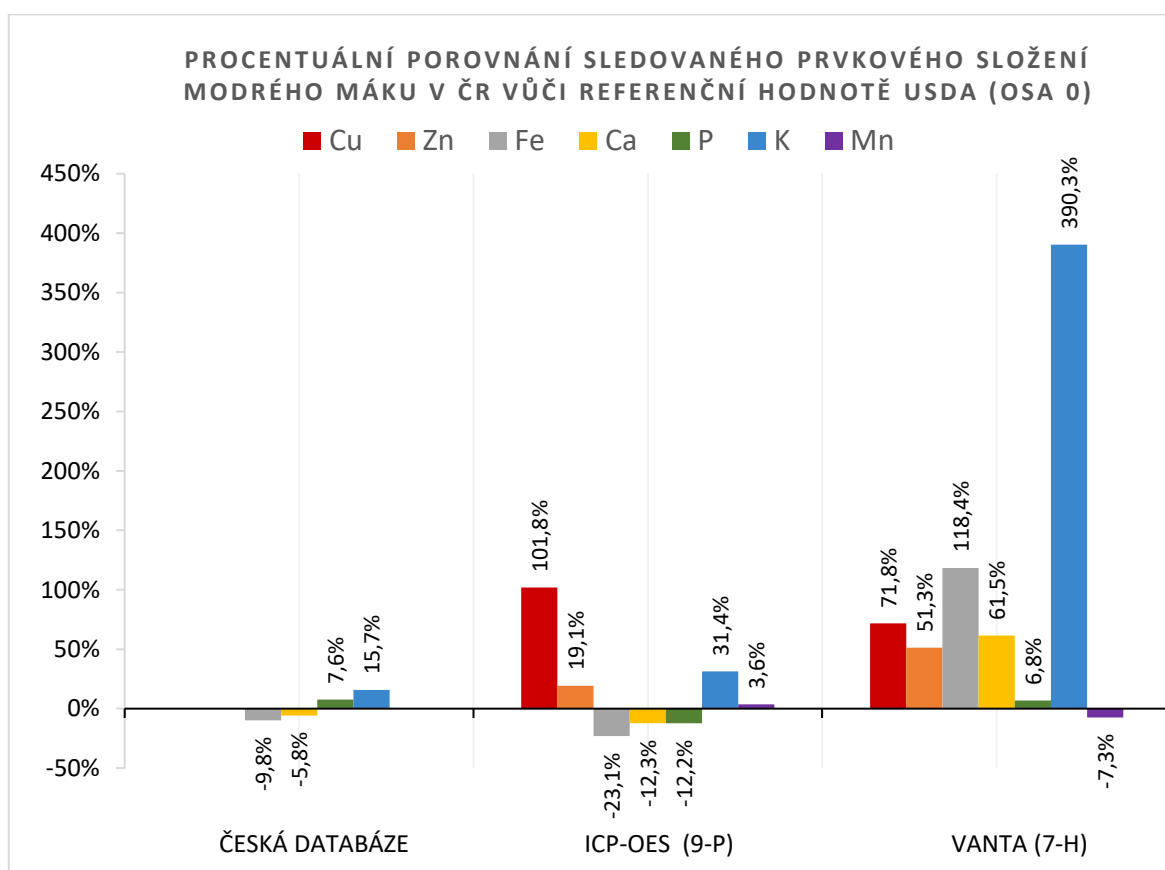
Zdroje: * Mikšík (2024d, pers. comm.); ** Kumaravel & Alagusundaram (2014); *** Mikšík (2024d, pers. comm.); USDA Food Composition Databases (2019); SR: Online potravinová databáze (2023), ČR: Centrum pro databázi složení potravin (2020); varianty 9- (O, Q, P, R), 7-H; viz tabulka 2

Ke komparaci s provedenými měřeními pomocí spektrometru VANTA byl zvolen zahraniční zdroj databáze USDA zaštitěný státní organizací Zemědělským ústavem federální vlády USA.

Tabulka 13: Procentuální porovnání sledovaného prvkového složení modrého máku v ČR vůči referenční hodnotě USDA

Prvek	Referenční hodnoty USDA		Česká databáze vs. USDA		ICP-OES (var. 9-P) vs. USDA		VANTA (var. 7-H) vs. USDA		Rozdíl mezi VANTA a ICP-OES
	USDA USA	%	Česká databáze	%	ICP-OES MS Harlekýn	%	VANTA MS Harlekýn	%	
Cu	16,3	100 %			32,9	201,8 %	28,0	171,80 %	-27,0 %
Zn	79,0	100 %			94,1	119,1 %	119,5	151,30 %	32,2 %
Fe	97,6	100 %	88,0	90,2 %	75,1	76,9 %	213,2	218,40 %	114,5 %
Ca	14400,0	100 %	13570,0	94,2 %	12627,2	87,7 %	23255,3	161,50 %	73,8 %
P	8700,0	100 %	9360,0	107,6 %	7636,7	87,8 %	9291,1	106,80 %	19,0 %
K	7190,0	100 %	8320,0	115,7 %	9448,6	131,4 %	35254,7	490,30 %	358,9 %
Mn	67,1	100 %			69,5	103,6 %	62,2	92,70 %	-10,9 %
Průměr				101,9%		115,5%		199,0 %	80,1%

Zdroje: USDA Food Composition Databases (2019); ČR: Centrum pro databázi složení potravin (2020); Mikšík (2024c, pers. comm.); varianty 9-P, 7-H viz tabulka 2



Graf 6: Procentuální porovnání sledovaného prvkového složení modrého máku MS Harlekýn v ČR vůči referenční hodnotě USDA (prvky grupované dle zdroje);

Zdroje: USDA Food Composition Databases (2019), Centrum pro databázi složení potravin (2020), Mikšík (2024d, pers. comm.); varianty 9-P, 7-H viz tabulka 2

Spektrometr VANTA udával v provedených měřeních modrého máku relevantní data obsahu benefičních prvků v případě Cu, Zn, P a Mn. V případě těchto prvků nebylo možné nulovou hypotézu o účinnost ručního spektrometru jako nástroje dostačujícího pro zjišťování kvality dováženého potravinářského máku zamítnout. Extrémně zvýšené hodnoty byly zaznamenány v případě Fe a K. Obsahy prvků Mg a Na se nacházely pod detekčním limitem a z tohoto důvodu je nebylo možné s USDA porovnat.

6 Diskuze

Cílem diplomové práce bylo ověřit schopnost XRF spektrometrie VANTA měřit prvky ve vzorcích rostlinném materiálu, makového semene a její konkurenceschopnost proti nepřenosným analytickým spektrometrickým metodám.

Přesnost metody měření přístrojem VANTA

Volba nej přesnější metodiky měření - metoda měření, volba vzorkovnice, čas měření, příprava vzorku -metoda zpracování makového semene:

Srovnání metod měření polohy standardní a invertní a volba vzorkovnice

K metodu standardní s polohou analyzátoru VANTA nad vzorkem nelze podle výsledků ANOVA testů jednoznačně říci, že podává lepší výsledky v měření při jejím využití, bez ohledu na použitou formu vzorkovnice. Naměřené hodnoty prvků jsou u všech typů vzorkovnic víceméně shodné, ačkoliv vyšší než ty prezentované v české databázi (Centrum pro databázi složení potravin 2020). Komplexní rozdílnost mezi pomůckami využitými při měření standardní metodou nebyla statisticky prokázána.

Pro metodu invertní je možné rozlišit, že není vhodné využívat kyvetku s víčkem s otvorem.

Z ostatních tří forem víček vzorkovnic se jednoznačně ukazuje, že je potřeba použít originální vybavení – formy kyvetek s foliovým krytím dna: E propylenová folie 4 mikrometry nebo G prolénová folie 4 mikrometry. U těžších prvků s vyšší denzitou a molekulovou hmotností (měřených během 1. fáze) - konkrétně měřené Fe, Cu, Zn, Zr, Nb, Mo a U může být použita obojí varianta, protože mají silnou fluorescenci oproti lehčím prvkům. (Kalnicky & Singhvi 2001; Lopez et al. 2022; Parsons et al. 2013).

Pro prvky měřené během druhé fáze – takzvané lehké prvky doslovně Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, Ti Mn, (detekované prvky byly P, S a Mn) je potřeba použít opravdu tenkou propustnou folii na vzorkovnice (Ravansari et al. 2020), jelikož ze své podstaty jsou lehké prvky u této kalibrace přístroje VANTA hůře detekovatelné (Kalnicky & Singhvi 2001; Parsons et al. 2013).

Při použití jiné, než prolénové folie je na hodnotách lehkých prvků S, P, Mn viditelné až desetinásobné snížení naměřených hodnot při srovnání s hodnotami získanými prolénovou folií G (S výjimkou Zirkonu, kde je u prolénové folie dosaženo 100 násobně vyšší hodnoty). Parsons et. al. (2013) tuto situaci popisoval ve své práci na příkladu hodnot Ca a K, kde použití 50 micronové folie k měření odstínilo emise těchto prvků, takže byly detekovány v menším množství.

Při porovnání průměrných hodnot naměřených prvků v obou metodách měření, výsledků ANOVA testu ($p < 0,00$), post hoc testů (viz výsledky v 5.1.1., příloha 6, tabulky 9-22), hodnot prvků v ČR- databázi (Centrum pro databázi složení potravin (2020), viz tabulka 12, a ICP-OES poskytnutých hodnot pro mák ve stejné tabulce, bych soudila, že u měření invertní metodou a s pomocí prolénové folie (varianta 2G) se u lehkých prvků nejméně objevuje rozptýlení a utlumení signálu vzorkovnicí a okolním prostředím a s pomocí PP folie a kyvetky

s tvrdým víčkem s otvorem při standardní metodě měření (1A, 1B) dosahujeme obdobných ačkoliv o něco vyšších hodnot výsledků.

Je možné že do hodnot těžkých prvků standardní metodou se propisuje částečně podložka pod květkou, alespoň po konzultaci s BAS Rudice s.r.o. (2024, pers. comm.) jsme to nemohli zcela vyloučit. Při invertní metodě podložka vliv nemá.

Pro další měření tedy byla zvolena kombinace invertní metody a prolenové folie na květku.

Srovnání metody zpracování vzorku pro měření

Za účelem získání co nejjemnějšího vzorku mletého máku byly použity 2 různé mlýnky. Dvojitá metoda mletí byla v rámci diplomové práce testována s důrazem na kontrast v očekávané extrakci živin ze semen máku. Mikšík (2022) hovořil o tom, že mák namletý v klasickém makovém mlýnku poskytuje dobře rozemletý mák s lépe dostupnými živinami pro lidský trávicí trakt. Navzdory tomu Mikšík a Kuzmeniuk (2023) zvolili vysokootáčkový mixér nutribullet (Nutribullet Pro 900 W) pro přípravu makové emulze z máku a vody. Angelo et al.(2002) používali na převedení do prachové formy achátovou třecí misku s tloučkem. Tyto informace poskytly indicie k volbě postupu zpracování máku za účelem zvýšení nutričního zisku.

Rozdíly mezi měřeními byly zjištěny v závislosti na přípravě vzorku formou nerezového či elektrického mlýnku BOSCH. Statisticky významné rozdíly byly pozorovány u niobu. Vysoce statisticky signifikantní výsledky poukázaly na možnost kontaminace vzorku odštěpenými povrchovými částicemi mlecího ústrojí nerezového mlýnku ve vztahu k Fe a Mo a Si. Podíl Fe a Mo ve vzorcích máku připravovaných pomocí mechanického mlýnku byl výrazně vyšší v porovnání se vzorky zpracovanými elektrickým mlýnkem, a to v případě Fe o 2,73, v případě Mo o 2,19 směrodatné odchylky, výskyt Si se použitím nerezového mlýnku zvýšil dokonce o 3,92 směrodatné odchylky. Rozdíl středních hodnot Mn a Cu při zpracování vzorků odlišným druhem mletí nebyl statisticky významný, předpokládáme tedy, že příprava vzorku pomocí nerezového mlýnku nezkreslovala v těchto případech naměřené výsledky.

Ve výsledcích získaných přípravu v nerezovém mlýnku se zobrazily výrazně vyšší hodnoty Si, Fe, Mo a částečně Nb.

Mechanický nerezový mlýnek má šroubem regulovatelnou hrubost mletí. Aby bylo dosaženo co nejjemnějšího mletí, a zisku homogenního vzorku pro zvýšení přesnosti analýzy, pokusili jsme se mlít s velmi utaženým mlecím ústrojím. Knápek et al. (2011) naměřil vyšší hodnoty sledovaného prvku po namletí makových semen v porovnání se semeny měřenými vcelku. V porovnání nerezového mlýnku s elektrickým se u elektrického nezobrazily zvýšené hodnoty prvků, které se používají k legování oceli. Očekáváme tedy, že se nám během mletí podařilo přílišným utažením kontaminovat vzorek drobnými částicemi vnitřních sekcí mlýnku.

Krejčová et al. (2007) testovali různé mlecí metody, aby zjistili, zda některá z nich bude vhodnější na přípravu prachové formy potravin ze zmražených vzorků. Výsledné prachové vzorky byly testovány ICP-OES metodou. Pracovali s musli, semeny a polévkami. Jejich předemílacími nástroji byly achátová třecí miska s tloučkem a kávový elektrický mlýnek ETA o výkonu. Předemleté vzorky se pak pokusili semlít na tekutým dusíkem chlazeném kulovém

mlýnu. ale u něj docházelo pouze k povrchovému mletí vzorků. Vzorky připraven v kulovém mlýnu v sobě během testování prvky ukázaly mírnou kontaminaci železem uvolněným z mlecí nádoby mlecími koulemi v hodnotě stovek $\mu\text{g/g}$. Autoři ale tvrdili, že takto malé množství nebude ve vzorku významné. Významná byla ale kontaminace mědi z předchozího mletí elektronického odpadu na stejném přístroji (situaci vyřešili výměnou části mlýnku). Třecí miska neposkytovala dostatečně homogenní vzorky podle Krejčová et al. (2007) a u elektrického mlýnku docházelo k přibrzdování sekacího nože zanesením mletými olejnatými semeny a uvolňování oleje ze semen. Na stejný problém jsme naráželi při mletí elektrickým mlýnkem Bosch. Situaci jsme řešili přerušovanými intervaly mletí a protřepáváním mlecí nádoby, aby se snížila rychlost, s jakou se mlýnek zaneše směsí mletých semen a olejnatou pastou.

Kulové mlýny jsou častým přípravným krokem před rozpouštěním v HNO_3 , použili ho ve své práci (Raessler et al. 2004) na přípravu vzorků k analýze Cd, Cr, Cu a Ni v dřevomorce. Odusote et al. Ve své komparativní studii o kontaminaci mletého prosa mlecím ústrojím představili litinový mlýnek na obilí, z jehož mlecích disků se během mokrého mletí uvolňovaly štěpinky kovu. Podařilo se jim identifikovat přítomnost C, Si, Mn, Cr, Cu, Mo, Ni, P, S, Nb, S a Fe s tím, že 88,48 % získaných kontaminantů bylo tvořeno Fe. Při použití suchých forem mletí do mletého zrna nevstupovalo tolik nežádoucích látek, tedy autor doporučoval vyhnout se mokrému mletí v litinových mlýncích a využívat magnetická oddělovací lůžka a sedimentační metodu extrakce. Podle Dahlin et al. (2012) a všechny větší mlýnky určené na předpřípravu vzorků zanechávají kontaminaci ve formě stopových kovů. Nejmenší kontaminaci působil titaniový sekací mlýnek, jelikož titanium je velmi odolný a korozi odolávající kov. Pro homogenizaci vzorků bez kontaminace autoři doporučují achátové třecí misky a tloučky (Dahlin et al. 2012). Öborn et al. (1995) nenechával rozemlít vzorky pšenice, které chtěl analyzovat, ale aby se vyhnul kontaminaci před analýzou AAS použil přístroj Tecator Digester k „wet-digestion“ rozpouštění svého vzorku v 15 ml koncentrované vysoce čisté HNO_3 . Ve své práci Takamasa & Nakai (2009) používali kombinaci kulového mlýnku s prvky achátu, o kterém tvrdili, že úroveň kontaminace mlýnků a nástrojů z achátu je dána jejich heterogenitou.

Srovnání časů měření

Přesnost měření byla dle testové analýzy ovlivněna také dobou měřících fází (240/60 s v porovnání s 480/120 s). Přestože porovnání konkrétních výsledků měření s rozdílným nastavením času nebylo statisticky významné, ukazatelé sigmy, která udává přesnost měření, byly při porovnání závislých vzorků signifikantně rozdílné. Výsledky naznačily, že prodloužením doby měřících fází se analýza XRF se spektrometrie VANTA zpřesnila, což odpovídalo doporučením stanoveným výrobcem (BAS Rudice s.r.o. 2023a). Současně s tím je ale spojen nárůst šumu, zvláště v blízkosti křivek lehkých prvků, jelikož jejich spektrální čáry jsou relativně blízko u sebe (Kalnicky & Singhvi 2001; Parsons et al. 2013). Kilbride et al. (2006) uvedl data, která doporučovala zvýšit dobu jedné z fází na 240 s a úspěšně zlepšila LOD pro As.

Nejvíce přesná kombinace metod pro následná měření

V rámci zkoumání platnosti 2. hypotézy byla kritériem pro nejvyšší přesnost hodnota sigma u kadmia. Při 262 měřeních zahrnujících obě metody nastavení spektrometru standardní i invertní za použití všech variací laboratorních pomůcek, u celého, mletého i třeného semene bílého i modrého máku byl bez výjimky naměřen nulový obsah kadmia, tedy nemohla být využita hodnota kadmia samotného.

Díky formám úpravy vzorku, změnám ve formě vzorkovnice i metodách měření (standardní, invertní) se měření zpřesnilo, ale přesto nebylo kadmium detekováno. Zpřesnění bylo registrováno ve formě snížení Cd sigma. Směrodatné odchylky kadmia (registrované analyzátořem) nabývaly ve 262 měřeních průměrné hodnoty $\sigma(262) = 0,0244$. Nejpřesnějších výsledků bylo dosaženo u mletého semene za použití elektrického mlýnku a kyvetky s prolenovou fólií $\sigma(13) = \pm 0,0138$ (2G), nejméně přesných bylo dosaženo při analýze mletého máku připraveného v nerezovém mlýnku a měřeného v kyvetce s potravinovou fólií $\sigma(7) = 0,0401$ (1C). Přesnost sigmy byla u kadmia ovlivněna také časem měření, přestože samotný obsah prvku byl pod detekčním limitem. Rozdíl mezi použitými fázemi měření 120/60 s vs. 480/120 byl vysoce signifikantní ($p < 0,0001$), nižších hodnot sigma prvku a tedy přesnějšího měření bylo dosaženo u prodloužené doby fází. Prodloužení doby měření doporučuje manuál dodavatele i zaměstnanci firmy BAS Rudice s.r.o. (2023) (Ševčík P. 2024b. pers. comm).

H1: Spektroskopické metody mají shodnou přesnost jako laboratorní metody.

Výsledky (Graf 1-5) porovnávající dva druhy měření prvkového obsahu odrůdy MS Harlekýn (Dřetovického) modrého máku - XRF spektrometrie VANTA a ICP-OES :

Graf 1: Při porovnání změřené varianty 7-H proti poskytnuté variantě 9-P se ukázaly statisticky významné rozdíly v případě Zn a Ca. Významně signifikantní rozdíly mezi měřeními variantami 7-H a 9-P byly rozpoznány u K. Koncentrace draslíku naměřená ve variantě 7-H byla o 15,79 směrodatných odchylek vyšší než koncentrace draslíku v variantě 9-P.

Jednovýběrový t-test (tabulka 6) k porovnání laboratorních výsledků ICP-OES (Laboratoř Postoloprty, viz příloha 4) a spektrometrie XRF při měření bílého máku odrůdy Orel poukázal na signifikantní rozdíly v průměru z variantě 8-L,M obsahu Zn, Fe, Ca, P a draslíku.

Při porovnání prvkového obsahu bílého máku (Orel) s modrým mákem (MS Harlekýn) jakožto referenční hodnotou (graf 3) byl zaznamenán podobný trend mezi hodnotami prvků: mědi, zinku, vápníku, draslíku a manganu u obou typů analýz, ICP-OES i XRF spektrometrie (VANTA). V případě Zn, Ca a Mn bylo u obou metod zjištěna vyšší koncentrace prvků v bílém máku oproti modrému, u Cu a K tomu bylo naopak. V případě Fe a P se testové trendy porovnávaných metod neshodovaly (ICP-OES naměřila vyšší hodnoty v bílém máku a spektrometrie VANTA naopak v modrém).

Porovnání výsledků s databázovými hodnotami obsahu makro a mikroprvků (tabulka 3 a 4) přineslo poznatky o systémově vyšších hodnotách v případě měření Ca, Fe a K analyzátořem VANTA .

V případě Ca a K závěry odpovídají zjištěním plynoucím z porovnání použité metody s testováním formou ICP-OES. Rozdíly mezi metodami a databázovými hodnotami prvkového obsahu mohly být spojeny s fenoménem spektrální interference, ke které teoreticky může dojít v obou typech případů (Dean 2005)

Navrhovaným řešením pro všechny typy ICP spektrometrie potýkající se s tímto typem zkreslení je dle dodavatel volba takové čáry prvku, která není rušena jiným signálem dalšího prvku, nebo odečet pozadí od signálu prvku (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

Chybovost do měření u lehkých prvků může být způsobena také tím, že lehké prvky mají natolik nízkou energii (< 3 keV), že jejich signál nedosáhne detektoru, nebo jsou blokovány vzduchem existujícím mezi přístrojem a vzorkem. Jejich signál tedy splyne se šumem pozadí (Portable Spectral Services 2019a).

Detekci přístrojem VANTA by měla napomáhat existence modernějšího detektoru SDD (silicon drift detektor s technologií Axon), jenž disponuje větší výpočetní silou než jeho předchůdce, pin detektor (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

Pod limit <1 keV se dostanou laboratorní verze XRF, jejichž prostor mezi vzorkem a měřicí komorou je vyplněn heliem či vakuem (Portable Spectral Services 2019a).

Palmer et al. (2009) poukazují na problémy s kalibrací přístrojů XRF v tom ohledu, že konkrétní kalibrační módy pomáhají získat přesnější výsledky pouze u některých prvků, tedy by ocenili další vývoj ohledně kalibrace a výpočetního softwaru. Kalibrace přístroje se propisuje do LOD.

Celá tato práce směřovala nalezení co nejpresnější metody měření, aby se podařilo zachytit ve vzorku kadmium, vzorkovnice i doba měření byly optimalizovány podle tohoto kritéria, tedy jsme dosáhli určitý trade off – zvýšil se šum pro například lehké prvky, které se diagnostikují jako skupina během 1. fáze měření, jelikož se prodloužila doba měření pro skupinu těžších prvků, kde se LE zobrazí dohromady, ale snížil se LOD pro kadmium.

Prodlužování druhé fáze měření pro zlepšení zachytitelnosti lehkých prvků nelze bez problémů natahovat na 8 minut jako pro prvky 1 fáze. Slabší schopnost fluorescence a vyšší šance na splynutí s šumem signálu, která roste se zintenzivněnou energií nám ukáže zvýšené hodnoty sigmy a prvky začnou klesat v naměřených hodnotách nebo nebudou detekovány. – příkladem je Al a Mg.

Bravo et al (2022) využili ICP-AES ke zjištění obsahu kadmia v půdě i v kakaových bobech, prokazuje tedy schopnost této laboratorní metody kadmium změřit. (De Goeij et al. 1983) využíval ICP-MS na analýzu obsahu sušeného mléka, prokazoval tedy také spolehlivost této laboratorní metody k analýze organického vzorku s vysokým množstvím pro VANTA pXRF neviditelných prvků. Lopez et al.(2022) porovnával přítomnost olova a chromu ve vzorcích koření v sypké prachové formě (paprika, koriandr, kurkuma, pískavice) a sušených koření kurkumy pomocí pXRF spektrometrie a ICP-MS spektrometrie. 73 % sledovaných vzorků byla XRF metoda schopna detekovat v hodnotách vyšších než LOD 2 mg/kg. Při proměření ICP-MS byla tato analytická metoda schopna detekovat olovo ve všech vzorcích s LOD 0,001 mg/kg. Lopez et al. (2022) používali DELTU Olympus (DCC-4000).Využívali

plastové sáčky otřené lihem. Jelikož prokazovali existenci prvků s vyšší denzitou a molekulovou hmotností, mohli si dovolit ignorovat materiál sáčků a přesto naměřit věrohodné hodnoty sledovaných prvků.

V případě této diplomové práce byly hodnoty chromu a olova ve variantě 7-H (Dřetovický mák MS Harlekýn) pod detekčním limitem spektrometru VANTA. ICP-OES metoda u téže varianty naměřila u chromu hodnotu $0,8 \pm 0,6$ mg/kg, tedy existovala šance na to že 69,6 % z měřených hodnot bude mimo konfidenční interval. Viz zdrojová tabulka ICP-OES pro tři odrůdy modrého máku u Ni, Na, Cr a Fe jsou více než 15 % šance na to, že naměřené hodnoty byly chyba matrice nebo chyba spektrální. Palmer et al. (2009).

H2: V pěstovaných odrůdách máku na území ČR je nulové množství kadmia.

Hypotézu 2 nelze na základě měření spektrometrem VANTA zamítnout, nicméně tabulka č. 11 svědčí o tom, že odlišnými metodami (ICP-OES, INNA, AAS) bylo v ČR kadmium naměřeno, hodnoty citovány dle Mikšík (2024a,b,c,d), pers. comm.; Mikšík & Lohr (2020).

Zdrojovými oblastmi pro odběr vzorků byla v případě Mikšík (2024a,b,c,d), pers. comm. česká pole a zahrady s naměřenými hodnotami mezi 0,325 mg/kg Cd až 1,394 mg/kg Cd a v případě Mikšík & Lohr (2020) česká pole s naměřenými hodnotami 0,16 mg/kg Cd a 0,518 mg/kg Cd v semeni. V Knápek et al. (2011) byly také prezentovány údaje o existenci kadmia v české půdě v jeho srovnávací studii obsahu kadmia ve vzorcích makového semene z ČR se semeny ze zahraničních zdrojů. Také Klímová et al. (2022), pomocí neutronové aktivační analýzy naměřila hodnoty přítomné hodnoty kadmia v půdě v České republice, ale její práce se zabývala místy skládek. Ve zmíněné kontrolní lokalitě přesto naměřila hodnoty rizikových prvků včetně kadmia.

H3: Účinnost ručního spektrometru je dostačující pro zjišťování kvality dováženého potravinářského máku.

K získání odpovědi na 3. výzkumnou otázku byly porovnány referenční hodnoty prvkového složení USDA s oficiální českou databází a dále s českými měřeními obsahu odrůdy modrého máku MS Harlekýn metodami ICP OES (viz tabulka 12, příloha 5) a XRF spektrometrií - VANTA (USDA Food Composition Databases 2019, Centrum pro databázi složení potravin 2020).

Americkou a českou oficiální databázi bylo možné porovnat pouze v kritériu obsahu 4 prvků: Fe, Ca, P a K. Výsledky tohoto porovnání byly srovnatelné ($\pm 16\%$) oproti USDA jako referenční hodnotě. Porovnání amerických dat s měřením odrůdy MS Harlekýn Dřetovice metodou ICP-OES bylo (oproti české databázi) doplněno o hodnoty prvkového obsahu Cu, Zn a Mn (Mikšík 2024c, pers. comm.). Metodou ICP-OES byl (v porovnání s USDA) v českých vzorcích modrého máku rozpoznán nižší obsah Fe, Ca a P (o 12,2 % až 23,1 %), vyšší obsah Zn (o 19,1 %) a K (o 31,4 %) a výrazně vyšší obsah Cu (o 101,8 %), koncentrace Mn byla srovnatelná (vyšší pouze o 3,6 %). Porovnání referenčních hodnot prvkového obsahu americké databáze se dvěma výše uvedenými českými zdroji (česká databáze a metoda ICP-OES) přineslo podobné výsledky, které se mezi sebou lišily pouze o 6,5 % až 19,8 % (USDA Food

Composition Databases 2019; Centrum pro databázi složení potravin 2020; Mikšík 2024c, pers. comm.).

XRF spektrometrie naměřila v modrém máku srovnatelné množství fosforu jako americká databáze, což odpovídalo také závěrům komparace USDA s českou databází (rozdíl rovněž do 7,6 %).

U všech prvků kromě manganu byly u modrého máku odrůdy MS Harlekýn zkoumaného analyzátozem VANTA v porovnání s USDA naměřeny vyšší hodnoty. V případě Cu, Zn a K tento trend odpovídal výsledkům měření formou ICP-OES. Obsahy Fe, vCa a P udávala metoda ICP-OES oproti referenčním hodnotám USDA nižší, trendy porovnávaných metod byly v těchto případech kontrastní. Protichůdně směry vychýlení oproti databázi USDA byly registrovány také u Mn, jenž byl metodou ICP-OES identifikován ve vyšším poměru.

Největší rozdíly při porovnání výsledů metod VANTA a ICP-OES vůči americké databázi byly registrovány v naměřeném obsahu Fe a K, u nichž XRF spektrometrie vykazovala významně vyšší koncentrace (u železa o více než 100 %, u draslíku přes 350 %). Tyto markantní rozdíly při měření připisujeme mimo jiné výše popsanému fenoménu spektrální interference, který způsobuje, že hodnoty obsahu Fe a K i dalších prvků naměřených prostřednictvím spektrometrie XRF (VANTA) mohou integrovat spektra dalších prvků. Stejným problémem trpí i měření ICP-OES a ICP-AES. Relevantní data v porovnání s metodou ICP-OES vůči referenční hodnotě USDA udával spektrometr VANTA při analýze obsahu benefičních prvků Cu, Zn, P a Mn (do ± 33 % rozdílu mezi metodami).

Hypotézu 3. o účinnost spektrometru VANTA jako nástroje dostačujícího ke zjišťování kvality dováženého potravinářského máku **nebylo u prvků Cu, Zn, P a Mn možné zamítnout.** Vysoce zvýšené hodnoty oproti americké databázi i v interakci s ICP-OES metodou byly registrovány v případě Fe a K. Pod detekčním limitem se nacházely obsahy prvků Mg a Na, které nebylo možné s americkou databází porovnat. Komparace měření spektrometru VANTA s metodou ICP-OES v závislosti na referenční hodnotě poskytnuté americkou databází je prezentována v tabulce 13 a v grafu 6.

Knápek et al. (2011) nepozorovali žádné signifikantní rozdíly v obsazích kadmia mezi českými a v zahraničními vzorky makového semene (88% vzorků z 206 byly českých).

Při pohledu do tabulky 12 – srovnání se zahraničními zdroji můžeme pozorovat, že u máku měřeného Kumaravel & Alagusundaram (2014) se nalézají výrazně jiné hodnoty, až se zdá že jsou chybně vyjádřeny a měly by být v mg/100g, ale hodnota u P to popírá. Mák, který Kumaravel & Alagusundaram (2014) měřili, měl hodnoty fosforu řádově srovnatelné s hodnotami všech tří databází. Prvek byl v jednotkách tisíců mg/kg. Pokud Autoři zvolili vhodný certifikovaný materiál pro nastavení kalibračních křivek (viz Goeij 1983), který je pro měření konkrétních materiálů stěžejní, vyjdou jim hodnověrné výsledky, které v sobě odrážejí výživovou situaci na poli, kde rostly, vliv ročníku, hnojení, pH půdy, vláhovou dostupnost a půdní skladbu. Autoři hovořili o máku jako o kupovaném, tedy nemůžeme s jistotou tvrdit, co bylo důvodem tak nízkých naměřených hodnot. Pokud bychom srovnávali hodnoty námi naměřených z VANTA analyzátozem máku ze španělska označeného v tabulce 12, ESPAGNA, viděli bychom, že je hodnotami řádově podobně vysoko jako máky měřené v ICP-OES metodě

a jako ČR- databáze (Centrum pro databázi složení potravin 2020). Ten bychom dle nutričních hodnot nebyli schopni rozlišit.

Relevantní data v porovnání s ICP-OES vůči referenční hodnotě USDA udával spektrometr VANTA při analýze obsahu benefičních prvků zinku, fosforu a manganu. **Hypotézu o účinnost spektrometru VANTA jako nástroje dostačujícího k zjišťování kvality dováženého potravinářského máku nebylo možné zamítnout.** Vysoce zvýšené hodnoty byly registrovány v případě K. Pod detekčním limitem se nacházely obsahy prvků Mg a Na, které nebylo možné s americkou databází porovnat.

Výhody VANTA nastavením 40 kV, Siol-GeoChem:

Díky přenosnosti analyzátoru je praktické ho sebou mít před nákupem makového semene, protože hned na místě si nakupující může udělat představu o nutričních hodnotách máku který se chystá pořídit případně rovnou na základě porovnání vůči databázovým hodnotám makro a mikroživin se může rozhodnout, které prvky by nechal laboratorně posoudit, a zda takovýto mák koupit. Umožňuje expresní zpracování informací o obsahu některých požadovaných prvků. (Jedná se o nedestruktivní metodu s žádnou až malou přípravou vzorku). K analýze postačí velmi malé množství vzorku, přibližně 1-2 polévkové lžice a přenosný mixer.

Očekávaným výstupem z analyzátoru nebudou přesné hodnoty, ale hodnota přibližně, jelikož limit detekce u VANTA analyzátoru je výrazně vyšší, než limit detekce u laboratorních spektrometrů a dalších zde vyjmenovaných analyzátorů.

Existence přenosného ED-XRF spektrometru otevírá cestu k významným úsporám nákladů na laboratorní diagnostiku, tak i na čas a transport, protože rovnou na místě nákupu se můžete rozhodnout, které množství semen máku, od kterého prodejce, jste ochotni koupit. S výsledky v časovém rozsahu 2 až 10 minut maximálně.

Dle grafu 3 je vidět velmi podobný trend v hodnotách prvků Cu, Zn, Ca, K měřených testovaným HHXRF spektrometrem a ICP-OES. Pokud by operátorovi tohoto přenosného spektrometru byla informace o obsahu prvků Cu, Zn, Ca, K dostačující, doporučila bych zvážit jeho koupi, případně nechat si nabídnout na míru vytvořený analyzátor a peletovací přístroj.

Během experimentu přístroj bez problémů vydržel měřit kontinuálně po dobu 3,5 hodin jen s 2minutovými mezerami na výměnu vzorků. Po tuto dobu mu byla ve 2/3 času vyměněny baterie metodou „hot swap“ (Maximální doba měření analyzátozem není v manuálu stanovena, ale přístroj je vybaven bezpečnostními prvky proti přehřátí (BAS Rudice s.r.o. 2023a).

K přístroji pro běžného uživatele nebyl dodán seznam referenčních hodnot, ke kterým analyzátor VANTA měření vztahuje. Mohla by tedy nastat situace, že díky odlišnému složení matrice měřených vzorků od matrice kalibrovaných referenčních vzorků nebude docházet k tak přesné detekci. (jiné metody měření než Soil-GeoCem umožňují volbu norem a tím nastavení přesnosti dle měřeného materiálu. V takové situaci je ale na operátorovi, aby byl dostatečně proškolen ve volbě norem a certifikovaného referenčního materiálu).

Nevýhody VANTA s nastavením 40 kV, Siol-GeoChem:

Testovaný spektrometr VANTA s hardwarovou a softwarovou konfigurací a kalibrací pro metodu Soil-GeoChem 40 kV nebyl schopen detekovat hodnoty kadmia, arsenu, olova, chromu ani niklu v použitých vzorcích máku. Nemůžeme vyloučit, že u vysoce kadmíem kontaminovaného vzorku by měření mohl být schopný.

Dle BAS Rudice s.r.o. (2024b), pers. comm. je možné pro VANTA spektrometr instalovat díly s vyšším budícím napětím 50kV. 50 kV je hodnota napětí kterou má přítomnou mnoho analyzátorů, které se přímo specializují na Cd, Pb, Ar, Hg a další potenciálně rizikové prvky, příkladem analyzátor RHSD BAS Rudice s.r.o., který je ale stolní laboratorní formou analyzátoru s takto vysokým budícím napětím.

Dle Ševčíka (2024a), pers. comm. je K- alfa čára pro kadmium v hodnotě 23,17, a použitím kalibrace testovaného přístroje s budícím napětím 50 kV by mělo dojít k posunu oblasti spektra s lehkou maticí a vylepšení hodnot LOD pro kadmium.

Od jiného výrobce se stejným budícím napětím existují například: Bruker TRACER 5g, Bruker S1 TITAN, Bruker CTX u kterých je možnost kalibrace na vzorky rostlinného materiálu, podmínkou je suchý a na prášek zpracovaný vzorek, ztrácí se tedy výhoda expresního proměření vzorku (Portable Spectral Services 2019b).

Magnezium: analyzátor VANTA dle BAS Rudice s.r.o. (2023a) je schopen měřit hořčík až od setin procenta a například v litině se hořčík nachází v koncentracích kolem několika setin %. (běžné hodnoty jsou kolem 0,04 % Mg). Dle výše zmíněných databází a měření se hodnoty hořčíku v semeni máků nacházejí, ale VANTA analyzátor ho není v této kalibraci schopný detekovat.

Mák je olejnina s hodnotou 42-47 % oleje v semeni. Mletím do chvíle, kdy začne mák pouštět olej, plánovaný na hutnění vzorku mělo za následek trade-off v podobě špatně omývatelných vzorkovnic. Mezi odrůdami a mezi variantami byly vzorkovnice vymývány mýdlovou vodou, vyplachovány destilovanou a poté odvodněny lihem a nechaly se vyschnout. Tento proces značně prodlužoval měření. V případě špatně očištěné prolenové blanky na vzorkovnici by díky olejové filmu z máku mohlo docházet ke zkreslení výsledků. Tatož situace by mohla nastat u špatně vyschnuté vzorkovnice, vlhkost podle Parsons et al. (2013) významně ovlivňuje měřitelnost vzorků.

Možnou měřitelnost kadmia u rostlinných vzorků – semene máku přenosnou XRF spektrometrií by bylo možné zjistit pomocí zadání poptávky na hardware, software a kalibraci přístroje u firmy BAS Rudice s.r.o. spojenou s poskytnutím testovacích vzorků.

Podle Lopez (2022) potřebují XRF spektrometry nashromáždit knihovnu certifikovaných referenčních vzorků, abychom mohli metodu zpřesnit pro organické materiály.

Malečková (2021) Pomocí XRF spektrometrie ručním přístrojem DELTA BAS Rudice s.r.o. také naměřila zvýšená data u vápníku draslíku a železa, ale v jejím případě byly zvýšené hodnoty i u obsahu mědi v máku (testování probíhalo invertovanou metodou na 30 vzorcích).

7 Závěr

- HXRF, (ED-XRF) spektrometr VANTA BAS Rudice během 392 měření odrůd máků mletého, třeného a celého semene máku nenaměřil žádné hodnoty kadmia.
- Kadmium se v makových semenech máků pěstovaných České republice nachází a je vážným problémem komplikujícím práci pěstitelů máku.
- Hypotézu 2 nebylo možno vyvrátit.
- Podařilo se identifikovat, že za použití invertované metody měření, v kyvetce (vzorkovnici) s prolenovou 4 μm folií a dobou měření 1. fáze 480 s, 2. fáze 120 s, HXRF VANTA měřil makové semeno namleté v elektrickém mlýnku s výkonem 180 W s nejmenším dosaženým LOD (2G) - $C_{\text{dsigma}} \sigma(13) = \pm 0,0138$.
- Spektrometr VANTA je schopen poskytnout obecné informace o hlavním prvkovém složení makových semen Ca, K, P, Cu, Zn a Fe. Není schopen poskytnout informace o množství Mg, jelikož v tomto je omezen na schopnost detekovat tento prvek až od setin procenta výskytu.
- Hypotézu o účinnost spektrometru VANTA jako nástroje dostačujícího k zjišťování kvality dováženého potravinářského máku nebylo možné zamítnout.
- Pokud budou hodnoty máku ze zahraničí obdobného složení jako u máku Espagna, nepoznáme z nich, že nejsou české, a vnímali bychom ho jako obdobně kvalitní, protože jeho hodnoty jsou srovnatelné s českými ICP-OES měřenými máky. Pokud by byly v naměřených hodnotách tak velké rozdíly jako mezi mákem od Kumaravel & Alagusundaram (2014) a českými máky, rozdíl budeme schopni detekovat.
- Kalibrace analyzátoru VANTA je nevhodná na přesné proměrování nutričních hodnot máku, protože je určena na měření prvků ve vzorcích půdy a v kovech a polokovech. V organickém vzorku pravděpodobně vnímá příliš mnoho neviditelných prvků.

8 Literatura

- Abedi T., Mojiri A. 2020. Cadmium uptake by wheat (*Triticum aestivum* L.): An overview. *Plants* **9(4)**:500.
- Adriano DC. 1986. Other trace elements. *Trace elements in the terrestrial environment*, 470-501.
- BAS Rudice s.r.o. 2017. Ruční spektrometr VANTA. BAS Rudice. Available from <https://www.BAS.cz/xrf-vanta-rucni-spektrometr/vanta-rucni-rtg-analyzator.php> (accessed February 2024).
- BAS Rudice s.r.o. 2023a. Uživatelský manuál pro ruční ED-XRF spektrometr VANTA. *Spektrometry a analyzátory*. BAS Rudice s.r.o., Blansko. Available from <https://www.spektrometry.cz/support/vanta/vanta-manual1-8.pdf> (accessed February 2024).
- BAS Rudice s.r.o. 2023b. Manuál k software VANTA DATA MANAGEMENT © BAS Rudice spol. s r.o. - verze 89 a novější. BAS Rudice s.r.o., Blansko. Available from <https://www.spektrometry.cz/support/> (accessed February 2024).
- BAS Rudice s.r.o. 2024a. pers. comm. Transparentnost fólií použitelných pro XRF spektrometrii.
- BAS Rudice s.r.o. 2024b. pers. comm. Popis řešení poptávky konfigurace, kalibrace a ceny přístroje.
- Bain DC, McHardy W, Lachowski EE. 1994. X-ray fluorescence spectroscopy and microanalysis. Pages 260-279 in Wilson MJ, editor. *Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods*. Springer, Dordrecht.
- Baker AJM. 1981. Accumulators and excluders strategies in response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition* **3**:643-654.
- Beaudoin GA, Facchini PJ. (2014). Benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy. *Planta* **240**:19-32.
- Beranová P, Blažková L, Uldrich M. 2012. Manuál k ovládání programu Statistica. Available from http://www.statsoft.cz/file1/PDF/manualy/Manual_k_ovladani_programu_STATISTICA.pdf (accessed February 2024).
- Brabec V. 2005. 50 let jaderné spektroskopie v Řeži. *Pokroky matematiky, fyziky a astronomie* **50(3)**:237-253.
- Bravo D, Santander M, Rodríguez J, Escobar S, Ramtahal G, Atkinson R. 2022. 'From soil to chocolate bar': Identifying critical steps in the journey of cadmium in a Colombian cacao plantation. *Food Additives & Contaminants: Part A* **39(5)**:949-963.

- Břendová K, Zemanová V, Pavlíková D, Tlustoš P. 2016. Utilization of biochar and activated carbon to reduce Cd, Pb and Zn phytoavailability and phytotoxicity for plants. *Journal of Environmental Management* **181**:637-645.
- Centrum pro databázi složení potravin. 2020. Mák: *Papaver somniferum* L. Nutridatabaze. Ústav zemědělské ekonomiky a informací, Praha. Available from <https://www.nutridatabaze.cz/potraviny/?id=83#tab-2> (accessed December 2022).
- Český statistický úřad. 2022. Infografika - mák. Český statistický úřad. Available from: <https://www.czso.cz/csu/czso/mak> (accessed April 2024).
- Český statistický úřad. 2024. Veřejná databáze. Vývoj ploch, hektarových výnosů a sklizní zemědělských plodin. Available from: https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&z=T&f=TABULKA&skupId=386&katalog=30840&pvo=ZEM02G&pvo=ZEM02G&evo=v1442_!_ZEM02G-celek_1 (accessed: April 2024).
- Ćwieliąg-Drabek M, Piekut A, Gut K, Grabowski M. 2020. Risk of cadmium, lead and zinc exposure from consumption of vegetables produced in areas with mining and smelting past. *Scientific Reports* **10**:3363.
- Dahlin AS, Edwards AC, Lindström BE, Ramezani A, Shand CA, Walker R. L, Watson ChA, Öborn I. 2012. Revisiting herbage sample collection and preparation procedures to minimise risks of trace element contamination. *European Journal of Agronomy*. **43**:33-39.
- Dean JR. 2005. Practical inductively coupled plasma spectroscopy. Pages 1-155. in Ando DJ, editor. *Analytical techniques in the sciences*. Wiley-Blackwell.
- De Goeij JJM, Kosta L, Byrne AR, Kučera, J. (1983). Problems in current procedures for establishing recommended values of trace-element levels in biological reference materials. *Analytica Chimica Acta*, **146**:161-169.
- Dong Q, Fang J, Huang F, Cai K. 2019. Silicon amendment reduces soil Cd availability and Cd uptake of two pennisetum species. *International journal of environmental research and public health*. **16(9)**:1624.
- Duffus J. (2003). "Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. **75**:1357-1357.
- EFSA. 2009. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. European Food Safety Authority. Available from: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2009.980> (accessed: June 2022).
- EFSA. 2015. The 2015 European Union report on pesticide residues in food. European Food Safety Authority. Available from: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4791> (accessed: March 2024).

- EFSA. 2018. Update of the scientific opinion on opium alkaloids in poppy seeds. European Food Safety Authority. Available from: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2018.5243> (accessed June 2022).
- Evident Life Science. 2021a. Kompaktní a přenosné XRF analyzátořy. Olympus-ims. Available from <https://www.olympus-ims.com/cs/xrf-analyzers/benchtopy/> (accessed February 2024).
- Evident Life Science. 2021b. Průmyslové spektrometry. Olympus-ims. Available from <https://www.olympus-ims.com/cs/xrf-analyzers/benchtopy/> (accessed February 2024).
- Evropská Unie. 2014. Doporučení komise ze dne 10. září 2014 o správné praxi pro předcházení a snižování výskytu opiových alkaloidů v máku a makových produktech (Text s významem pro EHP). Available from: <chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcgclclefindmkaj/https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014H0662&from=EN> (accessed: April 2024).
- Evropská unie. 2021. Nařízení komise (EU) 2021/1323 ze dne 10. srpna 2021, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity kadmia v některých potravinách. Eur-lex.europa. Available from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32021R1323&from=EN> (accessed January 2023).
- Evropská Unie. 2023. Nařízení komise (EU) 2023/915 ze dne 25. dubna 2023 o maximálních limitech některých kontaminujících látek v potravinách a o zrušení nařízení (ES) č. 1881/2006 (Text s významem pro EHP). Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02023R0915-20230810> (accessed April 2024).
- Frydrych A, Jurowski K. 2023. Portable X-ray fluorescence (pXRF) as a powerful and trending analytical tool for in situ food samples analysis: a comprehensive review of application-State of the art. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 117165.
- Hendl J. 2004. Přehled statistických metod zpracování dat: Analýza a metaanalýza dat. Portál, Praha.
- Hoffmann J, Blasenbrei P. 1986. Cadmium in Blaumohn und Mohnerteugnissen. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung*. **182**:121-122.
- Chaves ES, dos Santos EJ, Araujo RG, Oliveira JV, Frescura VLA, Curtius AJ. 2010. Metals and phosphorus determination in vegetable seeds used in the production of biodiesel by ICP-OES and ICP-MS. *Microchemical Journal*, **96(1)**: 71-76.
- Chizzola R. 1997. Comparative cadmium uptake and mineral composition of cadmium treated *Papaver somniferum*, *Triticum durum* and *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Applied Botany - Angewandte Botanik*. **71**:147-153.
- Chizzola R. 2012. Metallic mineral elements and heavy metals in medicinal plants science and biotechnology. *Medicinal and Aromatic Plants* **6(1)**: 39-53.

- INCB. 2015. Comments on the reported statistics on narcotic drugs International. Narcotics Control Board. Available from: https://www.incb.org/documents/Narcotic-Drugs/Technical-Publications/2015/comments_E.pdf (accessed: April 2024).
- Jolly YN, Islam A, Akbar S. 2013. Transfer of metals from soil to vegetables and possible health risk assessment. *SpringerPlus*, **2**: 1-8.
- Kahoul A, Abassi A, Deghfel B, Nekkab M. 2011. K-shell fluorescence yields for elements with $6 \leq Z \leq 99$. *Radiation Physics and Chemistry*, **80(3)**: 369-377.
- Kalnicky DJ, Singhvi R. 2001. Field portable XRF analysis of environmental samples. *Journal of hazardous materials*, **83(1-2)**:93-122.
- Kashem MA, Singh BR. 2001. Metal availability in contaminated soils: I. Effects of flooding and organic matter on changes in Eh, pH and solubility of Cd, Ni and Zn. *Nutrient cycling in agroecosystems* **61(3)**:247-255.
- Kilbride C, Poole J, Hutchings TR. 2006. A comparison of Cu, Pb, As, Cd, Zn, Fe, Ni and Mn determined by acid extraction/ICP–OES and ex situ field portable X-ray fluorescence analyses. *Environmental Pollution*. **143(1)**:16-23.
- Kirkbride KP. 2000. Analytical techniques/spectroscopic techniques. Pages 179-191 in Siegel JA, Saukko PJ, editors. *Encyclopedia of Forensic Sciences*. Elsevier Science Publishing, Amsterdam.
- Klímová M, Krausová I, Orsák M, Chvátíl D. 2022. Analysis of potential toxic elements in soil of the Czech dump-side. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. **331(7)**:3195-3201.
- Knápek J, Buchtová R, Vošmerová D. 2011. Content of Cadmium in Poppy Seeds and Poppy Seeds Containing Products Marketed in Czech Republic. *Journal of Environmental Science and Engineering* **5(7)**: 831-834.
- Kováčik J, Tomko J, Bačkor M, Repčák M. 2006. *Matricaria chamomilla* is not a hyperaccumulator, but tolerant to cadmium stress. *Plant Growth Regulation*, **50**:239-247.
- Krejčová A, Pouzar M, Černohorský T, Pešková K. 2008. The cryogenic grinding as the important homogenization step in analysis of inconsistent food samples. *Food Chemistry*. **109(4)**:848-54.
- Kučera J. 2007. Metodický vývoj neutronové aktivační analýzy a její aplikace. Available from: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<https://www.osti.gov/etdeweb/servlets/purl/20905596> (accessed: April 2024).
- Kučera J. 2011. Laboratory of Neutron Activation Analysis at the Nuclear Physics Institute of the ASCR, Řež. *Nuclear Phys News* **21**:30-35.
- Kučerová, I. (2010). Výživa v prevenci a v léčbě osteoporózy. *Interní medicína pro praxi*, **12(9)**: 450-453.

- Kumaravel S, Alagusundaram K. 2014. Determination of Mineral Content in Indian Spices by ICP-OES. *Oriental Journal of Chemistry*, **30(2)**: 631-636.
- Labanca F, Ovesnà J, Milella, L. 2018. *Papaver somniferum* L. taxonomy, uses and new insight in poppy alkaloid pathways. *Phytochemistry Reviews*, **17(4)**:853-871.
- Lachman J, Hejtmánková A, Miholová D, Koliňová D, Tluka P. 2006. Relations among alkaloids, cadmium and zinc contents in opium poppy (*Papaver somniferum* L.). *Plant, Soil and Environment*. **52(6)**: 282-288.
- Liu H, Lu C, Zhou Z, Huang F, Hu X. 2018. Specimen Variation Effects on XRF Analysis by the Monte Carlo Method: Thicknesses, Densities and Particle Sizes. *Journal of Applied Mathematics and Physics*, **6**:628-639.
- López-Núñez R. 2022. Portable X-ray Fluorescence Analysis of Organic Amendments: A Review. *Applied Sciences*. **12(14)**:6944.
- Lopez AM, Nicolini CM, Aeppli M, Luby SP, Fendorf S, Forsyth JE. 2022. Assessing analytical methods for the rapid detection of lead adulteration in the global spice market. *Environmental Science & Technology*. **56(23)**: 16996-17006.
- Ma, LQ, Komar KM, Tu C, Zhang W, Cai Y, Kennelley ED. (2001). A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature*, **409(6820)**:579–579.
- Malečková K. 2021. Obsah vybraných rizikových a nutričních prvků v máku. [MSc. Thesis]. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Marchetti C. 2013. Role of calcium channels in heavy metal toxicity. *ISRN Toxicology*. Available from <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/184360/> (accessed November 2023).
- Masson P, Dalix T, Bussière S. 2010. Determination of major and trace elements in plant samples by inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Communications in soil science and plant analysis* **41(3)**:231-243.
- Meena AK, Rekha P, Ilavarasan R. 2019. Determination of heavy metal contents in herbal plant leaves collected from different locations of Chennai city. *IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology* **4(2)**:53-55.
- Melo D, Álvarez-Ortí M, Nunes MA, Espírito Santo L, Machado S, Pardo JE, Oliveira MBPP. 2022. Nutritional and chemical characterization of poppy seeds, cold-pressed oil, and cake: Poppy cake as a high-fibre and high-protein ingredient for novel food production. *Foods* **11(19)**:3027.
- Mikšík V. 2024a. pers. comm. Obsah kadmia v makových semenech ve vybraných půdách v ČR, metoda AAS.
- Mikšík V. 2024b. pers. comm. Výsledky stanovení kadmia v máku v mg/kg.
- Mikšík V. 2024c. pers. comm. Obsah benefičních a potenciálně rizikových látek u 3. odrůd máku. ICP-OES, Postoloprty.

- Mikšík V. 2024d. pers. comm. Obsah benefičních a potenciálně rizikových látek u třech odrůd máku: metoda ICP-OES, laboratoř KPOP, ČZU.
- Mikšík V. 2022. Český mák – nutriční rekordman. Pages 7-10 in Mikšík V, editor. 21. Makový občasník, sborník z odborných seminářů. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Mikšík V. 2023. Proč se orientujeme na vývoz suroviny? Mák není jen semínko. Pages 11-14 in Mikšík V, editor. 22. Makový občasník, sborník z odborných seminářů. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Mikšík V, Kuzmeniuk Š. 2023. Makový nápoj – co v sobě skrývá? Pages 24-27 in Mikšík V, editor. 22. Makový občasník, sborník z odborných seminářů. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Mikšík V, Lohr V. 2020. The Czech Republic producer of breadseed poppy. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha.
- Nieboer E, Richardson DH. 1980. The replacement of the nondescript term ‘heavy metals’ by a biologically and chemically significant classification of metal ions. Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical, **1(1)**: 3-26.
- Öborn, I Jansson, G Johnsson L. 1995. A field study on the influence of soil pH on trace element levels in spring wheat (*Triticum aestivum*), potatoes (*Solanum tuberosum*) and carrots (*Daucus carota*), Water, Air, and Soil Pollution, **85**:835-840.
- Odusote, J. K., Soliu, G. A., Ahmed, I. I., Abdulkareem, S., & Akande, K. A. 2017. Assessment of metallic contaminants in grinded millet using domestic grinding machine. Nigerian Journal of Technological Development, **14(1)**: 13.
- Olsson IM, Bensryd I, Lundh T, Ottosson H, Skerfving S, Oskarsson A. 2002. Cadmium in blood and urine-impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking-association of renal effects. Environ Health Perspect **110(12)**:1185-1190.
- Online potravinová databáza. 2023 Potravinová banka dát. Výskumný ústav potravinárský. Available from: <http://www.pbd-online.sk/#> (accessed March 2024).
- Özkutlu F. 2008. Determination of cadmium and trace elements in some spices cultivated in Turkey. Asian Journal of Chemistry. **20(2)**:1081-1088.
- Palmer PT, Jacobs R, Baker PE, Ferguson K, Webber S. 2009. Use of field-portable XRF analyzers for rapid screening of toxic elements in FDA-regulated products. *Journal of agricultural and food chemistry*. **57(7)**:2605-2613.
- Parsons, C., Grabulosa, E. M., Pili, E., Floor, G. H., Roman-Ross, G., & Charlet, L. (2013). Quantification of trace arsenic in soils by field-portable X-ray fluorescence spectrometry: considerations for sample preparation and measurement conditions. *Journal of hazardous materials*. **262**: 1213-1222.
- Phipps DA. 1981. Chemistry and biochemistry of trace metals in biological systems. Pages 1-54 in Lepp NW, editor. Effect of heavy metal pollution on plants. Applied Science Publishers, London.

- Portable Spectral Services. 2019a. Detecting light elements with portable XRF. Portable Spectral Services. Available from <https://www.portaspecs.com/detecting-light-elements-with-portable-xrf/> (accessed February 2024).
- Portable Spectral Services. 2019b. A Guide to Portable XRF Calibrations. Portable Spectral Services. Available from <https://www.portaspecs.com/guide-to-portable-xrf-calibrations/> (accessed February 2024).
- Potts PJ, West M. (Eds.). 2008. Portable X-ray fluorescence spectrometry: Capabilities for in situ analysis. Royal Society of Chemistry.
- Prováděcí nařízení Komise (EU) 2021/147, ze dne 2. února 2021 o zápisu názvu do rejstříku chráněných označení původu a chráněných zeměpisných označení („Český modrý mák“ (CHZO)). Available from: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/147/oj (accessed: April 2024).
- Puklová V, Batáříová A, Černá M, Kotlík B, Kratzer K, Melicherčík J, Ruprich J, Řehůrková I, Spěváčková V. 2005. Cadmium exposure pathways in the Czech urban population. Central European Journal of Public Health. **13(1)**:11-19.
- Rashid A, Schutte BJ, Ulery A, Deyholos MK, Sanogo S, Lehnhoff EA, Beck L. 2023. Heavy metal contamination in agricultural soil: Environmental pollutants affecting crop health. Available from: <https://doi.org/10.3390/agronomy13061521> (accessed April 2024).
- Raessler M, Rothe J, Hilke I. 2005. Accurate determination of Cd, Cr, Cu and Ni in woodlice and their skins--is moulting a means of detoxification? Sci Total Environ. **337(1-3)**:83-90.
- Ravansari R, Wilson SC, Tighe M. 2020. Portable X-ray fluorescence for environmental assessment of soils: Not just a point and shoot method. Environment International. **134**: 105250.
- Rondevaldova J, Novy P, Tauchen J, Drabek O, Kotikova Z, Dajcl J, Mascellani A, Chrun R, Nguon S, Kokoska L. 2023. Determination of antioxidants, minerals and vitamins in Cambodian underutilized fruits and vegetables. Journal of Food Measurement and Characterization, **17(1)**:716-731.
- Sabolová M. 2020. Role máku ve výživě člověka. Výživa a potraviny. **1**:8-12.
- Saini BS, Kaur R. 2021. 3 - X-ray diffraction. Pages 85-141 in Lepp NW, Aliofkhazraei M., Nasar A., Chipara M., Laidani NB, De Hosson JTM, editors. Handbook of Modern Coating Technologies. Elsevier.
- Salamon I, Fejer J. 2011. Content of heavy metals in poppy seeds (*Papaver somniferum* L.). Advances in Environmental Biology **5**:315-319.
- Shields T. 2018. Vanta Handheld XRF Gets the Graphene Advantage. Olympus-ims. Available from <https://www.olympus-ims.com/cs/insight-old/get-the-graphene-advantage-vanta-handheld-xrf-now-with-graphene-detector-window/> (accessed February 2024).
- Shetge, SA, Dzakovich, MP, Cooperstone JL, Kleinmeier D, Redan BW. 2020. Concentrations of the opium alkaloids morphine, codeine, and thebaine in poppy seeds are reduced after

- thermal and washing treatments but are not affected when incorporated in a model baked product. *Journal of agricultural and food chemistry*. **68(18)**:5241-5248.
- Ševčík P. 2024a. pers. comm. Konkrétní fáze měření a v nich měřitelné prvky v testovaném analyzátoru VANTA.
- Ševčík P. 2024b. pers. comm. Doporučené parametry pro měřitelnost vzorku.
- Škarpa P, Lošák T, Richter R. 2008. Effect of magnesium fertilisation with soil supplementation of cadmium on the yeild and qualitative parameters of poppy (*Papaver somniferum*). *Proceedings of ECOpole*, **2 (1)**:129-134.
- Takamasa A, Nakai S. 2009. Contamination introduced during rock sample powdering: Effects from different mill materials on trace element contamination, *GEOCHEMICAL JOURNAL*, 43 卷, 5 号: p. 389-394.
- USDA Food Composition Databases. 2019. Food search: Spices, poppy seed. USDA Food Composition Databases. Available fom <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171330/nutrients> (accessed April 2024).
- Větrovcová M, Rychlá A, Havel J. 2016. Vliv genotypu na ukládání kadmia v semeni máku setého (*Papaver somniferum* L.). *Advances in Environmental Biology* **5(2)**:315-319.
- Vyhláška č. 399/2013 Sb. 2013. Vyhláška č. 399/2013 Sb., kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 329/1997 Sb., kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro škrob a výrobky ze škrobu, luštěniny a olejnatá semena, ve znění vyhlášky č. 418/2000 Sb. Ministerstvo zemědělství. Available from: <https://eagri.cz/public/portal/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/uplna-zneni/vyhlaska-2013-399-novela-329-1997> (accessed November 2023).
- World Health Organization. 1980. Tin and organotin compounds: a preliminary review. World Health Organization. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/39658/9241540753-eng.pdf?sequence=1> (accessed March 2024).
- World Health Organization. 1988. Chromium, Environmental Health Criteria 61. World Health Organization. Available from <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/40419/9241542616-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (accessed February 2024).
- Yusuf AA, Arowolo TA, Bamgbose O. 2003. Cadmium, copper and nickel levels in vegetables from industrial and residential areas of Lagos City, Nigeria. *Food and chemical toxicology* **41(3)**:375-378.
- Zákon č. 167/1998 Sb. 1998. Ohlašovací povinnost pěstitelů máku setého a rostlin technického konopí dle §§ 29, 29b zákona č. 167/1998 Sb., o návykových látkách. Ministerstvo zdravotnictví ČR. Available from https://mzd.gov.cz/wp-content/uploads/2008/03/Plneneni-zakona-c.-167_1998.pdf (accessed April 2024).

Zhou M, Li Z. 2022. Recent Advances in Minimizing Cadmium Accumulation in Wheat. *Toxics*. **10(4)**:187. <https://doi.org/10.3390/toxics10040187>.

9 Samostatné přílohy

Příloha 1: Seznam tabulek, obrázků a grafů

Příloha 2: Obsah kadmia v makových semenech ve vybraných půdách v ČR, metoda AAS (upraveno dle Mikšík 2024a, pers. comm.)

Příloha 3: Výsledky stanovení kadmia v máku v mg/kg (upraveno dle Mikšík 2024b, pers. comm.)

Příloha 4: Obsah benefičních a potenciálně rizikových látek u třech odrůd máku ICP-OES, Postoloprty (upraveno dle Mikšík 2024c, pers. comm.)

Příloha 5: Obsah benefičních a potenciálně rizikových látek u třech odrůd máku: metoda ICP-OES, laboratoř KPOP, ČZU (upraveno dle Mikšík 2024d, pers. comm.)

Příloha 6: Výsledky porovnání laboratorních pomůcek při využití standardní a invertní metody (Scheffého test)

Příloha 7: Deskriptivní statistika - modrý a bílý mák (varianta 7 a 8)

Příloha 1: Seznam tabulek, obrázků a grafů

Tabulky:

- Tabulka 1: Nutriční obsah semene modrého máku a bílého máku
- Tabulka 2: Přehledová tabulka - Varianty nezávisle proměnných a jejich interakce (varianty pokusu)
- Tabulka 3: Porovnání prvkového složení modrého máku v českých zdrojích
- Tabulka 4: Porovnání prvkového složení bílého máku v českých zdrojích
- Tabulka 5: Jednovýběrový t-test k porovnání měření pomocí XRF spektrometrie (VANTA) s metodou ICP-OES (modrý mák MS Harlekýn - Dřetovice)
- Tabulka 6: Jednovýběrový t-test k porovnání měření pomocí XRF spektrometrie (VANTA) s metodou ICP-OES (bílý mák Orel)
- Tabulka 7: Trendy při měření směsi modrého a bílého máku metodami ICP-OES a XRF spektrometrie (VANTA)
- Tabulka 8: T-test pro závislé vzorky k porovnání měření k v rozdílných měřicích fázích
- Tabulka 9: T-test pro závislé vzorky k porovnání sigmy prvků analyzovaných v rozdílných měřicích fázích
- Tabulka 10: Dvouvýběrový t-test k porovnání metod přípravy vzorku
- Tabulka 11: Přítomnost kadmia v půdě v ČR vybrané zdroje
- Tabulka 12: Porovnání prvkového složení modrého máku v zahraničních a českých zdrojích
- Tabulka 13: Procentuální porovnání sledovaného prvkového složení modrého máku v ČR vůči referenční hodnotě USDA

Obrázky:

- Obrázek 1: Porovnání obsahu mikroživiny (mg/100g) u máku a jiných olejnin (upraveno dle Sabolová 2020)
- Obrázek 2: Porovnání vstřebatelnosti vápníku v potravinách (upraveno dle Sabolová 2020)
- Obrázek 3: Procentuální výskyt koncentrací kadmia v makovém semeni v mg/kg; celkem 208 vzorků (upraveno dle Knápek et al. 2011)
- Obrázek 4: Spektrum rentgenového záření emitovaného z prvku Mo. Z pravé strany je vložena osa grafu s hodnotami hmotnostního absorpčního koeficientu příslušného filtru (upraveno dle Saini & Kaur 2021)
- Obrázek 5: Obrázek 5: Plánování spektrometrických analýz podle úspěšnosti detekce (upraveno dle Palmer et al. 2009)
- Obrázek 6: Konkrétní fáze měření a v nich měřitelné prvky v testovaném analyzátoru VANTA (upraveno dle Ševčík 2024b, pers. comm.)

Obrázek 7: Transparentnost fólií použitelných pro XRF spektrometrii (BAS Rudice s.r.o. 2024a, pers. comm.)

Grafy:

- Graf 1: Porovnání obsahu Cu, Zn a Fe u modrého (MS Harlekýn) a bílého máku (Orel) analyzovaného metodami ISP-OES a XRF spektrometrie (VANTA)
- Graf 2: Porovnání obsahu Ca, P, K a Mn u modrého (MS Harlekýn) a bílého máku (Orel) analyzovaného metodami ISP-OES a XRF spektrometrie (VANTA)
- Graf 3: Porovnání trendů měření při komparaci modrého (MS Harlekýn) a bílého máku (Orel) metodami ICP-OES a XRF spektrometrie (VANTA)
- Graf 4: Porovnání výživových hodnot Cu, Zn, Fe, Mn mezi odrůdami modrého a bílého máku měřenými XRF spektrometrií (VANTA) (var. 7, var. 8)
- Graf 5: Porovnání výživových hodnot Ca, P, K mezi odrůdami modrého a bílého máku měřenými XRF spektrometrií (VANTA) (var. 7, var. 8)
- Graf 6: Procentuální porovnání sledovaného prvkového složení modrého máku v ČR vůči referenční hodnotě USDA (prvky grupované dle zdroje)

Příloha 2: Obsah kadmia v makových semenech ve vybraných půdách v ČR, metoda AAS
(upraveno dle Mikšík 2024a, pers. comm.)



Agritec Plant Research, s.r.o.
787 01 Šumperk, Zemědělská 16

Protokol o zkoušce

36/019

Název zkoušky : **Stanovení mikroprvků metodou AAS**
Metodika: Met 34 – Extrakce půd v uzavřeném systému mikrovlnným ohřevem
Stanovení prvků na AAS
Datum: 1.8.2019
Číslo rozboru: 36/019
Popis vzorků : mák - semena
Počet vzorků : 15
Analýzu objednal: Ing. Havel, VÚOL Opava

Vzorek	Cd (mg/kg)
Kylešovice	0,325
Slavkov	0,567
Zlatníky	1,071
Vršovice	1,225
Uhlířov	0,571
Chlebičov	1,092
Opava Sv. Anna	0,545
Pusté Jakartice	0,862
Moravice (Kružb)	1,117
Kaménka	1,398
Velké Heraltice	0,701
Malé Heraltice	0,538
Malé Hoštice	0,661
Milostovice	0,731
Bruntál	0,991

Stanovení byla provedena ve dvou nezávislých opakováních a výsledky jsou jejich aritmetickým průměrem.

Protokol vystaven dne:

12.8.2019

Analýzy provedl: Mgr. Jiří Horáček, Ph.D.

Vedoucí laboratoře: Mgr. Jiří Horáček, Ph.D.

Příloha 3: Výsledky stanovení kadmia v máku v mg/kg
(upraveno dle Mikšík 2024b, pers. comm.)

Stanoveno instrumentální neutronovou aktivační analýzou (INAA).

Vzorek	Cd (In-115m)
M-1 Mák modrý Španělsko obchod	0,173 ± 0,019
M-2 * Mák modrý Dřetovice 2019 (MS Harlekýn) (vysoké Cd)	0,552 ± 0,015
M-3 Mák bílý Kladruby 2018 (0,16ppm)	0,134 ± 0,018
M-5 Mák okrový Kladruby	0,215 ± 0,019
M-6 Mák modrý Předboj 2019	0,231 ± 0,021
NIST SRM 1566a - Oyster Tissue (INAA)	4,075 ± 0,472
Certifikovaná hodnota	4,15 ± 0,38

Příloha 4: Obsah benefičních a potenciálně rizikových látek u třech odrůd máku ICP-OES, Postoloprty (upraveno dle Mikšík 2024c, pers. comm.)

Analýza certifikované laboratoře Postoloprty prvkové analýzy ICP-OES z roku 2019:
 ZO - 126, mák setý, bělosemenný, odrůda Orel. Stanoviště: Kladruby, zahrada. Ruční sklizeň.
 ZO – 127, mák setý, modrosemenný, odrůda Aplaus. Stanoviště: směs vzorku z ČR, běžné pole.
 Kombajnová sklizeň.



LABORATOŘ
POSTOLOPRTY

zkušební laboratoř č. 1436 akreditovaná ČIA dle normy ČSN EN ISO/IEC 17025:2005



Strana č. 1 / 3

Zákazník:

ČESKÁ ZEM. UNIVERZITA
Kamýčká 129
165 21 PRAHA 6-SUCHDOL

Protokol o zkoušce č. ZO - 125-127

Datum odběru: - Datum příjmu: 14.2.2019
 Postup vzorkování: -
 Vzorkoval: zákazník

Materiál:

Číslo vz.	Označení, popis vzorku a materiál
ZO - 125	O: mák 1
ZO - 126	O: mák 2
ZO - 127	O: mák 3

Výsledky zkoušek

Číslo vzorku: ZO - 125

Zkouška	Jednotka	Hodnota	Nejistota	Číslo zk.	Poznámka
Vlhkost	%	4,40	±0,5%	1	
Celková sušina	%	95,6	±0,5%	1	
NL (6,25)	%	22,4	±2%	6	
P	%	1,04	±5%	18	
K	%	0,74	±5%	18	
Ca	%	1,84	±5%	18	
Mg	%	0,37	±5%	18	
Na	%	<0,01		18	
Cd	mg / kg	0,424	±20%	7	
Cu	mg / kg	14,5	±5%	18	
Fe	mg / kg	79,2	±20%	18	
Mn	mg / kg	77,1	±10%	18	
Zn	mg / kg	59,0	±20%	18	
Vláknina	%	13,4	±5%	4	
Sacharosa	%	2,37	±5%	9	
Tuk	%	43,3	±5%	3	
Vitamin E	mg / kg	22,8	±27%	13	

Číslo vzorku: ZO - 126

Zkouška	Jednotka	Hodnota	Nejistota	Číslo zk.	Poznámka
Vlhkost	%	5,90	±0,5%	1	
Celková sušina	%	94,1	±0,5%	1	
NL (6,25)	%	24,1	±2%	6	
P	%	1,06	±5%	18	
K	%	0,78	±5%	18	
Ca	%	1,48	±5%	18	
Mg	%	0,37	±5%	18	

Zkouška	Jednotka	Hodnota	Nejistota	Číslo zk.	Poznámka
Na	%	<0,01		18	
Cd	mg / kg	0,161	±20%	7	
Cu	mg / kg	25,5	±5%	18	
Fe	mg / kg	106,7	±20%	18	
Mn	mg / kg	83,7	±10%	18	
Zn	mg / kg	119,0	±20%	18	
Vláknina	%	8,66	±5%	4	
Sacharosa	%	3,33	±5%	9	
Tuk	%	46,8	±5%	3	
Vitamin E	mg / kg	18,3	±27%	13	

Číslo vzorku: ZO - 127

Zkouška	Jednotka	Hodnota	Nejistota	Číslo zk.	Poznámka
Vlhkost	%	5,10	±0,5%	1	
Celková sušina	%	94,9	±0,5%	1	
NL (6,25)	%	22,4	±2%	6	
P	%	1,01	±5%	18	
K	%	0,83	±5%	18	
Ca	%	1,50	±5%	18	
Mg	%	0,38	±5%	18	
Na	%	<0,01		18	
Cd	mg / kg	0,518	±20%	7	
Cu	mg / kg	19,5	±5%	18	
Fe	mg / kg	96,6	±20%	18	
Mn	mg / kg	73,3	±10%	18	
Zn	mg / kg	87,3	±20%	18	
Vláknina	%	14,3	±5%	4	
Sacharosa	%	3,28	±5%	9	
Tuk	%	44,0	±5%	3	
Vitamin E	mg / kg	22,8	±27%	13	

Výsledky zkoušek jsou uváděny s nejistotou měření vyjádřenou jako rozšířená nejistota s koeficientem rozšíření $k=2$ (pro hladinu významnosti 95%). Uvedené nejistoty nezahrnují nejistotu vzorkování.

Výsledky zkoušek uvedené na všech listech protokolu se týkají zkoušeného(ých) vzorku(ů) a jsou uvedeny v **původní hmotě** vzorku(ů).

Protokol o zkouškách nelze reprodukovat bez písemného souhlasu zkušební laboratoře jinak než celý.
Poznámka:

Zkoušky byly provedeny od 14.2.2019 do 23.2.2019
Datum vyhotovení protokolu: 23.2.2019



Ing. Werschallová Miluše
zástupce vedoucího zkušební laboratoře

Seznam zkoušek s identifikací metody

Číslo zk.	Přesný název zkoušky	Identifikace metody
1	Stanovení sušiny gravimetricky a výpočet vlhkosti	SOP I/A (Nařízení Komise (ES) č. 152/2009, příloha III, postup A)
6	Stanovení celkového dusíku (N) podle Dumase a výpočet dusíkatých látek (NL)	SOP I/F (Jednotné pracovní postupy, Analýza rostlinného materiálu ÚKZÚZ r. 2005 / kap. 3. 1. 5.)
7	Stanovení vybraných těžkých kovů metodou ICP-OES po rozkladu kyselinou dusičnou	SOP I/G (Jednotné pracovní postupy, Analýza rostlinného materiálu, ÚKZÚZ r. 2005/kap. 2. 2. 2. a 3. 6., ČSN EN ISO 11885)
18	Stanovení vybraných prvků metodou ICP - OES po rozkladu kyselinou dusičnou	SOP I/P (Jednotné pracovní postupy, Analýza rostlinného materiálu, ÚKZÚZ r. 2005 / kap. 3.5. a 3. 6., ČSN ISO 11885)
3	Stanovení tuku gravimetricky po extrakci	SOP I/C (Nařízení Komise (ES) č. 152/2009, příloha III, postup H)
4	Stanovení vlákniny - gravimetricky	SOP I/D (Nařízení Komise (ES) č. 152/2009, příloha III, postup I)
9	Stanovení veškerých cukrů - titračně	SOP I/K (Nařízení Komise (ES) č. 152/2009, příloha III, postup J)
13	Stanovení vitamínu A, E - metodou HPLC/UV	SOP II/A (Nařízení Komise (ES) č. 152/2009, příloha IV, postup A,B)

Příloha 5: Obsah benefičních a potenciálně rizikových látek u třech odrůd máku: metoda ICP-OES, laboratoř KPOP, ČZU (upraveno dle Mikšík 2024d, pers. comm.)

ICP-OES: Spektrometrická analýza zprostředkovaná laboratoří Katedry pedologie a ochrany půd ČZU z roku 2020						
Prvek	Obsah prvků (mg/kg)			Sigma ze 3 opakování (mg/kg)		
	ZEVOS Předboj Q	MS Harlekýn (Dřetovice) P	Kostelec R	ZEVOS Předboj Q	MS Harlekýn (Dřetovice) P	Kostelec R
Cd	0,32	0,45	0,3	0,08	0,07	0,03
Ni	1,9	13,1	2,4	0,5	15,1	3,0
Cu	39,3	32,9	36,5	2,1	3,2	1,8
Zn	116,1	94,1	103,3	1,5	3,1	0,6
Cr	0,9	0,8	0,7	0,4	0,6	0,4
Fe	65,5	75,1	68,6	12,0	17,2	11,0
Ca	14877,6	12627,2	14275,1	98,0	550,3	312,5
P	9030,8	7636,7	8928,8	87,2	438,5	223,5
K	9388,1	9448,6	9402,0	332,8	1189,7	495,7
Mg	3191,5	2914,4	3320,1	29,8	112,0	51,9
Na	165,8	158,1	94,6	111,0	79,6	54,4
Mn	66,6	69,5	86,1	0,2	3,9	1,6
S	3158,5	2872,3	3050,2	60,0	125,1	75,1

Příloha 6: Porovnávání přesnosti měření dle zvolené pozice spektrometru a vzorku (standardní / invertní), Scheffého test

Standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek

Analýza 1: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Mn

Scheffeho test; var 1 Standardní metoda - proměnná Mn Chyba: meziskup. $P\check{C} = 34,585$, $sv = 10$			
Forma laborator. pomůcek	1 75,688	2 91,380	3 65,565
1 Víčko s otvorem		0,0185	0,0976
2 PP blanka	0,0185		0,0002
3 Potravinová fólie	0,0976	0,0002	

Analýza 2: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Fe

Scheffeho test; var 1 Standardní metoda - proměnná Fe Chyba: meziskup. $P\check{C} = 327,94$, $sv = 10$			
Forma laborator. pomůcek	1 236,86	2 317,02	3 269,31
1 Víčko s otvorem		0,0006	0,0837
2 PP blanka	0,0006		0,0074
3 Potravinová fólie	0,0837	0,0074	

Analýza 3: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Mo

Scheffeho test; var 1 Standardní metoda - proměnná Mo Chyba: meziskup. $P\check{C} = 0,16851$, $sv = 10$			
Forma laborator. pomůcek	1 2,3650	2 3,6451	3 2,6109
1 Víčko s otvorem		0,0141	0,7716
2 PP blanka	0,0141		0,0375
3 Potravinová fólie	0,7716	0,0375	

Analýza 4: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Cu

Scheffeho test; var 1 Standardní metoda - proměnná Cu Chyba: meziskup. $P\check{C} = 3,2429$, $sv = 10$			
Forma laborator. pomůcek	1 33,336	2 34,510	3 31,157
1 Víčko s otvorem		0,7033	0,2771
2 PP blanka	0,7033		0,0485
3 Potravinová fólie	0,2771	0,0485	

Analýza 5: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Zr

Scheffeho test; var 1			
Standardní metoda - proměnná Zr			
Chyba: meziskup. PC = 0,41862, sv = 10			
Forma laborator. pomůcek	1	2	3
	6,5473	7,7264	6,2203
1 Víčko s otvorem		0,1050	0,7795
2 PP blanka	0,1050		0,0155
3 Potravinová fólie	0,7795	0,0155	

Analýza 6: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Nb

Scheffeho test; var 1			
Standardní metoda - proměnná Nb			
Chyba: meziskup. PC = 0,32217, sv = 10			
Forma laborator. pomůcek	1	2	3
	4,2311	4,8773	3,7288
1 Víčko s otvorem		0,3667	0,4831
2 PP blanka	0,3667		0,0326
3 Potravinová fólie	0,4831	0,0326	

Analýza 7: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Ca

Scheffeho test; var 1			
Standardní metoda - proměnná Ca			
Chyba: meziskup. PC = 2878000, sv = 10			
Forma laborator. pomůcek	1	2	3
	26774	27459	23796
1 Víčko s otvorem		0,8710	0,0906
2 PP blanka	0,8710		0,0234
3 Potravinová fólie	0,0906	0,0234	

Analýza 8: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u U

Scheffeho test; var 1			
Standardní metoda - proměnná U			
Chyba: meziskup. PC = 0,59163, sv = 10			
Forma laborator. pomůcek	1	2	3
	0,57721	2,0060	0,53199
1 Víčko s otvorem		0,0979	0,9966
2 PP blanka	0,0979		0,0424
3 Potravinová fólie	0,9966	0,0424	

Invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek

Analýza 9: Scheffého test - standardní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Zn

Scheffeho test; var 2 Standardní metoda - proměnná Zn Chyba: meziskup. $P\check{C} = 13,501$, $sv = 10$			
Forma laborator. pomůcek	1	2	3
1 Víčko s otvorem	132,94	142,75	124,98
2 PP blanka	0,0184	0,0184	0,0367
3 Potravinová fólie	0,0367	0,0001	0,0001

Analýza 10: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Si

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná Si Chyba: meziskup. $P\check{C} = 4169,3$ $sv = 17$				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
1 Víčko s otvorem	1069,2	6295,9	2504,7	1888,6
2 PP blanka	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
3 Potravinová fólie	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Analýza 11: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u K

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná K Chyba: meziskup. $P\check{C} = 137400$, $sv = 17$				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
1 Víčko s otvorem	11250	24478	37574	35933
2 PP blanka	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
3 Potravinová fólie	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0000	0,0001	0,0001

Analýza 12: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Ca

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná Ca Chyba: meziskup. $P\check{C} = 373200$, $sv = 17$				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
1 Víčko s otvorem	549,49	16992	25819	22804
2 PP blanka	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
3 Potravinová fólie	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Analýza 13: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Fe

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná Fe Chyba: meziskup. PČ = 110,00 sv = 17				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
	16,541	206,67	240,60	215,64
1 Víčko s otvorem		0,0000	0,0000	0,0000
2 PP blanka	0,0000		0,0056	0,7152
3 Potravinová fólie	0,0000	0,0056		0,0215
4 Prolenová fólie	0,0000	0,7152	0,0215	

Analýza 14: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Cu

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná Cu Chyba: meziskup. PČ = 0,91531, sv = 17				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
	6,2210	28,510	31,784	27,716
1 Víčko s otvorem		0,0000	0,0000	0,0000
2 PP blanka	0,0000		0,0035	0,7340
3 Potravinová fólie	0,0000	0,0035		0,0001
4 Prolenová fólie	0,0000	0,7340	0,0001	

Analýza 15: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Zn

Scheffeho test; var 2 Invertní - proměnná Zn Chyba: meziskup. PČ = 2,0193, sv = 17				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
	81,057	115,24	131,47	117,50
1 Víčko s otvorem		0,0000	0,0000	0,0000
2 PP blanka	0,0000		0,0000	0,2308
3 Potravinová fólie	0,0000	0,0000		0,0000
4 Prolenová fólie	0,0000	0,2308	0,0000	

Analýza 16: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Zr

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná Zr Chyba: meziskup. PČ = 1,4795, sv = 17				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
	10,589	7,1104	7,8125	117,50
1 Víčko s otvorem		0,0051	0,0133	0,0000
2 PP blanka	0,0051		0,9015	0,0000
3 Potravinová fólie	0,0133	0,9015		0,0000
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0000	0,0000	

Analýza 17: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Nb

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná Nb Chyba: meziskup. PČ = 0,19617 sv = 17				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
	8,1635	4,9792	5,5050	3,5317
1 Víčko s otvorem		0,0000	0,0000	0,0000
2 PP blanka	0,0000		0,5081	0,0035
3 Potravinová fólie	0,0000	0,5081		0,0001
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0035	0,0001	

Analýza 18: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Mo

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná Mo Chyba: meziskup. PČ = 0,16971, sv = 17				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
	5,9511	3,1032	3,6314	1,5185
1 Víčko s otvorem		0,0000	0,0000	0,0000
2 PP blanka	0,0000		0,4435	0,0007
3 Potravinová fólie	0,0000	0,4435		0,0000
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0007	0,0000	

Analýza 19: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u U

Scheffeho test; var 2 ; Invertní metoda - proměnná U Chyba: meziskup. PČ = 0,17137, sv = 17				
Forma laborator. pomůcek	1	2	3	4
	7,0981	2,5387	2,3093	0
1 Víčko s otvorem		0,0000	0,0000	0,0000
2 PP blanka	0,0000		0,9115	0,0000
3 Potravinová fólie	0,0000	0,9115		0,0000
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0000	0,0000	

Analýza 20: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u P

Scheffeho test; var 2 ; Invertní metoda - proměnná P Chyba: meziskup. PČ = 15864, sv = 9			
Forma laborator. pomůcek	2	3	4
	378,55	8601,6	9694,5
2 PP blanka		0,0000	0,0000
3 Potravinová fólie	0,0000		0,0000
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0000	

Analýza 21: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u S

Scheffeho test; var 2 Invertní metoda - proměnná S Chyba: meziskup. PČ = 1145,4, sv = 9			
Forma laborator. pomůcek	2	3	4
	426,25	3827,2	4230,0
2 PP blanka		0,0000	0,0000
3 Potravinová fólie	0,0000		0,0000
4 Prolenová fólie	0,0000	0,0000	

Analýza 22: Scheffého test – invertní metoda, porovnání laboratorních pomůcek u Mn

Scheffeho test; var 2; Invertní metoda - proměnná Mn Chyba: meziskup. PČ = 22,065, sv = 9			
Forma laborator. pomůcek	2	3	4
	48,915	70,009	62,346
2 PP blanka		0,0008	0,0114
3 Potravinová fólie	0,0008		0,1030
4 Prolenová fólie	0,0114	0,1030	

Příloha 7: Deskriptivní statistika - modrý a bílý mák (varianta 7 a 8)

Prvek	Modrý mák (Varianta 7)			Bílý mák (Varianta 8)		
	Průměr	SD	σ	Průměr	SD	σ
Cu	21,1	4,4	0,36	26,3	3,8	0,37
Zn	112,5	11,3	0,41	143,3	9,2	0,45
Mo	2,4	0,1	0,14	2,6	0,1	0,14
Fe	177,0	45,1	1,24	152,4	8,9	1,18
Ca	25259,6	2496,5	19,54	27535,1	2020,6	21,81
P	8943,3	543,0	24,26	7994,3	731,7	23,03
K	31608,7	3418,1	56,34	27105,8	3282,8	54,45
Mn	75,6	19,5	1,47	90,4	22,2	1,50