

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BRNO 2015

TEREZA SOJKOVÁ



**Monitoring flavonoidních látek ve vybraných druzích
medu**

Bakalářská práce

Vedoucí práce:

Prof. RNDr. Bořivoj Klejdus, PhD.

Vypracovala:

Tereza Sojková

Místo pro zadání

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Monitoring flavonoidních látek ve vybraných druzích medu vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych ráda poděkovala vedoucímu své bakalářské práce panu Prof. RNDr. Bořivoji Klejdusovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá flavonoidními látkami obsaženými v medu. V práci je vypracována teoretická část, která je zaměřená na složení medu, jeho účinky na lidské zdraví a dále na popis flavonoidních látek. V dalším úseku práce se nachází část experimentální, kde je v tabulkách zobrazen výskyt fenolových látek v jednotlivých druzích medu.

Klíčová slova: med, flavonoidy, fenolové látky, kapalinová chromatografie.

ABSTRACT

This work deals with flavonoid substances contained in honey. The work is to develop a theoretical part, which is focused on the composition of honey, its effects on human health and on the description of flavonoid substances. In the next section of the work is experimental part, which is shown in tables occurrence of phenolic compounds in different types of honey.

Keywords: honey, flavonoids, phenolic compounds, liquid chromatography.

Obsah

1 ÚVOD.....	12
2 CÍL PRÁCE	13
3 TEORETICKÁ ČÁST	14
3.1 Obecná definice medu	14
3.2 Složení medu.....	14
3.2.1 Voda.....	14
3.2.2 Cukry	15
3.2.3 Kyseliny	16
3.2.4 Bílkovinné látky.....	16
3.2.5 Tuky	18
3.2.6 Vitamíny	18
3.2.7 Antioxidanty	19
3.2.8 Minerální látky.....	20
3.2.9 Aromatické látky.....	20
3.2.10 Enzymy	21
3.2.11 Barviva.....	22
3.2.12 Ostatní.....	23
3.2.13 Nežádoucí komponenty medu	23
3.3 Vliv medu na zdraví člověka	24
3.3.1 Historie.....	24
3.3.2 Účinky medu na lidský organismus.....	24
3.4 Flavonoidní látky	27
3.4.1 Charakteristika flavonoidů.....	27
3.4.2 Chemická struktura flavonoidů.....	27
3.4.3 Popis jednotlivých struktur flavonoidů.....	29

3.4.3.1 Anthokyany.....	29
3.4.3.2 Flavanony.....	31
3.4.3.3 Flavanonoly	31
3.4.3.4 Flavony	31
3.4.3.5 Flavonoly	32
3.4.3.6 Katechiny a leukoanthokyanidiny	33
3.4.3.7 Chalkony.....	33
3.4.3.8 Dihydrochalkony	34
3.4.3.9 Aurony	34
3.4.3.10 Isoflavony	34
3.4.4 Biosyntéza flavonoidů	34
3.4.5 Význam flavonoidů.....	35
4 PRAKTICKÁ ČÁST	38
4.1 Použitý materiál	38
4.2 Chemikálie	38
4.3 Příprava vzorku.....	38
4.4 Přístrojové vybavení	38
4.5 Metoda	39
4.6 Výsledky analýzy.....	40
4.6.1 Stanovení metodou LLE – extrakce z kapaliny do kapaliny	40
4.6.2 Stanovení metodou SPE – extrakce na pevné fázi.....	44
5 ZÁVĚR.....	48
6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	49
7 SEZNAM OBRÁZKŮ.....	51
8 SEZNAM TABULEK	52
9 SEZNAM ZKRATEK	53

1 ÚVOD

Polyfenoly jsou látky, které se nacházejí v rostlinných materiálech. Nejvíce zdraví prospěšné polyfenoly se nazývají flavonoidy, na které je tato práce zaměřena. Flavonoidy jsou početnou skupinou přírodních látek. Vyskytují se pouze v rostlinách, kterým dodávají barvu. Flavonoidní látky vzbudily zájem hlavně díky svým potencionálním blahodárným účinkům na lidské zdraví. Jejich hlavní pozitivní účinky jsou antivirové, antialergenní, protizánětlivé, protinádorové, antioxidační a další. Flavonoidy chrání buňky před toxickým působením škodlivých látek z vnějšího prostředí, ale i před těmi, které se tvoří v lidském organismu. Předpokládá se, že správná skladba potravy, zahrnující příjem flavonoidů, vede k prevenci před některými nemocemi.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo blíže se seznámit s flavonoidními látkami obsaženými v medu. V teoretické části je popsána jejich struktura, výskyt, biosyntéza a vliv na lidské zdraví. V části praktické je zobrazen výskyt jednotlivých fenolových látek v různých druzích medu.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Obecná definice medu

Med je v současné době definován vyhláškou č. 76/2003 Sb. jako potravina přírodního sacharidového charakteru, složená převážně z glukózy, fruktózy, organických kyselin, enzymů a pevných částic zachycených při sběru sladkých šťáv květů rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice) včelami, které sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech [12].

3.2 Složení medu

Med je složen z několika hlavních komponentů a mnoha dalších látek s různým složením, které jsou přítomny ve stopovém množství. V posledních letech bylo díky rozvoji analytických metod v medu popsáno několik set specifických látek. Tyto často velmi složité organické látky produkují rostliny, některé jsou výsledkem vzájemných reakcí, jiné vzniknou působením včelích enzymů. Med má ve výživě využití jako zdroj širokého spektra biologicky aktivních látek [1].

Tab. 1 Chemické složení medu (Belitz a Grosch, 1992) [2]

Komponenty	Průměr [%]	Rozeptí [%]
Voda	17,2	13,4-22,9
Fruktosa	38,2	27,3-44,3
Glukosa	31,3	22,0-40,8
Sacharosa	1,3	0,3-7,6
Maltosa	7,3	2,7-16,0
Vyšší cukry	1,5	0,1-8,5
Ostatní	3,1	0-13,2
Dusík	0,04	0-0,13
Minerální látky	0,17	0,02-1,03
Volné kyseliny [mval·kg ⁻¹]	22	40-100
Laktomy [mval·kg ⁻¹]	7,1	6,8-47,2
Celková kyselost [mval·kg ⁻¹]	29,1	8,7-59,5
pH	3,9	3,4-6,1
Diastázové číslo	20,8	2,1-61,2

3.2.1 Voda

Celkové množství vody závisí na zralosti a původu medu. Obsah vody by měl být maximálně 20 % (kritérium národní legislativy). Vyšší množství vody než 22 % je

způsobena nezralostí medu nebo nevhodným zacházením při jeho získávání nebo skladování (v důsledku vyšší hygroskopicity) a nad 25 % už podléhá fermentaci. Při hodnotách nižších než 17,1 % není prakticky žádná náchylnost k fermentaci, u hodnot mezi 17,1–20 % závisí na počtu buněk osmofilních kvasinek [2]. Čím méně vody med obsahuje, tím je kvalitnější. Med je tedy poměrně suchou surovinou, a proto je mikrobiálně velmi stabilní [1].

3.2.2 Cukry

Většinu, tj. asi 95 % látek v medu, tvoří cukry, převážně jednoduché, tzn. monosacharidy [1]. Tato vysoká koncentrace sacharidů má velký vliv na jakost medu – organoleptické vlastnosti (chuť, vzhled, konzistence), rovněž na energetickou hodnotu, na viskozitu atd. [2] Nejvíce je zastoupena fruktóza (ovocný cukr) a glukóza (cukr hroznový). Poměr těchto dvou základních cukrů je charakteristický pro jednodruhové medy a hraje roli ve sklonu medu k rychlé či pomalé krystalizaci. V malém množství se v medu vyskytují i další jednoduché cukry [1].

Fruktóza a glukóza vznikají enzymatickou hydrolýzou sacharózy, která je obsažena v nektaru nebo medovici, kdy vzniká směs D-fruktózy a D-glukózy zvaná invertní cukr. Invertní cukr získaný enzymovou hydrolýzou obsahuje také stopová množství některých málo běžných oligosacharidů. Jiné další monosacharidy nebyly v medu zatím nalezeny [2].

Složitější cukry, tvořené dvěma, třemi a více základními jednotkami, jsou v medu také, ale v malém množství. Řepného cukru (disacharidu sacharózy) je ve většině medů kolem 1 %, norma připouští obsah do 5 %. Větší množství sacharózy se může do medu dostat buď ze zimního krmení včel, nebo jako cizorodá látka do medu přidaná [1].

Vyšší cukry oligosacharidy a dextriny jsou obsaženy jen v malém množství a dokreslují jeho přirozený původ [1].

Tab. 2 Zastoupení oligosacharidů v medu (Belitz a Grosch, 1992) [2]

Oligosacharidy	[%]
Disacharidy	
Maltosa	29,40
Kojibiosa	8,20
Turanosa	4,70
Isomaltosa	4,40
Sacharosa	3,90

Maltulosa	3,10
Nigerosa	1,70
Trehalosa	1,10
Gentiobiosa	0,40
Laminaribiosa	0,09
Trisacharidy	
Erlosa	4,50
Theanderosa	2,70
Panosa	2,50
Maltotriososa	1,90
1-kestosa	0,90
Isomaltotriososa	0,60
Melezitosa	0,30
Isopanosa	0,24
Centosa	0,05
Vyšší oligosacharidy	
Isomaltotetrosa	0,33
Isomaltopentosa	0,16

3.2.3 Kyseliny

Organické kyseliny jsou důležitou součástí medu. Ovlivňují jeho chuť, stabilitu a řadu cenných vlastností. Některé z těchto kyselin řadíme k přirozeným antioxidantům. Celkový přirozený obsah kyselin v medu je kolem 30 milivalů/kg. Asi jednu třetinu této kyselosti tvoří laktony. Při kvašení nezralého medu obsah kyselin vzrůstá, proto je stanoven limit. Současná naše i evropská norma připouští kyselost do 50 mval/kg [1]. Med obsahuje asi 19 organických kyselin [2].

Nejdůležitější kyselinou v medu je kyselina glukonová [1]. Kyselina glukonová vzniká při oxidaci glukózy glukózooxidázou a je v rovnováze se svým laktonem. Množství kyseliny glukonové závisí hlavně na době mezi příjmem nektaru a vznikem definitivního medu v plástech, u kterého je enzymová aktivita nepatrná [2].

Dále jsou obsaženy kyselina citrónová, jablečná, jantarová, octová, mravenčí, máselná, šřavelová, protokatechová, benzoová, gentisová, valinová, kumarová, ferulová, syringová, anisinová, salycilová, skořicová, a také hydroxyderiváty a methylestery některých těchto kyselin [2].

3.2.4 Bílkovinné látky

Dusík se podílí na složení medu jen polovinou promile. I přesto tento nepatrný hmotnostní podíl mají dusíkaté látky v medu velký biologický význam [1].

Hlavní aminokyselinou v medu je prolin, který slouží k regulaci invertázy během zrání medu. Součástí tohoto regulačního mechanismu je osmotický tlak. Při jeho nízké hodnotě dovoluje sekreci enzymu, pokud dojde ke zvýšení, zabraňuje naopak nadbytečnému uvolňování invertázy. Prolin tvoří asi 50–85 % aminokyselinové frakce [2].

Od roku 1960 umožnil rozvoj chromatografických metod identifikaci aminokyselinového spektra medů. Důležitým zdrojem aminokyseliny je pyl. Zdroje určitého množství aminokyselin je i včela. Aminokyselinové spektrum může být použito k průkazu botanického nebo geografického původu medu [2].

Nejsložitější bílkovinné struktury v medu jsou enzymy. Podle jejich aktivity se posuzuje i kvalita medu. Na rozdíl od některých jiných komponentů jsou totiž enzymy velmi citlivé na přehřátí a nevhodné skladování medu. V kvalitních medech je vysoká aktivita enzymů. Nejčastěji se uvádí normovaná diastáza. Minimální, normami požadovaná aktivita enzymu diastázy je 8 stupňů podle Schadeho. Tento enzym štěpí škroby na jednoduché cukry. Podle aktivity tohoto enzymu můžeme usoudit i na aktivitu dalších biologicky cenných látek. U kvalitních medů s vysokou aktivitou diastázy předpokládáme i vysoký obsah a aktivitu ostatních enzymů. Pro kvalitu medu má zásadní význam enzym invertáza. Invertáza hraje důležitou roli při přeměně nektaru a medovice na med. Štěpí především sacharózu za vzniku glukózy a fruktózy a dále katalyzuje tvorbu vyšších cukrů (oligosacharidů). Invertáza v medu pochází hlavně z hltanových žláz včel. V medu najdeme i enzymy glukózooxidázu, peroxidázy, fosfatázy a další [1].

Tab. 3 Obsah aminokyselin v medu (Belitz a Grosch, 1992) [2]

Aminokyselina	[mg·100 g⁻¹]
Kyselina asparagová	3,44
Asparagin + glutamin	11,64
Kyselina glutamová	2,94
Prolin	59,65
Glycin	0,68
Alanin	2,07
Cystin	0,47
Valin	2,00
Methionin	0,33
Isoleucin	1,12

Tyrosin	2,58
Fenylalanin	14,75
β - alanin	1,06
Lysin	0,99
Ornithin	0,26
Histidin	3,84
Tryptofan	3,84
Arginin	1,72
Leucin	1,03

3.2.5 Tuky

Med obsahuje jen nepatrné množství tuků, pouze asi 150 mg látek tukové povahy v 1 kg medu. Zastoupeny jsou mastné kyseliny, triglyceridy i steroly. Do medu se dostanou pravděpodobně z mateří kašičky a jiných žláзовých produktů mladých včel, které med zpracovávají [1].

3.2.6 Vitamíny

Z vitamínů rozpustných ve vodě se v medu vyskytuje pouze skupina vitamínů B-thiamin (B1), riboflavin (B2) a kyselina pantothenová. Pro člověka je med pouze doplňkovým zdrojem klasických vitamínů [1].

Tab. 4 Obsah vitamínů v medu [1]

Látka	[mg·100 g ⁻¹]	Denní spotřeba člověka [mg]
vitamíny	-	-
A	-	0,9
B1	0,004-0,006	1
B2	0,002-0,06	1,7
B3 (kyselina nikotinová, niacin)	0,11-0,36	1,7
B5 (kyselina pantothenová)	0,02-0,11	10
B6 (pyridoxin)	0,008-0,32	2
B7 (H, biotin)	-	0,3
B9 (kyselina listová)	-	0,4
B12 (cyanocobalamin)	-	0,006

C	0-0,002	60
D	-	0,01
E	-	20
K	-	0,08

3.2.7 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky neutralizující volné radikály, svou činností přispívají k ochraně, kterou pro organismus provádí imunitní systém. Volné radikály jsou kyslíkaté sloučeniny jako vedlejší produkty buněčného metabolismu. Pokud nejsou volné radikály jinými sloučeninami inaktivovány, poškozují buněčný aparát.

Mezi antioxidanty řadíme několik skupin látek, které se při potírání volných radikálů vzájemně podporují. Antioxidační terapie není všelék, ale mnoho experimentálních studií prokazuje příznivý efekt při léčení řady onemocnění. Doplnění antioxidantů, stejně jako ostatních vitamínů a stopových prvků, je potřebné nejen při jejich nedostatku, ale i při zvýšené tělesné námaze, nepravidelné nebo jednostranné výživě, při zvýšených ztrátách (průjmy, zvracení), v těhotenství, při kojení a během růstu organismu. Také v silně znečištěných oblastech je tělo hodně zatěžováno [1].

Nejlepší formou pro doplnění antioxidantů je pestrá strava bohatá na zeleninu a ovoce. Antioxidanty tělu dodává i čaj. Med obsahuje také antioxidanty. Nové analytické studie v něm popsaly několik desítek různých antioxidantů [1].

Mezi významné antioxidanty v medu patří i organické kyseliny a jejich estery, dále látky ze skupiny flavonoidů a flavanonů. Důležitý je synergický účinek většího počtu různých antioxidantů. Zahraniční zdroje (D'Arcy, 2003) uvádějí, že antioxidační kapacita vykazuje lineární závislost na barvě medu a je závislá na botanickém druhu medu [1].

Med neobsahuje takové množství antioxidantů, jako například zelenina. Je ho ale možné srovnávat s červeným vínem. Důležitější než absolutní množství je ale spektrum antioxidantů v medu, které vhodně doplňuje antioxidanty z jiných potravin o další skupiny látek. Kombinací se účinek antioxidantů nesčítá, ale umocňuje. Proto jsou z hlediska antioxidačního účinku cenné zejména smíšené medy. Tyto medy mají nejpestřejší složení [1].

3.2.8 Minerální látky

Zdroj minerálních látek se nachází v půdě. Přes rostlinu se dostávají do nektaru a pylu, které včely sbírají. Nejvíce je na obsah minerálních látek bohatý pyl [2]. Čím vyšší je obsah minerálních látek, tím je med tmavší [3]. Vysoký obsah minerálních látek mají medy medovicové [2].

Med obsahuje ve stopových množstvích velké spektrum prvků. Některé z nich jsou biogenní, tedy nezbytné pro život. Proto je podobně jako u vitamínů med pouze doplňkovým zdrojem minerálních látek [1]. Celkové množství minerálních látek se pohybuje v rozmezí od 0,02–1,0 % [2].

Tab. 5 Obsah minerálních látek v medu [1]

Látka	[mg·100 g ⁻¹]	Denní spotřeba člověka [mg]
minerální látky		
draslík	10-470	4000
fosfor	2,60	700
hořčík	0,7-13	400
chlor	2,0-20	2,3
jod	-	0,15
měď	0,01-0,1	0,9
sodík	0,6-40	1500
vápník	4,0-30	1000
zinek	0,2-0,5	15
železo	1-3,4	18

3.2.9 Aromatické látky

Jedná se o těkavé látky s nízkým bodem varu, které dodávají medu příslušné aroma a chuť [2]. V medu bylo identifikováno již více než 150 aromatických látek [1]. Patří sem estery alifatických a aromatických kyselin, aldehydy, ketony, alkoholy a další [2].

Některé aromatické látky jsou charakteristické pro všechny druhy medů jako např. formaldehyd, propionylaldehyd, aceton, hydroxymethylfurfural, benzylalkohol, fenylalkohol. Významné jsou obzvláště β -damascenon a fenylacetaldehyd, které dávají medu charakteristickou vůni a chuť. Jiné látky jsou charakteristické pro určitý druh

medu, jako např. metylester kyseliny antranilové je typický pro med z citrusových stromů a levandule [2].

Tab. 6 Aromatické látky v medu (CRANE, 1990) [2]

Alkoholy	Aldehydy a ketony	Estery
methanol	formaldehyd	methylformiat
ethanol	cetaldehyd	ethylformiat
propan-1-ol	propionylaldehyd	methylacetat
propan-2-ol	dimethylketon (aceton)	ethylacetat
butan-1-ol	butyraldehyd	propylacetat
isobutanol	asobutyraldehyd	isopropylacetat
(2-methylpropan-1-ol)	butan-2-on	ethylpropionat
butan-2-ol	valeraldehyd	methylbutyrat
pentan-1-ol	isovarelaldehyd	ethylbutyrat
pentan-2-ol	caproaldehyd	isoamylbutyrat
2-methylbutan-1-ol	methacrolein	methylvalerat
isopentanol	diacetyl	ethylvalerat
(3-methylbutan-1-ol)	acetoin	methylisovalerat
3-methylbutan-2-ol	benzaldehyd	methylpyruvat
benzylalkohol	furfural	methylbenzoat
2-phenylethanol	5-hydroxymethylfurfural	ethylbenzoat
3-methylpropan-1-ol		methylphenylacetat
4-phenylbutan-1-ol		ethylphenylacetat
fuffurylakohol		methylanthranilat

3.2.10 Enzymy

Jedná se o důležité látky, neboť jsou nezbytné pro tvorbu medu z nektaru a medovice. Jsou to termolabilní sloučeniny, jejichž snížený obsah může indikovat nevhodné a nežádoucí tepelné ošetření medu. Aktivita enzymů se snižuje rovněž s časem skladování [2].

1. Enzymy včelího původu:

Přeměna nektaru nebo medovice na med se děje působením enzymů hypopharyngeálních žláz včel.

a) Invertáza (α -glukosidáza, sacharáza)

Invertuje sacharózu obsaženou v nektaru na fruktózu a glukózu. Určité množství invertázy je i ve zralém medu a inverze může pokračovat i během skladování. Invertáza hydrolyzuje také maltózu a má transglukosidázovou aktivitu. Při hydrolýze sacharózy se převážně, vedle dalších oligosacharidů, tvoří α -maltonyl- β -

fruktofuranosid. V dalším průběhu hydrolýzy jsou tyto oligosacharidy z části opět štěpeny. Sacharóza je aktivní v poměrně širokém spektru pH mezi 5,8–6,5. Je známo 7–8 isoenzymů. Je citlivější k teplotě než jiné enzymy medu a v některých zemích je legislativním parametrem [2].

b) Glukózooxidáza

Enzym oxidující glukózu na kyselinu glukonovou, která je hlavní kyselinou obsaženou v medu a H_2O_2 . Právě peroxid vodíku je pokládán za hlavní příčinu antibakteriálních vlastností medu. Tato peroxidázová aktivita však není jediným mechanismem, vysvětlujícím antibakteriální účinky medu. Příčina tohoto efektu zůstává stále nejasná, vzhledem k tomu, že peroxid vodíku se dále rychle rozkládá na vodu a kyslík a tato reakce probíhá nepřetržitě po celou dobu zrání medu. Vedle glukózy je oxidována také mannóza. Glukózooxidáza je aktivní pouze ve zředěném nebo nezralém medu a její aktivita je vyšší, když se koncentrace sacharidů pohybuje kolem 25–30 % a je redukována, když se koncentrace invertních sacharidů zvyšuje. U zralého medu je aktivita enzymů nulová. Optimální pH tohoto enzymu je kolem hodnoty 6,1 [2].

c) Amyláza (diastáza)

Amyláza je enzym, který štěpí škroby obsažené v medu. Jeho aktivita v medu je závislá na rostlinném zdroji. Jde o termolabilní enzym, jehož nízká aktivita může indikovat zahřátí medu. Jeho význam v medu není dostatečně známý, pravděpodobně se účastní trávení pylu. Optimální pH je mezi 5,0–5,3 [2].

2. Enzymy rostlinného původu

Med může obsahovat enzymy přítomné v nektaru, medovici nebo pylu. Obsah je ovlivněn druhem rostlin [2].

a) Kataláza

Medy, které obsahují málo katalázy, mají poměrně vysokou úroveň H_2O_2 , například medy z nektaru jetele plazivého nebo z medovice skotské borovice. Vyšší úroveň katalázy vykazují například vřesové medy nebo med borůvkový [2].

b) Kyselá fosfatáza

Pochází převážně z pylu, částečně ale také z nektaru. Význam tohoto enzymu v procesu zrání medu není dosud znám [2].

3.2.11 Barviva

Žádná jiná potravina se nevyskytuje v takové rozmanitosti barev jako med. Jeho barevné spektrum sahá od vodově bílé přes žlutou, zelenkavou a načervenalou až téměř

k černé [3]. Mezi látky podílející se na barvě medu patří fenolické sloučeniny a produkty Maillardových reakcí mezi aminokyselinami a fruktózou v kyselém prostředí. Barvu medu také ovlivňuje množství přítomných minerálních látek a organických kyselin [2].

3.2.12 Ostatní

V medu bylo identifikováno několik antibakteriálních a antifungálních faktorů včelího původu. Jde o látky citlivé na světlo, ale poměrně termostabilní, které inhibují růst některých mikrobů, např.: *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas Pyocyanea*, *Salmonella ssp.*, *Staphylococcus aureus*. Inhibiční účinek jednotlivých druhů medů není stejný. Z dalších sloučenin med obsahuje acetylcholin, adrenalin [2].

3.2.13 Nežádoucí komponenty medu

a) Toxiny

Toxické medy vznikají především v těch oblastech, kde včely sbírají nektar z rhododendronů a jiných rostlin čeledi *Ericaceae*, z rulíku, čeledi *Euphorbiaceae* nebo sbírají jiné látky jako je např. medová rosa vylučovaná cikádami. Rhododendrony obsahují především gyanotoxiny I, II a III, tetracyklické diterpeny, které se používají v medicíně jako antihypertonika. Jedovaté medy z USA pochází z rostliny *Coriaria arborea* a obsahují toxiny tutin a hyenanchin [2].

b) Hydroxymethylfurfural (HMF)

HMF (5-hydroxymethyl-2-furankarbaldehyd) je jedním z nejdůležitějších ukazatelů jakosti medu. Vytváří se během kyselinou katalyzované dehydratace hexóz. V medu vzniká jako výsledný produkt monosacharidů (glukózy a fruktózy) [2]. V čerstvém medu se HMF nevyskytuje [18]. Jeho koncentrace se zvyšuje během skladování, v závislosti na pH, teplotě, době skladování a samozřejmě také během případného zahřátí medu. Vysoká hladina HMF může být také způsobena znehodnocením medu přídavkem invertního cukru. Obsah HMF je jedním z nejdůležitějších parametrů jakosti medu zakotveným v legislativě národní i mezinárodní [2].

c) Jiné

V medu se mohou vyskytovat také původci včelích patogenů jako např.:

- *Paenibacillus larvae larvae* – původce moru včelího plodu

- *Paenibacillus alvei* – původce hniloby včelího plodu
- *Aspergillus spp.* - původci zkamenění včelího plodu
- *Ascospaera apis* - původce zvápenatění včelího plodu
- *Nosema apis* – původce nosematózy včel

Zde se objevuje riziko zavlečení infekce importované včelími produkty. Med také může obsahovat rezidua látek používaných k ošetření a léčbě včelstev (antibiotika – z dovozových medů, akaricidní prostředky), ale také např. pesticidy a některé radioaktivní isotopy [2].

3.3 Vliv medu na zdraví člověka

3.3.1 Historie

První zmínky o apiterapii – léčbě včelími produkty – můžeme nalézt již na sumerských hliněných deskách a v egyptských papyrech. Med používal Hippokrates při léčbě kožních onemocnění a Římané k hojení ran [9].

Již celá tisíciletí lidé pozorovali účinky medu na zmírnění průběhu některých nemocí a posílení imunity. Vědci dlouho neuměli vysvětlit tyto jevy, protože dlouho nevěnovali pozornost doprovodným rostlinným látkám [3].

3.3.2 Účinky medu na lidský organismus

Nejen med, ale obecně včelí produkty se používají ve farmacii i kosmetickém průmyslu. O využití medu v medicíně se dnes hodně diskutuje, vzhledem k jeho antibakteriálním účinkům. Pro tyto jeho vlastnosti je doporučován při léčbě vředů a jiných povrchových infekcí, popálenin a ran. Antibakteriální účinky různých druhů medů nejsou stejné, navíc tyto účinky mohou být lehce zničeny nevhodným ošetřením a skladováním medu. Hlavní vliv na vyšší antibakteriální aktivity medu má množství H_2O_2 [2].

Pro naše užívání je nejvhodnější český med, protože obsahuje pyl z rostlin nám blízkých a přirozených, neobsahuje antibiotika ani sulfonamidy, protože jejich používání je u nás zakázáno [12].

Med můžeme užívat zevně i vnitřně. Zevně především tmavé medovicové medy, které obsahují až 12 % dextrinů, jejichž hojivých účinků na popáleniny využívá chirurgie. Vnitřně pomáhá na celé spektrum nemocí. Květové medy jsou lépe stravitelné a nemocným dodávají i cenné bílkoviny [16].

Pro obsah pylu využíváme květový med také pro zmírnění projevů pylových alergií. Pro tyto účely se preferuje med z oblastí, kde žijeme [16].

Na onemocnění dýchacích cest a pro pacienty s nemocnými ledvinami je lepší použití spíše tmavých medů. Ty obsahují více silic s mukolytickým účinkem. Zvláště pro děti s vysokými teplotami je med významnou prevencí proti křečím, které způsobuje nedostatek draslíku [16].

Řada autorů poukazuje na příznivý vliv medu na rány, daný nejen jeho antibakteriální aktivitou, ale také jeho hojivými účinky. Vlivem vysoké koncentrace sacharidů v medu se vytváří vysoký osmotický tlak vedoucí k zvýšenému průtoku krve a lymfy. Zakoncentrování obraných látek v místě poranění vede k vyloučení nečistot, mikroorganismů a buněčné drti. Vlivem medu je podpořena granulace a tkáň jizvy se stává mnohem elastičtější a je lépe prokrvována [2]. Med svými antimikrobiálními účinky zabraňuje růstu patogenů a jeho viskozita působí jako bariéra pro další infekce. Široké spektrum aminokyselin, vitamínů a stopových prvků napomáhá k regeneraci tkání [9].

V současné době se objevuje v literatuře pojem apireflexní terapie. Jde o použití apiterapie (léčení pomocí včelích produktů) a reflexní terapie, jako je akupresura (použití tlaku na biologicky účinných bodech lidského těla). Včelí produkty (v podobě malých kuliček) se vpravují mechanicky do těla v biologicky aktivních bodech a upevňují se náplastí [2].

Vzhledem k dnešním civilizačním chorobám se často upozorňuje na protistresové účinky medu. Při stresu organismus přijímá značné množství sacharidů, které pro svůj metabolismus potřebují vitamín B1, jehož tělní rezervy jsou velmi malé. A právě med obsahuje vitamín B1 v množství, které postačuje, aby se cukr v medu využil beze ztrát. Navíc obsahuje stopový prvek mangan, jenž zesiluje účinek vitamínu B1. U psychických a fyzických zatížení spotřebuje tělo také hodně minerálních solí, jako je např. hořčík, jehož nedostatek se projevuje zvýšenou dráždivostí a reakcí na hluk. Hořčík pro svůj účinek potřebuje přítomnost vitamínu B6. Při zvýšeném metabolismu se rovněž zvyšuje spotřeba mědi, nutná pro rovnoměrnou činnost srdce a nervů. Všechny tyto komponenty jsou v medu obsaženy. Med rovněž posiluje jaterní činnost. Při stresu dochází ke snižování zásob glykogenu v játrech. Pokud je med obsažen v potravě, velmi rychle se tyto rezervy obnovují, čímž se spotřebovává hlavně fruktóza obsažená v medu. Kromě toho dodává med cholin, který zamezuje současně

ztučnění jater, neboť reguluje také metabolismus tuků v játrech. Navíc acetylcholin způsobuje vasokonstrikci a tím dochází ke snížení krevního tlaku a současně zesiluje účinek hořčíku a draslíku [2].

Včelí med je také vydatným zdrojem probiotik. Probiotika jsou bakterie, které pozitivně ovlivňují střevní mikroflóru. Pozitivní efekt těchto bakterií je spojován především s mléčnými zakysanými bakteriemi mléčného kvašení. Včelí med je ale zdrojem podstatně širšího spektra těchto bakterií a také jejich účinky jsou o poznání razantnější [15].

Má-li být med lékem, musí být všechny jeho cenné složky zachovány v původní, účinné podobě. Mnohým nemocem je lépe předcházet, než je léčit, proto má med v domácí lékárně místo právě v prevenci. Jako preventivní denní dávka medu se doporučuje jedna polévková lžice [1].

Pozitivní účinky medu:

- Baktericidní
- Celkové posílení organismu
- Fixace vápníku v kostech
- Podpora činnosti jater a celkové detoxikace organismu
- Podpora imunity
- Podpora svalové a srdeční činnosti, regulace arytmií
- Posílení psychiky
- Regulace hypertenze
- Snížení sekrece žaludečních šťáv až na polovinu
- Uklidňující účinky na centrální nervovou soustavu
- Normalizace funkce ledvin
- Vychytávání volných radikálů, antioxidační účinek
- Zevně pomáhá odlučovat odumřelé tkáně, zlepšuje prokrvení, urychluje regeneraci pokožky
- Zlepšení a prohloubení spánku
- Zlepšení střevní mikroflóry, peristaltiky a trávení, odstranění kvasných a hnilobných mikrobů z trávicího ústrojí
- Zlepšení krevního oběhu
- Zvýšení hodnoty hemoglobinu [12].

3.4 Flavonoidní látky

3.4.1 Charakteristika flavonoidů

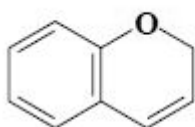
Pojem flavonoid se odvozuje z latinského slova *flavus* (žlutý) a naznačuje tím, že tato látka dodává potravině nebo rostlině barvu. Flavonoidy jsou skupinou chemických substancí (tzv. pyrolových barviv), vyskytujících se jen v rostlinné říši a patří mezi sekundární rostlinné látky [3].

Flavonoidy jsou sloučeniny nalezené v ovoci, zelenině a některých nápojích, které mají různé prospěšné biochemické a antioxidační účinky. Bylo identifikováno více než 4000 flavonoidů. Flavonoidy vzbudily značný zájem v poslední době vzhledem ke svým potenciálním blahodárným účinkům na lidské zdraví [6].

3.4.2 Chemická struktura flavonoidů

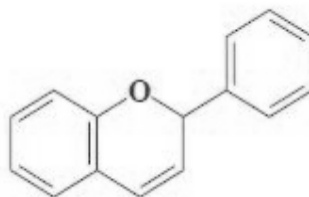
Flavonoidní látky jsou velice rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů obsahujících v molekule 2 benzenové kruhy spojené tříuhlíkovým řetězcem. Jedná se o uspořádání C₆-C₃-C₆. Svými vlastnostmi se velmi liší od jiných fenolových pigmentů, a proto jsou uváděny jako samostatná skupina rostlinných barviv [4].

U většiny flavonoidů je C₃ řetězec součástí heterocyklického (pyranového) kruhu. Flavonoidy jsou tedy odvozeny od kyslíkaté heterocyklické sloučeniny 2H-chromenu, substituovaného v poloze C-2 fenylovou skupinou, který se nazývá flavan [4].



2H-chromen

Obr. 1 2H chromen [17]

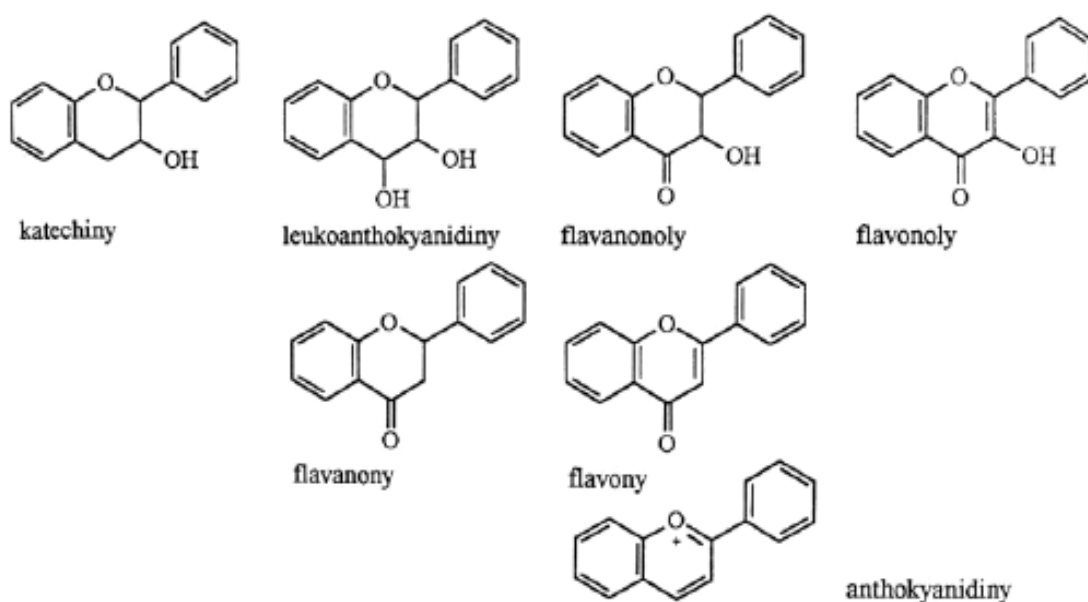


Obr. 2 Flavan [17]

Flavonový skelet se skládá ze dvou benzenových kruhů (A a B) a kruhu odvozeného od 2H-pyranu (C). Kruh B je spojen s pyranovým kruhem (C) v poloze C-2. Běžně bývají všechny tři kruhy substituovány hydroxyskupinami nebo methoxyskupinami a jednotlivé deriváty se liší pouze stupněm substituce a oxidace. Vyskytují se jako volné látky nebo častěji jako glykosidy [4].

Podle stupně oxidace C₃ řetězce se rozeznávají následující základní struktury flavonoidů:

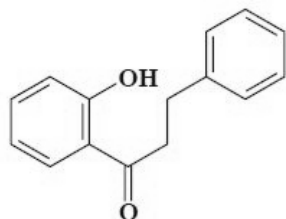
- Katechiny (flavan-3-oly)
- Leukoanthokyanidiny (flavan-3,4-dioly)
- Flavanony
- Flavanonoly
- Flavony
- Flavonoly
- Anthokyanidiny



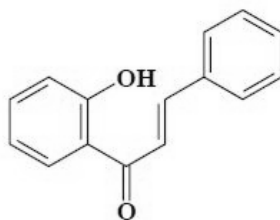
Obr. 3 Základní struktury flavonoidů [4]

Ze strukturně příbuzných sloučenin, u kterých jsou kruhy A a B spojeny alifatickým C₃ řetězcem nebo řetězcem, který je částečně součástí furanového cyklu, se dále rozeznávají:

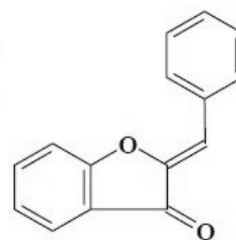
- Chalkony a dihydrochalkony
- Aurony



Obr. 4 Chalkon [17]

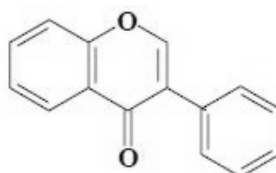


Obr. 5 Dihydrochalkon [17]



Obr. 6 Auron [17]

Méně běžné sloučeniny s kruhem B spojeným s pyranovým kruhem C v poloze C-3 se nazývají isoflavonoidy, pokud je toto spojení v poloze C-4 nazývají se příslušné sloučeniny neoflavonoidy. Potravinářsky významnými isoflavonoidy jsou pouze isoflavony [4].



isoflavony

Obr. 7 Isoflavon [17]

3.4.3 Popis jednotlivých struktur flavonoidů

Pouze některé flavonoidy jsou důležité jako přírodní rostlinná barviva, jiné jsou významné pro svoji chuť (jsou to trpké a hořké látky nebo jejich prekurzory) nebo mají významné biologické účinky [4].

Z flavonoidních barviv jsou nejvýznamnější žlutě zbarvené flavony a flavonoly a zejména anthokyaniny, převážně červené (také žluté či oranžové), fialové a modré pigmenty [4].

Všechny barevné flavonoidy se dříve dělily podle své barvy na 2 velké skupiny, na červené až modré anthokyaniny a žluté anthoxanthiny. Názvy pocházely z řeckých slov květ (anthon), modrý (kyaneos), a žlutý (xanthos) [4].

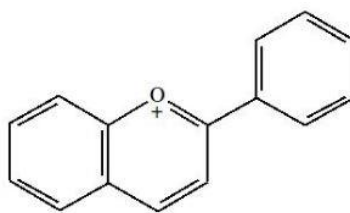
3.4.3.1 Anthokyaniny

Anthokyaniny, též nazývané anthokyaniny, jsou nejrozšířenější a početně velice rozsáhlou skupinou rostlinných barviv. Dosud bylo v přírodních zdrojích identifikováno asi 300 různých anthokyanů. Mnoho druhů ovoce a zeleniny a květin a dalších rostlinných materiálů vděčí za svoji atraktivní oranžovou, červenou, fialovou a modrou barvu, která

zvyšuje jejich spotřebitelskou oblibu, právě této skupině ve vodě rozpustných barviv [4].

Anthokyany se vyskytují v mnoha druzích rostlin, kde jsou lokalizovány v buněčných vakuolách a stabilizovány interakcemi typu ion – ion s organickými kyselinami (malonovou, jablečnou, citronovou). Hlavními zdroji využívanými jako potraviny jsou plody rostlin čeledi révovitých a růžovitých. Další potravinářsky významné rostliny obsahují antokyanová barviva náleží do čeledi lilkovitých, vřesovitých, olivovitých, brukvovitých. Mnoho rostlin však obsahuje kromě antokyanů ještě jiná barviva, např. karotenoidy, chlorofyly aj. Přítomnost těchto pigmentů často ovlivňuje výslednou barvu [4].

Anthokyany jsou glykosidy různých aglykonů, které se nazývají anthokyanidiny. Všechny anthokyanidiny jsou odvozeny od jedné základní struktury, kterou je flavyliový (2-fenylbenzopyrylový) kation [4].



Obr. 8 Flavyliový kation [4]

Uvádí se, že v přírodě existuje celkem 15 různých anthokyanidinů. Všechny sloučeniny jsou v poloze C-4' substituovány hydroxylovou skupinou a vzájemně se liší substitucí v poloze C-3, C-5, C-6, C-7, C-3' a C-5', v polohách C-5, C-7, C-3' a C-5' mohou být methoxyskupiny. Další dva anthokyanidiny jsou 6-hydroxykyanidin a 5-methylkyanidin [4].

V potravinách má z uvedených sloučenin význam pouze 6 anthokyanidinů a hydroxylovou skupinou v poloze C-3 (kyanidin, pelargonidin, peonidin, delphinidin, petunidin a malvidin).

Volné aglykony anthokyanidiny se vyskytují v rostlinných pletivech zřídka, a to pouze jako stopové produkty hydrolýzy antokyanů nebo vzniklé z leukoanthokyanidinů. Ve všech rostlinných materiálech jsou hlavními pigmenty glykosidy anthokyanidinů (antokyany) [4].

V některém ovoci či zelenině jsou přítomny antokyany odvozené od jediného anthokyanidinu (např. v jablkách, v červeném zelí či bezinkách jsou to glykosidy

sanidinu), jindy jsou pigmenty odvozeny od několika různých anthokyanidinů (antokyany černého rybízu jsou deriváty sanidinu a delfinidinu, anthokyany jahod jsou odvozeny od pelargonidinu a kyanidinu) [4].

Jako součást molekuly antokyanů bylo identifikováno 5 sacharidů: D-glukóza, L-rhamnóza, D-galaktóza, D-xylóza a L-arabinóza. Sacharidy jsou vázány vždy v poloze C-3, je – li glykosylována ještě další hydroxyskupina, bývá to hydroxyl na C-5. Volná hydroxyskupina na C-3 destabilizuje anthokyanidinový chromofor, takže hydrolyza cukru vázaného jako *O*-glykosid na C-3 má za následek rychlý rozklad anthokyanidinu a nevratnou ztrátu barvy [4].

3.4.3.2 Flavanony

Bezbarvé až světle žluté flavanony jsou v potravinách rozšířeny poměrně málo a jako barviva nemají téměř žádný význam [4].

Ve vyšších koncentracích se nacházejí pouze v citrusovém ovoci. Jako hlavní složky se zde vyskytují glykosidy odvozené od 5,7-dihydroxyflavanonů, které se liší substituenty kruhu B [4].

Významné flavanony: likviritigenin, butin, pinocembrin, naringenin, eriodiktyol, sakuranetin, hesperetin [4].

Nejvýznamnější aglykony jsou flavanony hesperetin (5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavanon) a naringenin (5,7,4'-trihydroxyflavanon). Hesperetin je hlavní součástí glykosidů pomerančů a citronů. V grapefruitech je hlavní složkou glykosidů naringenin [4]. Rajče obsahuje hesperetin společně s naringeninem [10].

Významnými glykosidy citrusů i dalších rostlinných materiálů jsou sakuranin, narirutin, naringin, eriodiktin, ericitrin, poncirin, hesperidin, neohesperidin [4].

3.4.3.3 Flavanonoly

Flavanonoly ani jejich glykosidy nejsou příliš významné, neboť se v rostlinných materiálech nenacházejí ve vyšších koncentracích. Příkladem je taxifolin (dihydrokvercetin), který se ve větším množství vyskytuje v oříšcích podzemnice, jako složka pylů a spolu s dalšími flavanonoly dosti běžně v dalších rostlinách [4].

Významné flavanonoly: pinobanksin, aromadendrin, taxifolin, ampelopsin [4].

3.4.3.4 Flavony

Flavony jsou spolu s flavanonoly nejrozšířenějšími žlutými pigmenty rostlin. Běžnými sloučeninami v potravinách jsou flavony substituované na C-5 a C-7, méně často

v poloze C-6 kruhu A a v poloze C-4' kruhu B. Běžným substituentem je hydroxylová a methoxylová skupina. Častými flavony jsou především apigenin a luteolin [4].

Příkladem flavonů s methylovanými hydroxyskupinami v kruhu A jsou hispidulin, nepetin a cirisiliol. V kruhu B akacetin, diosmetin a chrysoeriol. Methoxyskupiny v kruzích A i B mají limocitrin, tangeretin a nobiletin, které se vyskytují v různých druzích citrusů [4].

Cukry, hlavně D-glukóza, D-galaktóza a L-rhamnóza, jsou v *O*-glykosidech přednostně vázány na hydroxylovou skupinu v poloze C-7, další *O*-glykosidy a *C*-glykosidy jsou vzácnější. Např. v mátě kadeřavé se vyskytuje glykosid diosmin (diosmetin-7-rutinosid) [4].

Mezi významné flavony patří chrysin, apigenin, luteolin, tricetin, bajkalem a významnými methoxyderiváty flavonů jsou hispidulin, nepetin, cirisiliol, akacetin, diosmetin, chrysoeriol, limocitrin, tangeretin, nobiletin.

Nejběžnější z *C*-glykosidů jsou vitelin a orientin nacházející se např. v rýžových otrubách a v řadě druhů ovoce. Ve fíkách se např. vyskytuje *C*-glykosid zvaný schaftosid [4].

Zvláštní skupinou asi 60 pigmentů odvozených od flavonů jsou biflavonoidy. Obvykle se jedná o dimery apigeninu. Potravinářský význam nemají.

Flavony jsou hojně obsaženy v zelenině. Najdeme je například v celeru, paprice nebo salátu. Byliny také mohou být bohatým zdrojem flavonů. Např. petržel je hlavním zdrojem apigeninu, šalvěj a tymián jsou bohaté na luteolin [10].

3.4.3.5 Flavonoly

Flavonoly jsou společně s flavony důležitými žlutými barvivy. Všechny významnější flavonoly vyskytující se v potravinách mají v poloze C-3, C-5, C-7 a C-4' hydroxyskupinu a vzájemně se liší substitucí v poloze C-3' a C-5'. Téměř univerzálními flavonoly jsou kaemferol, quercetin a myricetin, které se vyskytují hlavně jako glykosidy a doprovázejí antokyany [4].

Příkladem methyetherů flavonolů je rhamnetein, isorhamnetein a další. Isorhamnetein se jako 3-beta-rutinosid vyskytuje v citrusech a jiných druzích ovoce [4].

Významné flavonoly: galantin, datiscetin, quercetin, myricetin, fisetin, robinetin, morin, herbacetin, gosypetin, kaemferol.

Volné aglykony se vyskytují v poměrně malém množství, hlavními formami flavonolů jsou glykosidy. Nejvíce se vyskytují glykosidy odvozené od quercetinu a kaempferolu [4].

Glykosidy quercetinu: avikularin, isoquercetrin, hyperon, quercetrin, rutin.

Běžným glykosidem rostlin je rutin. V borůvkách se např. nachází avikularin a isoquercetrin. [4].

V bobulích bezu černého se nachází quercetin-3-rutinosid, quercetin-3-glykosid se vyskytuje v černém rybízu. Přítomnost těchto flavonoidů lze využít k průkazu falšování ovocných šťáv [4]. Šalotka a červená cibule představují nejbohatší zdroj quercetinu. Košťálová zelenina, včetně brokolice, kapusty, zelí či růžičkové kapusty má tendenci obsahovat komplexní směsi flavonolů, s významným množstvím kaempferolu a myricetinu. Kaempferol a myricetin byly identifikovány také v ovoci, jako jsou hrušky, broskve, koncentrace je ale nízká. Luštěniny obsahují také komplexní směsi, především flavonolů a katechinů [10].

Ve větším množství než v ovoci se flavonoly a jejich glykosidy nacházejí v čaji [4].

3.4.3.6 Katechiny a leukoanthokyanidiny

Katechiny a leukoanthokyanidiny jsou bezbarvé sloučeniny, ale hnědé pigmenty, které z nich vznikají v reakcích enzymového hnědnutí, jsou barviva řady potravin. Z bezbarvých leukoanthokyanidinů také mohou při zpracování ovoce a zeleniny vznikat v kyselém prostředí příslušné barevné anthokyanidiny. Oligomery těchto sloučenin s trpkou chutí se řadí mezi kondenzované třísloviny čili taniny [4].

Katechiny jsou častými flavonoidy nacházejících se v různých nápojích, jako jsou ovocné džusy, čaje či víno [10].

3.4.3.7 Chalkony

Chalkony, dihydrochalkony a aurony nejsou v potravinářsky významných rostlinných materiálech příliš zastoupeny, mají ale význam jako barviva květů mnoha rostlin. Jsou to i barviva dřevin a semen luštěnin [4].

Významné chalkony: isolikviritidenin, butein, marein, okanin.

V chalkonech je vždy přítomna hydroxyskupina na C-2, která pochází z pyranového kruhu flavanonů, ze kterých chalkony vznikají v alkalickém prostředí. V kyselém prostředí dochází ke konverzi chalkonů na flavanony [4].

3.4.3.8 Dihydrochalkony

Příkladem přírodních dihydrochalkonů je florentin. Nejběžnějším glykosidem florentinu je floridzin. Jeho výskyt je omezen na jabloně, kde má funkci inhibitoru klíčení semen. Dihydrochalkony připravené redukcí flavanonů neohesperidin a naringinu mají intenzivní sladkou chuť. Neohesperidindihydrochalkon se používá jako náhradní sladidlo [4].

3.4.3.9 Aurony

Aurony nejsou příliš významnými barvivy potravinářských materiálů. Aurony však náleží k nejdůležitějším pigmentům květin. Sulfuretin je pigmentem květů jiřinek, aureusidin květů hledíku většího, hispidol se nachází v sójových bobech.

Významnými aurony jsou hispidol, sulfuretin, aureusidin, brakteatin [4].

3.4.3.10 Isoflavony

Isoflavony jsou přírodní látky, které vyvolávají řadu fyziologických účinků na živé organismy. Isoflavony se vyskytují především v chloroplastech nadzemních částí orgánů rostlin, ve stopách i v kořenech. V rostlinách jsou syntetizovány jako ochranné látky proti biotickému stresu [7]. Isoflavony byly ve větších koncentracích prokázány pouze v rostlinách čeledi bobovitých. Z hlediska potravinářského je jejich obsah významný pouze v sójových bobech a ve výrobcích ze sójových bobů. [4]. V menší míře se nacházejí i v jiných luštěninách [10].

Mezi nejznámější isoflavony patří aglykony daidzein, genistein, formononetin a biochanin, dále glykosidy jako diadzin, genistin, ononin a sissostriin [7].

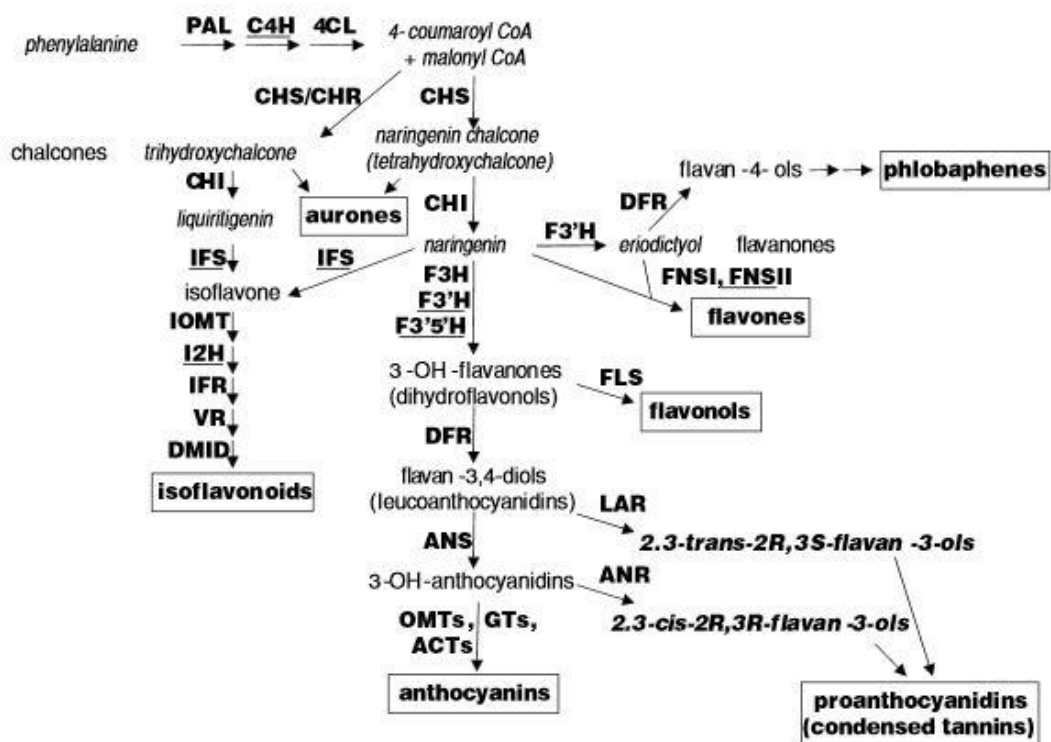
Isoflavony vykazují estrogením, ale i další toxické účinky. Běžně se proto řadí mezi přirozené toxické složky potravin, mezi tzv. fytoestrogeny [4].

3.4.4 Biosyntéza flavonoidů

Vědci se flavonoidy zabývají již dlouhou dobu, zvláště proto, že tvoří velkou část pigmentace rostlin a také pro jejich pozitivní vliv na zdraví člověka [14].

Biosyntéza flavonoidů je součástí fenylypropanové cesty, která produkuje řadu dalších sekundárních metabolitů, jako fenolické kyseliny, ligniny, lignany, stilbeny [10]. Klíčovými prekurzory jsou fenylyalanin a malonyl-CoA [10]. Prvním krokem je přeměna fenylyalaninu na 4-kumaroyl-CoA, který kondenzuje se třemi molekulami malonyl-CoA za vzniku meziproductu tetrahydroxychalkonu působením chalkon

syntázy. Následným působením chalcon isomerázy vzniká naringenin, který hraje klíčovou roli ve vzniku jednotlivých podtříd flavonoidů [11,13].



ACTs, acetyl transferases; ANR, anthocyanidin reductase; ANS, anthocyanidin synthase (also known as leucoanthocyanidin dioxygenase); C4H, cinnamate-4-hydroxylase; CHI, chalcone isomerase; CHR, chalcone reductase; CHS, chalcone synthase; 4CL, 4-coumaroyl:CoA-ligase; DFR, dihydroflavonol 4-reductase; DMID, 7,2'-dihydroxy, 4'-methoxyisoflavanol dehydratase; F3H, flavanone 3-hydroxylase; FNSI and FNSII, flavone synthase I and II; F3'H and F3'5'H, flavonoid 3' and 3'5' hydroxylase; IOMT, isoflavone O-methyltransferase; IFR, isoflavone reductase; I2'H, isoflavone 2'-hydroxylase; IFS, isoflavone synthase; LAR, leucoanthocyanidin reductase; OMTs, O-methyltransferase; PAL, phenylalanine ammonia-lyase; GTs, glucosyl transferases; VR, vestitone reductase

Obr. 9 Biosyntéza flavonoidů [14]

3.4.5 Význam flavonoidů

Flavonoidy jsou sloučeniny nalezené v ovoci, zelenině a některých nápojích, které mají různé prospěšné biochemické a antioxidační účinky. Bylo prokázáno, že dále vykazují antibakteriální, antivirové, antialergenní, protizánětlivé účinky. Jejich příjem v potravě

je poměrně vysoký v porovnání s jinými dietní antioxidanty, jako je vitamin C a E. Antioxidační aktivita flavonoidů je závislá na jejich molekulární struktuře [6].

Antioxidanty jsou látky, které chrání buňky před škodlivými účinky volných radikálů [6]. Antioxidanty volné radikály pomáhají neutralizovat. Antioxidantem mohou být živiny, jako vitamíny nebo minerální látky, enzymy, proteiny. Mnoho výzkumů prokázalo, že antioxidanty mohou hrát roli v prevenci proti některým chronickým onemocněním [8].

Rutin a některé další glykosidy flavonoidů vykazují antioxidační vlastnosti. Mají vliv na pružnost a permeabilitu krevních kapilár. Rutin se proto používá ve farmaceutických preparátech a potravinářských doplňcích. Spolu s dalšími flavonoidními látkami zvanými bioflavonoidy zlepšuje hladinu askorbové kyseliny v živočišných orgánech tím, že buď chrání před oxidací katalyzovanou ionty kovu nebo zvyšuje její utilizaci v organismu [4].

Flavonoid quercetin chrání vitamín C před poškozením kyslíkem a prodlužuje jeho trvanlivost. Také nenasycené mastné kyseliny jsou quercetinem a jinými flavonoidy chráněny před rozpadem. Navíc flavonoidy omezují shlukování krevních destiček a snižují tak nebezpečí trombózy [3].

Pravidelná konzumace antokyanů a dalších polyfenolů snižuje pravděpodobnost vzniku chronických onemocnění, jako je např. rakovina, kardiovaskulární onemocnění, virové inhibice, Alzheimerova choroba. Anthokyaniny hrají důležitou roli v prevenci proti různým onemocněním spojených s oxidačním stresem [10].

Výzkumy prokázaly, že zvýšením obsahu flavonoidů až o 30% se snižuje riziko koronárních nemocí. Epidemiologická i experimentální šetření a pokusy prokázaly, že četné rostlinné součásti stravy nejen chrání před arteriosklerózou a srdečním infarktem, ale působí preventivně proti rakovině. Dobré výsledky medu, které se prokázaly při hojení ran, je mimo jiné možné přičítat aktivitě flavonoidů. Sekundární rostlinné látky působí nejlépe, když jsou konzumovány ve formě, v jaké se vyskytují v přírodě [3].

Konzumace sójových produktů je spojena s nižším výskytem rakoviny prsu, tlustého střeva i s nižším výskytem srdečních onemocnění [10].

Antioxidační flavonoidy (uvedeny v pořadí podle klesající účinnosti):

- Quercetin (flavonol v zelenině, ovoci, cibuli)

- Xanthohumol (chalkon v pivě a chmelu)
- Isoxanthohumol (flavanon v pivě a chmelu)
- Genistein (isoflavon v sóji) [6]

4 PRAKTICKÁ ČÁST

V části experimentální byly separovány fenolové látky v různých druzích medu. Pro jejich stanovení byla použita kapalinová chromatografie a hmotnostní spektrometrie.

4.1 Použitý materiál

Bylo použito 6 různých druhů medu:

- květový
- lesní
- lipový
- malinový
- javorový
- pohankový

4.2 Chemikálie

- diethylether (analytická čistota p.a., Penta ČR)
- síran sodný bezvodý (analytická čistota p.a., Penta ČR)
- kyselina octová (analytická čistota p.a., Penta ČR)
- acetonitril gradiend grade (Sigma - Aldrich, Praha ČR)

4.3 Příprava vzorku

1 g medu byl rozpuštěn v 10 ml deonizované vody. Vzniklý roztok byl třepán v dělicí nálevce s 10 ml diethyletheru. Třepáním vznikly dvě vrstvy. Spodní vrstva vodná a vrchní diethyletherová. Spodní vrstva (vodná) se po každém třepání oddělila a touto vodnou vrstvou se extrakce třepáním prováděla celkem třikrát. Vrchní diethyletherická část se po každém třepání oddělila a po dokončení třepání se smíchala se síranem sodným bezvodým. Diethyletherová část byla následně odpařena ve vakuové odparce a odparek byl rozpuštěn v 1 ml 80 % metanolu, dán do vialek a poté analyzován na kapalinovém chromatografu s hmotnostním detektorem.

4.4 Přístrojové vybavení

Pro stanovení látek v medu byl použit kapalinový chromatograf typu Agilent Technologies 1200 složený z následujících částí:

- binární pumpy
- autosampleru

- termostatu kolon
- detektoru diodového pole
- hmotnostního detektoru typu Agilent Technologies 6460 Triple Quad LC/MS

SPE kolony: Oasis HLB 3 cc, 60 mg (waters USA).

4.5 Metoda

Pro stanovení fenolových látek byl použit kapalinový chromatograf ve spojení s hmotnostní spektrometrií.

Byl použit lineární gradient, který byl v čase $T_0 = 0$ min.: 85 % B; 0,17 min.: 85 % B; 0,51 min.: 75 % B; 1,70 min.: 70 % B; 4,00 min.: 70 % B; 6 min.: 85 % B. Mobilní fáze byla složena ze dvou fází: fáze A: acetonitril a fáze B: 0,2 % kyselina octová (v/v). Mobilní fáze byla systémem čerpána průtokovou rychlostí 0,6 ml/min. Teplota termostatu kolon byl 40 °C.

Ke stanovení fenolových látek byla použita chromatografická kolona Zorbax Poroshell 120 EC - C 18, 3,0×50 mm, velikost částic 2,7 μm.

Parametry hmotnostního detektoru:

- teplota sušícího plynu – 300°C
- průtok sušícího plynu – 12 l/min
- nebulizační tlak – 45 psi
- teplota zaostřovacího plynu – 250 °C
- průtok zaostřovacího plynu – 11 l/min
- napětí na kapiláře – 3500 V

Systém pracoval v negativním módu.

Separace fenolových látek byla provedena dvěma způsoby:

1. LLE – Liquid – Liquid Extraction → extrakce z kapaliny do kapaliny
2. SPE – Solid – Phase Extracton → extrakce na pevné fázi

Tab. 7 Kalibrační údaje

Sloučenina	Rt	Rovnice	R ²
3,4-dihydroxybenzaldehyd	1,75	$y = 1218,822x + 1678,797$	0,9967
kyselina kávová	2,77	$y = 2700,893x - 263,438$	0,9990
kyselina chlorogenová	2,28	$y = 263,3374x + 36,553$	0,9990
kyselina ferulová	4,59	$y = 937,133x - 71,712$	0,9998

kyselina gallová	0,73	$y = 3308,948x - 254,800$	0,9999
kyselina o-kumarová	4,65	$y = 4426,074x + 1039,447$	0,9992
kyselina p-kumarová	3,73	$y = 3214,935x + 648,0877$	0,9995
p-hydroxybenzaldehyd	2,59	$y = 3259,648x + 4676,916$	0,9917
kyselina p-hydroxybenzoová	0,09	$y = 7527,498x + 479,917$	0,9999
kyselina protokatechová	1,23	$y = 4484,6901x - 544,817$	0,9997
kyselina salicylová	4,09	$y = 19072,2933x + 9098,324$	0,9913
kyselina sinapová	4,41	$y = 49,4338x - 10,260$	0,9924
kyselina syringová	3,09	$y = 100,5226x + 88,4604$	0,9937
kyselina vanilová	2,70	$y = 456,539x + 84,555$	0,9986
vanilín	3,16	$y = 2632,8216x + 847,158$	0,9954

R_t – retenční čas [min]. R² – korelační koeficient

4.6 Výsledky analýzy

4.6.1 Stanovení metodou LLE – extrakce z kapaliny do kapaliny

Tab. 8 Koncentrace jednotlivých látek v květovém medu

Květový med						
Sloučenina	[μg/100g]	[μg/100g]	[μg/100g]	aritmetický průměr [μg/100g]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	4,10	4,15	4,23	4,16	0,07	1,58
kys. kávová	60,60	59,80	60,30	60,23	0,40	0,67
kys. chlorogenová	4,30	4,50	4,10	4,30	0,20	4,65
kys. ferulová	175,00	175,20	174,40	174,87	0,42	0,24
kys. gallová	2,80	2,50	2,90	2,73	0,21	7,62
kys. o-kumarová	3,10	3,00	3,20	3,10	0,10	3,23
kys. p-kumarová	219,50	220,10	218,90	219,50	0,60	0,27
p-hydroxybenzaldehyd	1,80	1,50	1,80	1,70	0,17	10,19
kys. hydroxybenzoová	66,80	66,20	67,50	66,83	0,65	0,97
kys. protokatechová	26,40	26,70	26,10	26,40	0,30	1,14
kys. salicylová	30,30	30,80	29,80	30,30	0,50	1,65
kys. sinapová	5,50	5,30	5,60	5,47	0,15	2,79
kys. syringová	9,60	9,20	9,40	9,40	0,20	2,13
kys. vanilová	230	23,30	23,60	23,30	0,30	1,29
vanilín	13,70	13,20	14,00	13,63	0,40	2,96

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 9 Koncentrace jednotlivých látek v lesním medu

Lesní med						
Sloučenina	[µg/100g]	[µg/100g]	[µg/100g]	aritmetický průměr [µg/100g]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	5,80	6,10	5,60	5,83	0,25	4,31
kys. kávová	58,10	58,50	59,20	58,60	0,56	0,95
kys. chlorogenová	4,30	3,80	4,60	4,23	0,40	9,55
kys. ferulová	137,20	137,90	139,00	138,03	0,91	0,66
kys. gallová	3,90	3,50	3,70	3,70	0,20	5,41
kys. o-kumarová	-	-	-	-	-	-
kys. p-kumarová	230,30	229,50	231,10	230,30	0,80	0,35
p-hydroxybenzaldehyd	9,00	9,90	8,60	9,17	0,67	7,26
kys. hydroxybenzoová	109,00	109,80	110,30	109,70	0,66	0,60
kys. protokatechová	44,50	45,30	44,10	44,63	0,61	1,37
kys. salicylová	59,20	59,00	60,10	59,43	0,59	0,99
kys. sinapová	5,20	4,90	5,50	5,20	0,30	5,77
kys. syringová	10,10	10,70	9,20	10,00	0,75	7,55
kys. vanilová	27,20	26,80	28,30	27,43	0,78	2,83
vanilín	10,60	10,50	11,90	11,00	0,78	7,10

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 10 Koncentrace jednotlivých látek v lipovém medu

Lipový med						
Sloučenina	[µg/100g]	[µg/100g]	[µg/100g]	aritmetický průměr [µg/100g]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	3,30	3,50	3,00	3,27	0,25	7,70
kys. kávová	31,30	30,70	31,50	31,17	0,42	1,34
kys. chlorogenová	4,10	4,20	3,70	4,00	0,26	6,61
kys. ferulová	98,20	99,20	98,30	98,57	0,55	0,56
kys. gallová	3,90	4,50	4,10	4,17	0,31	7,33

kys. o-kumarová	-	-	-	-	-	-
kys. p-kumarová	129,40	130,00	128,90	129,43	0,55	0,43
p-hydroxybenzaldehyd	0,90	0,70	0,60	0,73	0,15	20,83
kys. hydroxybenzoová	57,40	57,10	56,30	56,93	0,57	1,00
kys. protokatechová	63,60	62,90	64,10	63,53	0,60	0,95
kys. salicylová	26,00	25,70	26,30	26,00	0,30	1,15
kys. sinapová	4,00	4,50	3,70	4,07	0,40	9,94
kys. syringová	3,50	3,40	4,10	3,67	0,38	10,33
kys. vanilová	17,90	18,60	18,20	18,23	0,35	1,93
vanilín	10,60	10,30	11,40	10,77	0,57	5,28

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 11 Koncentrace jednotlivých látek v malinovém medu

Malinový med						
Sloučenina	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	aritmetický průměr [$\mu\text{g}/100\text{g}$]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	3,10	2,70	3,20	3,00	0,26	8,82
kys. kávová	36,20	36,90	35,60	36,23	0,65	1,80
kys. chlorogenová	4,10	4,40	4,90	4,47	0,40	9,05
kys. ferulová	82,40	81,70	82,60	82,23	0,47	0,57
kys. gallová	4,10	4,50	3,90	4,17	0,31	7,33
kys. o-kumarová	3,30	3,10	2,60	3,00	0,36	12,02
kys. p-kumarová	100,70	101,10	100,50	100,77	0,31	0,30
p-hydroxybenzaldehyd	1,10	1,40	1,70	1,40	0,30	21,43
kys. hydroxybenzoová	55,90	55,70	60,40	57,33	2,66	4,64
kys. protokatechová	90,30	89,60	91,50	90,47	0,96	1,06
kys. salicylová	20,90	21,10	21,90	21,30	0,53	2,48
kys. sinapová	-	-	-	-	-	-
kys. syringová	2,60	3,10	2,80	2,83	0,25	8,88
kys. vanilová	11,60	10,20	12,00	11,27	0,95	8,39
vanilín	9,90	10,00	9,20	9,70	0,44	4,49

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 12 Koncentrace jednotlivých látek v javorovém medu

Javorový med						
Sloučenina	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	aritmetický průměr [$\mu\text{g}/100\text{g}$]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	2,70	3,00	2,90	2,87	0,15	5,33
kys. kávová	45,10	46,10	45,70	45,63	0,50	1,10
kys. chlorogenová	4,40	3,90	4,60	4,30	0,36	8,39
kys. ferulová	151,90	151,20	150,90	151,33	0,51	0,34
kys. gallová	2,60	2,70	3,00	2,77	0,21	7,52
kys. o-kumarová	-	-	-	-	-	-
kys. p-kumarová	257,70	257,40	258,30	257,80	0,46	0,18
p-hydroxybenzaldehyd	2,00	2,10	1,80	1,97	0,15	7,77
kys. hydroxybenzoová	70,70	70,60	71,20	70,83	0,32	0,45
kys. protokatechová	18,40	18,80	17,50	18,23	0,67	3,65
kys. salicylová	23,00	23,90	22,70	23,20	0,62	2,69
kys. sinapová	7,20	7,60	6,70	7,17	0,45	6,29
kys. syringová	5,00	5,50	4,90	5,13	0,32	6,26
kys. vanilová	24,50	24,00	25,10	24,53	0,55	2,24
vanilín	8,80	8,20	7,30	8,10	0,75	9,32

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 13 Koncentrace jednotlivých látek v pohankovém medu

Pohankový med						
Sloučenina	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	aritmetický průměr [$\mu\text{g}/100\text{g}$]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	4,00	4,50	3,90	4,13	0,32	7,78
kys. kávová	50,90	50,00	51,20	50,70	0,62	1,23
kys. chlorogenová	5,00	5,60	5,80	5,47	0,42	7,62
kys. ferulová	97,60	98,00	96,40	97,33	0,83	0,86
kys. gallová	16,20	16,70	17,00	16,63	0,40	2,43
kys. o-kumarová	3,40	3,70	3,10	3,40	0,30	8,82
kys. p-kumarová	197,40	199,00	196,60	197,67	1,22	0,62
p-hydroxybenzaldehyd	5,80	5,30	6,10	5,73	0,40	7,05
kys. hydroxybenzoová	167,50	166,20	166,60	166,77	0,67	0,40

kys. protokatechová	109,50	110,70	108,70	109,63	1,01	0,92
kys. salicylová	37,10	37,50	38,00	37,53	0,45	1,20
kys. sinapová	3,50	3,70	3,20	3,47	0,25	7,26
kys. syringová	2,70	2,60	3,10	2,80	0,26	9,45
kys. vanilová	15,70	15,00	14,80	15,17	0,47	3,12
vanilín	3,00	3,50	3,10	3,20	0,26	8,27

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

4.6.2 Stanovení metodou SPE – extrakce na pevné fázi

Tab. 14 Koncentrace jednotlivých látek v květovém medu

Květový med SPE						
Sloučenina	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	aritmetický průměr [$\mu\text{g}/100\text{g}$]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	3,30	2,90	3,40	3,20	0,26	8,27
kys. kávová	82,30	83,00	81,80	82,37	0,60	0,73
kys. chlorogenová	4,00	4,10	3,50	3,87	0,32	8,31
kys. ferulová	192,40	191,40	193,60	192,47	1,10	0,57
kys. gallová	2,00	1,70	2,10	1,93	0,21	10,77
kys. o-kumarová	2,20	1,90	2,00	2,03	0,15	7,51
kys. p-kumarová	263,30	263,50	262,70	263,17	0,42	0,16
p-hydroxybenzaldehyd	1,30	0,90	1,00	1,07	0,21	19,52
kys. hydroxybenzoová	73,30	72,10	74,20	73,20	1,05	1,44
kys. protokatechová	32,60	33,00	32,10	32,57	0,45	1,38
kys. salicylová	35,70	34,90	35,40	35,33	0,40	1,14
kys. sinapová	4,20	5,00	4,80	4,67	0,42	8,92
kys. syringová	14,40	14,70	13,60	14,23	0,57	4,00
kys. vanilová	16,70	15,40	16,00	16,03	0,65	4,06
vanilín	28,50	28,10	29,40	28,67	0,67	2,32

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 15 Koncentrace jednotlivých látek v lesním medu

Lesní med SPE						
Sloučenina	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	[$\mu\text{g}/100\text{g}$]	aritmetický průměr	Sr	RSD [%]

				[µg/100g]		
3,4-dihydroxybenzaldehyd	7,10	7,90	6,70	7,23	0,61	8,45
kys. kávová	60,20	60,50	61,00	60,57	0,40	0,67
kys. chlorogenová	5,60	5,10	6,30	5,67	0,60	10,64
kys. ferulová	157,00	156,70	157,80	157,17	0,57	0,36
kys. gallová	3,40	3,60	2,70	3,23	0,47	14,62
kys. o-kumarová	-	-	-	-	-	-
kys. p-kumarová	289,60	290,20	291,80	290,53	1,14	0,39
p-hydroxybenzaldehyd	9,70	10,60	9,40	9,90	0,62	6,31
kys. hydroxybenzoová	106,60	106,20	105,60	106,13	0,50	0,47
kys. protokatechová	50,00	51,20	50,40	50,53	0,61	1,21
kys. salicylová	78,50	78,10	79,40	78,67	0,67	0,85
kys. sinapová	6,60	5,70	6,00	6,10	0,46	7,51
kys. syringová	13,30	13,50	14,20	13,67	0,47	3,46
kys. vanilová	35,90	34,90	35,10	35,30	0,53	1,50
vanilín	11,50	12,40	12,60	12,17	0,59	4,82

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 16 Koncentrace jednotlivých látek v lipovém medu

Lipový med SPE						
Sloučenina	[µg/100g]	[µg/100g]	[µg/100g]	aritmetický průměr [µg/100g]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	3,00	3,60	3,40	3,33	0,31	9,17
kys. kávová	35,90	34,80	35,00	35,23	0,59	1,66
kys. chlorogenová	3,80	4,50	4,20	4,17	0,35	8,43
kys. ferulová	99,90	98,70	100,60	99,73	0,96	0,96
kys. gallová	3,60	3,90	4,30	3,93	0,35	8,93
kys. o-kumarová	-	-	-	-	-	-
kys. p-kumarová	189,50	190,70	192,00	190,73	1,25	0,66
p-hydroxybenzaldehyd	0,90	0,70	1,30	0,97	0,31	31,60
kys. hydroxybenzoová	62,50	62,10	63,40	62,67	0,67	1,06
kys. protokatechová	77,90	77,20	78,50	77,87	0,65	0,84
kys. salicylová	22,40	21,80	22,90	22,37	0,55	2,46
kys. sinapová	3,00	3,40	3,90	3,43	0,45	13,13
kys. syringová	7,90	8,30	7,00	7,73	0,67	8,61

kys. vanilová	26,60	26,00	27,60	26,73	0,81	3,02
vanilín	19,90	21,20	20,50	20,53	0,65	3,17

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 16 Koncentrace jednotlivých látek v malinovém medu

Malinový med SPE						
Sloučenina	[µg/100g]	[µg/100g]	[µg/100g]	aritmetický průměr [µg/100g]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	2,50	3,10	2,90	2,83	0,31	10,78
kys. kávová	42,20	43,60	41,90	42,57	0,91	2,13
kys. chlorogenová	3,60	4,10	3,30	3,67	0,40	11,02
kys. ferulová	100,00	101,60	99,30	100,30	1,18	1,18
kys. gallová	4,10	4,90	4,60	4,53	0,40	8,91
kys. o-kumarová	2,50	2,10	2,70	2,43	0,31	12,56
kys. p-kumarová	130,30	129,40	132,90	130,87	1,82	1,39
p-hydroxybenzaldehyd	1,40	1,50	1,20	1,37	0,15	11,18
kys. hydroxybenzoová	65,90	64,80	66,50	65,73	0,86	1,31
kys. protokatechová	99,00	98,70	100,20	99,30	0,79	0,80
kys. salicylová	30,20	30,90	31,00	30,70	0,44	1,42
kys. sinapová	-	-	-	-	-	-
kys. syringová	5,80	5,00	5,20	5,33	0,42	7,81
kys. vanilová	44,60	44,30	45,60	44,83	0,68	1,52
vanilín	15,90	16,40	16,80	16,37	0,45	2,76

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 17 Koncentrace jednotlivých látek v javorovém medu

Javorový med SPE						
Sloučenina	[µg/100g]	[µg/100g]	[µg/100g]	aritmetický průměr [µg/100g]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	4,50	3,70	4,00	4,07	0,40	9,94
kys. kávová	55,50	55,00	56,30	55,60	0,66	1,18
kys. chlorogenová	5,30	5,60	4,70	5,20	0,46	8,81
kys. ferulová	189,40	190,60	188,10	189,37	1,25	0,66

kys. gallová	1,30	1,50	1,00	1,27	0,25	19,87
kys. o-kumarová	-	-	-	-	-	-
kys. p-kumarová	289,10	288,40	290,50	289,33	1,07	0,37
p-hydroxybenzaldehyd	2,00	2,20	2,70	2,30	0,36	15,68
kys. hydroxybenzoová	78,90	77,90	79,90	78,90	1,00	1,27
kys. protokatechová	23,60	23,20	24,10	23,63	0,45	1,91
kys. salicylová	25,40	25,90	25,00	25,43	0,45	1,77
kys. sinapová	9,70	9,00	10,30	9,67	0,65	6,73
kys. syringová	4,80	3,80	4,40	4,33	0,50	11,62
kys. vanilová	33,40	33,80	32,50	33,23	0,67	2,00
vanilín	12,60	12,10	13,50	12,73	0,71	5,57

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

Tab. 18 Koncentrace jednotlivých látek v pohankovém medu

Pohankový med SPE						
Sloučenina	[µg/100g]	[µg/100g]	[µg/100g]	aritmetický průměr [µg/100g]	Sr	RSD [%]
3,4-dihydroxybenzaldehyd	4,00	4,50	4,70	4,40	0,36	8,19
kys. kávová	45,90	46,10	45,00	45,67	0,59	1,28
kys. chlorogenová	5,90	5,20	5,50	5,53	0,35	6,35
kys. ferulová	102,90	1050	103,60	103,83	1,07	1,03
kys. gallová	18,30	18,90	19,20	18,80	0,46	2,44
kys. o-kumarová	3,10	3,80	3,40	3,43	0,35	10,23
kys. p-kumarová	196,70	194,70	197,00	196,13	1,25	0,64
p-hydroxybenzaldehyd	4,90	4,30	4,60	4,60	0,30	6,52
kys. hydroxybenzoová	195,10	194,70	196,30	195,37	0,83	0,43
kys. protokatechová	132,10	131,40	133,80	132,43	1,23	0,93
kys. salicylová	49,00	48,60	49,90	49,17	0,67	1,35
kys. sinapová	5,60	5,20	6,00	5,60	0,40	7,14
kys. syringová	2,70	2,90	2,40	2,67	0,25	9,44
kys. vanilová	28,70	28,10	29,00	28,60	0,46	1,60
vanilín	8,70	7,90	8,30	8,30	0,40	4,82

Sr – směrodatná odchylka. RSD [%] – relativní směrodatná odchylka

5 ZÁVĚR

Flavonoidy tvoří jednu z nejvýznamnějších skupin polyfenolů. Zájem o flavonoidní látky vzrostl po odhalení jejich pozitivních účinků na zdraví člověka. Bylo zjištěno, že v různých druzích medu je různé zastoupení flavonoidních látek. Tmavé medy obecně obsahují méně flavonoidů než medy světlé barvy.

V současné době se pro stanovení fenolových látek používá chromatografie nebo elektromigrační elektroforéza.

Stanovení fenolových látek v této práci bylo provedeno pomocí kapalinové chromatografie. Stanovované látky byly separovány dvěma způsoby. Pro první stanovení byla použita metoda LLE – extrakce z kapaliny do kapaliny a pro druhé stanovení metoda SPE – extrakce na tuhé fázi. Na základě stanovení fenolových látek bylo zjištěno, že u obou metod stanovení má ve všech medech největší zastoupení kyselina p-kumarová. U vzorků stanovených metodou LLE bylo v medu květovém, lipovém, malinovém a javorovém nejmenší množství p-hydroxybenzaldehydu, zatímco v medu lesním nejméně kyseliny gallové. Použitím metody SPE bylo zjištěno, že v medu javorovém se v nejmenším množství vyskytuje kyselina gallová. Pro obě stanovení platí, že v medu lesním, javorovém a lipovém chybí kyselina o-kumarová, v medu malinovém nemá žádné zastoupení kyselina sinapová a v medu pohankovém se v nejmenším množství objevuje kyselina syringová. Pouze v medu květovém a pohankovém jsou obsaženy všechny stanovené látky.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] TITĚRA, D., *Včelí produkty mýtů zbavené*. 2013. ISBN 978-80-209-0398-3.
- [2] VORLOVÁ, L., *Med: Souborná analýza*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2002. ISBN 80-7305-450-7.
- [3] FRANK, R., *Zázračný med*. Víkend, 2010. ISBN 978-80-7433-024-7.
- [4] VELÍŠEK, J., *Chemie potravin 3*, 2. vyd. OSSIS, Tábor, 2002. ISBN 80-86659-02-X.
- [5] VELÍŠEK J., *Chemie potravin 2*. OSSIS, Tábor, 2009. ISBN 80-866-5900-3.
- [6] BUHLER, D., R., MIRANDA, C. *Antioxidant activities of Flavonoids*. 2000 [online]. [cit. 2009-04-17]. Dostupné z: <http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/flavonoid.html>
- [7] KLEJDUS B., ŠTĚRBOVÁ D., STRATIL P., KUBÁŇ V. *Identifikace a charakterizace isoflavonů v rostlinných extraktech za použití kombinace HPLC s hmotnostním detektorem a detektorem s diodovým polem (HPLC-DAD-MS)*. Chemické Listy, 2003. Dostupné z: www.chemicke-listy.cz/does/full/2003_07_01.pdf
- [8] <http://ijpbsrd.com/Uploads/02.SRD23000120011.pdf>
- [9] BITTNER, L. Použití medu při léčbě infikovaných ran. *Včelařství*. 2007, č. 6, s. 150-151.
- [10] ANDERSEN, O M. -- MARKHAM, K R. *Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 1237 s. ISBN 0-8493-2021-6.
- [11] WINKEL-SHIRLEY, B., *Flavonoids Biosynthesis. A color Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology*. [online]. 2001 [cit. 2015-02-05]. Dostupné z: <http://www.plantphysiol.org/content/126/2/485.full>
- [12] KŘENKOVÁ, E. Používání včelích produktů. *Včelařství*. 2009, č. 1, s. 12.
- [13] Petrusa, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., Vianello, A. *Plant Flavonoids—Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses*. [online]. 2013 [cit. 2015-02-05]. Dostupné z: <http://www.google.cz/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCcQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.mdpi.com%2F1422-0067%2F14%2F7%2F14950%2Fpdf&ei=S4vTVOiHDobvaOnugJgH&usq=AFQjCNH-Euc6vf9G-zaDB2uE5aP3aTVEZw>
- [14] GROTEWOLD, E. *The science of flavonoids*. New York: Springer, 2006. 273 s.

ISBN 0-387-28821-X.

[15] PETR, J. Včelí med a probiotika. *Včelařství*. 2012, č. 6, s. 186

[16] HUBAČ, R. Využití včelích produktů v léčebné praxi. *Včelařství*. 2005, č. 8, s. 206.

[17] <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Flavonoidn%c3%ADbarviva>

[18] Bogdanov S., Ruoff K., Oddo L.P. 2004: *Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review*. *Apidologie* 35(suppl.1):S4-S17.

7 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 2H chromen, obr. 2 Flavan	27
Obr. 3 Základní struktury flavonoidů	28
Obr. 4 Chalkon, obr. 5 Dihydrochalkon, obr. 6 Auron.....	29
Obr. 7 Isoflavon	29
Obr. 8 flavyliový kation.....	30
Obr. 9 Biosyntéza flavonoidů	35

8 SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Chemické složení medu	14
Tab. 2 Zastoupení oligosacharidů v medu	15
Tab. 3 Obsah aminokyselin v medu.....	17
Tab. 4 Obsah vitaminů v medu	18
Tab. 5 Obsah minerálních látek v medu	20
Tab. 6 Aromatické látky v medu	21
Tab. 7 Kalibrační údaje.....	39
Tab. 8 Koncentrace jednotlivých látek v květovém medu.....	40
Tab. 9 Koncentrace jednotlivých látek v lesním medu.....	41
Tab. 10 Koncentrace jednotlivých látek v lipovém medu	41
Tab. 11 Koncentrace jednotlivých látek v malinovém medu	42
Tab. 12 Koncentrace jednotlivých látek v javorovém medu	42
Tab. 13 Koncentrace jednotlivých látek v pohankovém medu.....	43
Tab. 14 Koncentrace jednotlivých látek v květovém medu.....	44
Tab. 15 Koncentrace jednotlivých látek v lesním medu.....	44
Tab. 16 Koncentrace jednotlivých látek v lipovém medu	45
Tab. 16 Koncentrace jednotlivých látek v malinovém medu	46
Tab. 17 Koncentrace jednotlivých látek v javorovém medu	46
Tab. 18 Koncentrace jednotlivých látek v pohankovém medu.....	47

9 SEZNAM ZKRATEK

LLE – extrakce z kapaliny do kapaliny

SPE – extrakce na pevné fázi

Rt – retenční čas

R² – korelační koeficient

Sr – směrodatná odchylka

RSD [%] – relativní směrodatná odchylka