

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra pedologie a ochrany půd



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Obsah hlavních i nově sledovaných rizikových prvků
v máku s důrazem na nikl**

Diplomová práce

Bc. Kateřina Malečková

Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce

doc. Ing. Ondřej Drábek, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci *Obsah hlavních i nově sledovaných rizikových prvků v máku s důrazem na nikl* 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 19. 4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala docentu Ing. Ondřeji Drábkovi Ph.D. za podporu a cenné rady a připomínky při psaní práce. Další osobou, která zasluhuje dík, je Ing. Marko Spasić, Ph.D. za pomoc v laboratoři při rozkladu máku. Hlavně děkuji rodičům, celé rodině a partnerovi za bezbřehou podporu během celého studia.

Obsah hlavních i nově sledovaných rizikových prvků v máku s důrazem na nikl

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá analýzou obsahu hlavních a nově sledovaných rizikových prvků v máku, se specifickým zaměřením na nikl. Hlavním cílem bylo zjistit, zda je obsah těchto prvků v máku dostupném na českém trhu v souladu s hodnotami, které jsou považovány za bezpečné pro lidské zdraví. Kromě toho studie zkoumala, zda existují významné rozdíly v obsahu rizikových prvků mezi mákem pěstovaným v České republice a mákem dováženým ze zahraničí.

Průzkum byl proveden na širokém množství anonymních vzorků máku, které byly analyzovány na přítomnost niklu, kadmia, olova, arsenu a dalších prvků optickou emisní spektroskopií s indukčně vázaným plazmatem. Tyto vzorky byly porovnávány s platnými legislativními normami a byla provedena statistická analýza pro identifikaci jakýchkoli statisticky významných rozdílů v obsahu sledovaných prvků.

Kromě kvantitativních měření bylo také prováděno hodnocení potenciálních rizik spojených s konzumací máku. Výsledky ukázaly, že většina testovaných vzorků splňuje jak české, tak evropské normy pro obsah rizikových prvků. Avšak v několika vzorcích byly detekovány hladiny prvků přesahující stanovené limity, což může představovat potenciální zdravotní riziko pro spotřebitele.

Zajímavým zjištěním bylo, obsah kadmia i jiných prvků se mezi vzorky lišil. Z důvodu anonymity původu vzorků ale nelze určit, zda je důvodem rozdílů zahraniční původ. České máky se v obsahu prvků mohou také výrazně lišit v závislosti na kontaminaci a složení půdy, na které jsou pěstované. Obsah niklu se mezi vzorky signifikantně nelišil. Tato práce tedy přispívá k lepšímu pochopení problematiky kontaminace máku rizikovými prvky a poskytuje užitečné informace pro spotřebitele i regulátory v oblasti potravinové bezpečnosti.

Klíčová slova: mák, rizikové prvky, nutriční prvky, nikl, spektrální analýza

Content of the main and newly monitored risk elements in poppy with an emphasis on nickel

Summary

This thesis deals with an extensive analysis of the content of the main and newly monitored risk elements in poppy, with a specific focus on nickel. The main objective was to determine whether the content of these elements in poppy available on the Czech market is in line with the values considered safe for human health. In addition, the study investigated whether there are significant differences in the content regarding risk elements between poppy grown in the Czech Republic and poppy imported from abroad.

The research was carried out on a wide range of anonymous poppy samples, which were analyzed for the presence of nickel, cadmium, lead, arsenic and other elements. These samples were compared with current legislative standards and statistical analysis was performed to identify any statistically significant differences in the content of the elements of interest.

In addition to the quantitative measurements, an assessment of the potential risks associated with poppy consumption was also carried out. The results showed that most of the tested samples met both Czech and European standards for the content of risk elements. However, in a few samples, levels of elements exceeding the established limits were detected, which may represent a potential health risk for consumers.

Interestingly, the cadmium content and other elements varied between the samples, but due to the anonymity of the origin of the samples it cannot be determined whether foreign origin is the reason for the differences. Czech poppies can also vary significantly in elemental content depending on the contamination and composition of the soil on which they are grown. The nickel content did not differ significantly between the samples. This work contributes to a better understanding of risk elements contamination of poppies and provides useful information for consumers and food safety regulators.

Keywords: poppy, risk elements, nutritional elements, nickel, spectral analysis

Obsah

1	Úvod	7
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Makové velmoci	9
3.1.1	Česká republika vs Turecko	9
3.2	Konzumace máku v ČR	11
3.3	Český modrý mák	11
3.4	CHZO	12
3.4.1	Kontrola užívání označení CHZO	12
3.5	Legislativa	13
3.5.1	Neshody mezi vyhláškou a nařízením	14
3.6	Organizace zajišťující bezpečnost potravin	15
3.7	Nikl	16
3.7.1	Nikl v půdě a jeho mobilita	16
3.7.2	Nikl ve vodě	17
3.7.3	Nikl v potravinách	17
3.7.4	Esencialista	18
3.7.5	Toxicita	19
3.8	Kadmium	20
3.8.1	Kadmium v půdě	21
3.8.2	Toxicita	22
3.8.3	Doporučení a limity	23
3.9	Modelový příklad konzumenta máku	24
3.9.1	Makový koláč	24
3.10	Metody stanovení prvků v máku	26
3.11	ICP-OES	27
3.11.1	Princip metody	27
3.11.2	Použití	27
3.11.3	Výhody	28
3.11.4	Omezení	28
4	Materiál a metody	29
4.1	Maková semena	29
4.1.1	Úprava vzorku	29
4.1.2	Rozklad máku a filtrace	30
4.2	Měření	32
4.2.1	Detekční limit	32
4.3	Zpracování výsledků	33

5	Výsledky	34
5.1	Souhrnná tabulka výsledků (tabulka 6)	35
5.2	Průměry	35
5.3	Analýza hlavních komponent (PCA)	37
6	Diskuze	40
6.1	Nikl	40
6.2	Kadmium	41
6.3	Arsen	42
6.4	Olovo	43
6.5	Další statistika	43
7	Závěr	47
8	Literatura	48
9	Samostatné přílohy	i

1 Úvod

Tato práce se zabývá problematikou obsahu rizikových prvků v máku, který je tradiční součástí české kuchyně. Mák je jako potravinářská surovina považován za nutričně bohatou potravinu, ale bohužel může být zdrojem rizik spojených s obsahem rizikových prvků jako je kadmium či olovo a potenciálně i niklu. Cílem práce je analyzovat vzorky máku dostupné na českém trhu a zjistit, zda jejich obsah niklu a dalších rizikových prvků, jako jsou kadmium, olovo a arsen, překračuje stanovené bezpečnostní limity pro potraviny.

Význam této práce je umocněn skutečností, že mák je v České republice velmi populární a jeho konzumace je jednou z nejvyšších v Evropě. Zatímco nutriční přínos máku je dobře zdokumentován, potenciální nebezpečí spojená s přítomností rizikových prvků jsou často opomíjena. Tato práce přináší nové informace, které mohou být použity jak spotřebiteli, tak regulátory v oblasti potravinové bezpečnosti, a přispívá k širší diskusi o bezpečnosti potravin v kontextu environmentálního znečištění.

Diplomová práce je strukturována do několika hlavních částí. Po úvodu následuje literární rešerše zaměřená na výskyt a účinky rizikových prvků v potravinách, specifikace metodiky analýzy těchto prvků a přehled aktuálních legislativních limitů pro rizikové prvky v potravinách. Experimentální část popisuje metodiku sběru a analýzy vzorků, následovanou prezentací a diskusí výsledků. Závěrečná část shrnuje hlavní zjištění a doporučuje možné kroky pro zlepšení kontroly a snižování rizik spojených s konzumací máku.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza:

V máku dostupném na českém trhu se obsah vybraných rizikových prvků pohybuje v hodnotách, které jsou pro lidské zdraví neškodné, což platí i pro nově sledované prvky jako je nikl.

Existuje rozdíl v obsahu pozorovaných prvků mezi máky českými a zahraničními.

Cíle práce:

1. Stanovit, jaký je obsah vybraných rizikových a případně hlavních nutričních prvků v různých odrůdách máku, běžně dostupných na českém trhu.
2. Zhodnotit, jaký vliv mají rizikové prvky, se zaměřením na nově sledovaný nikl, na lidské zdraví.

Metodika:

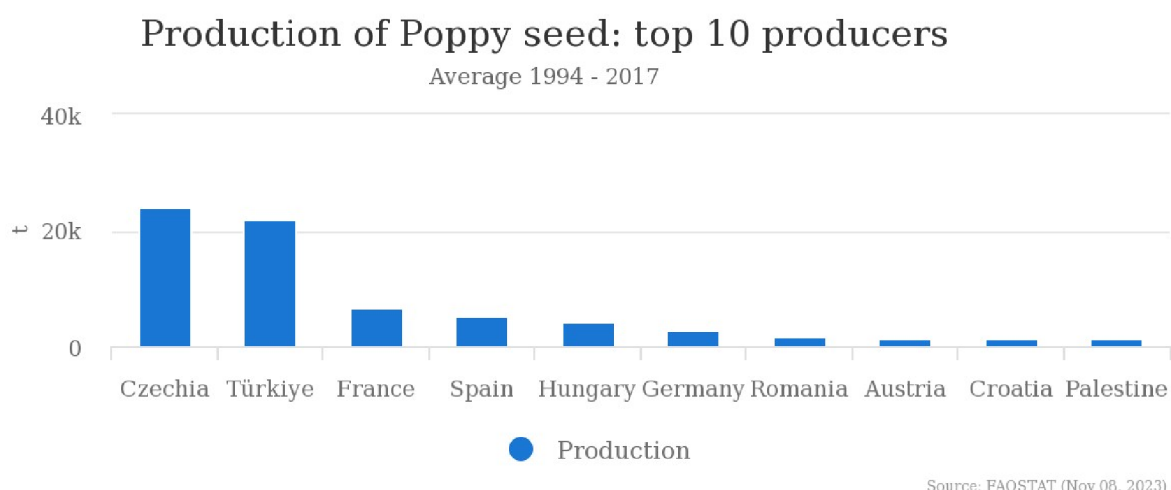
1. Studium vybraných odborných a vědeckých publikací. Vypracování literární rešerše.
2. Získání dostupných vzorků máku k rozboru.
3. Laboratorní analýza vzorků. Analýza bude zahrnovat mletí, homogenizaci, rozklad a vlastní stanovení rizikových prvků.
4. Vyhodnocení výsledků a jejich statistické zpracování.
5. Ověření hypotézy a formulování závěrů práce.

3 Literární rešerše

V rámci literární rešerše bude představený mák jako potravin a legislativní limity pro rizikové prvky. Dále se bude práce věnovat vlivu vybraných prvků (Cd, Ni) na lidské zdraví a položí si otázku, zda je možné konzumaci máku překročit bezpečné dávky těchto prvků.

3.1 Makové velmoci

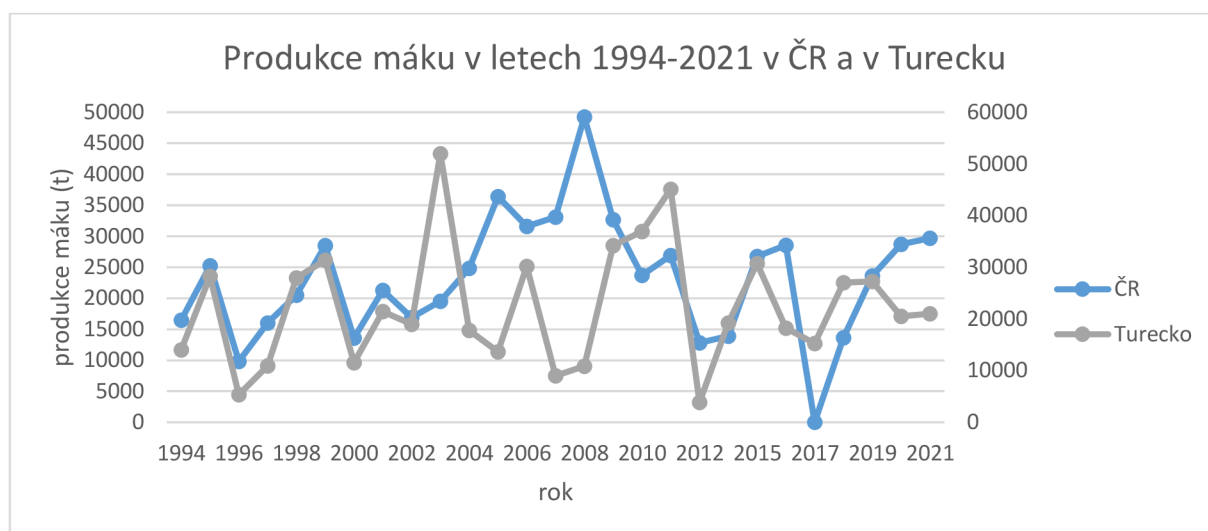
Česká republika je jedním z dlouhodobě největších producentů máku ve světě. Podle statistických dat za roky 1994–2017 jsou desíti největšími producenty máku Česká republika, Turecko, Francie, Španělsko, Maďarsko, Německo, Rumunsko, Rakousko, Chorvatsko, Palestina. Právě Česká republika a Turecko hrají v této statistice prim, jejich roční produkce máku se průměrně pohybuje kolem 20 tisíc tun máku. Naopak ostatní jmenované státy zaostávají a jejich produkce je výrazně nižší. v případě Francie je to zhruba 6 tisíc tun a Chorvatsko produkuje pouze kolem 1 tisíce tun máku průměrně za rok (FAO 2023).



Graf 1: Zobrazení produkce máku ve světě průměr za roky 1994-2017 (FAO 2023)

3.1.1 Česká republika vs Turecko

Dostupná data z FAO neobsahovala informace o produkci máku v České republice od roku 2017 do současnosti, proto byla doplněna daty z Českého statistického úřadu a byl vytvořen následující graf. Na grafu 2 je vyobrazena produkce máku v České republice a v Turecku v letech 1994-2021. Přestože obě země zásobují svět přibližně stejným množstvím máku ročně, nejedná se o stejný mák, přestože se oba jmenují *Papaver somniferum*. Jeden z nich je opiový a druhý olejný.



Graf 2: Produkce máku v letech 1994-2021 v ČR a Turecku

Mák opiový je významný svým vysokým obsahem alkaloidů, zejména morfinu a dalších, například narkotinu, kodeinu, papaverinu, thebainu. Jako mák opiový jsou označovány poddruhy máku setého využívané pro produkci opia. Výnos opia z hektaru opiového máku se pohybuje okolo 20 kg/ha (Mahdavi-Damghani et al. 2010). Rostliny těchto poddruhů mají uvnitř vodivého lýka velké mléčnice. Po naříznutí makovice z ní vytéká bílý latex (šťáva), tj. opium (Vašák 2010). Největší množství latexu se z makovice získá přibližně 8. až 10. den po opadání korunních lístků, toto období je nazýváno stadiem „opiové zralosti“. Kapičky latexu na porušené makovici zaschnou, můžeme zde pozorovat změnu barvy z bílé na hnědou. Zaschlé opium je posléze seškrabáváno a dále zpracováváno (UNODC 2023).

Tento druh máku se pěstuje zejména pro farmaceutické účely. Výrobní surovina pro morfin je makovina obsahující až 2,5 % morfinu (Vlk 2009; Stranska et al. 2012; Yazici 2022). Vedlejším produktem jsou pak semena tohoto máku, která přirozeně neobsahují morfin. Semena máku technického jsou často hořká, rezavá, šedivá a nevhodná ke konzumaci. Taková semena je možné použít pro výrobu průmyslových olejů, které mohou mít uplatnění například v dřevozpracovatelském průmyslu (Tiryaki et al. 2013).

Mák olejný, také označován jako semenný, je zastupován jedním z nejvíce rozšířených poddruhů v Evropě (ssp. *Eurasiaticum*). Na produkci opia není vhodný, neboť téměř netvoří latex. (Vašák 2010; Procházka & Smutka 2012). Máky pěstované v Česku obsahují do 0,8 % morfinových alkaloidů (Vašák 2010) a jejich semena jsou ceněna pro kvalitní senzorycké parametry a jsou běžnou součástí středo – a východoevropské kuchyně. A pro své kvality byl také po několika letech úsilí spolku Český modrý mák z.s. uznán evropskou komisí a může se

tak pyšnit Chráněným zeměpisným označením (CHZO). v Evropě ale i ve světě je tak znám jako Český modrý mák (Evropská komise 2021).

3.2 Konzumace máku v ČR

Popularitu máku v Čechách dokazuje nesčetné množství pekařských a cukrářských výrobků, které se objevují na trhu. Od oblíbených tradičních makových závinů, buchet a koláčů, jako jsou například známé frgály, až po běžné pečivo s mákem jako posyp. v cukrářských soutěžích se často objeví nejeden recept, ve kterém hraje mák hlavní roli ať už jako součást těsta nebo krémů. Běžně se v průměrném makovém koláči nachází kolem 10 g máku, v poctivých receptech i více. Maková zmrzlina také není ojedinělou záležitostí v cukrárnách. Často vyzdvihované nutriční hodnoty přidávají máku na popularitě. Od roku 2013 po současnost se spotřeba máku podle dat z Českého statistického úřadu pohybuje od 0,3 do 0,5 kg máku na osobu ročně (ČSÚ 2023). Mák je velmi populární v české kuchyni už od nepaměti, na talíři se údajně objevoval i několikrát týdně (Sabolová 2020).

3.3 Český modrý mák

Cílem sedmiletého úsilí organizace Český modrý mák z. s. bylo právně oddělit mák technický od máku potravinářského. Identifikace Českého modrého máku jako Chráněného zeměpisného označení byla oficiálně zaznamenána v Úředním věstníku Evropské unie v únoru 2021 (Evropská komise 2021). Před tím byly již pojmy "Modrý mák" a "Bělosemenný mák" zaneseny do Českých cechovních norem. Konkrétně norma pro "Český modrý mák," předtím známý jako "Modrý mák" před zavedením Chráněného zeměpisného označení, je identifikována registračním číslem 2019-01-14-0415, zatímco norma pro "Bělosemenný mák" má registrační číslo 2021-10-07-0531. Máky s těmito označeními nesmí být podrobeny termostabilizaci, jak uvedla Potravinářská komora České republiky v roce 2022. Pro užívání označení "Český modrý mák" musí výrobce splňovat specifikace uvedené v nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1151/2012.

3.4 CHZO

Evropská unie uplatňuje tři systémy zeměpisných označení a tradičních specialit, z nichž jeden je Chráněné zeměpisné označení. Cílem těchto systémů je propagovat a chránit názvy kvalitních zemědělských produktů a potravin.



Normy pro tyto systémy vycházejí z právního rámce stanoveného nařízením Evropského parlamentu a Rady EU č. 1151/2012 ze dne 21. listopadu 2012, který reguluje systémy kvality pro zemědělské produkty a potraviny v rámci EU a mezinárodně. Úkolem tohoto nařízení je zajištění jednoznačné identifikace v obchodě pouze těch produktů, jež skutečně pocházejí z určeného regionu, a tím přispívá k ochraně dobrého jména regionálních potravin.

Chráněné zeměpisné označení (CHZO) označuje název určité oblasti, konkrétního místa nebo název celé země, (případ Českého modrého máku), přičemž slouží k popisu zemědělského produktu nebo potraviny. Tyto produkty mají specifickou kvalitu, dobrou pověst nebo jinou charakteristickou vlastnost přiřazenou jejich geografickému původu. Výroba, zpracování nebo příprava těchto produktů probíhá ve striktně vymezené geografické oblasti, což zaručuje, že získají unikátní vlastnosti spojené s jejich konkrétním geografickým původem. Chráněné zeměpisné označení hraje klíčovou roli v ochraně autentičnosti a kvality těchto produktů (Evropská komise 2018).

3.4.1 Kontrola užívání označení CHZO

Pro užívání označení je třeba dodržovat dané specifikace a podstupovat pravidelné kontroly příslušných orgánů. Pro produkty rostlinného původu plní kontrolu Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI). Kontrolou je ověřováno, zda producent nadále splňuje systém nastavený producentem/zpracovatelem a zajišťuje splnění požadavků specifikace CHZO Český modrý mák. Důležité parametry, které podléhají kontrole jsou zejména dodržení požadavků na osivo, pěstební oblasti, následné zacházení se sklizeným mákem a na sensorické, respektive analytické vlastnosti máku. Dále je prováděna kontrola vnitřních systémů provozovatele potravinářského podniku, které zajišťují, že nedochází k mísení máku s označením CHZO Český modrý mák s máky nesplňující specifikaci například technické odrůdy, či máky podrobené termostabilizaci (SZPI 2023).

3.5 Legislativa

Kromě kontroly užívání označení se u máku kontrolují i další specifické parametry. Jako opora pro kontrolu kvality slouží legislativní dokumenty, které se týkají pěstování máku a obchodování s ním. Následující body jsou věnovány legislativním dokumentům, které souvisí s mákem.

Zákon č. 167/1998 Sb.

Zákon o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů

Tento zákon udává ohlašovací povinnost osobám, které pěstují Mák setý na celkové ploše větší než 100 m². Tito pěstitelé jsou povinni podat hlášení příslušnému celnímu úřadu v písemné či elektronické podobě. Podobu ohlašovacího formuláře dále stanovuje Vyhláška č. 187/2022 Sb.

Vyhláška č. 187/2022 Sb.

Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 151/2005 Sb., kterou se stanoví vzory formulářů pro hlášení osob pěstujících mák setý nebo konopi a způsob vyplňování a nakládání s uvedenými formuláři

Vyhláška č. 172/2015 Sb.

Vyhláška o informační povinnosti příjemce potravin v místě určení

Vyhláška č. 399/2013 Sb.

Vyhláška, 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.

Součástí této vyhlášky je následující tabulka č. 1, ve které jsou uvedeny požadavky na kvalitu makových semen.

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

V tomto nařízení je mimo jiné uvedeno, že pokud vstupní surovina neodpovídá požadavkům o maximálním obsahu rizikových prvků, nelze jí dále používat při zpracování. Nesmí být mísená se surovinou, která požadavky splňuje.

3.5.1 Neshody mezi vyhláškou a nařízením

Nařízení EU platí pro celou Evropskou unii včetně České republiky. Pro Českou republiku pak existují vyhlášky, které jsou podřazené legislativě evropské. Tzn. pokud je limitní hodnota ve vyhlášce nižší než v nařízení EU, je to v pořádku. v rámci České republiky bude platit nižší limit, v ostatních zemích EU pak platí limitní hodnota stanovená nařízením.

Tabulka 1: Požadavky na jakost semen máku setého

Barva semen	modrá	nejvýše 0,2 % hmotnosti máku bílého	
	bílá nebo směs barev	nad 0,2 % hmotnosti máku bílého	
Vlhkost	1. jakost	nejvýše 8,0 % hmotnosti	
	2. jakost	nejvýše 10,0 % hmotnosti	
Semena nevybarvená tmavá až černá		nejvýše 5,0 % hmotnosti	
Příměsi a nečistoty celkem		nejvýše 8,0 % hmotnosti	
z toho:			
a)	semena nevyzrálá rezavé barvy	nejvýše 5,0 % hmotnosti	
b)	poškozená semena	nejvýše 3,0 % hmotnosti	
c)	nečistoty	celkem 1. jakost	nejvýše 0,2 % hmotnosti
		celkem 2. jakost	nejvýše 1,0 % hmotnosti
d)	semena blínu černého (<i>Hyoscyamus niger</i> L.)	nejvýše 0,00 % hmotnosti	
e)	semena laskavce a merlíku	nejvýše 0,2 % hmotnosti	
f)	anorganické nečistoty	nejvýše 0,0 % hmotnosti	
g)	obsah kadmia	nejvýše 0,8 mg/kg	
h)	obsah arsenu	nejvýše 0,1 mg/kg	
i)	obsah rtuti	nejvýše 0,012 mg/kg	
j)	obsah olova	nejvýše 1,0 mg/kg	
k)	obsah morfinových alkaloidů	nejvýše 25 mg/kg	

3.5.1.1 Kadmium

Nařízení Komise (EU) 2023/915 udává limitní hodnotu pro kadmium v semenech máku 1,2 mg/kg, kdežto vyhláška 399/2013 Sb. je o několik desetin přísnější (Ministerstvo zemědělství 2014). Máky na trhu v České republice nesmí obsahovat více než 0,8 mg kadmia na kg hmotnosti. Jinde v Evropské unii mohou být mák s obsahem kadmia do 1,2 mg/kg (Evropská komise 2023).

V případě, že bude situace opačná a limitní hodnota v nařízení EU bude nižší než hodnota v české vyhlášce, tak platí hodnoty stanovené v nadřazeném dokumentu.

3.5.1.2 Opiové alkaloidy

Maximální limit uvedený v Nařízení Komise (EU) 2023/915 se vztahuje na souhrnné množství morfinu a kodeinu, přičemž na množství kodeinu se použije faktor 0,2. Maximální limit se tak vztahuje na součet morfinu a 0,2 kodeinu. Maková semena celá nebo rozdrčená, která jsou uváděna na trh pro konečného spotřebitele nesmí obsahovat více než 20 mg opiových alkaloidů na kg hmotnosti (Ministerstvo zemědělství 2014; Evropská komise 2023).

3.5.1.3 Olovo

Konkrétní limit obsahu olova v máku najdeme ve vyhlášce č. 399/2013, viz tabulka 1. Obsah olova musí být nejvýše 1,0 mg/kg (Ministerstvo zemědělství 2014). v nařízení Komise (EU) 2023/915 je obecně určen maximální limit olova pro všechna semena 0,9 mg/kg (Evropská komise 2023). Mák patří do kategorie olejnatých semen, tudíž i zde je pozorovaná neshoda.

3.6 Organizace zajišťující bezpečnost potravin

Existují klíčové organizace a instituce, které mají významnou roli v procesu stanovování bezpečnostních norem a limitů pro kontaminanty v potravinách. Mezi tyto organizace patří Evropská agentura pro bezpečnost potravin (EFSA). EFSA je nezávislá agentura Evropské unie, která poskytuje vědecké rady a informace o bezpečnosti potravin. Hraje klíčovou roli při hodnocení rizik spojených s potravinami a formuluje doporučení pro stanovení limitů kontaminujících látek. Globální vliv na zdravotní politiku mnoha zemí včetně těch v EU má také Světová zdravotnická organizace (WHO), která stanovuje mezinárodní normy a směrnice týkající se bezpečnosti potravin včetně limitů pro kontaminanty.

Na úrovni jednotlivých států jsou zřizovány kontrolní a monitorovací organizace, specializované na sledování, dodržování stanovených limitů a provádění pravidelných inspekcí potravinářských podniků. Pro Českou republiku takto funguje Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI) (WHO. 2011; Evropská komise. 2018; SZPI. 2023)

Na základě stanovisek těchto institucí byly vybrány některé prvky, které mohou být potenciálně nebezpečné pro lidské zdraví a jejich výskyt v máku je pravděpodobný. Některé jsou již zohledněny v legislativě, například kadmium (Evropská komise 2023). Pro obsah niklu v potravinách nejsou stanoveny maximální limity.

3.7 Nikl

Nikl je stříbrno-bílý kov s typickými kovovými vlastnostmi a má atomové číslo 28 a atomovou hmotnost 58,71. Má pět přirozeně se vyskytujících stabilních izotopů. v tabulce 1 je uveden s příslušnými atomovými hmotnostmi (Holden 2018).

Tabulka 2: Izotopy niklu a jejich příslušné atomové hmotnosti (Holden 2018).

Izotop	Relativní atomová hmotnost	molární zastoupení %
⁵⁸ Ni	57,935342	68,08
⁶⁰ Ni	59,930785	26,22
⁶¹ Ni	60,931055	1,14
⁶² Ni	61,928345	3,63
⁶⁴ Ni	63,927966	0,93

Tento kov se přirozeně vyskytuje v zemské kůře. s niklem se můžeme setkat v přírodě, buď ve formě nerozpustných částí nebo ve vodě rozpustných sloučeninách. Nerozpustné částice jsou součástí prachu a výparů, jsou jimi například sulfidy niklu (NiS, Ni₃S₂), oxidy a silikáty. Ve vodě rozpustné sloučeniny niklu jsou zpravidla soli silných kyselin, například octan nikelnatý (Ni(CH₃COO)₂), chlorid nikelnatý (NiCl₂) a síran nikelnatý (NiSO₄) (Patriarca 1997; Hooda 2010).

Nikl a sloučeniny niklu se do životního prostředí dostávají z kovoprůmyslu, výroby pigmentů, koželužnictví a jejich odpadních vod a v neposlední řadě také hnojivy (Hooda 2010). Nikl se používá na výrobu nerezové oceli a různých niklových slitin a materiálů. Předměty, které obsahují nikl jsou například mince, elektrická zařízení či pracovní náčiní. Pokrok a industrializace vedla ke zvýšeným únikům niklu do vzduchu a vodního i půdního prostředí (Albanese et al. 2015). v okolí těžby může obsah niklu ve vzduchu dosáhnout až 150 ng Ni/m³ (Barceloux & Barceloux 1999). Pokud se přirozená koncentrace niklu v prostředí zvýší, může být toxický pro řadu živých organismů včetně člověka (EFSA CONTAM Panel 2020; Cempel & Nikel 2006; Scott-Fordsmand 1997).

3.7.1 Nikl v půdě a jeho mobilita

Nikl v půdě může mít dvojí původ přirozený nebo antropogenní. Z obou zdrojů se pak může dostat do podzemních i povrchových vod. v závislosti na matečné hornině se liší koncentrace niklu v půdě (El-Naggar et al. 2021). Přítomnost niklu v povrchových půdách je také ovlivněna půdotvornými procesy i znečištěním. Na základě těchto faktorů se koncentrace značně liší a pohybuje se v širokém rozmezí 3-1000 ppm (Begum et al. 2022; Poznanović Spahić 2019).

Ale byla naměřena i extrémní hodnota 7000 ppm, kde byl matečnou horninou serpentín (McGrath 1995). v České republice byly v lokalitě Nové Dvory a Holubov naměřeny koncentrace od 500 do 2500 ppm, jako matečná hornina dominoval serpentín (Quantin et al. 2008).

Mobilita potenciálně toxických prvků v půdě kontaminované přirozeně bývá nižší kvůli jejich výskytu v pevné fázi, oproti těm, které se do půdy dostaly antropogenní činností, které jsou častěji v roztoku (El-Naggar et al. 2021). Ve studii Quantin et al. (2008) bylo zjištěno, že nikl naměřený v lokalitě Nové dvory byl mobilizován především z olivínů a malých sulfidových inkluzí Fe-Ni, tedy jeho původ je přirozený. v této studii byl nikl označen jako podstatně mobilní (v porovnání s mobilitou chromu), přičemž je ovlivňován sorpcí na oxidy manganu a železa. Biodostupnost pro rostliny je odhadována až na 10 %.

Afinita niklu se projevuje ke kovovému železu a síře, vznikají tak v půdním prostředí minerály jako například pentlandit nebo millerit. Dále zvětráváním takovýchto minerálů dochází k mobilizaci Ni a díky tomu se stává rozpustným v půdním roztoku a může tak být transportován půdním profilem (Hooda 2010; Albanese et al. 2015; El-Naggar et al. 2021).

Nejdůležitější faktor, který ovlivňuje chování niklu v půdě je pH. Mobilita Ni v půdě roste se snižujícím se pH (Hooda 2010).

3.7.2 Nikl ve vodě

V klasické nekontaminované pitné vodě se obsah niklu pohybuje v řádu desetin až několika jednotek $\mu\text{g/l}$ (Cempel & Nickel 2006). Vyhláška č. 83/2014 Sb. udává nejvyšší mezní hodnotu niklu v pitné vodě 20 $\mu\text{g/l}$.

Povrchová i podzemní voda obsahuje aktivní koncentrace niklu v závislosti na faktorech, jako je typ půdy, hloubka vzorkování, pH, antropogenní znečištění atd. Povrchová voda se může kontaminovat rozpouštěním primárního podloží dešťovou vodou. Kyselé deště podporují mobilitu niklu, a tím zvyšují kontaminaci podzemních vod (Begum et al. 2022).

3.7.3 Nikl v potravinách

Narůstající obavy z toxicity niklu vedly ke sledování jeho obsahu v širokém množství potravin. Kontaminace niklem byla hlášena u mnoha skupin potravin. Luštěniny, olejnatá semena a čokoláda jsou na předních příčkách co se týká kontaminace niklem (Babaahmadifooladi et al. 2020). v suchých semenech luštěnin byl stanoven obsah niklu 3,1 mg/kg (EFSA 2010). Kromě

rostlinných zdrojů je možné nikl najít i v živočišných produktech jako jsou mořské plody, ryby, vnitřnosti, med (Babaahmadifooladi et al. 2020).

3.7.4 Esencialista

Pro rostliny je nikl důležitým mikroprvkem, to znamená, že v malých množstvích je důležitý pro růst a vývoj (Hooda 2010). Je nezbytný pro klíčení semen a vstřebávání železa v rostlině. Zabraňuje také rozvoji chorob a zvyšuje odolnost rostlin a tím zvyšuje výnosy (Begum et al. 2022).

3.7.4.1 Kumulace v rostlinách

Nikl je aktivně přenášen do rostlinných buněk a jeho distribuce se liší mezi různými druhy rostlin. Vysoká pohyblivost niklu ve floému umožňuje jeho přesun a hromadění v listech, plodech a semenech (Sharma 2006). Některé druhy rostlin, jež mají velkou schopnost akumulace, dokážou tolerovat ve tkáních obsah niklu až 10 000krát vyšší než ostatní rostliny (Phipps et al. 2002). Běžně jsou koncentrace Ni v rostlinách v rozpětí 0,1–5 mg/kg, pokud rostou na nekontaminovaných půdách, které neobsahují serpentín (McGrath 1995).

Od sedmdesátých let minulého století je nikl diskutován jako potenciálně esenciální pro zvířata i člověka. Například pokusy na krysách, které byly vystaveny deficitu niklu, ukázaly, že je pro ně nikl esenciálním prvkem. Při nedostatku niklu se u myši projeví známky zpomaleného růstu, nízké koncentrace hemoglobinu a narušení metabolismu glukózy (Institute of Medicine 2001).

Nedostatek niklu může také způsobit obtíže se vstřebáváním železa a snížené koncentrace železa, mědi a zinku v těle. v játrech zvířat, které trpěly nedostatkem niklu, byly také zjištěny nižší koncentrace železa, mědi a zinku. Nedostatek niklu může vést k abnormálním změnám v buňkách, poruchám metabolismu a problémům s krevním oběhem a glukózovým metabolismem (Kumar & Trivedi 2016). Jsou uváděny dokonce doporučené denní dávky niklu pro všechny věkové kategorie, pro dospělého je to průměrně 500 µg na den (Kumar & Trivedi 2016). Jeho podstatnost pro lidské zdraví je však stále neprokázaná, místo toho může jeho nadměrné vystavení lidskému organismu způsobit vážné a akutní nepříznivé účinky na zdraví (Begum et al. 2022). Dále bylo zjištěno, že expozice niklu vyšších organismů může způsobit vážné problémy, jako je vyšší úmrtnost u novorozenečných jedinců, změny v chování a zpomalený

růst. Například akutní LD₅₀ síranu nikelnatého je pro krysy 46 mg/kg živé hmotnosti (Begum et al. 2022).

3.7.5 Toxicita

Co se týká toxicity Ni pro rostliny, nadměrné koncentrace mohou ve vyšších rostlinách snížit fotosyntézu a způsobit chlorózu (Begum et al. 2022). Toxicita niklu pro člověka, silně závisí na formě vstupu Ni do organismu a jeho podobě a délce trvání expozice. Podle cesty expozice rozlišujeme dopad na systémovou biologii, imunologii, neurologii, reprodukci, vývoj a karcinogenitu. Toxicita může být akutní (0-1 den), subchronická (10-100 dní) a chronická (>100 dní) (Das et al. 2019). K hlavním cestám expozice niklu u lidí se řadí inhalace, požití a dermální kontakt. Podle Schaumlöffel (2012) jsou hlavní cestou expozice Ni v běžné populaci potraviny, kdy přijme asi 100–300 µg niklu denně.

Vnímání rizika toxicity se liší zatímco EFSA CONTAM Panel (2020) vydává stanovisko o případném nebezpečí niklu přijímaného jídlem a vodou, tedy orální cestou, Zaho et al. (2009) nevnímá příjem niklu potravou a vodou jako problém.

3.7.5.1 Karcinogenita

Poprvé se karcinogenita potvrdila pro nerozpustné sloučeniny (sulfidy, oxidy) niklu inhalované ve formě aerosolu u dělníků těžících nikl a pracujících v hutích a rafinériích (Begum et al. 2022). U sloučenin niklu rozpustných ve vodě (síran, octan, chlorid) epidemiologické studie také poukazují na karcinogenitu *in vivo*, je ale podstatně nižší než u nerozpustných částic, které způsobují rakovinu dýchacích cest a plic (Kasprzak et al. 2003). Nejsou známy žádné epidemiologické důkazy o možném riziku vzniku rakoviny při obecné expozici v životním prostředí nebo příjmem z potravy (Zambelli & Ciurli 2013). EFSA CONTAM Panel (2020) také potvrzuje, že vznik karcinomu z niklu přijímaného potravou je nepravděpodobný. Podstatně jako větší riziko v tomto případě také vidí vliv niklu inhalovaného.

3.7.5.2 Alergie

Dalším důsledkem expozice niklem je možnost vyvolání imunitní reakce, například alergickou kontaktní dermatitidu. Tento alergen vzniká působením Ni²⁺ iontů, které se uvolňují ze slitin kovů díky potu a jiným tělním tekutinám a působí na pokožku. Tomuto riziku nejsou vystaveni pouze pracovníci v metalurgickém průmyslu, ale i lidé kteří přicházejí do kontaktu s kovovými předměty obsahujícími nikl, ať už jsou to mince, šperky, elektronika či zubní nebo ortopedické

implantáty (Schmidt & Goebeler 2011). Přestože se alergická kontaktní dermatitida nejčastěji projevuje po expozici z pracovního prostředí, nelze vyloučit riziko vzniku alergické reakce i jinými formami expozice. U lidí senzitivních na nikl je možný projev systémové kontaktní dermatitidy i po požití potravin obsahující nikl. Systémová kontaktní dermatitida se projevuje ekzémy, vyrážkou spolu se systémovými příznaky jako je bolest hlavy, malátnost, průjem, horečka a artralgie (Thyssen & Menné 2010; Yoshihisa & Shimizu 2012)

3.7.5.3 Neurotoxikita

Některé studie naznačují, že nikl může narušit neurobehaviorální funkce u potkanů a myši, které jsou indikovány zhoršenou výkonností prostorové paměti a mají účinky na motorickou aktivitu. Neurodegenerace byla také pozorována u dospělých potkanů (He et al. 2013; Kahloula et al. 2014; Ijomone et al. 2018).

Hladina niklu v séru a moči je nejužitečnější biomarker expozice niklu. Některé studie také ukázaly, že vlasy by mohly být použity jako neinvazivní biomarkery vystavení niklu. Nicméně, podle EFSA CONTAM Panel (2020) nebyly zjištěny žádné signifikantní souvislosti mezi niklem v moči a neurobehaviorálními parametry.

3.7.5.4 Toxické působení na reprodukci

Důkazy o vlivu niklu na kvalitu spermií, histologii varlat a mužskou plodnost pokusy na myších prokázaly. U potkanů byla popisována testikulární degenerace, ale nebyly uvedeny žádné informace o výskytu a závažnosti. Citlivost na tyto efekty se zdá být vyšší u myši než u krys (EFSA CONTAM Panel 2020).

Na základě dostupných studií posuzovaných EFSA CONTAM Panelem (2020) byla zvýšena tolerovatelná denní dávka niklu (TDI) z původních 2,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ na 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tělesné hmotnosti. Stalo se tak díky aktualizaci pokynů pro určování referenční dávky, které vedly k přesnějším závěrům. Odborníci dospěli k závěru, že chronická expozice niklem ze stravy je riziková zejména pro novorozené, kojence a děti.

3.8 Kadmium

Kadmium je prvek bíle-stříbrné barvy řazený mezi kovy. v periodické tabulce je řazen mezi přechodné kovy, jeho protonové číslo je 48 a relativní atomová hmotnost 112,41. Svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi je podobné zinku. Přírodní kadmium je složeno z celkem

osmi stabilních izotopů. Existuje v oxidačních stavem +I a +II, v přírodě je téměř výhradně v oxidačním stavu +II (Cullen & Maldonado 2012).

Prvek je získáván jako vedlejší produkt při rafinaci zinku. Díky jeho vlastnostem jako měkkost a lehká tavitelnost je používán jako součást slitin nebo jako povrchová ochrana jiných kovů před korozi. Kadmium můžeme najít společně s niklem jako součást baterií. s ohledem na jeho toxicitu je dnes jeho praktické použití omezeno a hledají se způsoby, jak tento kov recyklovat z již hotových výrobků, a také ho nahrazovat jinými kovy (U.S. Geological Survey 2024).

Do životního prostředí se kadmium dostává především kvůli antropogenní činnosti, například používáním průmyslových hnojiv, energetickým průmyslem, odpadními vodami, těžbou, průmyslem zpracovávajícím kovy, výrobou barviv a dalšími činnostmi (Jadaa & Mohammed 2023).

3.8.1 Kadmium v půdě

Kadmium (Cd) na rozdíl od niklu nemá v půdě žádný benefit pro rostliny (Fuller et al. 2022). Cd je známý svou vysokou toxicitou a velkou mobilitou v životním prostředí. Díky podobnému iontovému poloměru, stejnému náboji a podobnému chemickému chování může nahradit dvojmočné kationty, jako je vápník, železo, zinek a kobalt v minerálech (McLaughlin 2020). Koncentraci Cd v Evropě mapoval Birke et al. (2017), po odběru vzorů z 33 zemí v Evropě a analýze pomocí ICP-MS udává medián koncentrace Cd 0,182 mg/kg v zemědělské půdě. v nekontaminovaných půdách na celém světě je průměrné množství Cd 0,36 mg/kg, hodnoty se mohou lišit napříč kontinenty, zeměmi a typy půd. Například průměrné koncentrace jsou: 0,27 mg/kg v USA (N = 3045), 0,01 mg/kg v Austrálii, 0,18 mg/kg v Brazílii, 0,3 mg/kg v Japonsku, 0,2 mg/kg v Evropě. v Evropě byly zjištěny koncentrace Cd 0,3 až –1 mg/kg. Obecně je půda považovaná za kontaminovanou při koncentraci 3 mg/kg (Kubier et al. 2019). Koncentrace Cd v půdě úzce souvisí s matečnou horninou stejně jako s průmyslovou a zemědělskou činností (Six & Smolders 2014).

Studie Pavlíkové et al. (2007) se zabývala vlivem množství Cd v půdě na jeho akumulaci v rostlině. Mák byl pěstován na dvou odlišných typech půdy s rozdílnou celkovou kontaminací kadmium (luzizem 0,18 mg Cd/kg půdy; černozem 17,56 mg Cd/kg půdy). Obsah Cd v semenech máku pěstovaného na luzizemi byl 0,439 mg/kg, což je přibližně dvakrát vyšší hodnota než obsah Cd v půdě. Ve stonku, listech a tobolech rostliny bylo 0,249 mg Cd/kg.

Naproti tomu obsah Cd v semenech máku pěstovaného na vysoce kontaminované černozemi byl okolo 4 mg/kg a ve stonku, listech a tobolce rostliny to bylo 3,751 mg/kg. Se zvyšující se kontaminací půdy roste i množství akumulovaného kadmia v rostlině a v semenech. Výsledky ukázaly vyšší akumulaci Cd v semenech než v tobolkách a stoncích s listy. Clemens & Ma (2016) také zmiňují, že se kadmium ukládá v celých rostlinách, a hlavně v semenech

3.8.2 Toxicita

Každodenně jsme vystavováni různým toxickým látkám a jednou z těchto látek je kadmium (Clemens & Ma 2016). Kadmium se váže na drobné částice ve vzduchu a následně se může dostat do vody nebo půdy, což způsobuje kontaminaci potravin, jako jsou rostliny a zvířata. Jeho schopnost hromadit se v lidském těle vede k akutním i chronickým intoxikacím, což může mít závažné důsledky pro naše zdraví. Studie prokázaly, že expozice kadmiem může způsobit širokou škálu zdravotních problémů. Mezi tyto problémy patří trávicí potíže, jako je průjem a bolesti žaludku, a také vážnější komplikace, reprodukční potíže a neplodnost (McLaughlin 2020). Kadmium také negativně ovlivňuje centrální nervový systém a imunitní systém, což může vést k psychickým poruchám a dalším neurologickým problémům. Toxicita kadmia byla rozsáhle studována, a to včetně jeho účinků na různé orgány v těle (Jadaa & Mohammed 2023; Edem et al. 2024).

Toxicita kadmia je spojena s několika klíčovými mechanismy, které zahrnují ovlivnění buněčné proliferace, diferenciaci a apoptózy, tvorbu reaktivních forem kyslíku (ROS) a inhibici antioxidantních enzymů. Kadmium také interaguje s mitochondriemi, což může narušit buněčné dýchání a oxidativní fosforylaci. Mění hladiny vápníku v buňkách a může měnit aktivity klíčových buněčných procesů, jako jsou kaspázy a dusíkem aktivované proteinkinázy. Celkově mohou tyto mechanismy vést k poškození DNA, oxidativnímu stresu, a nakonec až k apoptóze buněk, což přispívá k různým negativním účinkům na zdraví včetně orgánové toxicity a karcinogenity (Rahimzadeh et al. 2017).

Vstřebávání kadmia přijatého potravou probíhá v gastrointestinálním traktu (GIT). Jeho rozpustnost a absorpce jsou ovlivněny žaludečním a/nebo střevním pH. Ve skutečnosti kadmium reaguje s HCl za tvorby chloridu kademnatého. Může také vyvolat zánět GIT (Waisberg et al. 2005).

3.8.2.1 Nefrotoxicita

Nejvíce kadmia se hromadí v ledvinách, dále pak v játrech, ale i jiných tkáních, například kostech a placentě. Při expozici Cd je snižena rychlost glomerulární filtrace a snižena rezervní filtrační kapacita, což může vyvolat nefrotoxicitu s komplikacemi, jako jsou; glukosurie, aminoacidurie, hyperfosfaturie, hyperkalciurie, polyurie a snižená pufrací kapacita (Gonick 2008). Porušení buněk proximálních tubulů a ztráta jejich funkční integrity vede k zvýšeným ztrátám vápníku, aminokyselin, enzymů a zvýšení bílkovin v moči (Bernard 2004).

3.8.2.2 Reprodukční toxicita

Potenciál kadmia narušovat reprodukční systém potvrzují studie (Thompson et al. 2008; Pizent et al. 2012; Chandel et al. 2014). Cd snižuje hustotu, objem a počet spermií a zvyšuje tvorbu nezralých spermií. Tyto problémy souvisí s poruchou spermatogeneze, kvalitou spermií a sekrečních funkcí přídatných žláz. Dále snižuje libido, plodnost a hladinu testosteronu v séru. U žen způsobuje poruchu funkce vaječnicků a vývoj oocytů. Kvůli nadměrné expozici kadmiem roste míra spontánních potratů a snižuje se počet živě narozených dětí (Thompson et al. 2008; Pizent et al. 2012; Chandel et al. 2014).

3.8.2.3 Karcinogenita

Expozice Cd je spojena se zvýšeným rizikem rakoviny štítné žlázy, rakoviny prostaty, rakoviny prsu, rakoviny močového měchýře a rakoviny plic. Mezi buněčné účinky Cd řadíme ovlivnění buněčné proliferace, apoptózy a metabolismu. Dále může ovlivnit všechny fáze karcinogenního procesu, včetně tvorby, progresu, metastáz a odpovědi na léčbu. Studie odhalily některé mechanismy karcinogeneze indukované Cd, včetně indukce oxidačního stresu, inhibovaného mechanismu opravy DNA, aberantní genové exprese a poruchy klíčových signálních drah zapojených do rakoviny (Luevano & Damodaran 2014; Zhao 2022)

3.8.3 Doporučení a limity

Hladiny kadmia lze měřit ve vzorcích krve, moči, vlasů, nehtů a slin. Jeho biologický poločas rozpadu je dlouhý 10 až 30 let (Rahimzadeh et al. 2017). Kromě obecně snížení emisí kadmia do životního prostředí radí WHO (2019) spotřebitelům omývat ovoce a zeleninu, zejména kořenovou, aby se snížila expozice kadmiem z potravin.

Společný výbor pro potravinové přísady (JECFA), Organizace pro výživu a zemědělství, (FAO) a Světové zdravotnické organizace (WHO) stanovili provizorní tolerovatelný měsíční

příjem kadmia na 25 µg/kg tělesné hmotnosti (WHO 2011). Naproti tomu EFSA (2012) ve svém vědeckém reportu nastavuje tolerovatelný týdenní příjem kadmia pouze na 2,5 µg/kg tělesné hmotnosti, aby byla zajištěna dostatečná ochrana konzumentů.

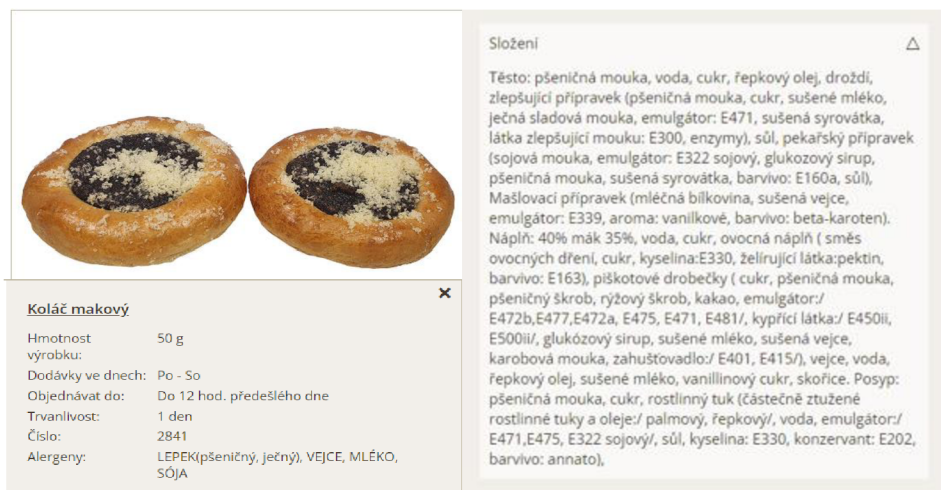
Vysoké hladiny kadmia byly zjištěny v různých produktech na bázi kakaa, korýších, požitelných orgánech, houbách, olejnatých semenech, mořských řasách a vodních měkkýších (EFSA 2012). Mezi výše zmíněná olejnatá semena se řadí také mák, který je v Čechách velice populární komoditou.

3.9 Modelový příklad konzumenta máku

Průměrná spotřeba máku v České republice, která se podle dat z Českého statistického úřadu pohybuje od 0,3 do 0,5 kg máku na osobu ročně (ČSÚ 2023), nám nemůže říci kolik máku zkonsumuje každý jeden člověk. Může se tak stát, že jsou lidi, kteří mák nekonsumují vůbec, ať už z důvodu, že jim nechutná nebo protože je drahý či z jiného důvodu. Zároveň se ale také můžeme setkat s jedlíky, kteří právě tento republikový průměr zvyšují a teoreticky mohou sníst máku i 10x více. Makové koláče jsou v Čechách velmi populární.

3.9.1 Makový koláč

Stejně jako je každý recept na koláče a makovou náplň jiný, tak každá pekárna bude mít složení makového koláče jiné. v pekárně BENE A s.r.o. (2021) dělají například koláč (50 g), který má 40 % náplně, to je 20 g z celého výrobku. Složení koláče je na obrázku č. 2. Pro velké pekárny je také typické použití makových náplní, které obsahují kolem 35 % máku a jsou nastaveny strouhankou, piškoty, povidly apod. v takovém koláči je tedy přibližně 7 g máku. Pro zjednodušení v dalších výpočtech si toto číslo zaokrouhleme na 10 g.



Obrázek 1: Složení makového koláče pekárny BENE A (BENE A s.r.o. 2021)

Není ale výjimkou, že v domácích poctivých koláčích, kde není třeba šetřit na surovinách, lze najít máku v náplni i dvakrát více. Mohlo by se stát, že dojde kvůli nadprůměrné konzumaci máku k překročení stanovených limitů, kdy je ještě konzumace bezpečná?

Představme si milovníka máku jako průměrného člověka vážícího kolem 70 kg. Jeho tolerovaný týdenní příjem Cd odpovídá 175 µg. Po cestě do práce se vždy zastaví v malé řemeslné pekárně pro svačinu. Miluje mák, a proto si každý den koupí dva makové koláče a v práci je sní. v takovém koláči je přibližně 10 g máku, takže náš muž za týden zkonsumuje 100 g máku (do práce jezdí pět dní v týdnu). Pro další výpočet budou použity zjištěné hodnoty z praktické části. Tato práce ale není jediný průzkum obsahu rizikových prvků v máku na českém trhu.

Nezávislý test máků na českém trhu provedla organizace dTest v roce 2021. Byly testovány všechny parametry, které jsou regulovány legislativou. Mezi nimi i těžké kovy jako arsen, kadmium a olovo. Tabulky 6 a 7 shrnují výsledky tohoto testu (dTest 2021).

Tabulka 3: mletý mák a jeho obsah těžkých kovů

Mletý mák	obsah těžkých kovů v mg/kg			země původu
	As	Cd	Pb	
Lidl/Belbake Blue Poppy seeds ground	0	0,66	0	neuvedeno
Penny/Karlova Koruna Mák český mletý	0	0,93	0,053	ČR
Natura Mák modrý mletý	0	0,37	0	ČR
K-servis Mák mletý	0	0,14	0	ČR
Semix Mák mletý	0	0,11	0,057	neuvedeno
Globus Mák mletý 100%	0	0,5	0,18	ČR
Albert Mák mletý	0	0,74	0,069	neuvedeno
Ar. Rashid Mák mletý	0,084	0,35	0,17	ČR
BeachFlower BackMit Mák mletý	0	0,71	0,06	ČR
Dr. Ensa Mák mletý	0	0,2	0	ČR

Tabulka 4: celý mák a jeho obsah těžkých kovů

Celý mák	obsah těžkých kovů v mg/kg			země původu
	As	Cd	Pb	
IBK Trade Mák modrý	0	0,33	0	ČR
Albert Mák modrý	0	1,2	0	ČR
Ar. Rashid Mák modrý	0,21	0,58	0,46	ČR
Tesco Blue Poppy Seeds	0	0,36	0	ČR
bio nebo mák modrý	0	0,42	0	ČR
Country Life Mák modrý Bio	0	0,093	0,21	Turecko
Allnature Mák modrý Bio	0	0,07	0	Turecko
Dr. Ensa Mák modrý	0	0,51	0,089	neuveдено

3.10 Metody stanovení prvků v máku

Zpracovatelé máku mají zodpovědnost za kvalitu máku, který uvádějí na trh. Proto máky, které zpracovávají, posílají na pravidelné rozборы, aby si mohli být jisti, že na trh uvádí zdravotně nezávadnou potravinu. Pokud se jedná o zjištění prvkového složení, využívají často externí akreditované laboratoře. Možné analytické metody:

AAS (Atomic Absorption Spectroscopy): Tato metoda měří absorpci světla při přechodu atomů specifických prvků do excitovaných stavů. Je vhodná pro stanovení koncentrace kovů v biologických materiálech.

ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry): ICP-MS je citlivá metoda pro stanovení stopových prvků. Vzorek je ionizován v plazmatu a následně analyzován na základě hmotnosti a náboji iontů.

ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy): ICP-OES je další metoda pro stanovení koncentrace prvků. Vzorek je excitován v plazmatu, a následně se měří emise světla při přechodu atomů do základního stavu (ALS Czech Republic 2013).

Možnou alternativou může být použití XRF (X-Ray Fluorescence). XRF se používá kromě kovových materiálů i pro biologické materiály. Tato metoda analyzuje vzorky na základě fluorescenčních emisí charakteristických fotonů od různých prvků po interakci s rentgenovým zářením. Byers et al. (2019) demonstruje optimalizaci kalibračních rutin pro kvantifikaci olova v zelenině s použitím XRF, a také naznačuje možnosti pro rozšíření této techniky na další těžké kovy, jako je kadmium. Specificky, bylo dosaženo limitů detekce 0,3 µg/g pro Pb v sušené zelenině pomocí metody wavelength dispersive X-ray fluorescence (WD-XRF).

3.11 ICP-OES

3.11.1 Princip metody

Optická emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem je analytická technika používaná v oblasti chemie, která se vyznačuje vysokou citlivostí s možností detekovat stopové množství široké škály prvků v různých vzorcích. Vzorek, který pro tuto analýzu musí být mineralizován a v kapalném stavu, je poté zmlžěn a pomocí nosného plynu argonu veden do vytvořeného plazmatu. Plazma je tvořeno ionizovanými atomy plynu argonu a dosahuje teploty až deset tisíc stupňů Celsia. Díky vysoké energii plazmatu dojde k excitaci elektronů v atomech přítomných ve vzorku do vyšších energetických hladin. Excitovaný stav atomu není stabilní, a proto se vybuzené elektrony vrazí zpět na své původní energetické hladiny. Přebytečná energie je následně vyzářena ve formě světla o vlnové délce, která je určena energetickým rozdílem obou hladin. Emitované světlo je pak polychromátorem rozděleno podle vlnových délek a fotony rozděleného světla dopadají na detektor, který převádí intenzitu dopadajícího záření na elektrický signál. Intenzita elektrického signálu odpovídá množství prvků, přítomného v analyzovaném vzorku (Thompson & Walsh 1989; Ohls & Bogdain 2016).

3.11.2 Použití

Tato analytická technika, slouží k určení složení prvků v různých materiálech. Využívá se v několika klíčových oblastech jako je například environmentální analýza. Umožňuje stanovit koncentrace prvků v půdě, vodě, vzduchu a dalších životních prostředích. Je to důležité pro monitorování znečištění a ochranu životního prostředí. Dále se používá pro potravinářské analýzy, které s pomocí metody ICP-OES určují stopové prvky v potravinách, jako jsou minerální látky (např. železo, vápník, zinek) nebo toxické kovy (např. olovo, kadmium). Podobně jako farmaceutický průmysl, který díky tomu může sledovat přítomnost a koncentrace prvků v léčivech a farmaceutických produktech. Zároveň geologický výzkum ICP-OES používá k analýze hornin, minerálů a půdy, což pomáhá geologům a vědcům pochopit geologické procesy a nalézt nerostné suroviny. a v neposlední řadě funguje také jako průmyslová kontrola, kde se ICP-OES používá k monitorování kvality surovin, výrobků a procesů (Skoog et al. 2005).

3.11.3 Výhody

Mezi výhody této metody patří citlivost. Její lineární rozsah kalibrace je i několik řádů. Další výhodou je rychlost, měření netrvá déle než několik sekund. Současně lze měřit více prvků najednou, což je další parametr, který při analýze šetří čas.

3.11.4 Omezení

Největším omezením je časově náročná příprava vzorků, které musí být v roztoku. Stanovení rtuti na tomto přístroji není možné. Dalším omezením jsou interference, které mohou ovlivňovat přesnost a spolehlivost výsledků. Interference mohou být fyzikálního charakteru, kdy fyzikální faktory, jako je rozdílná teplota vzorku a plazmatu, mohou ovlivnit výsledky. Například příliš vysoká teplota vzorku může způsobit odpaření nebo změny v chemických vlastnostech. Další typ interferencí jsou chemické interference. Rozdílná reakce vzorku a kalibračního standardu v plazmatu, může ovlivnit ionizaci. Interference mohou vést k nepřesným výsledkům. Přidání ionizačního bufferu vede k minimalizaci chemických interferencí (Kutscher 2021).

Spektrální interference jsou nejvíce problematické. Při ICP-OES dochází k excitaci elektronů atomů vzorku do vyšších energetických hladin. Tyto excitované atomy se následně vrací na své původní energetické hladiny a emitují světlo o přesně definované vlnové délce. Pokud se ve spektru nachází jiný prvek s podobnou vlnovou délkou emise, může dojít k překryvu signálů a zkreslení výsledků. Řešením může být použití monochromátoru k rozdělení světelného záření podle vlnových délek a eliminace interferujících signálů (Kutscher 2021).

4 Materiál a metody

Pro experimentální část byla použita semena různých odrůd máku setého (*Papaver somniferum*) od anonymního dárce. Pro určení obsahu těžkých kovů (Cd, Ni) v semenech máku byla použita optická emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem. Pro stanovení bylo nutné semena máku rozložit. Metoda rozkladu makových semen vycházela z metodiky Rondevaldové et al. (2023), byly ale provedeny úpravy při rozkladu semen. Kvůli jejich vysokému obsahu tuku byl prodloužen čas rozkladu a zvýšena teplota, při které k rozkladu docházelo. Všechny vzorky byly připravovány ve třech opakováních se třemi slepými vzorky. Při rozkladu bylo nutné připravit vzorky ve dvou šaržích z důvodu velkého počtu vzorků a omezeného počtu teflonových nádob, v obou případech byla dodržena stejná metodika.

4.1 Maková semena

V souboru 13 vzorků se nacházely máky z Čech i zahraničí. Původ konkrétních vzorků nebyl v průběhu experimentu znám. K dispozici byla pouze informace že se v souboru vzorků nachází minimálně 4 vzorky ze zahraničí (Srbsko, Maďarsko, Chorvatsko, Čína). Maková semena pocházejí z kombajnové sklizně a byla čištěna na standardních průmyslových čističkách, jejichž odběr byl proveden školeným pracovníkem laboratoře.

4.1.1 Úprava vzorku

Bylo provedeno pomletí přibližně 10 g z každého vzorku s použitím nerezového sekáčku (Mlýnek analytický IKA A11 M20 značky VERKON je na obrázku č. 3) vyrobeného z karbidu kovu (86 % wolfram 14 % kobalt). Doba mletí každého vzorku byla 30 s. Stupeň namletí máku byl stanoven jako při kulinárním zpracování. Z homogenizovaného reprezentativního vzorku byl vždy odebrán analytický vzorek.



Obrázek 2: Mlýnek použitý pro mletí makových semen

4.1.2 Rozklad máku a filtrace

Teflonové nádoby byly přes noc naloženy v 10% roztoku HNO_3 . Před použitím byly opláchnuty deionizovanou vodou (vodivost $18,2 \text{ M}\Omega$) a vysušeny v horké peci při $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Po vychladnutí bylo do teflonových nádob (Savillex, USA) naváženo $0,5 \pm 0,005 \text{ g}$ homogenizovaného analytického vzorku. Proces byl opakován u každého vzorku třikrát. Ke vzorku bylo přidáno 10 ml 65% HNO_3 (Lach-Ner, Neratovice, Czechia) pomocí automatického dávkovače. Kompletně zavřené teflonové nádoby (Savillex, Eden Prairie, Minnesota, USA) byly položeny na horkou desku (na obrázku č. 4) při teplotě $100 \text{ }^\circ\text{C}$ (výkon 50 W) a ponechány přes noc reagovat (19 hodin).



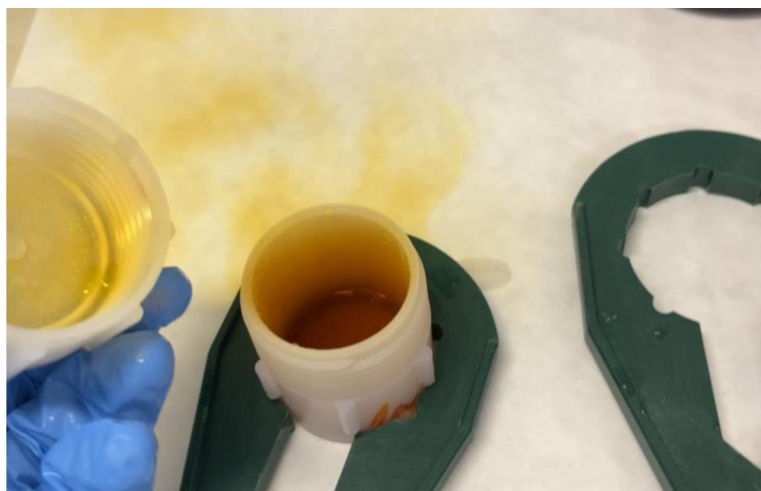
Obrázek 3: šarže č. 1 mineralizace

Ráno byla zvýšena teplota na 160 °C (100 W) po dobu 2 hodin. Po uplynutí požadované doby zahřívání byla horká deska vypnuta a teflonové nádoby na ní ponechány do zchladnutí. Po zchladnutí byla provedena kontrola, zda je vzorek kompletně rozložen. Čas rozkladu byl dostatečně dlouhý na úplný rozklad máku. Na obrázku č. 5 není vidět žádný sediment na dně teflonové nádoby.



Obrázek 4: Kompletně rozložený vzorek v kyselině

Rozklad biologického materiálu doprovází únik barevného plynu a charakteristický zápach. Otevírání teflonových nádob proto musí probíhat uvnitř digestoře. Pro snadnější uzavírání a otevírání teflonových nádob byly použity zelené klíče, jsou k vidění na obrázku č. 6. Obsah teflonové nádoby byl kvantitativně převeden do 50ml odměrné baňky. Deionizovanou vodou o vodivosti 18,2 M Ω bylo nejprve opláchnuto víčko, jehož obsah byl spláchnut do



Obrázek 5: Únik plynu po otevření teflonové nádoby

teflonové nádoby. Následně byl obsah teflonové nádoby převeden pomocí malé nálevky do odměrné baňky. Zbytky obsahu teflonové nádoby byly též vypláchnuty a převedeny do odměrné baňky. Poté byla opláchnuta nálevka a baňka byla doplněna po rysku.

Obsah 50ml odměrné baňky byl filtrován přes čistý filtrační papír do příslušných 50ml PVC nádob. Tento postup se opakoval u všech vzorků.



Obrázek 6: Filtrování digestátu

4.2 Měření

Před měřením bylo provedeno ředění digestátu. Do 10ml zkumavek bylo napipetováno 1 ml digestátu a 9 ml deionizované vody. Tento roztok byl pak použit ke stanovení vybraných prvků. Neředěný digestát byl ponechán pro případ nutnosti opakování měření.

4.2.1 Detekční limit

Tabulka 5: detekční limity vybraných prvků

Detekční limity pro vybrané prvky	As	Ca	Cd	Fe	Mg	Ni	Pb	Zn
ředěné mg/kg	1,997	1,076	0,135	5,72	0,396	0,797	1,446	0,184
neředěné mg/kg	0,200	0,108	0,0135	0,572	0,0396	0,0797	0,145	0,0184
norma (mg/kg)	0,1		0,8				0,9	

Aby bylo možné vyhodnotit naměřené výsledky s maximálními limity stanovenými legislativou, bylo třeba zkontrolovat, zda detekční limity jsou nižší než tyto hodnoty (nazvěme je zkráceně „legislativa“). Tato legislativa je stanovená pro As, Cd a Pb (Ministerstvo zemědělství 2014).

V druhém řádku tabulky 3 jsou detekční limity pro vybrané analyzované prvky při měření ředěného digestátu. Měřením neředěného digestátu je možné snížit detekční limit o jednu desetinu. Třetí řádek tabulky 3 ukazuje, že se takto podařilo zajistit, aby detekční limit pro olovo byl nižší než norma. Díky tomu bylo možné zjistit, zda vzorky odpovídají stanoveným legislativním předpisům. v případě arsenu nebylo možné dosáhnout detekčního limitu nižšího, než je norma.

4.3 Zpracování výsledků

Pro ověření hlavní hypotézy, („V máku dostupném na českém trhu se obsah vybraných rizikových prvků pohybuje v hodnotách, které jsou pro lidské zdraví neškodné.“) byla použita základní statistická vyhodnocení, průměr a chyba průměru. Před započítím analýzy je třeba zkontrolovat naměřené hodnoty od abnormalit a případně vyřadit tyto abnormální hodnoty z dalších statistických analýz. Byla provedena jednostranná ANOVA s post-hoc Scheffeho testem, výsledky jsou k nalezení v kapitole samostatných příloh.

Jako alternativní vyhodnocení spojené s následným vyšetřením vlivu jednotlivých sledovaných proměnných byla použita metoda vícerozměrné analýzy, a to analýza hlavních komponent (PCA typ Correlation) v programu Microsoft Excel s rozšířením XLSTAT. Ta umožňuje uspořádat vzorky na základě podobnosti. Z jejich výstupů lze usuzovat, jaké prvky se podílejí na rozdílech v chemickém složení porovnávaných máků největší měrou. Tato analýza je provedena s cílem zjistit podobnosti mezi vzorky v závislosti na jejich prvkovém složení.

5 Výsledky

Tabulka 6: souhrnná tabulka výsledků, tučná čísla jsou minima a maxima

Vzorek	As	Cd	Pb	Ni	Zn	Ca	Fe	Mg	
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	
Detekční	0,200	0,0135	0,145	0,0797	0,0184	1,08	5,72	0,396	
1/2 DL	0,100	0,0067	0,0723	0,0398	0,00919	0,538	2,86	0,198	
norma	0,1	0,8	0,9						
1	a	0,0998	0,1586	0,0723	1,1198	43,7213	14341,8208	39,4360	3259,7831
	b	0,0998	0,1706	0,0723	1,0827	43,9608	14064,1007	42,9341	3385,0656
	c	0,0998	0,1516	0,0723	1,0372	42,6994	14026,8051	38,6109	3324,2837
2	a	0,0998	0,0860	0,0723	0,5641	36,9599	14787,6826	28,5282	3622,4752
	b	0,0998	0,0824	0,0723	0,6467	38,1215	14432,8872	29,1790	3625,7053
	c	0,0998	0,0833	0,0723	0,6348	38,1634	14950,5328	41,8699	3698,1837
3	a	0,0998	0,1750	0,0723	0,4472	57,3332	13228,9720	47,4483	2937,4538
	b	0,0998	0,1703	0,1599	1,4840	58,5967	13324,7959	57,1316	2922,2405
	c	0,0998	0,1822	0,0723	0,4978	57,6957	13354,3210	59,4982	2861,6094
4	a	0,0998	0,3615	0,0723	0,4224	60,6473	13480,0507	34,3565	3310,5258
	b	0,0998	0,3750	0,0723	0,5898	60,1671	13623,1887	30,9213	3306,5944
	c	0,0998	0,3350	0,0723	0,6158	59,4269	12586,7051	50,4522	3247,6964
5	a	0,0998	0,2539	0,0723	0,6385	52,8575	12918,9283	59,6515	2965,0028
	b	0,0998	0,2544	0,0723	0,4899	53,9359	12820,5271	40,5226	2959,7231
	c	0,0998	0,2763	0,0723	0,4674	53,4078	13170,1245	39,8249	2941,8486
6	a	0,0998	0,4633	0,0723	0,4883	44,7002	15517,8695	55,1914	3252,9838
	b	0,0998	0,4539	0,0723	0,4887	43,7907	15458,9868	31,0678	3302,1325
	c	0,0998	0,4469	0,0723	0,5432	44,3392	16008,1627	35,4020	3369,4626
7	a	0,0998	0,7957	0,0723	1,0025	80,5156	14738,1026	55,9066	3583,8914
	b	0,0998	0,8096	0,0723	0,9647	83,0335	14470,0778	32,6755	3550,1660
	c	0,0998	0,8023	0,0723	0,9200	82,3897	15279,1257	50,2985	3543,6029
8	a	0,0998	0,6274	0,1800	0,7844	72,3131	13444,2573	31,9149	3626,9943
	b	0,0998	0,6136	0,0723	0,7683	71,8794	12664,7624	53,0442	3500,6448
	c	0,0998	0,6345	0,0723	1,2681	72,0030	13422,4503	37,9172	3553,8508
9	a	0,0998	0,2631	0,0723	0,4670	48,8095	13626,5191	33,0687	3082,7630
	b	0,0998	0,2681	0,0723	0,8176	50,4959	13463,0527	33,0013	3060,7743
	c	0,0998	0,2850	0,0723	0,4183	48,7951	12850,8203	39,4724	2950,6299
10	a	0,0998	0,3139	0,0723	0,7185	60,9956	14565,5741	37,2510	3350,6931
	b	0,0998	0,3095	0,0723	0,6968	61,5536	14249,0950	35,0602	3284,1570
	c	0,0998	0,3117	0,0723	0,8382	62,4404	14368,2752	39,1197	3333,6137
11	a	0,0998	0,1670	0,0723	0,7532	40,1123	13374,3718	17,8088	3582,7995
	b	0,0998	0,1461	0,0723	0,8711	39,7390	13747,9764	17,8359	3658,0198
	c	0,0998	0,1809	0,0723	0,8041	39,3165	13561,7988	25,0892	3683,2883
12	a	0,0998	0,1608	0,0723	1,2302	42,2523	9570,46563	32,9098	4072,1698
	b	0,0998	0,1663	0,0723	0,6094	43,0173	9184,97417	23,0353	4000,0896
	c	0,0998	0,1950	0,0723	0,5323	43,0006	9448,79799	31,1476	4024,9085
13	a	0,0998	0,1696	0,0723	0,6915	34,4533	12704,7567	32,8183	3762,1150
	b	0,0998	0,1527	0,0723	0,7064	35,0368	12264,0897	37,7070	3643,2937
	c	0,0998	0,1540	0,0723	0,5940	34,3515	12992,6462	38,2178	3773,3416

5.1 Souhrnná tabulka výsledků (tabulka 6)

Výsledky měření z ICP-OES jsou shrnuty v souhrnné tabulce č 6. Co se týká stanovení arsenu, jeho množství bylo ve všech vzorcích pod detekčním limitem. Pro další statistické zpracování bude používána hodnota poloviny detekčního limitu. Podobně to je i u olova, jehož obsah se také pohyboval pod detekčním limitem, až na dvě výjimky. Ostatní prvky se podařilo stanovit výborně. Z tabulky je zřejmé, že v rámci téhož vzorku se u téměř každého ze tří měření pro konkrétní prvek pohybuje výsledek v řádově stejných hodnotách. Hodnoty stanovené u niklu mají poměrně velký rozptyl. Přesto nebyla před statistickou analýzou provedena korekce dat, například odstranění odlehlých hodnot. v tabulce 6 jsou také tučně zvýrazněny minima a maxima.

5.2 Průměry

Tabulka 7: průměrné množství jednotlivých prvků ve vzorcích

vzorek		As	Cd	Pb	Ni	Zn	Ca	Fe	Mg
1	průměr	0,100	0,160	0,0723	1,08	43,5	14144	40,3	3323
	chyba průměru	0,000	0,006	0,000	0,024	0,4	99	1,3	36
2	průměr	0,100	0,0839	0,0723	0,615	37,7	14724	33,2	3649
	chyba průměru	0,000	0,001	0,000	0,026	0,4	153	4,3	25
3	průměr	0,100	0,176	0,102	0,810	57,9	13303	54,7	2907
	chyba průměru	0,000	0,003	0,029	0,337	0,4	38	3,7	23
4	průměr	0,100	0,357	0,0723	0,543	60,1	13230	38,6	3288
	chyba průměru	0,000	0,012	0,000	0,061	0,4	324	6,0	20
5	průměr	0,100	0,262	0,0723	0,532	53,4	12970	46,7	2956
	chyba průměru	0,000	0,007	0,000	0,054	0,3	104	6,5	7
6	průměr	0,100	0,455	0,0723	0,507	44,3	15662	40,6	3308
	chyba průměru	0,000	0,005	0,000	0,018	0,3	174	7,4	34
7	průměr	0,100	0,803	0,0723	0,962	82,0	14829	46,3	3559
	chyba průměru	0,000	0,004	0,000	0,024	0,8	238	7,0	12
8	průměr	0,100	0,625	0,108	0,940	72,1	13177	41,0	3560
	chyba průměru	0,000	0,006	0,036	0,164	0,1	256	6,3	37
9	průměr	0,100	0,272	0,0723	0,568	49,4	13313	35,2	3031
	chyba průměru	0,000	0,007	0,000	0,126	0,6	236	2,1	41
10	průměr	0,100	0,312	0,0723	0,751	61,7	14394	37,1	3323
	chyba průměru	0,000	0,001	0,000	0,044	0,4	92	1,2	20
11	průměr	0,100	0,165	0,0723	0,810	39,7	13561	20,2	3641
	chyba průměru	0,000	0,010	0,000	0,034	0,2	108	2,4	30
12	průměr	0,100	0,174	0,0723	0,791	42,8	9401	29,0	4032
	chyba průměru	0,000	0,011	0,000	0,221	0,3	114	3,0	21
13	průměr	0,100	0,159	0,0723	0,664	34,6	12654	36,2	3726
	chyba průměru	0,000	0,005	0,000	0,035	0,2	212	1,7	41,6

Z rizikových prvků se nepodařilo ideálně stanovit pouze arsen. Protože se hodnoty nacházely pod mezí detekce, byly dle uzance nahrazeny polovinou detekčního limitu (uvedeno v tabulce č. 5) a dále s nimi nebylo pracováno.

Olovo bylo také problematické, co se týká zisku přesných hodnot po měření. Kromě dvou hodnot byly všechny ostatní podobně jako u arsenu nahrazeny polovinou hodnoty detekčního limitu. Průměrné hodnoty napříč vzorky se tak při pohledu na hodnoty až na dvě výjimky vůbec neliší.

Průměrné množství niklu bylo nejvyšší ve vzorku č. 1, bylo to 1,080 mg/kg. Nejméně niklu obsahoval vzorek č. 6, a to 0,507 mg/kg. i u niklu byla provedena jednostranná ANOVA s hladinou významnosti $\alpha=0,05$, kde bylo $p<0,05$. Následná post-hoc Scheffeho test však statisticky významné rozdíly nepotvrdil (viz příloha 4 až 6).

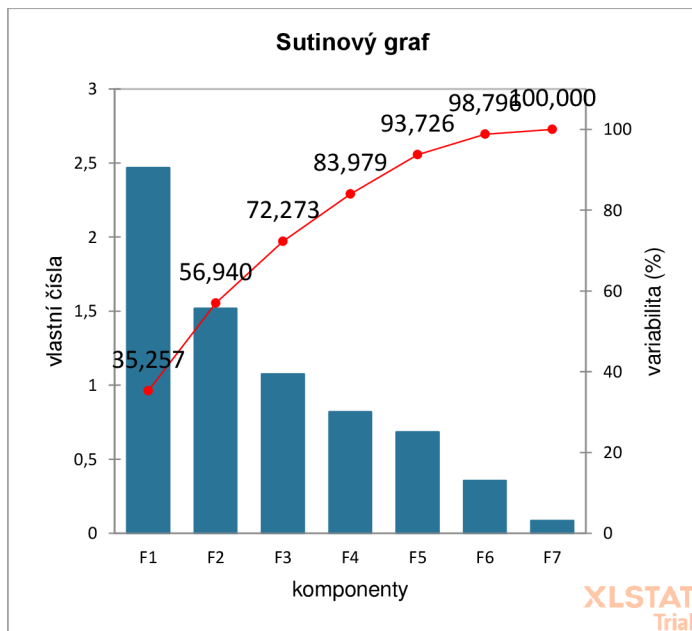
Stanovené množství kadmia se relativně lišilo napříč vzorky. Nejnižší průměrná hodnota v tabulce č. 5 byla 0,084 mg/kg ve vzorku číslo 2 a nejvyšší byla 0,803 mg/kg ve vzorku číslo 7. Což je řádově velký rozdíl. Statisticky významné rozdíly mezi vzorky se potvrdily i jednostrannou ANOVA s následným post-hoc Scheffeho testem, jehož výsledky spolu s krabicovým grafem jsou k nahlédnutí v příloze 1 a 2.

Z benefičních prvků je nejvíce zastoupen vápník. Nejvyšší hodnoty 15662 mg/kg dosahuje vzorek č. 6. Nejméně vápníku 9401 mg/kg pak obsahoval vzorek č. 12. Co se týká zinku a železa, jejich hodnoty byly velmi podobné, maxima a minima jsou zvýrazněny v tabulce č. 5. Průměrné množství hořčíku se nejvíce liší mezi vzorky č. 12 a č. 3. Ve vzorku č. 12 je 4032 mg/kg a ve vzorku č. 3 o více než tisíc mg méně 2907mg/kg.

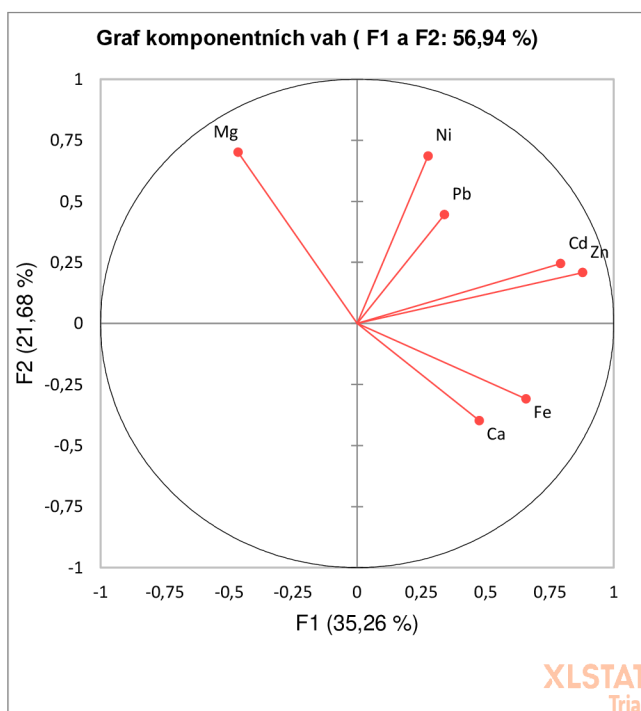
5.3 Analýza hlavních komponent (PCA)

Následující analýzy hlavních komponent jsou založeny na všech naměřených hodnotách stanovovaných prvků. Arsen byl vyloučen pro nulový rozptyl.

Ze sutinového grafu (graf č. 3) analýzy hlavních komponent je zřejmé, že první komponenta (F1) vysvětluje 35,3 % celkové variability vzorků. v kombinaci s druhou komponentou (F2) vysvětlují 56,9 % vzorků.



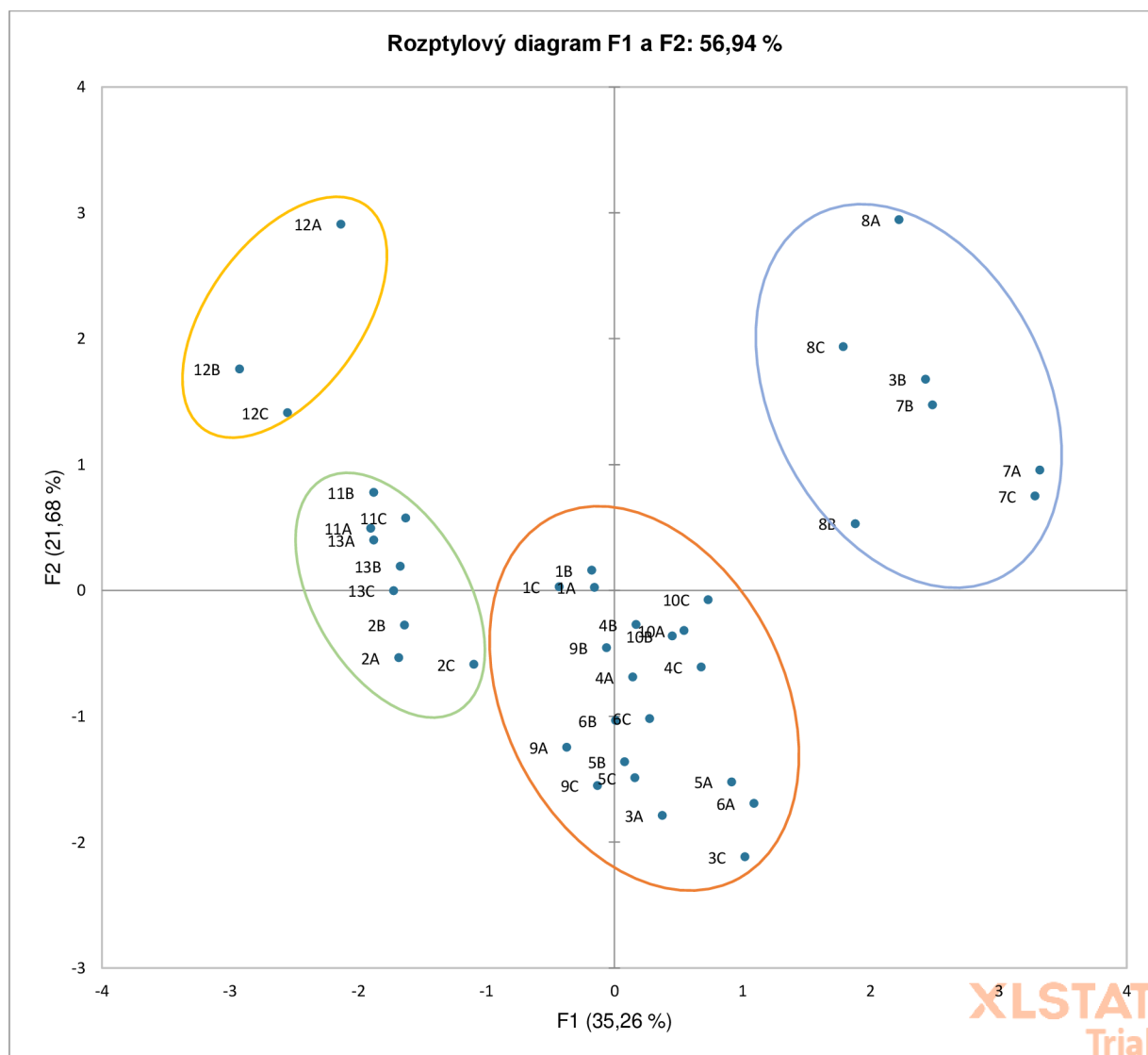
Graf 3: Sutinový graf



Graf 4: Graf komponentních vah hlavních komponent F1 a F2

Na grafu č. 4 jsou zobrazeny komponentní váhy pro první dvě hlavní komponenty (F1 a F2). Toto je grafické znázornění vah jednotlivých proměnných v rámci hlavních komponent. Vyjadřuje, jakým způsobem přispívá k hlavním komponentám každá původní proměnná. Na komponentu F1 má největší vliv Zn a Cd. Nejmenší vliv na komponentu F1 má Mg, ale komponentu F2 spolu s Ni ovlivňuje nejvíce.

Rozptylový diagram komponentního skóre vybraných proměnných pro první dvě komponenty (F1 a F2) na grafu č. 4 prezentuje shlukování vzorků máků podle množství stanovovaných prvků. Při pohledu na graf je zřejmé, že vzorky jsou rozmístěny po celém intervalu první komponenty (F1) i po celém intervalu druhé komponenty (F2). Vzdálenější body lze považovat za extrémní.



Graf 5: komponentní skóre hlavních komponent F1 a F2

Každý bod na grafu představuje jedno pozorování (například 1A vzorek č. 1 první opakování, 1B je vzorek č. 1 druhé opakování apod.). Každý vzorek by měl mít všechny své ABC opakování blízko

sebe, protože předpokládáme, že se jedná o homogenní vzorek pouze jednoho druhu máku. Vzorek č. 3B se výrazně odchyluje od zbylých dvou měření. Je viditelné, že vzorky č 13; 11; 2; 1; 10 a 4 tvoří shluky 3 opakováních měření blízko sebe. U ostatních vzorků je vzdálenost mezi opakováními větší. Často se jeden ze tří bodů výrazněji odchyluje od zbylých dvou, to můžeme vidět například u vzorku č. 12 nebo 7. Vzorek č. 8 má všechny tři body relativně daleko od sebe.

V označených shlucích v grafu 5 jsou vzorky, které jsou si svým prvkovým složením podobné.

6 Diskuze

Český trh a průmysl je kontrolován a dostatečně informován o omezeních, co se týká obsahu rizikových prvků v máku (Evropská komise 2023; Ministerstvo zemědělství 2014). Možným důvodem proč existují produkty, které neodpovídají legislativním předpisům (dTest 2021) může být nesoulad v evropské a české legislativě. Jestli se ale obsahy těchto látek pohybují ve zdraví neškodných množstvích je diskutabilní a velmi záleží na zkonsumovaném množství máku, ale i na množství ostatních zkonsumovaných potravin, které rizikové prvky obsahují. Do této práce byly vybrány anonymní vzorky máku pocházející jak z České republiky, tak ze zahraničí. Naměřené obsahy vybraných prvků jsou v souhrnné tabulce 4 a v tabulce 5.

6.1 Nikl

Nikl je agenturou EFSA považován za rizikový z pohledu příjmu potravou a vodou. v roce 2015 byl nastaven tolerovatelní denní příjem (TDI) na 2,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. s novými poznatky po pěti letech agentura vydala stanovisko, které rozvolňuje dříve stanovenou TDI z původních 2,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ na 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tělesné hmotnosti (EFSA CONTAM Panel 2020). Po stanovení niklu v makových semenech bylo za pomoci základních statistických výpočtů zjištěno, že se jeho obsah pohybuje v desetinách až nízkých jednotkách mg/kg , což je nevýrazně více než například u ostře regulovaného kadmia. Pokud by člověk vážící 70 kg snědl za den 100 g máku, jehož obsah kadmia by byl jako ve vzorku č. 1, dosáhl by maximálně 12 % z TDI.

Rostlinné zdroje jsou riziku kontaminace niklem vystaveny podstatně více než živočišné, neboť je pro rostliny nikl esenciálním prvkem (Babaahmadifooladi 2020, Hooda 2010). Nikl se pak kumuluje v semenech i jiných částech rostliny (Sharma 2006). Statistická analýza ANOVA neprokázala statisticky významné rozdíly mezi vzorky, viz přílohy 4 až 6. Obsah niklu se v rostlinách pohybuje mezi 0,1-5 mg/kg , pokud jsou pěstované na nekontaminovaných půdách (McGrath 1995). Z toho lze usoudit, že zkoumané máky nebyly pěstovány na kontaminovaných půdách vzhledem k jejich zjištěnému obsahu niklu. Zároveň pokud by se obsah niklu blížil k 5 mg/kg , denní příjem by se tak snadněji přibližoval k TDI a byl by to podnět k regulaci obsahu v potravinách.

Přímé důkazy o otravě niklem z rostlin konzumovaných lidmi nejsou v dostupné literatuře explicitně zmíněny. Nicméně je známo, že nadměrná kontaminace půdy niklem může vést k akumulaci tohoto kovu v rostlinách, které mohou být součástí lidské stravy. To teoreticky může

vést k expozici niklu, která by mohla být škodlivá, pokud by konzumace těchto rostlin byla dostatečně vysoká a dlouhodobá (Genchi et al 2020). Výzkumy ukazují, že nikl může způsobovat různé zdravotní problémy, včetně alergií, kardiovaskulárních a renálních onemocnění, fibrózy plic, rakoviny plic a nosu a další. To naznačuje, že příjem niklu prostřednictvím kontaminovaných rostlin může představovat riziko (Kasprzak et al. 2003; Yoshihisa & Shimizu 2012; Das et al. 2019).

6.2 Kadmium

Všechny vzorky kromě vzorku č. 7 odpovídají legislativě nastavené v České republice, a to je maximum 0,8 mg Cd/kg vzorku (Ministerstvo zemědělství 2014). Vzorek č. 7, který obsahuje 0,803 mg kadmia/kg vzorku, je velmi těsně nad tímto limitem. Pokud bychom ho porovnávali s evropskou legislativou, která pro kadmium v máku udává maximální limit 1,2 mg/kg, je tento vzorek vhodný jak ke zpracování, tak ke konzumaci (Evropská komise 2023). Tento nesoulad v legislativě může být důvodem, že se na český trh dostávají máky, které sice odpovídají Evropské legislativě, ale České už nikoliv. Jako například modrý mák značky Albert, jehož obsah kadmia byl 1,2 mg/kg. Máky jsou testovány hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (dTest 2021). Souhrnná tabulka obsahující výsledky testu máků dTest je v kapitole výsledky v tabulkách 6 a 7.

Porovnání přísnosti institucí v oblasti tolerovaných příjmů kadmia vedlo k zajímavým poznatkům. Pro vyjádření tolerovaného měsíčního příjmu 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ stanoveného WHO (2011) jako týdenní příjem byl použit koeficient 4,4, který vyjadřuje průměrný počet týdnů v měsíci. Tolerovaný měsíční příjem 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ odpovídá tolerovanému týdennímu příjmu 5,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Zatímco EFSA (2012) určuje tolerovaný týdenní příjem 2,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Což je více než dvakrát přísnější. Pro průměrného člověka vážícího 70 kg je tolerovaný týdenní příjem podle EFSA (2012) 175 μg Cd.

V rámci modelového příkladu jedlíka máku byl proveden přepočítání na nejvyšší stanovené množství kadmia ve vzorcích. Pokud by člověk jedl 100 g máku, ze kterého pocházel vzorek č. 7, zajistil by si touto konzumací příjem přibližně 80,3 μg Cd týdně, což je méně než polovina tolerovaného týdenního příjmu. Nelze přitom ale zapomenout na ostatní potraviny, které jsou také zdrojem kadmia a jejich výčet není malý. v nařízení Komise (EU) 2023/915 jsou uvedeny konkrétní potraviny i skupiny potravin, které stejně jako mák podléhají kontrole a jejich obsah kadmia je limitován (Evropská komise 2023).

Kadmium v semenech máku je podle Pavlíkové et. al (2007) ovlivněno půdou, na které je rostlina pěstovaná. Kadmium je pro rostlinu toxické a nejvíce se ho ukládá právě v semenech, což potvrzuje i Šalomon & Fejer (2011). Zkoumaná semena v této práci pocházejí z různých lokalit, a proto jsou mezi jednotlivými vzorky rozdíly v obsahu kadmia. Tyto rozdíly dokazuje i test ANOVA kde p je menší než 0,05. v samostatných přílohách je k vidění příloha 1 až 3, krabicový graf a post-hoc Scheffeho test. Například mezi vzorky č. 1 a 13 se statisticky významný rozdíl nepotvrdil, lze tak usuzovat, že mák, ze kterého pocházejí tyto vzorky, byl pěstován na půdě, která je, co se týká kontaminace kadmiiem, velmi podobná. Stejně tak se mezi vzorky č. 1 a 13 statisticky významný rozdíl nepotvrdil u železa, niklu a olova. U benefičních prvků mezi jejich zástupce patřil zinek, hořčík a vápník byly rozdíly v obsahu znatelné. Za předpokladu, že vzorky pocházející ze stejné půdy budou mít stejné složení, můžeme konstatovat, že vzorky nepocházejí ze stejné lokality.

6.3 Arsen

Hodnoty získané pro arsen nelze porovnávat s legislativně daným limitem (0,1 mg/kg) (Ministerstvo zemědělství 2014), protože hodnota detekčního limitu (0,2 mg/kg) není dostatečně nízká. Digestát neobsahoval detekovatelné množství arsenu. Použití neředitelného vzorku pomohlo snížit detekční limit. Přesto nebylo možné arsen stanovit. Pro stanovení arsenu by bylo zapotřebí použít více vzorku máku k rozkladu. Vhodným řešením by bylo použít odlišný detektor. Vejvodová et al. (2022) pro stanovení arsenu v rostlinách použila hmotnostní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem, kde byl limit detekce podstatně nižší, 0,008 mg/kg. Ve své studii Vejvodová et al. (2022) zjišťovala obsah arsenu v následující zelenině pocházející z oblasti Kutné Hory. Bohužel se mezi komoditami nevyskytoval mák, ale navzdory tomu můžeme získat představu o obsahu arsenu v různých plodinách. Průměrné obsahy jsou uvedeny v závorkách; okurka (4,72 mg/kg), česnek (3,32 mg/kg), cibule (2,11 mg/kg), paprika (0,53 mg/kg), brambory (0,65 mg/kg), cuketa (0,63 mg/kg), jablko (0,53 mg/kg), rajče (0,39 mg/kg). Zkoumaná zelenina byla pěstovaná na půdě, ve které byl relativně nízký obsah arsenu dostupného pro rostliny. Přesto rostliny dokázaly akumulovat značné množství ve svých pletivech.

Není výjimkou, že se na český trh dostanou máky s vyšším množstvím arsenu, než udává legislativa. Například nezávislá spotřebitelská organizace dTest pravidelně testuje máky vyskytující se na českém trhu. Rizikové prvky ve vzorcích určují pomocí ICP-MS. Proto bylo

možné zjistit v mletém máku značky Ar. Rashid obsah arsenu 0,084 mg/kg. Další vybraný vzorek modrého máku celého také od značky Ar. Rashid obsahoval nadlimitní množství arsenu, a to 0,21 mg/kg. To je množství, které překračuje českou legislativu dvojnásobně (dTest 2021). Zároveň je to hodnota, kterou by bylo možné stanovit i námi použitou analytickou instrumentací ICP-OES.

6.4 Olovo

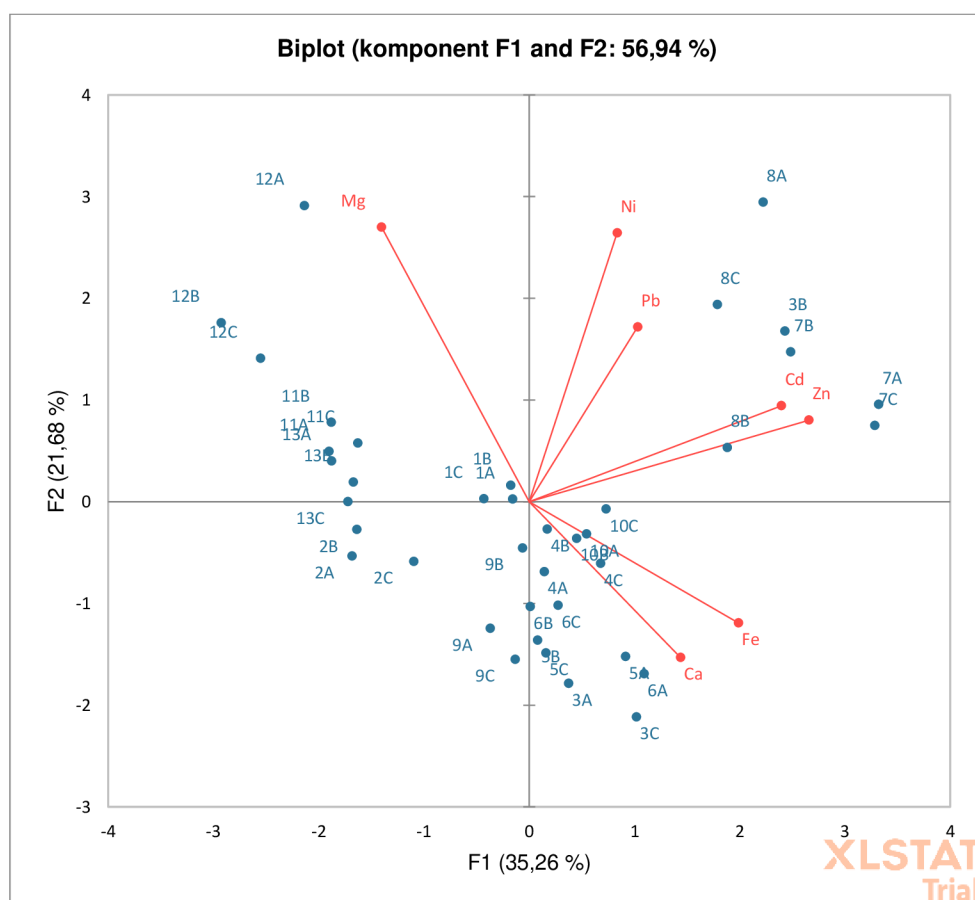
Co se týká olova, všechny vzorky odpovídají limitu nastaveném ve vyhlášce č. 399/2013 Sb., který je pro olovo 1,0 mg/kg (Ministerstvo zemědělství 2014). Obsah olova v nezávislém testu máků na českém trhu je často nulový nebo menší než 0,1 mg/kg, v některých vzorcích se ale nějaké vyšší množství najde, v případě již zmiňovaného máku značky Ar. Rashid to bylo 0,46 mg/kg (dTest 2021). Toto množství je z pohledu maximálních limitů stanovených legislativou v pořádku (Ministerstvo zemědělství 2014). Pokud vzorky stanovené v této práci obsahovaly množství olova menší než 0,14 mg/kg, podobně jako vzorky stanovené v dTestu nemohly být stanoveny na ICP-OES z důvodu příliš vysokého detekčního limitu. Protože je ale hodnota detekčního limitu nižší, než je maximální limit udávaný legislativou, můžeme s jistotou říci, že i vzorky stanovené v této práci odpovídají legislativě.

Šalomon & Fejer (2011) se zabývali obsahem rizikových prvků („těžkých kovů“) v makových semenech. Kadmium označují jako nejvíce nebezpečné, ale olovo bylo také předmětem jejich zájmu. Vzorky máku ze Slovenska obsahovaly 0,130 to 0,304 mg/kg olova (Šalomon 1995). Z monitoringu rakouských máků byl zjištěn obsah olova v rozmezí 0,050 až 0,400 mg/kg (Chizola et al. 2003). Turecký mák dosahoval obsahu olova od 0,300 až 1,600 mg/kg (Özcan & Atalay 2006). Z tohoto průzkumu vychází turecký mák nejhůře. Z testu máků organizace dTest (2021) byly vzorky máku z Turecka s relativně nízkým obsahem olova, 0,21 mg/kg, a druhý vzorek byl dokonce nulový.

6.5 Další statistika

ANOVA ukázala, že existují prvky, které mají významný vliv na varianci mezi vzorky. Statisticky významné rozdíly mezi vzorky byly pozorovány u prvků Cd, Zn, Mg, Fe, Ca. U prvků Ni, As a Pb rozdíly pozorované nebyly. ANOVA pro As nebylo možné vypočítat, protože jeho obsah byl pod limitem detekce.

V analýze hlavních komponent (PCA) byly nalezeny hlavní trendy a vzorce v datech tím, že proměnné byly transformovány do nového prostoru tak, aby se co nejvíce rozptýly v datech vysvětlilo prvními hlavními komponentami. Pro nulový rozptyl v datech proměnné arsen byl tento prvek z analýze PCA vyřazen. Vybrané komponenty F1 a F2 postihly většinu informací obsažených v datech. Rozptylový diagram komponentního skóre (graf 4) ukazuje, jak jsou vzorky rozloženy v novém prostoru definovaném hlavními komponentami. Vzorky jsou rozprostřeny po celém intervalu první i druhé komponenty, což naznačuje různorodost v datech. Vzdálenější body lze považovat za extrémní, což může naznačovat výjimečné vzorky nebo anomálie v datech.



Graf 6

Graf 6 vizualizuje vztahy mezi proměnnými (sledované prvky) a hlavními komponentami (F1 a F2). Umístění přímek proměnných vyjadřuje korelaci mezi proměnnými. Jestliže jsou přímky blízko sebe, existuje mezi proměnnými korelace. Proměnné Cd a Zn zřetelně korelují. Čím více kadmia je ve vzorku, tím více je tam i zinku. Lze to pozorovat i v tabulce 5 u průměrů. Vzorek č. 13 má druhý nejmenší obsah kadmia a nejmenší obsah zinku. Zároveň vzorek č. 7 s největším obsahem kadmia má také největší obsah zinku. Obsah kadmia a zinku stanovil také Lachman

et al. (2006) viz tabulka 8, kde zjistil průměrný obsah kadmia napříč vzorky. Přestože naměřil podstatně vyšší obsah jak zinku, tak kadmia, je z jeho hodnot také patrná korelace kadmia a zinku.

Tabulka 8: Obsah kadmia a zinku v různých odrůdách máku (Lachman et al. 2006)

Mák		
semena	Cd (mg/kg)	Zn (mg/kg)
Gerlach	0.48±0.07	61.1±1.42
Hanácký modrý	0.51±0.01	69.7±0.30
Lazur	0.73±0.04	83.4±1.29
Major	0.27±0.01	57.3±0.23
Malsar	0.20±0.01	60.0±0.51
Maraton	0.29±0.01	58.7±0.59
Opal (1)	0.71±0.08	71.5±0.38
Opal (2)	0.71±0.13	78.3±0.17
Opal (3)	0.92±0.18	79.7±0.74
Opal (4)	1.17±0.09	94.3±1.52
Opal (5)	0.35±0.03	82.3±1.00
Opal (6)	0.41±0.05	67.8±0.60
Opal (7)	0.74±0.04	90.3±0.19
Zeno	0.33±0.01	82.5±2.45
průměr	0.56±0.05	78.1±0.81

Délka přímek určuje vztah mezi proměnnými a hlavními komponentami. Delší přímky vyjadřují silnější vztah. Nejslabší vztah s hlavními komponentami má proměnná Pb. v tomto grafu je také dobře vizualizován vzorek č. 12, který byl již zmiňován, že obsahuje nejvíce hořčíku a nejméně vápníku. Přímka Mg směřující k bodům 12 značí, že hlavní komponenta F2 je silně ovlivněna proměnnou Mg, a naopak přímka Ca směřující na opačnou stranu značí slabší ovlivnění hlavní komponenty proměnnou Ca.

Zároveň bylo z analýzy hlavních komponent patrné shlukování vzorků podle jejich obsahu prvků, což může naznačovat podobné zdroje kontaminace. U vzorků č. 7 a 8 se ukazuje jistá podobnost v obsahu prvků a na grafu jsou vyobrazeny ve shluku odděleny od ostatních. Obsahují také nejvyšší množství kadmia a zinku. Vzorek č. 12 je výrazněji oddělen od ostatních, při pohledu na jeho prvkové složení má výjimečně nízké množství vápníku a významně vyšší obsah hořčíku oproti ostatním vzorkům.

Shluky bodů v grafu 5 představují vzorky, které jsou si svým prvkovým složením podobné. Nabízí se hypotéza, že tyto vzorky pocházejí ze stejné lokality. Tuto hypotézu, ale není možné potvrdit z důvodu anonymity vzorků.

7 Závěr

V této diplomové práci byla provedena komplexní analýza obsahu různých prvků v makových semenech metodou ICP-OES. Výsledky ukázaly, že stanovení arsenu bylo problematické, protože všechny hodnoty byly pod detekčním limitem. Nicméně z výsledků lze monitoring arsenu v máku (zvláště dováženého ze zahraničí) vhodnou analytickou metodou nebo upravením metody rozkladu jednoznačně doporučit.

Obsah olova se pohyboval pod detekčním limitem, a většina vzorků odpovídala legislativním limitům.

Průměrné množství niklu ve vzorcích bylo v desetínách až nízkých jednotkách mg/kg. Při srovnání možného příjmu niklu z konzumace máku novými TDI stanovenými Evropskou agenturou pro bezpečnost potravin (EFSA), lze dojít k závěru, že riziko intoxikace konzumací máku je nepravděpodobné.

Naopak obsah kadmia se výrazně mezi vzorky lišil, přičemž vzorek s nejvyšším obsahem (0,803 mg/kg) byl mírně nad limity stanovenými v České republice, ale zároveň byl v souladu s evropskou legislativou. i přes mírné překročení limitu v jednom vzorku není pravděpodobné, že by konzumace máku v běžné stravě představovala zdravotní riziko.

Dále práce nastiňuje rizika příjmu niklu a kadmia prostřednictvím makových semen s ohledem na nové standardy stanovené EFSA a legislativní limity v České republice a EU. Rovněž byly diskutovány možné faktory ovlivňující obsah kadmia v semenech máku, jako je půdní kontaminace.

Zajímavé jsou výsledky statistické analýzy, které poukázaly na významné rozdíly v obsahu některých prvků mezi vzorky. Tato variabilita může být důsledkem rozdílů v půdních podmínkách a způsobech pěstování máku v různých lokalitách. Analýza hlavních komponent dále pomohla identifikovat vzory v datech, které mohou sloužit pro další výzkumy zaměřené na zjišťování zdrojů kontaminace nebo na optimalizaci pěstování máku tak, aby byl obsah rizikových prvků minimalizován.

Na základě těchto zjištění lze doporučit pokračování v monitoringu obsahu rizikových prvků, zejména kadmia a niklu, v máku a dalších potravinách, stejně jako další výzkum zaměřený na zjišťování a minimalizaci rizik spojených s kontaminací potravin. Je také důležité udržovat legislativní rámec v souladu s nejnovějšími vědeckými poznatky a zajišťovat jeho dodržování na národní i mezinárodní úrovni.

8 Literatura

Albanese S. et al. 2015. GEMAS: Cobalt, Cr, Cu and Ni distribution in agricultural and grazing land soil of Europe. *Journal of geochemical exploration*, 154, 81-93.

ALS Czech Republic. 2013. *Analýza potravin*. ALS. Available from <https://www.alsglobal.cz/rozbory-potravin> (accessed April 2024)

Babaahmadifooladi M, Jacxsens L, Van de Wiele T, Du Laing G. 2020. Gap analysis of nickel bioaccessibility and bioavailability in different food matrices and its impact on the nickel exposure assessment. *Food Research International*, 129, 108866.

Barceloux D G & Barceloux D. 1999. Nickel. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37(2), 239-258.

Begum W, Rai S, Banerjee S, Bhattacharjee S, Mondal M H, Bhattarai a & Saha B. 2022. a comprehensive review on the sources, essentiality and toxicological profile of nickel. *RSC advances*, 12(15), 9139-9153.

BENEA s.r.o. 2021. *Cukrářské výrobky*. Benešov. Available from <https://www.benea.cz/cz/vyrobky/cukrarske-vyrobky#koblidy-kolace-a-svatebni-kolacky> (accessed February 2024)

Bernard A. 2004. Renal dysfunction induced by cadmium: biomarkers of critical effects. *Biometals*.17:519–23.

Birke M, Reimann C, Rauch U, Ladenberger A, Demetriades A, Jaehne-Klingberg F & GEMAS Project Team. 2017. GEMAS: Cadmium distribution and its sources in agricultural and grazing land soil of Europe—Original data versus clr-transformed data. *Journal of Geochemical Exploration*, 173, 13-30.

Byers H L, McHenry L J, Grundl T J. 2019. XRF techniques to quantify heavy metals in vegetables at low detection limits. *Food Chemistry: X*, 1, 100001.

Cempel M & Nikel G J P J S. 2006. Nickel: a review of its sources and environmental toxicology. *Polish journal of environmental studies*, 15(3).

Cempel M, Nikel G. 2006. Nickel: a review of its sources and environmental toxicology. *Pol J Environ Stud.* 15:75–382

Clemens s & Ma J F. 2016. Toxic heavy metal and metalloid accumulation in crop plants and foods. *Annual review of plant biology*, 67, 489-512.

Cullen J T & Maldonado M T. 2012. Biogeochemistry of cadmium and its release to the environment. *Cadmium: from toxicity to essentiality*, 31-62.

Český modrý mák. 2019. Český modrý mák: Nutriční hodnota. Český modrý mák z.s., Available from <https://ceskymodrymak.cz/cs/mak/nutricni-hodnota> (accessed February 2022)

ČSÚ. 2023. Spotřeba potravin – 2020. Český statistický úřad, Praha. Available from <https://www.czso.cz/csu/czso/spotreba-potravin-2022> (accessed January 2024)

Das K, Reddy R, Bagoji I, Das S, Bagali S, Mullur L, Khodnapur J, Biradar M. 2019. Primary concept of nickel toxicity – an overview. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology.* 30(2): 141-152. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2017-0171>

dTest. 2021. Ar. Rashid Mák modrý. dTest. Available from <https://www.dtest.cz/test/ar-rashid-mak-modry/95963?order-by=1&order-dir=2> (accessed April 2024)

dTest. 2021. Albert Mák modrý. dTest. Available from <https://www.dtest.cz/test/albert-mak-modry/95964?order-by=1&order-dir=2> (accessed April 2024)

dTest. 2021. Test máku 2021. dTest. Available from <https://www.dtest.cz/clanek-8686/test-maku-2021> (accessed April 2024)

Edem G, David J, Okon K, Thompson H. 2024. Relationship between cadmium toxicity, kidney function disturbances and urinary bladder inflammation: The role of *Uvaria chamae* in mitigating these effects. *Drug Discovery*, 18, e6dd1968.

EFSA. 2010. Management of left-censored data in dietary exposure assessment of chemical substances. *EFSA Journal* 2010; 8(3):1557, 96 pp. Doi:10.2903/j.efsa.2010.1557.

EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, del Mazo J, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, Hoogenboom LR, Leblanc J-C, Nebbia CS, Ntzani E, Petersen A, Sand S, Schwerdtle T, Vleminckx C, Wallace

H, Guérin T, Massanyi P, Van Loveren H, Baert K, Gergelova P and Nielsen E. 2020. Scientific Opinion on the update of the risk assessment of nickel in food and drinking water. *EFSA Journal* 2020;18(11):6268, 101 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6268>

El-Naggar A. et al. 2021. Nickel in soil and water: Sources, biogeochemistry, and remediation using biochar. *Journal of hazardous materials*, 419, 126421.

Evropská komise. 2018. Agriculture and rural developmen, Režimy jakosti – přehled. Stáhnout loga, Brusel. Available from https://agriculture.ec.europa.eu/farming/geographical-indications-and-quality-schemes/geographical-indications-and-quality-schemes-explained_cs#logos (accessed February 2024)

Evropská komise. 2021. eAmbrosia. Rejstřík zeměpisných označení EU; Český modrý mák. Evropská komise generální ředitelství pro zemědělství a rozvoj venkova, Brusel. Available from <https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/geographical-indications-register/details/EUGI00000015163> (accessed November 2023)

Evropská komise. 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. Pages 103-157 in *Úřední věstník Evropské unie* L 119/103. 2023.

FAO. 2023. FAOSTAT: Crops and livestock products. FAO, Rome. Available from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> (accessed november 2023)

Fuller R, Landrigan P J, Balakrishnan K, Bathan G, Bose-O'Reilly S, Brauer M, et al. 2022. Pollution and health: a progress update. *Lancet* 6, E535–E547. doi:10.1016/s2542-5196(22)00090-0

Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. 2020. Nickel: Human Health and Environmental Toxicology. *Int J Environ Res Public Health*. Jan 21;17(3):679. doi: 10.3390/ijerph17030679. PMID: 31973020; PMCID: PMC7037090.

Gonick H C. 2008. Nephrotoxicity of cadmium & lead. *Indian Journal of Medical Research*, 128(4), 335-352.

He M-D, Xu S-C, Zhang X, Wang Y, Xiong J-C, Zhang X, Lu Y-H, Zhang L, Yu Z-P and Zhou Z, 2013. Disturbance of aerobic metabolism accompanies neurobehavioral changes induced by nickel in mice. *NeuroToxicology*, 38, 9–16.

Holden N, Coplen T, Böhlke J, Tarbox L, Benefield J, de Laeter J, Mahaffy P, O'Connor G, Roth E, Tepper D, Walczyk T, Wieser M, Yoneda S. 2018. IUPAC Periodic Table of the Elements and Isotopes (IPTEI) for the Education Community (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 90(12), 1833-2092. <https://doi.org/10.1515/pac-2015-0703>

Hooda P S. 2010. *Trace Elements in Soils*. a John Wiley and Sons, Ltd., Publication. Available from <https://doi.org/10.1002/9781444319477> (accessed February 2024)

Chandel M, Chand Jain G. Toxické účinky přechodných kovů na mužský reprodukční systém: přehled. *J Environ Occup Sci*. 2014; 3:204–13.

Chizola R, Michitsch H, Franz Ch.. 2003. Monitoring of Metallic Micronutrients and Heavy Metals in Herbs, Spices and Medicinal Plants from Austria. *Eur Food Technol*, 216: 407-411.

Ijomone OM, Olatunji SY, Owolabi JO, Naicker T and Aschner M, 2018. Nickel-induced neurodegeneration in the hippocampus, striatum and cortex; an ultrastructural insight, and the role of caspase-3 and alpha-synuclein. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 16–23. Available from <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.05.017> (accessed February 2024)

Institute of Medicine. 2001. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington, DC: Nat Acad Press; DOI: 10.17226/10026.

Jadaa W & Mohammed H. 2023. Heavy Metals--Definition, Natural and Anthropogenic Sources of Releasing into Ecosystems, Toxicity, and Removal Methods--An Overview Study. *Journal of Ecological Engineering*, 24(6).

Kahloula K, Adli DEH, Slimani M, Terras H and Achour S. 2014. Effect of nickel chronic exposure on the neurobehavioral functions in Wistar rats during the development period. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 26, 186–192.

Kasprzak K S, Sunderman Jr F W, Salnikow K. 2003. Nickel carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533(1-2), 67-97.

Kubier A, Wilkin R T, Pichler T. 2019. Cadmium in soils and groundwater: a review. *Applied Geochemistry*, 108, 104388.

Kumar S., Trivedi. A.V. 2016. a Review on Role of Nickel in the Biological System *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 5(3):Available from doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.503.084> (accessed February 2024)

Kutscher D. 2021. ThermoFisher: Resolving Interferences in ICP-OES Using Inter-Element Correction. Available from <https://www.thermofisher.com/blog/analyteguru/resolving-interferences-in-icp-oes-using-inter-element/> (accessed march 2024)

Lachman J, Hejtmankova A, Miholova D, Kolihová D, Tluka P. 2006. Relations among alkaloids, cadmium and zinc contents in opium poppy (*Papaver somniferum* L.). *Plant Soil and Environment*, 52(6), 282.

Luevano J. Damodaran C. 2014. a review of molecular events of cadmium-induced carcinogenesis. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 33, 183–194.

Mahdavi-Damghani A, Kamkar B, Al-Ahmadi M J, Testi L, Muñoz-Ledesma F J, Villalobos F J. 2010. Water stress effects on growth, development and yield of opium poppy (*Papaver somniferum* L.). *Agricultural water management*, 97(10), 1582-1590.

McGrath s P. 1995. Chromium and nickel; in: B.J. Alloway (ed.). *Heavy Metals in Soil*, 2nd edn; Blackie Academic & Professional, London

McLaughlin M J, Smolders E, Zhao F J, Grant C, Montalvo D. 2020. Managing cadmium in agricultural systems. *Advances in Agronomy*. doi:10.1016/bs.agron.2020.10.004

Ministerstvo financí a Ministerstvo zemědělství. 2022. Vyhláška č. 187/2022 Sb. Vyhláška, kterou se mění vyhláška č. 151/2005 Sb., kterou se stanoví vzory formulářů pro hlášení osob pěstujících mák setý nebo konopí a způsob vyplňování a nakládání s uvedenými formuláři. Pages 2269-2279 in *Sbírka zákonů České republiky č. 187, 2022, částka 87*. Česká republika

Ministerstvo vnitra. 2015. Vyhláška č. 172/2015 Sb. Vyhláška o informační povinnosti příjemce potravin v místě určení. Pages 2150-2151 in *Sbírka zákonů České republiky č. 172, 2015, částka 70*. Česká republika

Ministerstvo zdravotnictví. 1998. Zákon č. 167/1998 Sb. – o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Pages 6770-6800 in Sbírka zákonů České republiky č. 167, 1998, částka 57. Česká republika

Ministerstvo zemědělství. 2014. 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. Pages 6838-6842 in Sbírka zákonů České republiky č. 399, 2013, částka 156. Česká republika

Ohls K & Bogdian B. 2016. History of inductively coupled plasma atomic emission spectral analysis: from the beginning up to its coupling with mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 31(1), 22–31. doi:10.1039/c5ja90043c

Özcan M M. Atalay C. 2006. Determination of Seed and Oil Properties of Some poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties. *Grasas Y Aceites*, 57(2): 169-174.

Patriarca M, Lyon T D, Fell G S. 1997. Nickel metabolism in humans investigated with an oral stable isotope. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66(3), 616–621. doi:10.1093/ajcn/66.3.616

Pavlíková D, Balík J, Tlustoš P. 2007. Effect of Cadmium Content in Soil and Crop Rotation on Cadmium Accumulation in Plant Biomass. *Ecological Chemistry and Engineering*, 14(3-4): 363-369

Phipps T; Tank s L; Wirtz J. et al. 2002. Essentiality of nickel and homeostatic mechanisms for its regulation in terrestrial organisms; *Environ. Rev.* 10, 209–261

Pizent A, Tariba B, Zivkovic T. Reprodukční toxicita kovů u mužů. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2012; 63:35–46.

Potravinářská komora České republiky. 2019. Cecharovní normy: Modý mák. Potravinářská komora České republiky Available from <https://www.cecharovninormy.cz/index.php/cecharovni-normy/270-modry-mak> (accessed November 2023)

Potravinářská komora České republiky. 2022. Cechovní normy: Bělosemenný mák. Potravinářská komora České republiky Available from <https://www.cehovninormy.cz/index.php/cehovni-normy/270-modry-mak> (accessed November 2023)

Poznanović Spahić M M, Sakan s M, Glavaš-Trbić B M, Tančić P I, Škrivanj s B, Kovačević J R, Manojlović D D. 2019. Natural and anthropogenic sources of chromium, nickel and cobalt in soils impacted by agricultural and industrial activity (Vojvodina, Serbia). *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 54(3), 219-230.

Procházka P, Smutka L. 2012. Czech Republic as an Important Producer of Poppy Seed. *Agris on-line Papers in Economics and Informatics 4*: (35-47)

Quantin C, Ettler V, Garnier J, Šebek O. 2008. Sources and extractibility of chromium and nickel in soil profiles developed on Czech serpentinites. *Comptes Rendus Geoscience*, 340(12), 872-882.

Rahimzadeh M R, Rahimzadeh M R, Kazemi S, Moghadamnia a A. 2017. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian journal of internal medicine*, 8(3), 135.

Rondevaldova J, Quiao M A, Drabek O, Dajcl, J, Dela Pena-Galanida G D, Leopardas v E, Kokoska L. 2023. Mineral composition of seaweeds and seagrasses of the Philippines. *Phycologia*, 62(3), 217-224.

Sabolová M. 2020. Role máku ve výživě člověka. *Výživa a potraviny 1/2020*: 8-12

Scott-Fordsmand J J. 1997. Toxicity of nickel to soil organisms in Denmark. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 148, 1.

Sharma CP. 2006. *Plant Micronutrients: Roles, Responses, and Amelioration of Deficiencies*; Science Publishers, Enfield, NH

Schaumlöffel D. 2012. Nickel species: analysis and toxic effects. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26(1), 1-6.

Schmidt M & Goebeler M. 2011. Nickel allergies: paying the Toll for innate immunity. *Journal of molecular medicine*, 89, 961-970.

Six L & Smolders E. 2014. Future trends in soil cadmium concentration under current cadmium fluxes to European agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 485, 319-328.

Skoog D A, Holler F J, Nieman T A. 2005. *Principles of Instrumental Analysis*, 5th Edition, Thomson Asia Pte Ltd., Singapore City,

Štranska I, Skalický M, Novak J, Matyasova E, Hejnak V. 2012. Analysis of selected poppy (*Papaver somniferum* L.) cultivars: Pharmaceutically important alkaloids, *Industrial Crops and Products*, 41, January 2013, Pages 120- 126. Available from <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.018> (accessed February 2024)

Šalamon I., 1995. Heavy metals and their accumulation in poppy varieties (In Slovak). Current Issues recovery Agrokomplex. In Proceedings of the year 1995 from scientific conference with international participation], pp. 326-329.

Šalamon I; Fejer J. 2011. Content of heavy metals in poppy seeds (*Papaver somniferum* L.). *Advances in Environmental Biology*, 496-501.

SZPI. 2023. Kontrolní činnost SZPI. Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Brno. Available from <https://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?prn=1&baf=0&nid=11314&docid=1002118&chnum=1&i> (accessed November 2023)

Thompson J, Bannigan J. Kadmiu: toxické účinky na reprodukční systém a embryu. *Reprod Toxicol*. 2008; 25:304–15.

Thompson M & Walsh, J N. 1989. *Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry*. 1. Springer New York, NY. ISBN 978-1-4613-0697-9

Thyssen J P & Menné T. 2010. Metal Allergy a Review on Exposures, Penetration, Genetics, Prevalence, and Clinical Implications. *Chemical research in toxicology*, 23(2), 309-318.

Tiryaki S, Okan O T, Malkocoglu A, Deniz I. 2013. The Use of Some Vegetable Oils as Wood Finishing Substances in Furniture Industry. *International Caucasian Forestry Symposium*

Tlustoš P, Balík J, Pavlíková D, Száková J. 1997. The Uptake of Cadmium, Zinc, Arsenic and Lead by Chosen Crops. *Rostlinná Výroba [Plant Production]*, 43(10): 487-494.

U.S. Geological Survey. 2024. Mineral commodity summaries 2024: U.S. Geological Survey, 212 p., available from <https://doi.org/10.3133/mcs2024> (accessed February 2024)

UNODC. 2023. United Nations Office on Drugs and Crime: Myanmar Opium Survey 2022: Cultivation, Production, and Implications. UNODC, Bangkok. Available from https://www.unodc.org/roseap/uploads/documents/Publications/2023/Myanmar_Opium_Survey_2022.pdf (accessed november 2023)

Vašák J. 2010. Mák. 1. Praha: Powerprint,. ISBN 978-80-904011-8-1.

Vejvodová K, et al. 2022. Assessment of potential exposure to As, Cd, Pb and Zn in vegetable garden soils and vegetables in a mining region. *Scientific Reports*, 12.1: 13495.

Vlk R, Kosek Z, Šimek P. 2009. Odrůdy máku ze společného katalogu EU - výnosy a spektrum alkaloidů. *Prosperující olejniný 65: Sborník konference s mezinárodní účastí. Kralupy nad Vltavou: JH & C, 2009, s. 74–78. ISBN 978-80-213-2012-3.*

Waisberg M, Black WD, Chan DY, Hale BA. 2005. The effect of pharmacologically altered gastric pH on cadmium absorption from the diet and its accumulation in murine tissues. *Food Chem Toxicol.* ;43:775–82.

WHO. 2011. Safety evaluation of certain food additives and contaminants in food. Prepared by the Seventy-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Geneva, World Health Organization (WHO Food Additives Series, No. 64); pp 305–380; <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v64je01.pdf>

WHO. 2019. Preventing disease through healthy environments: exposure to cadmium: a major public health concern (No. WHO/CED/PHE/EPE/19.4. 3). World Health Organization.

WHO. 2021. Nickel in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality Geneva: World Health Organization

Yazici L. 2022. Influence of different sowing times on yield and biochemical characteristics of different opium poppy (*Papaver somniferum* L.) genotypes. *Journal of King Saud University-Science*, 34(8), 102337.

Yoshihisa Y & Shimizu T. 2012. Metal allergy and systemic contact dermatitis: an overview. *Dermatology research and practice*, 2012.

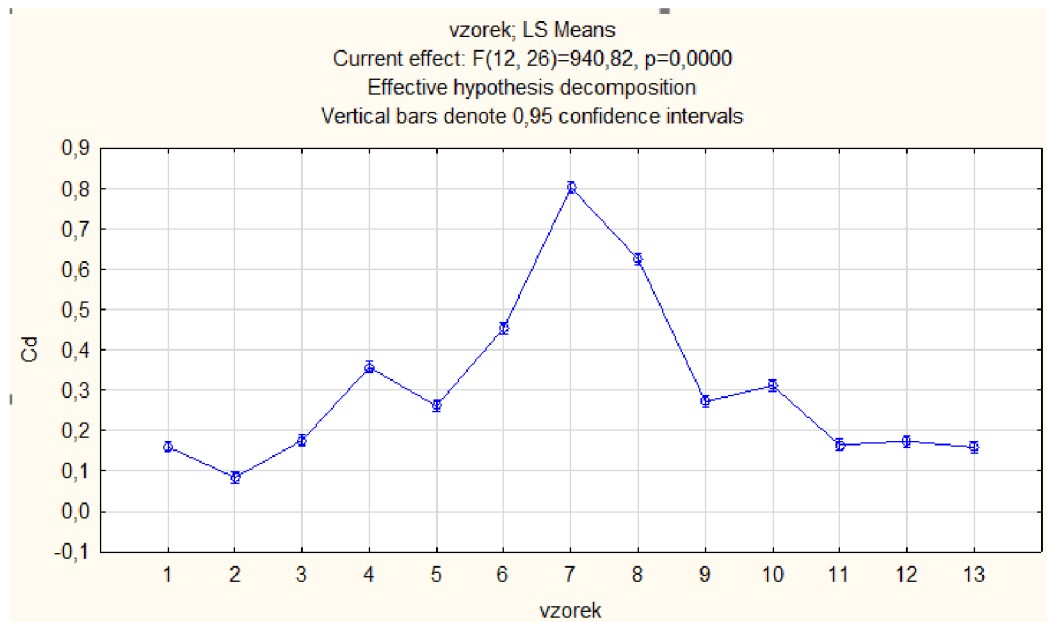
Zambelli B & Ciurli S. 2013. Nickel and human health. Interrelations between essential metal ions and human diseases, 321-357.

Zhao J, Shi X, Castranova V, Ding M. 2009. Occupational toxicology of nickel and nickel compounds. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 28(3).

Zhao L, Islam R, Wang Y, Zhang X, Liu LZ. 2022. Epigenetic Regulation in Chromium-, Nickel- and Cadmium-Induced Carcinogenesis. *Cancers (Basel)*. Nov 23;14(23):5768. doi: 10.3390/cancers14235768. PMID: 36497250; PMCID: PMC9737485.

9 Samostatné přílohy

ANOVA pro kadmium napříč vzorky



Příloha 1: krabicový graf pro kadmium

Univariate Tests of Significance for Cd (Spreadsheet3)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3,697801	1	3,697801	26617,03	0,00
vzorek	1,568456	12	0,130705	940,82	0,00
Error	0,003612	26	0,000139		

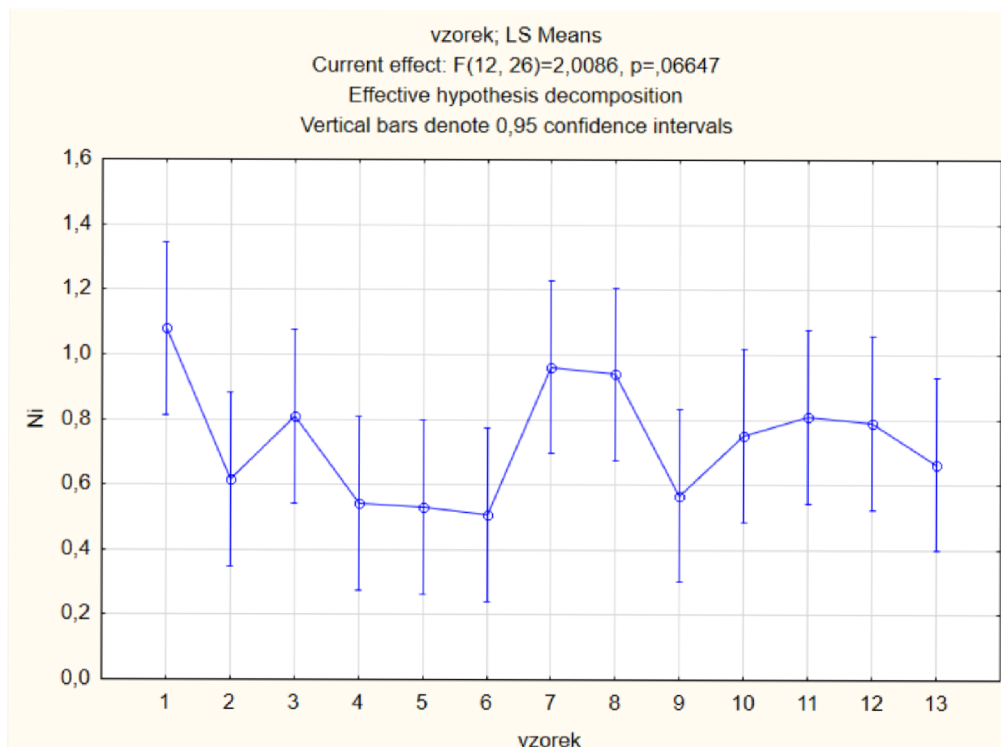
Příloha 2: ANOVA

Scheffe test; variable Cd (Spreadsheet3)
Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = ,00014, df = 26,000

Cell No.	vzorek	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}
1	1	,16030	,08394	,17587	,35724	,26160	,45475	,80256	,62522	,27213	,31174	,16471	,17411	,15881
2	2	0,000201	0,000201	0,995862	0,000000	0,000001	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	1,000000	0,998656	1,000000
3	3	0,995862	0,000009	0,000009	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000004	0,000000	0,999843	1,000000
4	4	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000004	0,000003	0,000000	0,000000	0,000033	0,089612	0,000000	0,000000	0,000000
5	5	0,000001	0,000000	0,000030	0,000004	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,999914	0,039640	0,000003	0,000021	0,000001
6	6	0,000000	0,000000	0,000000	0,000003	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
7	7	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
8	8	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
9	9	0,000000	0,000000	0,000004	0,000033	0,999914	0,000000	0,000000	0,000000	0,222832	0,000000	0,000003	0,000000	0,000000
10	10	0,000000	0,000000	0,000000	0,089612	0,039640	0,000000	0,000000	0,000000	0,222832	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
11	11	1,000000	0,000081	0,999843	0,000000	0,000003	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,999975	1,000000	0,996489
12	12	0,998656	0,000012	1,000000	0,000000	0,000021	0,000000	0,000000	0,000000	0,000003	0,000000	0,999975	1,000000	0,996489
13	13	1,000000	0,000274	0,990753	0,000000	0,000001	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	1,000000	0,996489	

Příloha 3: Post-hoc Scheffeho test

ANOVA pro nikl



Příloha 4: krabicový graf pro nikl

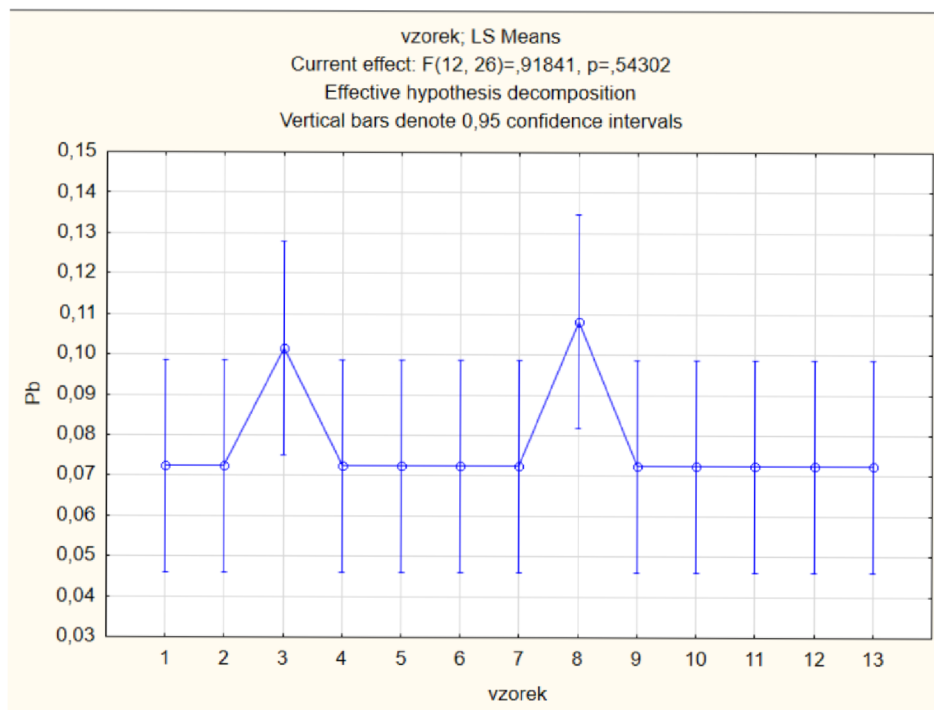
Univariate Tests of Significance for Ni (Spreadsheet3)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	21,14489	1	21,14489	419,5004	0,000000
vzorek	1,21492	12	0,10124	2,0086	0,066466
Error	1,31053	26	0,05040		

Příloha 5: ANOVA

Scheffe test; variable Ni (Spreadsheet3)														
Probabilities for Post Hoc Tests														
Error: Between MS = ,05040, df = 26,000														
Cell No.	vzorek	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)
1	1	1,0799	0,871522	0,998268	0,723337	0,697359	0,634322	1,000000	0,999998	0,780202	0,989791	0,998258	0,996719	0,936968
2	2	0,871522	1,000000	0,999939	1,000000	1,000000	1,000000	0,983868	0,990724	1,000000	0,999999	0,999939	0,999980	1,000000
3	3	0,998268	0,999939	1,000000	0,998457	0,997753	0,995010	0,999996	0,999999	0,999409	1,000000	1,000000	1,000000	0,999997
4	4	0,723337	1,000000	0,998457	1,000000	1,000000	1,000000	0,932886	0,954149	1,000000	0,999872	0,998465	0,999250	1,000000
5	5	0,697359	1,000000	0,997753	1,000000	1,000000	1,000000	0,920468	0,944530	1,000000	0,999784	0,997765	0,998862	0,999999
6	6	0,634322	1,000000	0,995010	1,000000	1,000000	1,000000	0,885855	0,916773	1,000000	0,999349	0,995033	0,997245	0,999994
7	7	1,000000	0,983868	0,999996	0,932886	0,920468	0,885855	1,000000	0,956411	0,999853	0,999996	0,999984	0,995635	
8	8	0,999998	0,990724	0,999999	0,954149	0,944530	0,916773	1,000000	0,971738	0,999955	0,999999	0,999997	0,997863	
9	9	0,780202	1,000000	0,999409	1,000000	1,000000	1,000000	0,956411	0,971738	1,000000	0,999967	0,999413	1,000000	
10	10	0,989791	0,999999	1,000000	0,999872	0,999784	0,999349	0,999853	0,999955	0,999967	1,000000	1,000000	1,000000	
11	11	0,998258	0,999939	1,000000	0,998465	0,997765	0,995033	0,999996	0,999999	0,999413	1,000000	1,000000	1,000000	
12	12	0,996719	0,999980	1,000000	0,999250	0,998862	0,997245	0,999984	0,999997	0,999742	1,000000	1,000000	1,000000	
13	13	0,936968	1,000000	0,999997	1,000000	0,999999	0,999994	0,995635	0,997863	1,000000	1,000000	0,999997	0,999999	

Příloha 6

Olovo



Příloha 7

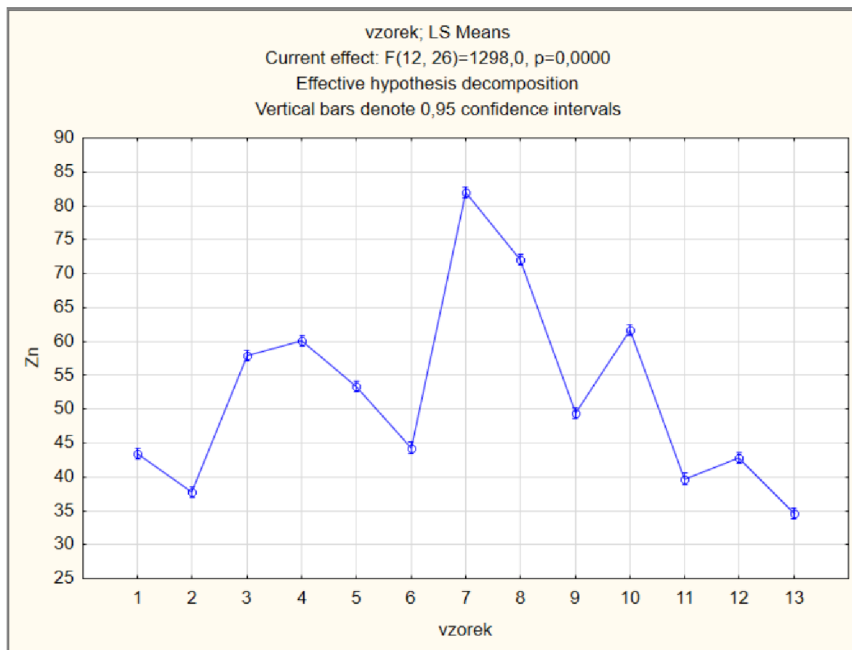
Univariate Tests of Significance for Pb (Spreadsheet3)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0,233206	1	0,233206	471,2306	0,000000
vzorek	0,005454	12	0,000455	0,9184	0,543022
Error	0,012867	26	0,000495		

Příloha 8

Scheffe test, variable Pb (Spreadsheet3)														
Probabilities for Post Hoc Tests														
Error: Between MS = ,00049, df = 26,000														
Cell No.	vzorek	{1} 0,7232	{2} 0,7232	{3} 1,0154	{4} 0,7232	{5} 0,7232	{6} 0,7232	{7} 0,7232	{8} 1,0824	{9} 0,7232	{10} 0,7232	{11} 0,7232	{12} 0,7232	{13} 0,7232
1	1		1,000000	0,996079	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,977180	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
2	2	1,000000		0,996079	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,977180	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
3	3	0,996079	0,996079		0,996079	0,996079	0,996079	0,996079	1,000000	0,996079	0,996079	0,996079	0,996079	0,996079
4	4	1,000000	1,000000	0,996079		1,000000	1,000000	1,000000	0,977180	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
5	5	1,000000	1,000000	0,996079	1,000000		1,000000	1,000000	0,977180	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
6	6	1,000000	1,000000	0,996079	1,000000	1,000000		1,000000	0,977180	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
7	7	1,000000	1,000000	0,996079	1,000000	1,000000	1,000000		0,977180	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
8	8	0,977180	0,977180	1,000000	0,977180	0,977180	0,977180	0,977180		0,977180	0,977180	0,977180	0,977180	0,977180
9	9	1,000000	1,000000	0,996079	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,977180		1,000000	1,000000	1,000000	1,000000
10	10	1,000000	1,000000	0,996079	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,977180	1,000000		1,000000	1,000000	1,000000
11	11	1,000000	1,000000	0,996079	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,977180	1,000000	1,000000		1,000000	1,000000
12	12	1,000000	1,000000	0,996079	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,977180	1,000000	1,000000	1,000000		1,000000
13	13	1,000000	1,000000	0,996079	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,977180	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	

Příloha 9

Zinek



Příloha 10

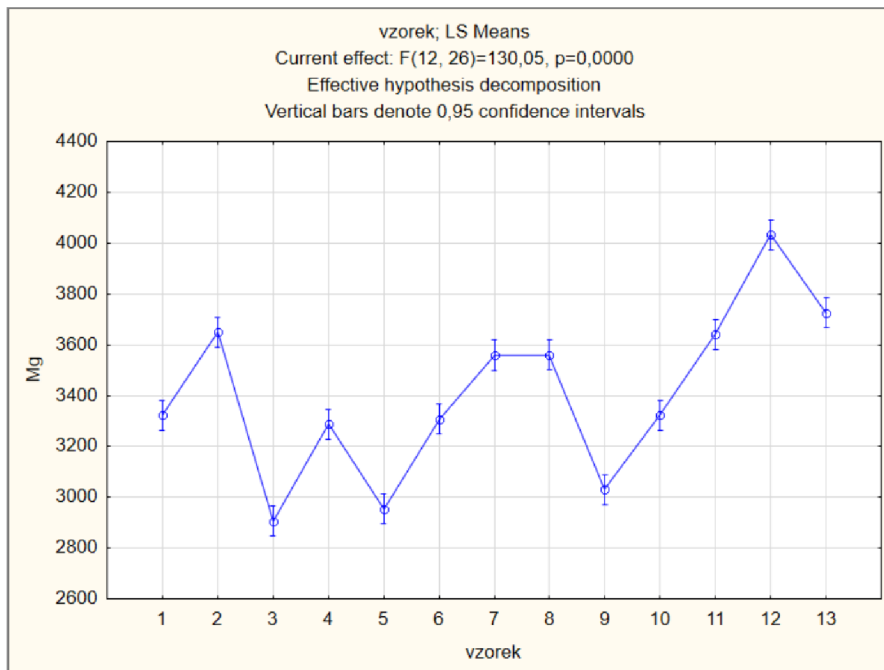
Univariate Tests of Significance for Zn (Spreadsheet3)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	106397,2	1	106397,2	232404,9	0,00
vzorek	7130,7	12	594,2	1298,0	0,00
Error	11,9	26	0,5		

Příloha 11

Scheffe test: variable Zn (Spreadsheet3)														
Probabilities for Post Hoc Tests														
Error: Between MS = ,45781, df = 26,000														
Cell No.	vzorek	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}
1	1	43,461	37,748	57,875	60,080	53,400	44,277	81,980	72,065	49,367	61,663	39,723	42,757	34,614
2	2	0,000002	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,998229	0,000000	0,000000	0,000001	0,000000	0,002067	0,999588	0,000000
3	3	0,000000	0,000000	0,000000	0,262178	0,000145	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,001727	0,000000	0,000000	0,000000
4	4	0,000000	0,000000	0,262178	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,751320	0,000000	0,000000	0,000000
5	5	0,000000	0,000000	0,000145	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000712	0,000000	0,000000	0,000000
6	6	0,998229	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000016	0,000000	0,000109	0,797070
7	7	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
8	8	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
9	9	0,000001	0,000000	0,000000	0,000000	0,000712	0,000016	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
10	10	0,000000	0,000000	0,001727	0,751320	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
11	11	0,002067	0,426184	0,000000	0,000000	0,000000	0,000109	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,023890	0,000015
12	12	0,999588	0,000022	0,000000	0,000000	0,000000	0,797070	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,023890	0,000000
13	13	0,000000	0,017089	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000015	0,000000	0,000000

Příloha 12

Hořčík



Příloha 13

Univariate Tests of Significance for Mg (Spreadsheet3)
Sigma-restricted parameterization
Effective hypothesis decomposition

Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	452981675	1	452981675	183239,3	0,00
vzorek	3857839	12	321487	130,0	0,00
Error	64274	26	2472		

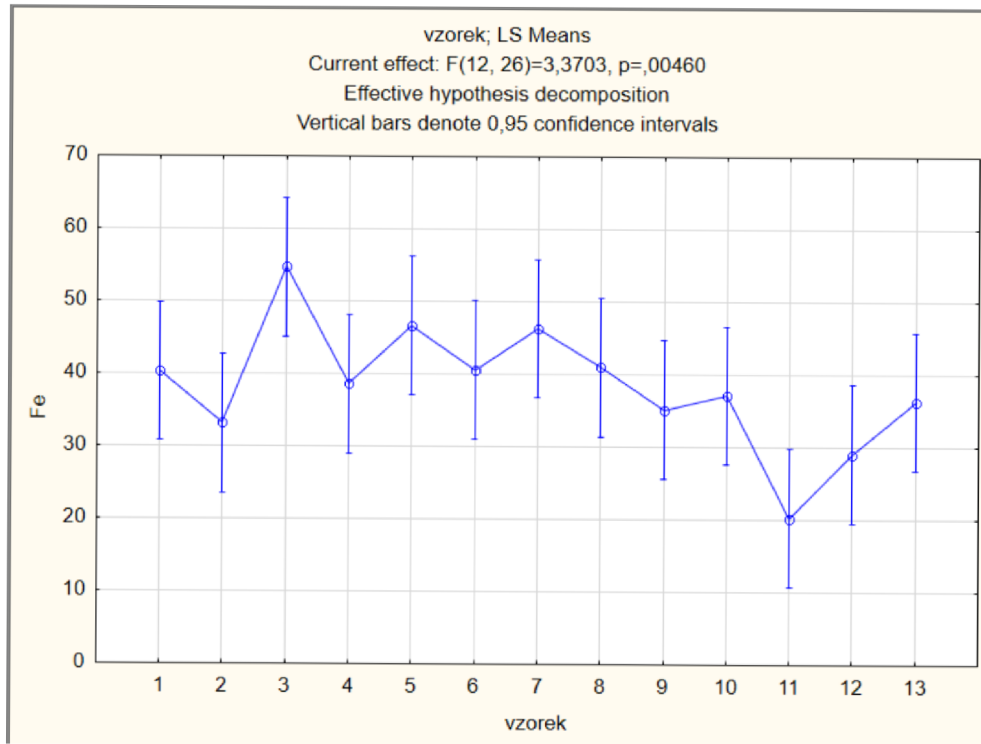
Příloha 14

Scheffe test; variable Mg (Spreadsheet3)
Probabilities for Post Hoc Tests
Error: Between MS = 2472,1, df = 26,000

Cell No.	vzorek	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}
1	1													
2	2	0,000168	0,000168	0,000002	0,999994	0,000022	1,000000	0,013043	0,012291	0,000899	1,000000	0,000242	0,000000	0,000004
3	3	0,000002	0,000000	0,000000	0,000031	0,000000	0,000082	0,948144	0,953204	0,000000	0,000167	1,000000	0,000010	0,982874
4	4	0,999994	0,000031	0,000012	0,000120	0,000120	1,000000	0,002479	0,002329	0,004895	0,999994	0,000045	0,000000	0,000001
5	5	0,000022	0,000000	0,999790	0,000120	0,000045	0,000045	0,000000	0,000000	0,985564	0,000022	0,000000	0,000000	0,000000
6	6	1,000000	0,000082	0,000005	1,000000	0,000045	0,000045	0,006479	0,006096	0,001863	1,000000	0,000117	0,000000	0,000002
7	7	0,013043	0,948144	0,000000	0,002479	0,000000	0,006479	1,000000	0,000000	0,000000	0,012909	0,972703	0,000000	0,223104
8	8	0,012291	0,953204	0,000000	0,002329	0,000000	0,006096	1,000000	0,000000	0,000000	0,012164	0,975838	0,000000	0,232695
9	9	0,000899	0,000000	0,664460	0,004895	0,985564	0,001863	0,000000	0,000000	0,000000	0,000909	0,000000	0,000000	0,000000
10	10	1,000000	0,000167	0,000002	0,999994	0,000022	1,000000	0,012909	0,012164	0,000909	0,000240	0,000000	0,000000	0,000004
11	11	0,000242	1,000000	0,000000	0,000045	0,000000	0,000117	0,972703	0,975838	0,000000	0,000240	0,000000	0,000007	0,964977
12	12	0,000000	0,000010	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000007	0,000441
13	13	0,000004	0,982874	0,000000	0,000001	0,000000	0,000002	0,223104	0,232695	0,000000	0,000004	0,964977	0,000441	

Příloha 15

Železo



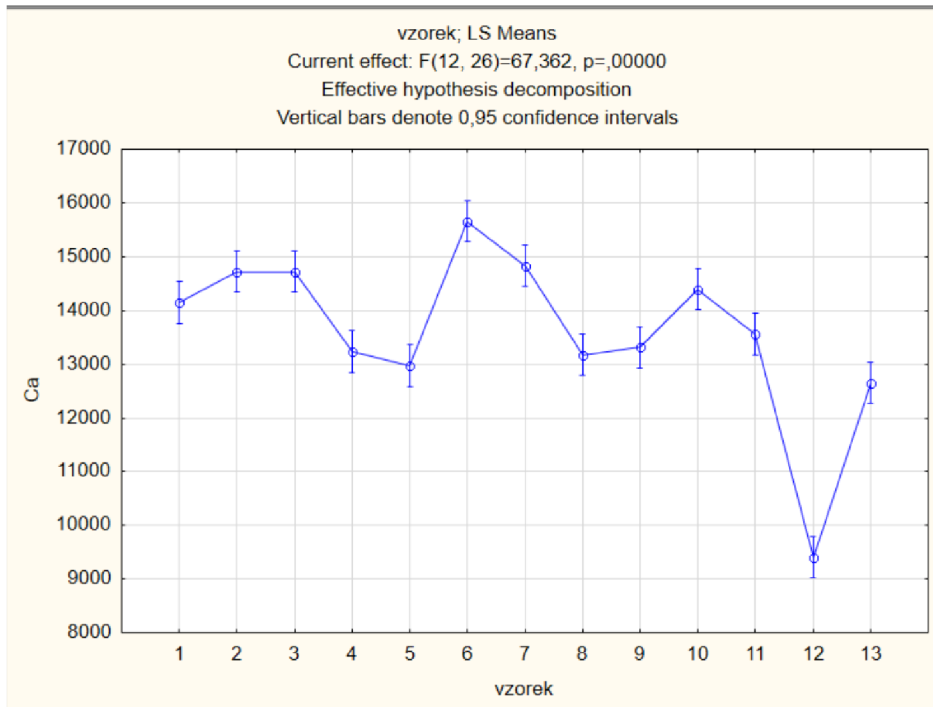
Příloha 16

Univariate Tests of Significance for Fe (Spreadsheet3) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	57486,96	1	57486,96	888,6494	0,000000
vzorek	2616,34	12	218,03	3,3703	0,004600
Error	1681,95	26	64,69		

Příloha 17

Scheffe test; variable Fe (Spreadsheet3) Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between MS = 64,690, df = 26,000														
Cell No.	vzorek	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}
1	1	40,327	33,192	54,693	38,577	46,666	40,554	46,294	40,959	35,181	37,144	20,245	29,031	36,248
2	2	0,999921	0,999921	0,951212	1,000000	0,999978	1,000000	0,999989	1,000000	0,999998	1,000000	0,666088	0,992874	1,000000
3	3	0,951212	0,564705	0,564705	0,999996	0,969643	0,999890	0,975566	0,999807	1,000000	1,000000	0,977730	1,000000	1,000000
4	4	1,000000	0,999996	0,894538	0,894538	0,999730	0,956509	0,999571	0,964918	0,705415	0,826329	0,037233	0,291447	0,774484
5	5	0,999978	0,969643	0,999730	0,999707	0,999707	1,000000	0,999820	1,000000	1,000000	1,000000	0,781366	0,998485	1,000000
6	6	1,000000	0,999890	0,956509	1,000000	0,999985	0,999985	1,000000	0,999993	0,991763	0,998520	0,251676	0,821618	0,996552
7	7	0,999989	0,975566	0,999571	0,999820	1,000000	0,999993	0,999997	0,999997	0,993830	0,998995	0,270705	0,841488	0,997541
8	8	1,000000	0,999807	0,964918	1,000000	0,999993	1,000000	0,999997	0,999992	1,000000	1,000000	0,621297	0,988620	0,999999
9	9	0,999998	1,000000	0,705415	1,000000	0,991763	0,999996	0,993830	0,999992	0,999992	1,000000	0,935894	0,999984	1,000000
10	10	1,000000	1,000000	0,826329	1,000000	0,998520	1,000000	0,998995	1,000000	1,000000	1,000000	0,859659	0,999698	1,000000
11	11	0,666088	0,977730	0,037233	0,781366	0,251676	0,650130	0,270705	0,621297	0,935894	0,859659		0,999326	0,899081
12	12	0,992874	1,000000	0,291447	0,998485	0,821618	0,991529	0,841488	0,988620	0,999984	0,999698	0,999326		0,999911
13	13	1,000000	1,000000	0,774484	1,000000	0,996552	1,000000	0,997541	0,999999	1,000000	1,000000	0,899081	0,999911	

Příloha 18



Příloha 19

Univariate Tests of Significance for Ca (Spreadsheet3)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	7,212120E+09	1	7,212120E+09	68106,05	0,000000
vzorek	8,560039E+07	12	7,133366E+06	67,36	0,000000
Error	2,753281E+06	26	1,058954E+05		

Příloha 20

Scheffe test; variable Ca (Spreadsheet3)														
Probabilities for Post Hoc Tests														
Error: Between MS = 1059E2, df = 26,000														
Cell No.	vzorek	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)
1	1	14144,	14724,	14724,	13230,	12970,	15662,	14829,	13177,	13313,	14394,	13561,	9401,4	12654,
2	2	0,952268	0,952268	0,952268	0,486315	0,144555	0,015936	0,858300	0,397469	0,634192	0,999983	0,950224	0,000000	0,019254
3	3	0,952268	1,000000		0,018816	0,002865	0,445606	1,000000	0,012971	0,033342	0,999687	0,154607	0,000000	0,000268
4	4	0,486315	0,018816	0,018816		0,999974	0,000018	0,008903	1,000000	1,000000	0,152890	0,999667	0,000000	0,954197
5	5	0,144555	0,002865	0,002865	0,999974		0,000003	0,001305	0,999998	0,999520	0,030293	0,944739	0,000000	0,999796
6	6	0,015936	0,445606	0,445606	0,000018	0,000003		0,631033	0,000013	0,000034	0,083703	0,000214	0,000000	0,000000
7	7	0,858300	1,000000	1,000000	0,008903	0,001305	0,631033		0,006068	0,016138	0,995429	0,083518	0,000000	0,000122
8	8	0,397469	0,012971	0,012971	1,000000	0,999998	0,000013	0,006068		1,000000	0,113098	0,998558	0,000000	0,977909
9	9	0,634192	0,033342	0,033342	1,000000	0,999520	0,000034	0,016138	1,000000		0,237390	0,999985	0,000000	0,886724
10	10	0,999983	0,999687	0,999687	0,152890	0,030293	0,083703	0,995429	0,113098	0,237390		0,630395	0,000000	0,003163
11	11	0,950224	0,154607	0,154607	0,999667	0,944739	0,000214	0,083518	0,998558	0,999985	0,630395		0,000000	0,498023
12	12	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000		0,000000
13	13	0,019254	0,000268	0,000268	0,954197	0,999796	0,000000	0,000122	0,977909	0,886724	0,003163	0,498023	0,000000	

Příloha 21