

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Dominika Machová

STANOVENÍ MĚDI A ZINKU VE VZORCÍCH MEDU

Determination of copper and zinc in honey  
samples

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha 2022

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 18. srpna 2022.

## Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Jakubovi Hraníčkoví, Ph.D. za odborné vedení, přátelský přístup a všestrannou pomoc při vypracovávání této bakalářské práce. Ráda bych také poděkovala své rodině za podporu a trpělivost během mého bakalářského studia.

## Abstrakt

Tato bakalářská práce je věnována stanovení mědi a zinku ve vzorcích medu. Prvkové analýze byly podrobeny vzorky šestnácti medů květového, medovicového a smíšeného původu. Medy pocházely z různých oblastí Česka a Slovenska. Vzorky byly připraveny rozmícháním přibližně 5-6 g medu ve stabilizačním roztoku obsahujícím kyselinou dusičnou. Pro stanovení prvků byla zvolena metoda atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací. Byla provedena optimalizace parametrů metody, a také byly vytvořeny kalibrace pro stanovení obou prvků. Následně byly proměřené všechny připravené vzorky medu. Bylo zjištěno, že koncentrace prvků v analyzovaných medech je pod detekčními limity metody. Proto bylo nutné přistoupit k využití citlivější metody, kterou je hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Detekční limity této metody již stanovení mědi a zinku umožňovaly. Zjištěná koncentrace zvolených prvků se pohybovala u mědi od  $0,050 \pm 0,0009$  do  $0,832 \pm 0,0057$   $\mu\text{g/g}$  medu a u zinku od  $0,210 \pm 0,0029$  do  $3,658 \pm 0,0662$   $\mu\text{g/g}$  medu. Průměrná koncentrace mědi byla  $0,287$   $\mu\text{g/g}$  medu a zinku byla  $0,907$   $\mu\text{g/g}$  medu. Z dosažených výsledků bylo patrné, že vyšší zastoupení obou prvků vykazují obvykle medy medovicového původu, což bylo předpokládáno na základě dostupné literatury.

## Klíčová slova

atomová absorpční spektrometrie, plamenová atomizace, hmotnostní spektrometrie, indukčně vázané plazma, měď, zinek, med

## Abstract

This bachelor thesis is focused on the determination of copper and zinc in various honey samples. Sixteen honey samples were gathered to undergo elemental analysis. Those honey samples were of floral, honeydew and mixed origin and were collected from different areas of Czechia and Slovakia country. The samples were prepared by dissolving approximately 5-6 g of honey in a stabilizing solution with nitric acid. For determination of previously mentioned elements an Atomic absorption spectrometry with flame atomization was used. After optimalization of the method and measurement of calibrations, attempt to determinate copper and zinc in all honey samples was made. Unfortunately, it was found that concentrations of both elements were under detection limits of this method. So, more sensitive method for determination was used. It was a Mass spectrometry with inductively coupled plasma. Detection limits of this method were lower and it was possible to determinate concentration of copper and zinc in all honey samples. The concentration of copper was established to be from  $0,050 \pm 0,0009$  to  $0,832 \pm 0,0057$   $\mu\text{g/g}$  of honey and of zinc from  $0,210 \pm 0,0029$  to  $3,658 \pm 0,0662$   $\mu\text{g/g}$  of honey. The average copper concentration was  $0,287$   $\mu\text{g/g}$  of honey and of zinc  $0,907$   $\mu\text{g/g}$  of honey. The results show that the higher concentration of both elements was found in the honeydew honey samples. It was confirmed by results in other public studies.

## Key words

atomic absorption spectrometry, flame atomization, mass spectrometry, inductively coupled plasma, copper, zinc, honey

# Obsah

1	Úvod.....	9
1.1	Cíle práce.....	9
2	Teoretická část.....	10
2.1	Med .....	10
2.2	Charakteristika mědi .....	13
2.3	Charakteristika zinku .....	14
2.4	Atomová absorpční spektrometrie.....	15
2.5	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.....	18
2.6	Prvková analýza medu .....	20
3	Experimentální část.....	23
3.1	Přístroje a pomůcky .....	23
3.2	Chemikálie.....	23
3.3	Vzorky.....	23
3.4	Pracovní postup .....	24
3.5	Zpracování naměřených dat .....	27
3.6	Základní charakteristiky analytické metody .....	29
4	Výsledky a diskuze .....	31
4.1	Atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací.....	31
4.1.1	Optimalizace pracovních parametrů .....	31
4.1.2	Kalibrace .....	35
4.1.3	Stanovení mědi a zinku.....	36
4.2	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.....	36
4.1.4	Kalibrace .....	37
4.1.5	Stanovení mědi a zinku.....	39
	Závěr .....	41
	Použitá literatura.....	42

## Seznam zkratk a symbolů

<i>A</i>	absorbance
AAS	atomová absorpční spektrometrie
amu	atomová hmotnostní jednotka
ANOVA	analýza rozptylu
$c_{\text{Cu}}$	koncentrace mědi, $\mu\text{g dm}^{-3}$
$c_{\text{Cu/Zn}}$	stanovená koncentrace mědi nebo zinku vztažená na navážku medu, $\mu\text{g/g}$
<i>CI</i>	konfidenční interval
$c_n$	naměřená koncentrace, $\mu\text{g dm}^{-3}$
$c_{\text{Zn}}$	koncentrace zinku, $\mu\text{g dm}^{-3}$
C&RT	analýzy pomocí klasifikačních a regresních stromů
EDL	bezelektrodové výbojky
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
$\varepsilon$	molární absorpční koeficient, $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$
F-AAS	atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací
<i>h</i>	vertikální poloha hořáku, mm
HCL	výbojka s dutou katodou
<i>I</i>	záření, které absorpčním prostředím prošlo
$I_0$	záření, které do absorpčního prostředí vstoupilo
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-OES	emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
INAA	instrumentální neutronová aktivační analýza
<i>l</i>	horizontální poloha hořáku, mm délka kyvety, cm
LDA	lineární diskriminační analýza
LDR	lineární dynamický rozsah
LIBS	spektrometrie laserem buzeného plazmatu
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
$\lambda$	vlnová délka, nm
<i>m</i>	hmotnost navážky vzorku medu, g
MS	hmotnostní spektrometrie

$m/z$	poměr hmotnosti ( $m$ ) a náboje ( $z$ )
$n$	počet opakování měření
$p$	průtok acetyleny, l/min
PCA	analýza hlavních komponent
$R$	korelační koeficient
RF zdroj	radiofrekvenční zdroj
$RSD$	relativní směrodatná odchylka
$SD$	směrodatná odchylka
$T$	transmitance
$u$	úhel natočení hořáku, °
$\bar{x}$	aritmetický průměr
$\tilde{x}$	medián
$x_i$	hodnota $i$ -tého měření
$z$	značka koeficientu konfidenční úrovně

# 1 Úvod

Med je významným přírodní produktem nejen z hlediska výživy, ale i díky jeho zdraví prospěšným vlastnostem. Pořizovací cena kvalitního medu není nízká, a proto je med prodejci často falšován. Z toho důvodu je vyvíjena snaha o nalezení metod, kterými lze jednoduše určit původ a kvalitu medů. Jednou z variant, jak můžeme botanický nebo geologický původ medu určit, je stanovením obsahu některých minerálních látek, které med v malých koncentracích obsahuje. V této práci byla pozornost zaměřena na stanovení dvou zvolených prvků, mědi a zinku.

## 1.1 Cíle práce

Cílem této bakalářské práce bylo stanovení koncentrace vybraných prvků ve vzorcích medu. Zvolenými prvky byly měď a zinek. Cílem bylo také porovnat zastoupení mědi a zinku v květových a medovicových medech a přispět tím k obecnému srovnání minerálního složení těchto druhů medu. Stanovení bylo provedeno pomocí metod plamenové atomové absorpční spektrometrie a pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Dále bylo cílem optimalizovat podmínky stanovení jednotlivých prvků pro obě metody tak, aby bylo dosaženo co nejcitlivějšího stanovení s co nejmenším šumem.

## 2 Teoretická část

### 2.1 Med

Med je přírodní sladidlo, které je produkováno včelou medonosnou (*Apis mellifera L.*). Včelu medonosnou řadíme mezi zástupce blanokřídlého hmyzu [1]. Je to sociální hmyz, který má v České republice status hospodářského zvířete [2]. Včely jsou důležitými opylovači, mají značný vliv na zemědělskou produkci a s ní spojenou ekonomiku [1]. Mezi včelí produkty se kromě medu řadí také mateří kašička, propolis, vosk nebo včelí jed. Všechny tyto produkty jsou hojně využívány např.: v potravinářství, kosmetice nebo farmacii.

Obecně se rozlišují dva typy medu, květový a medovicový. Květový med vzniká zpracováním nektaru získaného z květů rostlin. Medovicový med vzniká zpracováním medovice, což je míza rostlin, která je částečně zpracována, a poté po kapkách vylučována hmyzem, jako jsou např.: mšice (*Aphis L.*), mery (*Psylloidea*) nebo červci (*Coccoidea*), na povrch různých stromů [3]. Nektar (nebo medovice) je cukerný vodný roztok, který obsahuje bílkoviny, aminokyseliny, řadu minerálních látek, vitamínů a kyselin. Také v něm lze nalézt malé množství aromatických látek a barviv [4]. Jeho přesné složení záleží na tom, z jakého zdroje nektar nebo medovice pochází. Analýzou složek medu lze určit zdroj medu, jeho kvalitu, a dokonce určit z jaké lokality med pochází. Toho lze však dosáhnout jen tehdy, pokud máme k dispozici dostatečné množství vzorků a z nich získaných dat, pro porovnání výsledků analýzy [5], [6], [7], [8].

#### *Tvorba medu*

Nektar či medovici včely nasávají a ukládají do medných váčků. V nich nektar a medovici dopraví do úlu, kde je dále zpracovávají. Aby vznikl med, musí dojít v úlu k chemickým a fyzikálním změnám této suroviny. Včela nektar (nebo medovici) opakovaně nasává a vypouští, přičemž do něj vpravuje výměšky svých slinných a hltanových žláz [3]. Tyto žlázy obsahují různé enzymy, jako je diastáza nebo invertáza, které štěpí škrob a složité cukry, na cukry jednodušší. Hlavně sacharózu na

různé monosacharidy a disacharidy [4]. Při přeměně nektaru a medovice na med dochází k snížení obsahu vody ve vznikajícím medu, a díky tomu, k jeho zahuštění. Ideální množství vody v medu je okolo 15 až 20 % [3]. K vypaření vody pomáhá zvýšená teplota a důmyslná ventilace v úlu. Med včely dále skladují v buňkách plástů, kde ho uzavřou voskovým víčkem. V buňkách med zraje, a díky víčku, mu je zamezeno reabsorpci vody, je totiž hygroskopický. K určení zralosti medu používají včelaři refraktometr, pokud je zralý, mohou ho začít stáčet [3].

### ***Složení medu***

Med můžeme považovat za nasycený roztok cukru, průměrný obsah glukózy je okolo 69 g na 100 g vody a 380 g fruktózy na 100 g vody v medu [4]. V medu se vyskytují i další sacharidy, ale jejich množství je, oproti glukóze a hlavně fruktóze, mnohem menší. Cukerné složení medu se může v hotovém medu s časem měnit. Postupně se v něm zmenšuje podíl fruktózy a glukózy, což je způsobeno kyselým prostředím, které katalyzuje jejich přeměnu na redukující sacharidy [4].

Med považujeme za kyselý produkt. Jeho průměrné pH je kolem 3,9 [4]. Medovicové medy mají pH obvykle vyšší. Nejvíce zastoupenou kyselinou v medu je kyselina glukonová, med dále obsahuje např.: kyselinu octovou, citronovou, máselnou, mravenčí, mléčnou, maleinovou, jablečnou, jantarovou nebo šťavelovou. Glukonová kyselina má schopnost tvořit cheláty a v potravinářství se používá jako regulátor kyselosti [4].

V medu se také, ve stopovém množství, vyskytuje řada minerálních látek. Větší obsah minerálních látek obvykle vykazují medy medovicového původu [6], [9]. Zastoupení prvků v medu původem z nektaru bývá 0,1-0,2 % a původem z medovice okolo 1% [9]. Kromě mědi a zinku, které jsou stanovovány v této práci, můžeme v medu najít: draslík, fosfor, hliník, hořčík, mangan, kadmium, nikl, vápník, nebo také železo a mnoho dalších prvků [4], [10], [11].

Proteinů a aminokyselin, mimo enzymy, se ve zralém medu nachází jen málo [12]. Nejvíce zastoupenou aminokyselinou v medu je prolin. V malém množství se v něm vyskytují i další aminokyseliny: alanin, arginin, glutamin, asparagin, histidin, isoleucin, leucin, lysin, fenylalanin, serin, threonin, tyrosin a valin. Pokud zjistíme

zastoupení jednotlivých aminokyselin v medu, můžeme tuto informaci využít k identifikaci původu medu [13], [14]. Proteiny a aminokyseliny v medu mohou být, jak rostlinného, tak živočišného původu. Za jejich největší zdroj se však považuje pyl [15]. Květové medy obsahují více pylu, a tedy aminokyselin, zatímco medovicové obsahují více minerálních látek. Tuky se v medu vyskytují ve velmi malém množství [6].

Med dále obsahuje také stopové množství vitamínů jako je riboflavin (vit. B<sub>2</sub>), kyselina pantothenová, niacin (vit. B<sub>3</sub>), thiamin (vit B<sub>1</sub>), pyridoxin (vit. B<sub>6</sub>) nebo kyselina askorbová (vit. C). Z výše uvedených vitamínů je kyselina askorbová v medu zastoupena nejvíce [4].

### ***Med a lidské zdraví***

Včelí med lidé konzumují již po několik tisíc let. Nejprve hlavně jako nutriční zdroj a dobře dostupné sladidlo, později si lidé začali všimnout i jeho dalších, zdravích prospěšných, vlastností [16]. Již od pradávna se med využívá na ošetřování ran, popálenin nebo infekcí. V dnešní době se ve zdravotnictví setkáváme převážně se sofistikovanějšími léčivy a med a výrobky z něj jsou spíše jako podpůrná domácí léčba. To se ale postupně mění a na trhu se již vyskytují přípravky z medu, které jsou určeny přímo pro lékařskou praxi. Například různé gázy a gely, které jsou napuštěné medem, a jsou určeny pro hojení ran a popálenin.

Včelí med má antibakteriální, protizánětlivé, antioxidační a fungicidní účinky. Snižuje růst některým Gram(+) a Gram(-) bakterií, a dle některých studií, pomáhá při léčbě gastritidy a žaludečních vředů. Antibakteriální účinky se připisují hlavně peroxidu vodíku obsaženému v medu [17], [18].

Mezi antioxidanty, které se obvykle v medu vyskytují se řadí; glukosa-oxidáza, kataláza, kyselina askorbová, různé flavonoidy, deriváty karotenoidů nebo fenolové kyseliny [19]. Med se dále používá na podporu léčby při poranění v ústní dutině nebo nemocí dýchacích cest. Jsou zkoumané pozitivní účinky medu proti nádorovému bujení [20].

Při konzumaci medu se hladina cukru v krvi udržuje po delší dobu stabilní a dochází k jeho postupnému odbourávání. To z medu dělá vhodnější a šetrnější sladidlo, než je např. běžně používaná sacharóza [21]. Kromě využití jako doplňku

stravy a sladidlo, se med využívá hojně i na výrobu kosmetických produktů. Vyrábí se z něj různé krémy, pleťové vody, šampony, mýdla a mnoho dalších.

## 2.2 Charakteristika mědi

Měď (lat. Cuprum) je ušlechtilý kov nacházející se ve 4. periodě a 11. skupině periodické tabulky. Značku má Cu a řadí se mezi přechodné prvky. Protonové číslo mědi je 29 a relativní molekulovou hmotnost má 63,54. Vyskytuje se v oxidačním stavu 0, I, II (III a IV, jen vzácně). Stabilní má dva izotopy:  $^{63}\text{Cu}$  (69,2 %) a  $^{65}\text{Cu}$  (30,8 %) [22]. Měď je měkký, kujný, vysoce tepelně a elektricky vodivý kov [23]. Je jen málo reaktivní. V bezkyslíkatém prostředí se nerozpouští v neoxidujících kyselinách. Reaguje s horkou kyselinou sírovou, a také s kyselinou dusičnou o různých koncentracích. S mnoha zředěnými kyselinami reaguje za přístupu vzduchu. Typický zelený povlak, které můžeme vidět na různých městských střechách je hydroxid-síran měďnatý nebo hydroxid-uhličitan měďnatý (označované jako měděnka) [23]. Což zvyšuje její odolnost vůči korozi. Měď je také rozpustná ve vodném roztoku amoniaku [23].

V přírodě se vyskytuje jen zřídka. V malém množství můžeme měď najít ryzí, v zemské kůře, ale nejvíce se vyskytuje ve sloučeninách. Ryzí měď je zbarvená do červena, ve sloučeninách jako  $\text{Cu}^{2+}$  má často modrou nebo zelenou barvu [24]. Převážně se vyskytuje jako součást sulfidů (chalkopyrit:  $\text{CuFeS}_2$ , chalkosin:  $\text{Cu}_2\text{S}$ ) a minerálů (kuprit:  $\text{Cu}_2\text{O}$ , malachit:  $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$  nebo azurit:  $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ ) [24].

Měď je také součástí různých slitin, známými příklady jsou mosaz (měď a zinek) nebo bronz (měď a cín) [23]. Významná sloučenina mědi je modrá skalice ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ). Používá se na výrobu barev, impregnaci dřeva, jako postřik na hubení škůdců, pro přípravu galvanických lázní a mnoho dalších. Ionty mědi jsou toxické pro mnohé bakterie a viry, používají se v algicidních přípravcích, proti sinicím a řasám [24].

Je biogenním prvkem. Doporučená denní dávka pro člověka je 1-2 mg [24]. V lidském organismu se vyskytuje jako součást metaloenzymů. Jako je cytochromoxidáza, kde se měď vyskytuje společně s železem. V krvi je měď součástí proteinu ceruloplasminu [25]. Také pomáhá proteinům stabilizovat jejich vyšší struktury. Nedostatek mědi může způsobovat zpomalený duševní vývoj jedince, také

zasáhnout negativně do metabolismu cukrů, způsobovat poruchy tvorby a snížit kvalitu kostí a zapříčinit vypadávání vlasů nebo anemii. Naopak nadměrný příjem může vyvolat poškození jater a ledvin nebo, stejně jako její nedostatek, anemii. Akutní otrava mědi způsobuje zvracení, průjemy a žaludeční křeče a v krajních případech i smrt [24]. Měď je biogenním prvkem i mnoha zvířat a rostlin. V hemolymfě měkkýšů je důležitý jako součást krevního proteinu hemocyaninu schopného vázat kyslík. Obsahuje dva atomy mědi. Jejich funkce je analogická s funkcí železa v hemoglobinu [23][23].

### 2.3 Charakteristika zinku

Zinek (lat. Zincum) je neušlechtilý kov nacházející se ve 4. periodě a 12. skupině periodické tabulky. Značku má Zn a řadí se mezi přechodné prvky. Protonové číslo zinku je 30 a relativní molekulovou hmotnost má 65,38. Vyskytuje se v oxidačním stavu 0, I, II [23]. Stabilních má 5 izotopů. Nejhojněji zastoupený je  $^{64}\text{Zn}$  (48,6 %), poté  $^{66}\text{Zn}$  (27,9 %),  $^{68}\text{Zn}$  (18,8 %) a v malém množství  $^{67}\text{Zn}$  (4,1 %) s  $^{70}\text{Zn}$  (0,6 %) [26]. Je středně měkký, křehký, tažný a za zvýšené teploty kujný kov modrobílé barvy. Poměrně dobře vede elektrický proud a teplo. Je mnohem reaktivnější než měď. Pro svůj vysoký redukční potenciál je hojně využíván jako redukční činidlo. Rozpouští se ve zředěných kyselinách, a také v zásadách. Z minerálních kyselin uvolňuje plynný vodík. Na vzduchu je stálý, pokrývá se vrstvou oxidu (oxidace na ZnO). Používá se jako ochrana proti korozi (pozinkování) [27].

V přírodě se vyskytuje převážně ve sloučeninách, typicky jako  $\text{Zn}^{2+}$ . Jako ryzí, jen zřídka. Zinek je 24. nejčastěji se vyskytujícím prvkem v zemské kůře. Nejběžnější jsou sirné sloučeniny zinku, jako je sfalerit ( $\text{ZnS}$ ) a jeho polymorfní modifikace wurtzit. Další sloučeninou zinku je např. smithsonit/kalamín ( $\text{ZnCO}_3$ ) [23].

Zinek také tvoří slitiny, nejznámější je již zmíněná mosaz (měď a zinek). Další slitinou zinku je např. alpaka (Ni, Cu a Zn). Zinková běloba ( $\text{ZnO}$ ) je bílá krystalická látka hojně používaná jako pigment. Jedna z významných sloučenin zinku je bílá skalice ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Používá se v galvanotechnice, a také pro přípravu dalších sloučenin zinku [23].

Zinek je, stejně jako měď, biogenním prvkem. Jeho doporučená denní dávka pro člověka je okolo 15 mg [26]. V lidském těle se vyskytuje jako součást okolo 300

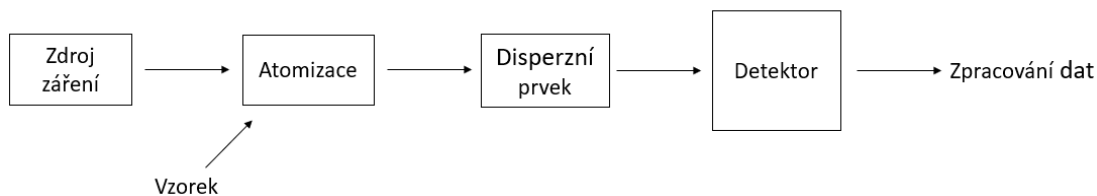
proteinů a řadí se mezi stopové prvky [25]. Nedostatek zinku se projevuje špatným stavem pokožky, zhoršením hojících procesů, popraskáním koutků úst, náchylností k infekcím, poruchami růstu, zhoršením vnímání pachů a chutí, šeroslepostí a celkovou slabostí a únavou [26], [28]. Prodávají se různé šampóny obsahující zinek a krémy na zlepšení stavu vlasů a pokožky. Zinek se také hojně užívá jako doplněk stravy v tabletách. Naopak nadbytek zinku se projevuje bolestí hlavy, horečkou, zvracením, průjmem nebo bolestí svalů. Chronický nadbytek zinku může způsobit anemii [26]. Při vstřebávání zinku dochází ve střevech ke kompetici mědi a zinku, to může vést k deficitu mědi nebo poškození slinivky břišní. Dále může zinek způsobovat tzv. horečku slévačů kovů, kdy se slévači nadýchají zinkových par. Projevuje se dráždivým kašlem, pachuť kovu v ústech, bolestí svalstva a podrážděním dýchacích cest. Může dojít až k plicnímu edému [27].

V přírodě se zinek vyskytuje hlavně jako součást sloučenin. Ve vodě sedimentuje na dně. Rozpuštěný ve vodě je jen v malém množství, větší rozpustnost vykazuje ve vodách o kyselějším pH [27].

## **2.4 Atomová absorpční spektrometrie**

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je optická analytická metoda, pomocí které lze identifikovat prvky a kvantifikovat obsah prvků v analyzovaném vzorku. Pro volné atomy prvků platí, že v plynném stavu absorbují záření těch vlnových délek, které samy vyzařují při emisi [29], [30]. Měření je úbytek elektromagnetického záření, způsobený jeho absorpcí atomizovanými prvky. Při absorpci záření dojde k přechodu valenčních elektronů prvků na vyšší energetické hladiny. Tedy k excitaci prvku. Tato energie může být následně vyzářena v podobě fotonů, což se nazývá atomová fluorescence [29]. AAS je vhodná pro anorganickou prvkovou analýzu, převážně kovových prvků a lze s ní stanovit okolo 70 prvků periodické tabulky [30]. Atomová absorpční spektrometrie vznikla v 50. letech 20. století [29], [30]. Od té doby byla tato metoda postupně vylepšována a stala se jednou z nejpoužívanějších spektrometrických metod v analytické chemii.

Měření AAS probíhá pomocí přístroje atomového absorpčního spektrometru. Ten se skládá ze 4 hlavních částí; zdroje primárního záření, atomizátoru, disperzního prvku a detektoru [29]. Schéma přístroje je uvedeno na obr. 2.1.



Obr. 2.1: Schéma atomového absorpčního spektrometru. Převzato a upraveno [29].

### ***Atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací***

Jedná se o atomovou absorpční spektrometrii, která využívá plamenový hořák jako způsob atomizace analyzovaných prvků. Zkratkou ji označujeme jako F-AAS. Metoda se užívá pro stanovení koncentrací prvků v řádu  $\text{mg dm}^{-3}$  až  $\mu\text{g dm}^{-3}$  [30], [31].

### ***Princip metody a instrumentace***

Absorbance, kterou pomocí atomového spektrometru měříme, je přímo úměrná koncentraci prvku ve vzorku, což lze vyjádřit Lambertovým-Beerovým zákonem:

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot l$$

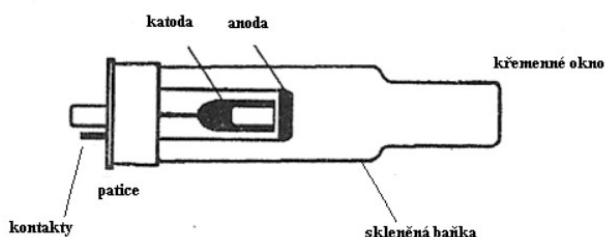
$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0}$$

kde  $A$  je absorbance,  $\lambda$  je vlnová délka (nm),  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient ( $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ),  $c$  je koncentrace ( $\text{mol dm}^{-3}$ ) a  $l$  je šířka kyvety (cm).

Absorbance je též záporný dekadický logaritmus transmitance ( $T$ ). Transmitanci lze vyjádřit jako podíl záření, které projde absorpčním prostředím ( $I$ ) ku záření, které do absorpčního prostředí vstoupilo ( $I_0$ ). Naměřené hodnoty absorbancí se porovnávají s kalibrační přímkou sestavenou ze standardních roztoků prvku, který analyzujeme ve vzorku [31].

Metoda využívá toho, že atomy pohlcují záření, které sami vyzáří. Jako zdroje primárního elektromagnetického záření se v AAS využívá nejčastěji výbojek s dutou katodou (HCL). Běžnější jsou výbojky jednovprvkové, ale existují i víceprvkové

výbojky, ty jsou však méně citlivé a mají kratší životnost. Výbojky jsou plněné inertním plynem a skládají se z anody, která produkuje elektrony a ty interagují s dutou katodou. Tato katoda je vyrobena ze stanovovaného prvku. Výbojka produkuje fotony, které mají odpovídající vlnovou délku pro prvek stanovovaný v roztoku vzorku a toto elektromagnetické záření je proto ve vzorku absorbováno (po jeho atomizaci). Fotonásobič spektrometru detekuje toto zeslabení záření, které převede na odpovídající absorbanci. Na výbojku se vkládá potenciálový spád (200-600 V) a její žhavicí proud se pohybuje mezi 3-25 mA [29]. Schéma HCL je na obrázku níže (Obr. 2.2).



Obr. 2.2: Schéma výbojky s dutou katodou. Převzato [29].

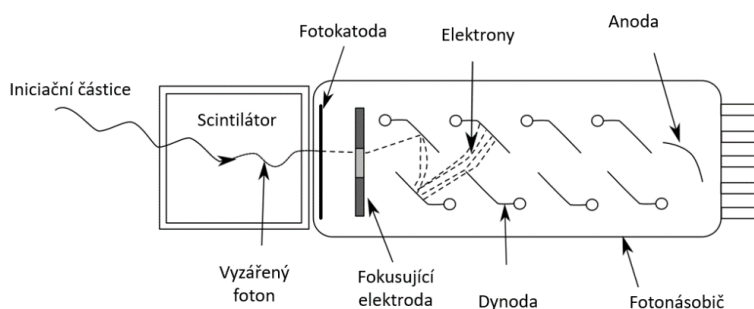
Výbojka s dutou katodou není jediným zdrojem záření využívaným v AAS, dalšími jsou například bezelektrodové výbojky (EDL) nebo tzv. super lampy [31].

Aby primární elektromagnetické záření mohlo interagovat s atomy ve vzorku, je nutné tyto atomy uvést do plynného atomárního stavu. Nejprve je vzorek převeden na aerosol pomocí zmlžovače, například pneumatického. Tento aerosol je poté smíšen s palivem a okysličovadlem a je převeden k hořáku, kde hořením dojde k vypaření a atomizaci prvku ve vzorku. Jako palivo se nejčastěji využívá acetylen v různém poměru s okysličovadlem, což je buď vzduch, nebo pro dosažení vyšší teploty plamene oxid dusný ( $N_2O$ ) [29]. Teplota plamen při atomizaci obvykle dosahuje hodnot mezi 1700-3150 °C. Jako palivo mohou být dále použity například vodík nebo propan [30].

Skrz absorpční prostředí je paprsek veden do disperzního prvku, kde je izolován příslušný spektrální interval a paprsek záření je nasměrován do detekčního zařízení. Jako disperzní prvek se nejčastěji používá monochromátor. Ten je schopný ze spektra izolovat vhodný spektrální interval o určité vlnové délce odpovídající sledovanému

prvku. Často používané monochromátory jsou Ebertovo, Czerny-Turner nebo Echelle monochromátor [29], [31].

Záření o určité vlnové délce dopadá na detektor. Nejběžnějšími detektory v AAS jsou fotonásobiče. Fotonásobiče pracují tak, že na jejich světlo-citlivou vrstvu dopadá záření, které z ní svojí energií vyrazí elektrony. Tomuto efektu se říká fotoelektrický jev. Tyto elektrony jsou urychleny elektrickým polem směrem k dynodám (elektrodám). Při dopadu elektronu se z dynod fotonásobiče vyrážejí sekundární elektrony, které dále dopadají na další dynody a vyrážení z nich další a další elektrony. Takto se mnohonásobně zmnoží počet elektronů a jejich elektrický signál je dále zpracován do digitální formy [31]. Schéma fotonásobiče je na obrázku níže (Obr. 2.3).

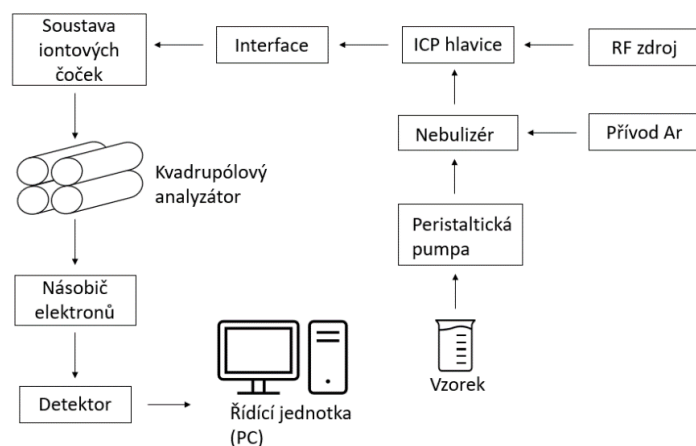


Obr. 2.3: Schéma fotonásobiče. Převzato a upraveno [32].

## 2.5 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je velmi citlivá analytická metoda, která spojuje indukčně vázané plazma (účinný atomizační/ionizační zdroj) s hmotnostní spektrometrií. Je vhodná pro detekci a stanovení kovů převážně ve vodných roztocích vzorků. Pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) lze stanovit více než 70 prvků periodické tabulky, dokonce můžeme určit i izotopové zastoupení jednotlivých prvků, což je jedna z výhod této metody. Metoda ICP-MS vznikla v 70. letech 20. století a je hojně využívána i v posledních dvaceti letech. Je možná s ní detekovat analyty, které jsou ve vzorku zastoupeny v koncentracích  $\mu\text{g dm}^{-3}$  a při velmi nízkém šumu pozadí až  $\text{ng dm}^{-3}$  [30]. Také umožňuje stanovit více prvků najednou, což urychluje analýzu vzorů. Prvky, pro

kteře tato metoda není vhodná a pomocí ICP-MS se nestanovují jsou: vzácné plyny, halogeny, kyslík, dusík a uhlík. Dále si při práci s ICP-MS musíme být vědomi možných hmotnostních interferencí. Ve vzniklém plazmatu mohou vznikat kromě  $\text{Ar}^+$  iontu i některé molekulové ionty, jako jsou např.  $\text{Ar}_2^+$ ,  $\text{O}_2^+$  nebo  $\text{N}_2^+$ . Právě tyto molekulové ionty může detektor nesprávně určit jako ionty některých lehčích stanovovaných prvků a dojde k zvýšení detektorové odezvy. K tomuto jevu dochází i za tvorby molekulových iontů s vyššími molekulovými hmotnostmi, a to hlavně při použití organických rozpouštědel pro přípravu vzorku. Tento problém lze vyřešit zvolením jiného izotopu prvku k analýze, pro který předpokládáme menší počet interferencí. Nevýhodnou metody ICP-MS je její náročnost na instrumentaci a s tím pojící se vysoká pořizovací cena. Výhody je rychlost a citlivost metody [29], [30]. Schéma ICP-MS je uvedeno na následujícím obrázku (Obr. 2.4.).



Obr. 2.4: Schéma přístroje ICP-MS. Vypracováno podle [29].

### ***Princip metody a instrumentace***

Metoda ICP-MS je vhodná pro práci s kapalnými, plynnými i pevnými vzorky [30]. Převážně se upřednostňuje analýza vzorků kapalných. Při práci s kapalnými vzorky je nutné nejprve vzorek rozpustit ve vhodně zvoleném rozpouštědle. Vzorek je pomocí peristaltické pumpy veden do nebulizéru, kde je vzorek smíšen s inertním plynem a přeměňován na aerosol. Jako vhodný plyn je nejčastěji využíván argon. Tato směs je dále vedena do mlžné komory, kde jsou větší složky aerosolu odváděny do odpadu a menší složky aerosolu převáděny do plazmové hlavičky

s indukční cívkou. Tam je argon za vysoké teploty, přibližně 6 000 - 8 000 °C, ionizován a vzniká plazma [30]. Kvůli vysoké teplotě, které je vystaven materiál cívky, je cívka chlazená inertním plynem nebo jiným chladicím médiem. Při takto vysoké teplotě se rozpouštědlo vzorku ihned odpaří a jednotlivé vazby molekul ve vzorku zaniknou. Vzniklé ionty prvků jsou nejčastěji ve stavu jedenkrát nabitých kladných iontů,  $M^+$  [29]. Tyto ionty jsou převáděny do kvadrupólového analyzátoru, který pracuje za vakua a tlaku nižším než  $10^{-4}$  Pa. Přejít mezi ICP a MS zajišťuje interface. Ten je nutný pro propojení mezi částí přístroje s atmosférickým tlakem a částí, kde je vakuum [30]. Společně s ionty vznikají v plazmatu různé fotony a neionizované atomy prvků, ty je nutné před samotným kvadrupólovým analyzátozem oddělit. Tyto částice by mohly zvýšit signál detektoru, a tím zvyšovat detekční limity. Oddělení těchto částic lze dosáhnout pomocí iontových čoček, které dopraví nabitě částice do kvadrupólového analyzátoru. Ten je navíc často vychýlen např. v úhlu 90° od optické osy ICP, aby nedošlo k absorpci fotonů a dalších nežádoucích částí v detektoru. K analyzátoru proto doputují jen nabitě částice. Kvadrupólový analyzátor je tvořen čtyřmi tyčemi o délce cca 30-40 cm s průměrem okolo 1 cm. Slouží k oddělení iontů prvků podle jejich poměru hmotnosti a náboje ( $m/z$ ). Dle tohoto poměru lze stanovit, jaký konkrétní prvek se ve vzorku nachází. Jeho rozlišovací schopnost bývá 0,5 až 1 amu. Z kvadrupólového analyzátoru jde proud separovaných iontů do fotonásobiče. Signál vytvořený ve fotonásobiči je dále zpracováván detektorem. Řídící jednotka ze získaných dat sestaví závislost signálu na  $m/z$ . Intenzita jednotlivých signálů je přímo úměrná koncentraci hledaného analytu ve vzorku [29].

## 2.6 Prvková analýza medu

Již bylo publikováno mnoho vědeckých prací, které se věnují prvkové analýze medů. Med z nektaru obvykle obsahuje mezi 0,1-0,2 % prvků a med medovicového původu okolo 1% prvků [9]. Proto je k jeho analýze potřeba metod, kterými lze stanovit stopová množství jednotlivých prvků v hodnotách  $\text{mg kg}^{-1}$  až  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Vhodné a často používané metody pro tuto stopovou analýzu jsou např.: emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) [33], hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) [34]–[36] a atomové absorpční spektrometrie

(AAS) [37]–[39] s různými druhy atomizace, jako je: plamenová (F-AAS) [6] nebo elektrotermická (ET- AAS) [37]. Dále lze využít např. instrumentální neutronové aktivační analýzy (INAA) [8] nebo spektrometrie laserem buzeného plazmatu (LIBS) [40]. Některé vědecké práce kombinují výše zmíněné metody [6], [11], [41]. Příkladem je studie polských medů, kdy Al, B, Cr, Mn a Ni byly stanoveny pomocí ICP-MS a Ca, K, Mg, Na, Cu, Fe a Zn pomocí F-AAS[6]. Je to z toho důvodu, že prvky stanovené pomocí F-AAS bývají v medu ve větší koncentraci. Prvky, které mají v medu běžně největší zastoupení jsou: K, Ca, Na a Mg [9], [35], [41]. Příkladem toxických prvků, které se v medu vyskytují jsou: As, Cd, Pb nebo Sb. Jsou obvykle v koncentracích, které nepřinášejí reálné zdravotní riziko [41]. Vědecké studie si v posledních letech dávají cíl nejen stanovit vybrané prvky v souboru medů, ale také na základě zjištěných jejich koncentrací určit botanický a geografický původ medu. Běžné je kvalitativní a kvantitativní stanovení okolo 15-25 vybraných prvků. Poté jsou některé vyhodnoceny jako významné pro určování kvality medu nebo jeho původu, ať už botanického, či geologického. K určení statisticky významných prvků slouží různé chemometrické techniky. Ve studii z roku 2011 byly rozlišeny vzorky medu medovicového, pohankového (*Fagopyrum esculentum*) a řepkového (*Brassica napus*) původu s přesností 100 %. Ukázalo se, že k rozlišení těchto druhů medu od sebe nejvíce napomáhají data o koncentraci K a Mn. Řepkový med vykazoval nejnižší koncentrace Mn, a proto se odlišoval od ostatních dvou druhů medu a koncentrace K pomohla odlišit medovicový a pohankový med. Studie se též pokusila určit geografický původ medů, kde se nejvíce uplatnilo statistické vyhodnocení koncentrací Al, Mg a Zn. Pro různé druhy medů se dále uplatnily následující kombinace: Mn a Ba, pro pohankový med, Mg a K pro řepkový a Mg, Al s Mn pro med medovicový [7]. V různých studiích se ukázali kombinace statisticky významných prvků různé [8], [41]. Záleží na zemi, z které studie pochází, tamních přírodních faktorech (kontaminaci oblasti chovu včelstva) nebo na zvoleném způsobu statistického vyhodnocení dat atd. Pro určení původu medu je také možné využít kombinaci stanovení prvků v medu s fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Studie souboru 207 řeckých medů využila kvantifikace 14 prvků a 10 fyzikálně chemických parametrů. Vzorky medů byly borovicového (*Pinus*), tymiánového (*Thymus*), jedlového (*Abies*) a pomerančovníkového

(*Citrus sinensis*) původu. Správně bylo určeno 96,1 % vzorků [33]. Chemometrické techniky pomocí, kterých se statisticky vyhodnocují naměřená data, jsou např. lineární diskriminační analýza (LDA) [8], analýzy pomocí klasifikačních a regresních stromů (C&RT) [7], analýza rozptylu (ANOVA), analýzy hlavních komponent (PCA) [41] a další. Správné určení geografického původu medu je momentálně limitováno množstvím vzorků pro statistickou analýzu.

## 3 Experimentální část

### 3.1 Přístroje a pomůcky

- Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (Agilent 7900 ICP-MS, USA) s automatickým dávkovačem SPS 4 a ovládacím softwarem MassHunter)
- Atomový absorpční spektrometr 933 AA (GBC Scientific Equipment, Austrálie) s ovládacím softwarem (GBC Avanta) a využívající výbojky s dutou katodou pro Cu a Zn, (Varian Techtron, Austrálie)
- Přístroj pro přípravu deionizované vody Milli-Q PLUS (Millipore, USA)
- Analytické váhy KERN s přesností na 0,01 g (Kern, Německo)

### 3.2 Chemikálie

- Deionizovaná voda (vodivost 0,055  $\mu\text{S}$ )
- Standardní roztok Zn o koncentraci  $1001 \pm 2 \text{ mg dm}^{-3}$ ,  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  v 0,5 mol  $\text{dm}^{-3}$   $\text{HNO}_3$  (Merck spol. s.r.o., Německo)
- Standardní roztok Cu o koncentraci  $1000 \pm 2 \text{ mg dm}^{-3}$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  v 0,5 mol  $\text{dm}^{-3}$   $\text{HNO}_3$  (Merck spol. s.r.o., Německo)
- Roztok interních standardů Astasol<sup>®</sup>-MIX obsahující Bi, In, Sc, Tb a Y vše o koncentraci 10 mg  $\text{dm}^{-3}$ , matrice 5%  $\text{HNO}_3$  (Analytika spol. s.r.o., ČR)
- Kalibrační roztok Astasol<sup>®</sup> o koncentraci Zn  $1\,000 \pm 2 \text{ mg dm}^{-3}$ , matrice 2%  $\text{HNO}_3$  (Analytika spol. s.r.o., ČR)
- Kalibrační roztok Astasol<sup>®</sup> o koncentraci Cu  $1\,000 \pm 5 \text{ mg dm}^{-3}$ , matrice 2%  $\text{HNO}_3$  (Analytika spol. s.r.o., ČR)
- Zásobní roztok 68%  $\text{HNO}_3$  (Analpure<sup>®</sup>, Analytika s.r.o., ČR)

### 3.3 Vzorky

Vzorky medů, které jsou uvedeny v následující tabulce (Tab. 3.1), byly podrobeny prvkové analýze. Jedná se o medy pocházející z České republiky a ze Slovenska.

Vzorky byly odebrány do plastových centrifugačních zkumavek a uchovávány při laboratorní teplotě.

Tab. 3.1: Seznam vzorků medu.

Označení vzorku	Druh medu	Lokalita
AS-01	smíšený	Nahořany
AS-02	květový	Lučenec
AS-03	květový – luční	Ořechov u Brna
AS-04	smíšený	Myslava
AS-05	medovicový	Malá Ida
AS-06	květový – akátový	Podunajská nížina, Santovka u Levic
AS-07	medovicový	Vysočina, Velké Meziříčí
DM-01	květový	Felbabka, Brdy
DM-02	medovicový	Hořovice, lesopark Dražovka
DM-03	květový	Strašice, Brdy
DM-04	medovicový	Strašice, Brdy
DM-05	květový	Benešovsko
ZH-01	květový	Železné hory, Pardubicko
ZH-02	medovicový	Železné hory, Pardubicko
ZH-03	květový	Železné hory, Pardubicko
ZH-04	květový – lipový	Železné hory, Pardubicko

### 3.4 Pracovní postup

#### *Příprava pomocných roztoků*

Stabilizační roztok pro F-AAS (0,34% HNO<sub>3</sub>) byl připraven smícháním 10 ml koncentrované kyseliny dusičné a 2000 ml deionizované vody. Proplachovací roztok pro ICP-MS (2% HNO<sub>3</sub>) byl připraven smícháním 29,4 ml koncentrované kyseliny dusičné a 1000 ml deionizované vody.

### ***Příprava roztoků (F-AAS)***

Ze standardního roztoku mědi o koncentraci  $1000 \pm 2 \text{ mg dm}^{-3}$  a ze standardního roztoku zinku o koncentraci  $1001 \pm 2 \text{ mg dm}^{-3}$ , byly vhodným ředěním připraveny dva roztoky určené pro optimalizaci metody. Oba roztoky měly koncentraci  $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ . Ředění roztoků bylo provedeno stabilizačním roztokem pro F-AAS do 100ml odměrných baněk.

Ze standardního roztoku mědi o koncentraci  $1000 \pm 2 \text{ mg dm}^{-3}$  byly připraveny kalibrační roztoky o koncentraci: 0,25; 0,50; 1,0; 2,5; 5,0; 10 a  $25 \text{ mg dm}^{-3}$ . Roztoky o nižší koncentraci (0,25-1,0  $\text{mg dm}^{-3}$ ) byly připraveny ředěním roztoku o koncentraci  $10 \text{ mg dm}^{-3}$ , aby byla snížena chyba při pipetování. Ze standardního roztoku zinku o koncentraci  $1001 \pm 2 \text{ mg dm}^{-3}$  byly připraveny kalibrační roztoky o koncentraci: 0,10; 0,25; 0,50; 1,0; 2,5; 5,0 a  $10 \text{ mg dm}^{-3}$ . Roztoky o nižší koncentraci (0,10-1,0  $\text{mg dm}^{-3}$ ) byly připraveny ředěním roztoku o koncentraci  $10 \text{ mg dm}^{-3}$ . Každý z těchto roztoků byl ředěn stabilizačním roztokem pro F-AAS a připraven v 50ml odměrné baňce.

### ***Příprava roztoků (ICP-MS)***

Z roztoku interního standardu, který obsahoval Bi, In, Sc, Tb a Y (všechny prvky o koncentraci  $10 \text{ mg dm}^{-3}$ ) byl připraven roztok o koncentraci  $0,050 \text{ mg dm}^{-3}$ . Roztok byl ředěn 2%  $\text{HNO}_3$  a byl připraven v 50ml odměrné baňce.

Pro kalibraci byla připravena jedna sada roztoků o koncentracích obou prvků, Zn a Cu: 0,0; 1,6; 8,0; 40; 200 a  $1000 \mu\text{g dm}^{-3}$ . Roztoky byly připraveny z kalibračního roztoku Zn o koncentraci  $1000 \pm 2 \text{ mg dm}^{-3}$  a kalibračního roztoku Cu o koncentraci  $1000 \pm 5 \text{ mg dm}^{-3}$ . Roztoky byly vhodně naředěny 2%  $\text{HNO}_3$  a připraveny v 50ml odměrných baňkách.

### ***Příprava vzorků medu (F-AAS, ICP-MS)***

Všechny vzorky medů byly připraveny následovně. Do 50ml plastové centrifugační zkumavky bylo odváženo vždy přibližně 5-6 g medu. Zkumavka byla doplněna stabilizačním roztokem pro F-AAS. Roztok byl přidáván postupně, za průběžného míchání plastovou lžičkou, aby se med rozpustil. Celkem bylo připraveno 16 vzorků medu určených k analýze.

### ***Optimalizace pracovních podmínek (F-AAS)***

Před samotným měření kalibračních roztoků a následně vzorků medu bylo nutné optimalizovat parametry měření atomového absorpčního spektrometru pro stanovení zvolených prvků. Podmínky byly optimalizovány pomocí dvou roztoků, roztoku mědi a roztoku zinku. Oba roztoky měly koncentraci  $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ .

Paprsek primárního elektromagnetického záření by měl ideálně procházet v tzv. mezireakční zóně plamene, kde je nejvyšší koncentrace volných atomů stanovovaného analytu. Toho se dá nejlépe dosáhnout vhodným nastavením hořáku. Optimalizované byly následující parametry: vertikální a horizontální poloha hořáku, průtok acetylenu, úhel natočení hořáku a šířka spektrálního intervalu. Vlnová délka měření (v nm) a napájecí proud výbojky (v mA) byly v obou případech zvoleny automaticky, programem ovládacího softwaru.

### ***Kalibrace (F-AAS)***

Za optimalizovaných podmínek byly proměřeny kalibrační roztoky mědi a zinku. Parametry podmínek jsou uvedeny v tabulce (Tab. 4.1). V dalším měření byly proměřeny tři roztoky zinku o koncentraci 0,0; 0,1 a  $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$  a tři roztoky mědi o koncentraci 0,0; 0,25 a  $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ . V tomto případě byl každý z šesti roztoků proměřen patnáctkrát a jednotlivá měření trvala tři sekundy. Výsledky měření byly použity pro stanovení detekčních limitů metody.

### ***Stanovení koncentrace mědi a zinku (F-AAS)***

Za optimalizovaných podmínek byly proměřeny všechny připravené vzorky.

### ***Měření na ICP-MS***

Nejdříve bylo nutné připravit přístroj ICP-MS na analýzu. K tomu byl využit program Online ICP-MS MassHunter v ovládacím počítači spektrometru. Byly zvoleny vhodné izotopy prvků pro analýzu ( $^{63}\text{Cu}$  a  $^{66}\text{Zn}$ ), a také byl vybrán vhodný interní standard ( $^{45}\text{Sc}$ ). Dále bylo provedeno ladění hmotnostního spektrometru. Experimentální podmínky lze nalézt ve výsledkové části v tabulce (Tab.4.3). Následně byly všechny kalibrační roztoky vloženy do autosampleru a proměřeny. Program

v počítači automaticky vytvořil z naměřených dat kalibrační závislost. Poté byly vloženy do autosampleru všechny roztoky vzorků a proměřeny. Díky předešlé kalibraci byly programem vyhodnoceny koncentrace jednotlivých prvků ve vzorcích medu. Od všech naměřených signálů byly odečítány předem proměřené blanky. Měření kalibračních roztoků i roztoků vzorků bylo provedeno ve dvou módech (v módu bez přídavku kolizního plynu a s přídavkem kolizního plynu helia).

### 3.5 Zpracování naměřených dat

Statistické vyhodnocení experimentálně získaných dat je nedílnou součástí chemické analýzy. Umožňuje nám objektivně určit kvalitu dat a napomáhá jejich interpretaci. Při zpracování experimentální části této práce, byly využity statistické veličiny, které jsou uvedeny v nadcházející části tohoto textu.

*Aritmetický průměr* ( $\bar{x}$ ) je nejpoužívanější způsob odhadu střední hodnoty souboru výsledků opakovaných měření. Lze vypočítat součtem všech výsledků podělený jejich počtem, dle následujícího vzorce

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

, kde  $n$  je počet opakování měření a  $x_i$  hodnota  $i$ -tého měření [30].

*Medián* ( $\tilde{x}$ ) je dalším způsobem výpočtu střední hodnotu souboru výsledků opakovaných měření. Označuje prostřední hodnotu souboru výsledků seřazených vzestupně (nebo sestupně) vedle sebe. Pokud hodnotíme lichý počet výsledků, tak je prostřední hodnota v pořadí medián. Pokud hodnotíme sudý počet výsledků, je mediánem průměr prostředních dvou hodnot souboru. Medián je vhodně použit, pokud soubor výsledků obsahuje odlehlé hodnoty [30].

*Směrodatná odchylka (SD)*: je mírou preciznosti souboru všech naměřených dat. Určuje, jak moc jsou naměřené hodnoty odchýleny od střední hodnoty souboru

(mediánu nebo průměru) a lze ji vypočítat např. pomocí následujícího vzorce, kde  $n-1$  je počet stupňů volnosti a  $(x_i - \bar{x})^2$  označuje odchylku od střední hodnoty pro  $i$ -té měření [30].

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

**Relativní směrodatná odchylka (RSD)** je uváděna častěji než její absolutní hodnota, směrodatná odchylka. Získáme ji podělením směrodatné odchylky střední hodnotou souboru výsledků, např. dle následujícího vzorce.

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}}$$

Relativní směrodatná odchylka je běžně vyjádřena také v procentech ( $RSD\%$ ), v této podobě se také nazývá variační koeficient ( $CV$ ) [30].

**Konfidenční interval (CI)**, také označován jako interval spolehlivosti je interval okolo odhadu střední hodnoty souboru ( $\bar{x}$  nebo  $\tilde{x}$ ) experimentálně dosažených výsledků opakovaného měření. Konfidenční interval se uvádí s určitou konfidenční úrovní. Je totiž s určitou pravděpodobností předpokládáno, že se střední hodnota souboru nachází právě v tomto číselném intervalu. Také se často uvádí v procentech. Pro výpočty v této práci byla zvolena konfidenční úroveň 95 %, která přiřazuje koeficientu  $z$  v následující rovnici hodnotu 1,96 [30]. Výpočet konfidenčního intervalu.:

$$CI = \bar{x} \pm \frac{z \cdot SD}{\sqrt{n}}$$

#### **Výpočet koncentrací mědi a zinku**

V této práci bylo měření prováděno třikrát (není-li uvedeno jinak), jako střední hodnota byl, místo výše uvedeného aritmetického průměru, použit medián. Výsledná koncentrace prvků byla přepočtena na  $\mu\text{g/g}$  medu. Poté byla z relativní směrodatné odchylky vypočítána směrodatná odchylka a z ní konfidenční interval. Konfidenční interval byl zvolen na konfidenční úrovni 95 %, které odpovídá koeficient 1,96.

K výpočtu relativních koncentrací byl použit následující vzorec, kde  $c_{Cu/Zn}$  je stanovená koncentrace mědi nebo zinku v  $\mu\text{g/g}$ ,  $c_n$  je experimentálně naměřená koncentrace v  $\mu\text{g dm}^{-3}$  a  $m$  je hmotnost navážky v g.

$$c_{Cu/Zn} = \frac{c_n \cdot 50}{1000 \cdot m}$$

A k výpočtu odpovídajícímu konfidenčního intervalu byl využit vzorec následující

$$CI = \tilde{x} \pm \frac{\left(\frac{c_{Cu/Zn}}{100} \cdot \%RSD\right) \cdot 1,96}{\sqrt{3}}$$

, kde  $\%RSD$  je experimentálně naměřená relativní směrodatná odchylka v %, 1,96 je koeficient úrovně 95 % a číslo 3 odpovídá počtu opakování měření. Tabulku se stanovenými koncentracemi prvků v medech lze nalézt ve výsledkové části viz. Tab. 4.5.

### 3.6 Základní charakteristiky analytické metody

**Mez detekce (LOD)** vyjadřuje nejmenší koncentraci analytu ve vzorku, kterou lze danou metodou detekovat. Je definována jako koncentrace analytu, které odpovídá signál rovný trojnásobku  $SD$  signálu nulového vzorku (blanku)[29].

**Mez stanovitelnosti (LOQ)** vyjadřuje nejnižší koncentraci analytu ve vzorku, kterou lze pomocí analytické metody stanovit s dostačující přesností. Je definována jako koncentrace analytu, které odpovídá signálu rovného desetinásobku  $SD$  signálu nulového vzorku[29].

**Citlivost** analytické metody je posuzována podle směrnice kalibrační přímky a detekčních mezí (LOD a LOQ) [29].

**Opakovatelnost** vyjadřuje přesnost analýzy prováděné opakovaně jedním analytikem pomocí jedné a té samé metody, na stejném přístroji[29].

Pomocí *lineárního dynamického rozsahu (LDR)* analytické metody lze vyjádřit rozsah koncentrací analytu, které lze metodou stanovit při použití lineární kalibrační závislosti. Jako dolní mez se velmi často používá hodnota LOQ a jako horní mez LDR se běžně používá koncentrace, při které je signál analytu nebo směrnice odchýlena od určitou hodnotu (obvykle 5 %) od linearity [30].

*Korelační koeficient (R)* vyjadřuje sílu lineárního vztahu mezi párovými daty. Jedná se o výběrový korelační koeficient. Dosahuje hodnot od  $-1$  do  $1$ .

## 4 Výsledky a diskuze

V následující části jsou uvedeny a diskutovány výsledky experimentální části práce. Výsledky jsou rozděleny do dvou částí. První (4.1) je věnovaná optimalizaci, kalibraci a stanovení mědi a zinku pomocí atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací. Druhá část (4.2) se týká kalibrace a stanovení prvků pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. V obou částech lze dále nalézt souhrn pracovních parametrů, detekční limity metod a analýzy vzorků medu.

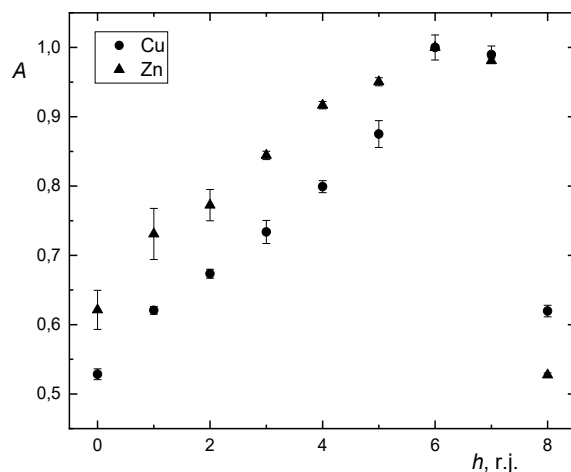
### 4.1 Atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací

#### 4.1.1 Optimalizace pracovních parametrů

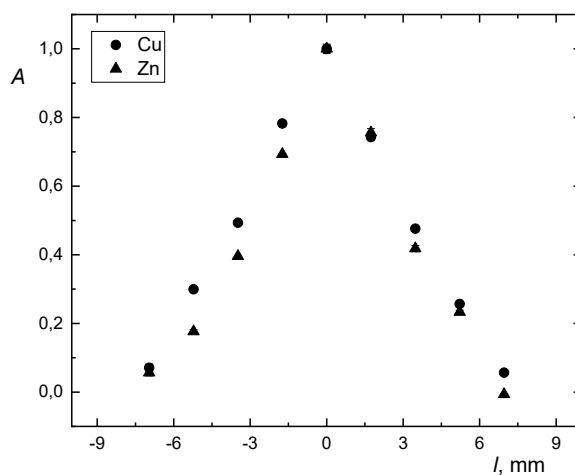
Před měřením kalibračních roztoků a následně samotných vzorků bylo nutné optimalizovat podmínky metody stanovení obou analytů. Optimalizováno bylo celkem pět parametrů: vertikální a horizontální poloha hořáku, úhel natočení hořáku, průtok acetylenu a šířka spektrálního intervalu. Pro optimalizaci byly zvoleny roztoky prvků o koncentraci  $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ . Absorbance vyznačené u grafů všech optimalizací jsou vztažené k hodnotám vykazující největší odezvu (signál) přístroje.

##### *Vertikální poloha hořáku*

Optimální výška hořáku byla stanovena tak, že byla proměřena odezva jednotlivých roztoků prvků pro hodnoty dílků 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7 a 8 stupnice hořáku. Naměřené hodnoty jsou zobrazeny níže v grafu (Obr. 4.1). Z grafu je patrné, že optimální výška paprsku nad hranou hořáku byla shodně pro oba prvky při hodnotě dílku 6 stupnice hořáku. To odpovídá přibližně výšce paprsku 5 mm nad hranou hořáku. Z grafu je dále patrné, že se zvyšující se vzdáleností paprsku od hrany hořáku dochází k pozvolnému poklesu signálu, což odpovídá nižší koncentraci volných atomů v základním stavu v těchto částech plamene.



Obr. 4.1: Graf optimalizace výšky hořáku pro roztoky Cu (●) a Zn (▲) o koncentraci  $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ .



Obr. 4.2: Graf optimalizace horizontální polohy hořáku pro roztoky Cu (●) a Zn (▲) o koncentraci  $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ .

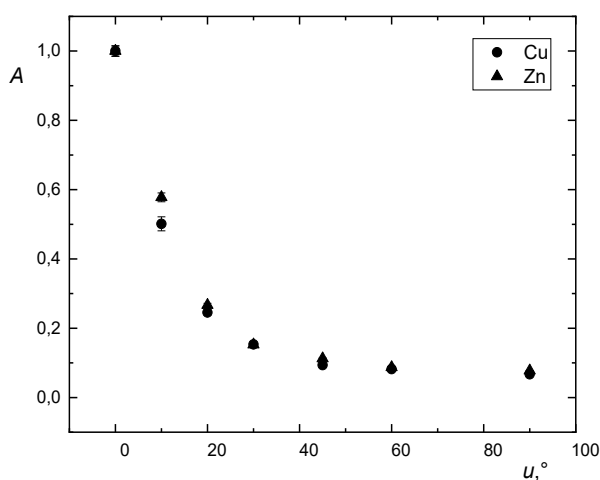
### ***Horizontální poloha hořáku***

Optimální horizontální poloha hořáku byla stanovena následovně. Nejprve byl hořák nastaven do nejkrajnější horizontální polohy, a poté byl kolečkem přístroje hořák posouván po horizontální poloze. Vždy po dvou otočkách o  $360^\circ$  byla proměřena odezva přístroje na jeden z optimalizačních roztoků. Postup byl opakován do té doby, než hořák zastavila druhá krajní poloha. V tu chvíli byl signál přístroje již

nepatrný a bylo jasné, že je plamen příliš vychýlen z místa průchodu paprsku. Vhodná vzdálenost na horizontální ose byla určena pro oba stanovované prvky jako 7 mm od počáteční polohy. Naměřené hodnoty jsou zobrazeny v grafu na obr. 4.2 výše.

### **Úhel natočení hořáku**

Optimální úhel natočení hořáku byl stanoven postupným proměřením odezvy přístroje na optimalizační roztoky při různém natočení hořáku. Postupně byly proměřeny úhly: 0, 10, 20, 30, 45, 60, a 90°. Jako nejvhodnější byl zvolen, pro oba optimalizační roztoky prvků, úhel 0°. Z grafu je patrné, že právě takto natočený hořák poskytuje největší signál přístroje. Naměřené hodnoty jsou zobrazeny v grafu níže (Obr. 4.3).

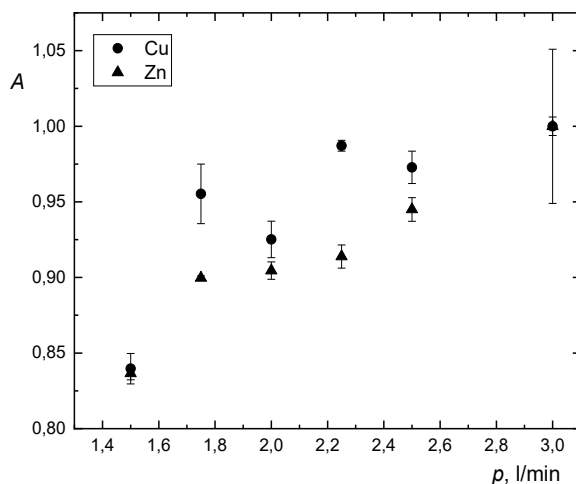


Obr. 4.3: Graf optimalizace úhlu natočení hořáku pro roztoky Cu (●) a Zn (▲) o koncentraci 5,0 mg dm<sup>-3</sup>.

### **Průtok acetyleny**

Optimalizace průtoku acetyleny byla provedena postupným proměřování optimalizačních roztoků při různém průtoku acetyleny. Průtok acetyleny byl postupně zvyšován. Pro optimalizační roztok mědi byly proměřeny hodnoty průtoku: 1,3; 1,5; 1,75; 2,0; 2,25; 2,5 a 3,0 l/min a pro optimalizační roztok zinku: 1,5; 1,75; 2,0; 2,25; 2,5 a 3,0 l/min. Odlišný rozsah hodnot při měření roztoku zinku je dán tím, že při nižším průtoku acetyleny, než je 1,5 l/min plamen hořáku uhasínal. V grafu níže (Obr. 4.4) jsou proto uvedeny výsledky měření obou prvků, jen v rozmezí 1,5-3,0 l/min. Jako

nejvhodnější průtok acetylenu pro měření roztoků mědi i zinku byl zvolen průtok 1,9 l/min. Naměřené hodnoty jsou zobrazeny v následujícím grafu na obr. 4.4.



Obr. 4.4: Graf optimalizace průtoku acetylenu pro roztoky Cu (●) a Zn (▲) o koncentraci  $5 \text{ mg dm}^{-3}$ .

#### **Šířka spektrálního intervalu pro měď a zinek**

Šířka štěrbin byla optimalizována proměřením postupně všech kalibračních roztoků jednotlivých prvků při různé šířce štěrbin. Roztoky mědi měly koncentrace: 0,0; 0,25; 0,50; 1,0; 2,5; 5,0; 10 a  $25 \text{ mg dm}^{-3}$  a roztoky zinku měly koncentrace: 0,0; 0,10; 0,25; 0,50; 1,0; 2,5; 5,0 a  $10 \text{ mg dm}^{-3}$ . Proměřené šířky spektrálního intervalu byly: 1,0; 0,5; 0,3 a 0,2 nm. Jako vhodná byla ze získaných dat zvolena šířka spektrálního intervalu 0,5 nm pro měření obou prvků.

#### **Kalibrace a základní charakteristiky**

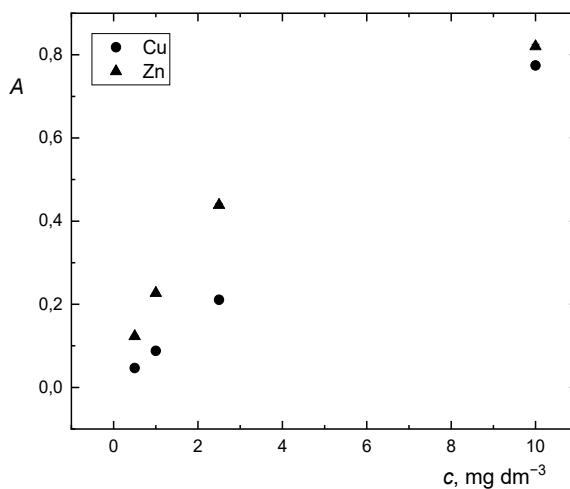
Na základě optimalizace byly zvoleny pracovní parametry pro kalibraci metody a stanovení jednotlivých prvků pomocí F-AAS. Parametry jsou uvedeny v tabulce níže (Tab. 4.1).

Tab. 4.1: Pracovní parametry pro stanovení jednotlivých prvků.

	Cu	Zn
Proud výbojky [mA]	3,0	5,0
Vlnová délka [nm]	324,7	213,9
Šířka spektrálního intervalu [nm]	0,5	0,5
Vertikální poloha hořáku [mm]	5	5
Horizontální poloha hořáku [mm]	0	0
Úhel natočení hořáku [°]	0	0
Průtok acetylenu [l/min]	1,9	1,9

### 4.1.2 Kalibrace

Za již optimalizovaných podmínek byly proměřeny kalibrační roztoky zinku a mědi o koncentracích 0,5; 1,0; 2,5 a 10,0 mg dm<sup>-3</sup>. Z naměřených hodnot byly sestrojeny kalibrační závislosti uvedené níže v grafu (Obr. 4.5).



Obr. 4.5: Graf kalibrační závislosti absorbance na koncentraci pro roztoky Cu (●) a Zn (▲).

### Detekční limity metody

Z dosažených výsledků měření byly stanoveny detekční limity metody. Stanovena byla mez detekce (LOD), mez stanovitelnost (LOQ), citlivost metody a opakovatelnost, dále byl také stanoven lineární dynamický rozsah (LDR) a korelační

koeficient ( $R$ ). Z tabulky níže (Tab. 4.2) je patrné, že při měření zinku docházelo k velkému šumu, což řádově snížilo detekční limity metody oproti mědi.

Tab. 4.2: Detekční limity metody F-AAS

	Cu	Zn
LOD [ $\text{mg dm}^{-3}$ ]	0,021	0,62
LOQ [ $\text{mg dm}^{-3}$ ]	0,069	0,21
Citlivost [ $\text{dm}^3 \text{mg}^{-1}$ ]	0,0631	0,1055
LDR do [ $\text{mg dm}^{-3}$ ]	10	5
Opakovatelnost* [%]	0,95	8,3
Korelační koeficient	0,998	0,989

\*) pro koncentraci  $5 \text{ mg dm}^{-3}$

### 4.1.3 Stanovení mědi a zinku

Za optimalizovaných podmínek bylo proměřeno všech 16 připravených vzorků medu. Naměřené hodnoty pomocí F-AAS však byly tak nízké a v mnoha případech byly na úrovni šumu, že se koncentraci prvků v jednotlivých vzorcích nepodařilo stanovit. Proto bylo nutné v dalším kroku práce přistoupit k využití citlivější metody. Tou byla zvolena hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.

## 4.2 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

### *Experimentální podmínky*

Pro analýzu vzorků medu a kalibraci přístroje byly, s pomocí programu v počítači (Online ICP-MS MassHunter), zvoleny experimentální podmínky uvedené v tabulce níže (Tab. 4.3).

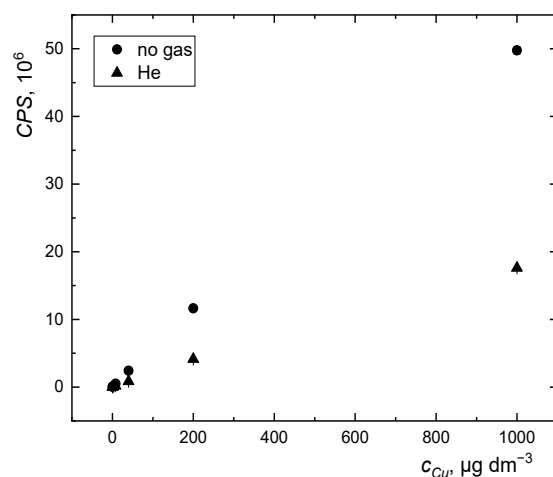
Tab. 4.3: Experimentální podmínky (ICP-MS)

Režim měření	General Purpose
Výkon RF generátoru [W]	1550
Hloubka vzorkování [mm]	10,0
Teplota S/C (mlžné komory) [°C]	2
Průtok argonu ve zmlžovači (nebulizéru) [l/min]	1,07
Průtok argonu v plazmatu [l/min]	15,0
Průtok přidavného plynu (helia) [l/min]	0,9
Rychlost otáček peristaltické pumpy u zmlžovače (nebulizéru) [RPS]	0,1
Interní standard	<sup>45</sup> Sc

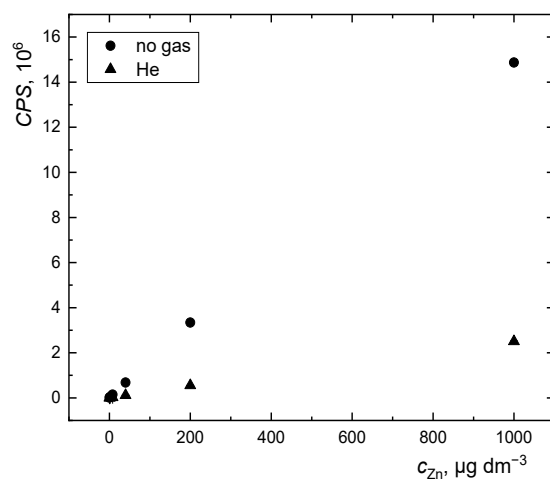
\*) jednotka RPS označuje počet otáček za sekundu (ang. rounds per second)

#### 4.1.4 Kalibrace

Za optimálních podmínek, stanovených laděním ICP-MS, byly proměřeny kalibrační roztoky mědi a zinku. Kalibrační řada se skládala z roztoků o koncentraci: 0; 1,6; 8,0; 40,0; 200,0 a 1000,0  $\mu\text{g dm}^{-3}$ . Všechny roztoky obsahovaly oba prvky ve stejných koncentracích. Kalibrační závislosti pro jednotlivé prvky byla měřena v módu s kolizním plynem (He), a také v módu bez kolizního plynu. Níže uvedené kalibrační závislosti (Obr. 4.6 a 4.7), byly vytvořeny na základě naměřených dat. Z grafů kalibračních závislostí je patrné, že vhodnějším módem pro stanovení obou prvků ve vzorcích je mód bez kolizního plynu, a to díky vyšší dosažené citlivosti.



Obr. 4.6: Graf kalibrační závislosti koncentrace Cu na odpovědi ICP-MS měřený v módu bez kolizního plynu (●) a v heliovém módu (▲).



Obr. 4.7: Graf kalibrační závislosti koncentrace Zn na odpovědi ICP-MS měřený v módu bez kolizního plynu (●) a v heliovém módu (▲).

### ***Detekční limity metody***

Na základě naměřených dat byly stanoveny detekční limity metody ICP-MS pro oba stanovované analyty. Stanoveny byly obdobné parametry, jako v případě F-AAS. Tyto hodnoty jsou uvedeny v tabulce níže (Tab. 4.4).

Tab. 4.4: Detekční limity metody ICP-MS

	Cu	Zn
LOD [ $\mu\text{g dm}^{-3}$ ]	0,87	0,64
LOQ [ $\mu\text{g dm}^{-3}$ ]	2,9	2,1
Citlivost [ $\text{dm}^3 \mu\text{g}^{-1}$ ]	57 952	16 629
LDR do [ $\text{mg dm}^{-3}$ ]	>1000	>1000
Opakovatelnost* [%]	2,4	1,4
Korelační koeficient	0,9997	0,9998

\*) pro koncentraci  $40 \mu\text{g dm}^{-3}$

#### 4.1.5 Stanovení mědi a zinku

V následující tabulce (Tab. 4.5) jsou zobrazeny výsledky stanovení mědi a zinku v jednotlivých vzorcích medu pomocí ICP-MS. V tabulce (Tab. 4.6) jsou uvedené průměrné hodnoty koncentrací ve všech vzorcích, a pro porovnání také průměrné hodnoty květových a medovicových vzorků zvlášť. U jednotlivých koncentrací je vždy uveden konfidenční interval. Měření prvků probíhalo, jak v módu bez kolizního plynu, tak v módu s kolizním plynem (He). Vzhledem k tomu, že se výsledky měření v obou módech významně nelišily, byl pro vyhodnocení využit mód bez kolizního plynu, při němž bylo dosaženo vyšší citlivosti. Z tabulek (Tab. 4.5 a Tab. 4.6) je patrné, že zinek je v medu průměrně zastoupen ve větším množství než měď. Více mědi než zinku obsahuje pouze vzorek medovicového medu označený jako AS-05. Stanovená koncentrace zinku se pohybuje od  $0,210 \pm 0,0029$  do  $3,658 \pm 0,0662 \mu\text{g/g}$  medu. Koncentrace mědi od  $0,050 \pm 0,0009$  do  $0,832 \pm 0,0057 \mu\text{g/g}$  medu. Nejvyšší množství zinku bylo ve vzorku ZH-02 (medovicový). Dále bylo stanoveno velké množství zinku v medech označených DM-05 (květový) a DM-04 (medovicový) a to více než  $1 \mu\text{g/g}$  medu. Největší množství mědi bylo stanoveno ve vzorku DM-05. Dále bylo stanoveno více jak  $0,5 \mu\text{g}$  mědi na gram medu ve vzorcích označených jako AS-05 a ZH-02.

Tab. 4.5: Výsledky stanovení Cu a Zn ve vzorcích medu pomocí ICP-MS

Označení vzorku	Navážka vzorku medu [g]	$c_{Cu}$ vzhledem k navážce [ $\mu\text{g/g}$ ]	$c_{Zn}$ vzhledem k navážce [ $\mu\text{g/g}$ ]
AS-01	5,04	$0,226 \pm 0,0043$	$0,824 \pm 0,0149$
AS-02	5,04	$0,055 \pm 0,0013$	$0,277 \pm 0,0063$
AS-03	5,07	$0,130 \pm 0,0018$	$0,565 \pm 0,0045$
AS-04	5,06	$0,316 \pm 0,0007$	$0,633 \pm 0,0086$
AS-05	5,00	$0,734 \pm 0,0199$	$0,535 \pm 0,0085$
AS-06	5,08	$0,050 \pm 0,0009$	$0,210 \pm 0,0029$
AS-07	5,00	$0,267 \pm 0,0036$	$0,755 \pm 0,0111$
DM-01	5,18	$0,115 \pm 0,0017$	$0,325 \pm 0,0044$
DM-02	5,32	$0,295 \pm 0,0017$	$0,885 \pm 0,0100$
DM-03	6,08	$0,074 \pm 0,0003$	$0,304 \pm 0,0014$
DM-04	6,22	$0,434 \pm 0,0087$	$1,473 \pm 0,0267$
DM-05	6,25	$0,832 \pm 0,0057$	$1,882 \pm 0,0064$
ZH-01	5,61	$0,147 \pm 0,0013$	$0,867 \pm 0,0196$
ZH-02	5,55	$0,602 \pm 0,0082$	$3,658 \pm 0,0662$
ZH-03	5,66	$0,124 \pm 0,0031$	$0,563 \pm 0,0064$
ZH-04	5,40	$0,198 \pm 0,0022$	$0,758 \pm 0,0137$

\*) Uvedené hodnoty jsou naměřeny v módu bez kolizního plynu. U každé hodnoty je uveden odpovídající konfidenční interval.

Tab. 4.6: Průměrné stanovené koncentrace Cu a Zn

Průměr	$c_{Cu}$ [ $\mu\text{g/g}$ ]	$c_{Zn}$ [ $\mu\text{g/g}$ ]
všechny vzorky	0,287	0,907
květové medy	0,192	0,639
medovicové medy	0,466	1,461

\*) U každé hodnoty je uveden odpovídající konfidenční interval.

## Závěr

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo stanovení mědi a zinku ve vzorcích šestnácti medů květového, medovicového a smíšeného původu. Nejprve bylo nutné připravit vzorky medů, což bylo provedeno rozpuštěním okolo 5-6 g medu v 50 ml stabilizačního roztoku (0,34% HNO<sub>3</sub>). Pro splnění cílů této práce bylo dále nutné optimalizovat podmínky stanovení zvolené analytické metody, F-AAS. Podmínky měření byly optimalizovány a po kalibraci bylo provedeno měření všech vzorků. Detekční limity této metody byly pro stanovení obou prvků nedostačující. Proto bylo přistoupeno k měření pomocí citlivější metody, kterou byla zvolena ICP-MS. U této metody bylo provedeno též optimální nastavení parametrů měření a kalibrace. Tato metoda již stanovení mědi a zinku ve vzorcích medu umožňovala. Experimentálně zjištěná koncentrace mědi se ve vzorcích pohybovala od  $0,050 \pm 0,0009$  do  $0,832 \pm 0,0057$   $\mu\text{g/g}$  medu a zinku od  $0,210 \pm 0,0029$  do  $3,658 \pm 0,0662$   $\mu\text{g/g}$  medu. Průměrné množství mědi bylo stanoveno 0,287 a zinku 0,907  $\mu\text{g/g}$  medu. Zinku bylo obvykle v jednotlivých medech větší množství než mědi. Jen jeden vzorek označený jako AS-05 vykazoval větší koncentraci mědi,  $0,734 \pm 0,0199$   $\mu\text{g/g}$  medu než zinku,  $0,535 \pm 0,0085$   $\mu\text{g/g}$  medu. Kromě stanovení prvků bylo cílem porovnat jejich koncentrace podle botanického původu medu. Bylo zjištěno, že medovicové medy vykazují průměrně větší množství obou prvků. Průměrná koncentrace mědi byla v květových medech stanovena jako 0,192 a zinku 0,639  $\mu\text{g/g}$  medu. V medovicových medech bylo průměrně mědi 0,466 a zinku 1,461  $\mu\text{g/g}$  medu. Výjimku tvořil vzorek květového medu, DM-05. Tento vzorek vykazoval nadprůměrné koncentrace obou prvků v porovnání s ostatními vzorky květového medu, a koncentrace mědi byla v tomto vzorku stanovena nejvyšší ze všech vzorků,  $0,832 \pm 0,0057$   $\mu\text{g/g}$  medu. Zinku bylo v tomto vzorku také velké množství, a to  $1,882 \pm 0,0064$   $\mu\text{g/g}$  medu.

Metoda ICP-MS se ukázala vhodnou metodou pro stanovení mědi a zinku ve vzorcích medu. Větší pořizovací cenu přístroje vynahrazuje citlivost a rychlost stanovení a možnost stanovení i více prvků najednou.

## Použitá literatura

- [1] J. Tautz, H. R. Heilmann, a O. Matyášková, *Fenomenální včely: biologie včelstva jako superorganizmu*, 2. vyd. Praha: Ve spolupráci s Českým svazem včelařů vydalo nakl. Brázda, 2010.
- [2] A. C.- info@aion.cz, „166/1999 Sb. Veterinární zákon“, *Zákony pro lidi*. <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1999-166?citace=1&text=v%C4%8Dely> (viděno 8. červen 2022).
- [3] K. Bienefeld, *Včelařství krok za krokem: pro milovníky krásného koníčka*. Líbeznice: Víkend, 2006.
- [4] D. W. Ball, „The Chemical Composition of Honey“, *J. Chem. Educ.*, roč. 84, č. 10, s. 1643, říj. 2007, doi: 10.1021/ed084p1643.
- [5] J. Wang a Q. X. Li, „Chemical Composition, Characterization, and Differentiation of Honey Botanical and Geographical Origins“, in *Advances in Food and Nutrition Research*, roč. 62, Elsevier, 2011, s. 89–137. doi: 10.1016/B978-0-12-385989-1.00003-X.
- [6] M. Madejczyk a D. Baralkiewicz, „Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES“, *Anal. Chim. Acta*, roč. 617, č. 1–2, s. 11–17, čer. 2008, doi: 10.1016/j.aca.2008.01.038.
- [7] M. Chudzinska a D. Baralkiewicz, „Application of ICP-MS method of determination of 15 elements in honey with chemometric approach for the verification of their authenticity“, *Food Chem. Toxicol.*, roč. 49, č. 11, s. 2741–2749, lis. 2011, doi: 10.1016/j.fct.2011.08.014.
- [8] R. G. Pellerano, M. A. Uñates, M. A. Cantarelli, J. M. Camiña, a E. J. Marchevsky, „Analysis of trace elements in multifloral Argentine honeys and their classification according to provenance“, *Food Chem.*, roč. 134, č. 1, s. 578–582, zář. 2012, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.02.125.
- [9] Z. Sajtos, P. Herman, S. Harangi, a E. Baranyai, „Elemental analysis of Hungarian honey samples and bee products by MP-AES method“, *Microchem. J.*, roč. 149, s. 103968, zář. 2019, doi: 10.1016/j.microc.2019.103968.
- [10] T. Golob, U. Doberšek, P. Kump, a M. Nečemer, „Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy“, *Food Chem.*, roč. 91, č. 4, s. 593–600, srp. 2005, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.04.043.
- [11] N. Czipa, D. Andrási, a B. Kovács, „Determination of essential and toxic elements in Hungarian honeys“, *Food Chem.*, roč. 175, s. 536–542, kvě. 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.018.

- [12] J. M. Graham, J. T. Ambrose, L. L. Langstroth, a Dadant & Sons, Ed., *The Hive and the honey bee: a new book on beekeeping which continues the tradition of „Langstroth on the hive and the honeybee“*, Rev. ed. Hamilton, Ill: Dadant, 1992.
- [13] M. T. Iglesias, C. de Lorenzo, M. del C. Polo, P. J. Martín-Álvarez, a E. Pueyo, „Usefulness of Amino Acid Composition To Discriminate between Honeydew and Floral Honeys. Application to Honeys from a Small Geographic Area“, *J. Agric. Food Chem.*, roč. 52, č. 1, s. 84–89, led. 2004, doi: 10.1021/jf030454q.
- [14] J. Kečkeš, J. Trifković, F. Andrić, M. Jovetić, Ž. Tešić, a D. Milojković-Opsenica, „Amino acids profile of Serbian unifloral honeys: Amino acids in Serbian honeys“, *J. Sci. Food Agric.*, roč. 93, č. 13, s. 3368–3376, říj. 2013, doi: 10.1002/jsfa.6187.
- [15] P. M. da Silva, C. Gauche, L. V. Gonzaga, A. C. O. Costa, a R. Fett, „Honey: Chemical composition, stability and authenticity“, *Food Chem.*, roč. 196, s. 309–323, dub. 2016, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.051.
- [16] N. Altman, *The honey prescription: the amazing power of honey as medicine*. Rochester, Vt: Healing Arts Press, 2010.
- [17] S. Bogdanov, T. Jurendic, R. Sieber, a P. Gallmann, „Honey for Nutrition and Health: A Review“, *J. Am. Coll. Nutr.*, roč. 27, č. 6, s. 677–689, pro. 2008, doi: 10.1080/07315724.2008.10719745.
- [18] J. Alvarez-Suarez, M. Gasparrini, T. Forbes-Hernández, L. Mazzoni, a F. Giampieri, „The Composition and Biological Activity of Honey: A Focus on Manuka Honey“, *Foods*, roč. 3, č. 3, s. 420–432, čvc. 2014, doi: 10.3390/foods3030420.
- [19] N. Gheldof, X.-H. Wang, a N. J. Engeseth, „Identification and Quantification of Antioxidant Components of Honeys from Various Floral Sources“, *J. Agric. Food Chem.*, roč. 50, č. 21, s. 5870–5877, říj. 2002, doi: 10.1021/jf0256135.
- [20] S. Afrin, S. M. Haneefa, M. J. Fernandez-Cabezudo, F. Giampieri, B. K. al-Ramadi, a M. Battino, „Therapeutic and preventive properties of honey and its bioactive compounds in cancer: an evidence-based review“, *Nutr. Res. Rev.*, roč. 33, č. 1, s. 50–76, čer. 2020, doi: 10.1017/S0954422419000192.
- [21] P. Shambaugh, V. Worthington, a J. H. Herbert, „Differential effects of honey, sucrose and fructose on blood sugar levels“, *J. Manipulative Physiol. Ther.*, roč. 14, č. 1, s. 91–92, led. 1991.
- [22] B. R. Stern *et al.*, „Copper and Human Health: Biochemistry, Genetics, and Strategies for Modeling Dose-response Relationships“, *J. Toxicol. Environ. Health Part B*, roč. 10, č. 3, s. 157–222, dub. 2007, doi: 10.1080/10937400600755911.
- [23] C. E. Housecroft a A. G. Sharpe, *Anorganická chemie*, 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014.

- [24] V. Vebr, „měď". <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/med> (viděno 13. červen 2022).
- [25] J. Koolman a K.-H. Röhm, *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012.
- [26] PubChem, „ZINC". <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23994> (viděno 28. červen 2022).
- [27] V. Vebr, „zinek". <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/zinek> (viděno 13. červen 2022).
- [28] „Zinek v potravinách", 2017–2009. <http://www.prvky.com/zinek-potraviny.html> (viděno 29. červen 2022).
- [29] I. Němcová, L. Čermáková, a P. Rychlosvský, *Spektrometrické analytické metody I*. Praha: Karolinum, 2004.
- [30] D. A. Skoog *et al.*, *Analytická chemie*. 2019.
- [31] „atomova-spektrometrie.pdf". Viděno: 30. červen 2022. [Online]. Dostupné z: <https://dokumenty.upce.cz/FCHT/kbbv-vk/instrumentalni-met-anal/atomova-spektrometrie.pdf>
- [32] „Fotonásobič", *Wikipedie*. 19. červen 2019. Viděno: 30. červen 2022. [Online]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Foton%C3%A1sobi%C4%8D&oldid=17399118>
- [33] A. P. Louppis, I. K. Karabagias, S. Kontakos, M. G. Kontominas, a C. Papastephanou, „Botanical discrimination of Greek unifloral honeys based on mineral content in combination with physicochemical parameter analysis, using a validated chemometric approach", *Microchem. J.*, roč. 135, s. 180–189, lis. 2017, doi: 10.1016/j.microc.2017.09.004.
- [34] M. Chudzinska a D. Baralkiewicz, „Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) combined with chemometrics", *Food Chem. Toxicol.*, roč. 48, č. 1, s. 284–290, led. 2010, doi: 10.1016/j.fct.2009.10.011.
- [35] G. Di Bella, V. Lo Turco, A. G. Potorti, G. D. Bua, M. R. Fede, a G. Dugo, „Geographical discrimination of Italian honey by multi-element analysis with a chemometric approach", *J. Food Compos. Anal.*, roč. 44, s. 25–35, pro. 2015, doi: 10.1016/j.jfca.2015.05.003.
- [36] M. Chudzinska, A. Debska, a D. Baralkiewicz, „Method validation for determination of 13 elements in honey samples by ICP-MS", *Accreditation Qual. Assur.*, roč. 17, č. 1, s. 65–73, úno. 2012, doi: 10.1007/s00769-011-0812-z.

- [37] N. Bilandžić *et al.*, „Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions", *Food Chem.*, roč. 128, č. 4, s. 1160–1164, řij. 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.04.023.
- [38] J. C. Rodríguez García, J. Barciela García, C. Herrero Latorre, S. García Martín, a R. M. Peña Crecente, „Direct and Combined Methods for the Determination of Chromium, Copper, and Nickel in Honey by Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy", *J. Agric. Food Chem.*, roč. 53, č. 17, s. 6616–6623, srp. 2005, doi: 10.1021/jf050887o.
- [39] M. Ahmed *et al.*, „Physiochemical, Biochemical, Minerals Content Analysis, and Antioxidant Potential of National and International Honeys in Pakistan", *J. Chem.*, roč. 2016, s. 1–10, 2016, doi: 10.1155/2016/8072305.
- [40] Z. Zhao, L. Chen, F. Liu, F. Zhou, J. Peng, a M. Sun, „Fast Classification of Geographical Origins of Honey Based on Laser-Induced Breakdown Spectroscopy and Multivariate Analysis", *Sensors*, roč. 20, č. 7, s. 1878, bře. 2020, doi: 10.3390/s20071878.
- [41] A. Pisani, G. Protano, a F. Riccobono, „Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy)", *Food Chem.*, roč. 107, č. 4, s. 1553–1560, dub. 2008, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.09.029.