VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ AKTIVNÍCH LÁTEK V MEDU

DIPLOMOVÁ PRÁCE
DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE ZUZANA JELÉNKOVÁ
AUTHOR

BRNO 2008

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ AKTIVNÍCH LÁTEK V MEDU

ANALYSIS OF ACTIVE SUBSTANCES IN HONEY

DIPLOMOVÁ PRÁCE
DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE — ZUZANA JELÉNKOVÁ
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — doc. RNDr. IVANA MÁROVÁ, CSc.
SUPERVISOR

BRNO 2008

Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce	**FCH-DIP0162/2007**	Akademický rok: **2007/2008**
Ústav	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka)	**Jelénková Zuzana**	
Studijní program	Chemie a technologie potravin (M2901)	
Studijní obor	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí diplomové práce	**doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.**	
Konzultanti diplomové práce		

Název diplomové práce:

Stanovení aktivních látek v medu

Zadání diplomové práce:

1. Literární rešerše

- přehled druhů medu, hlavních biologicky aktivních látek obsažených v medu a pozitivních zdravotních účinků medu
- přehled metod stanovení významně zastoupených aktivních látek v medu

2. Optimalizace metod extrakce a stanovení vybraných antioxidantů a celkové antioxidační aktivity; stanovení dalších aktivních složek medu

3. Screeningová studie - analýza aktivních složek a biologické aktivity ve vybraných druzích medu

4. Orientační senzorická analýza medů

Termín odevzdání diplomové práce: 16.5.2008

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Zuzana Jelénková	doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.	
student(ka)	Vedoucí práce	Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2007

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Předložená diplomová práce byla zaměřena na stanovení biologicky aktivních látek v medu. Bylo analyzováno 26 vzorků medu, 1 vzorek propolisu a 1 vzorek mateří kašičky. Medy byly stočeny v letech 2006 a 2007 a zakoupeny v maloobchodní síti, ve specializovaných prodejnách a přímo u včelaře.

Vzorky byly analyzovány pomocí metod titračních a spektrofotometrických, metodou RP-HPLC a metodou LC/MS. Studie byla zaměřena zejména na analýzu antioxidantů. Z antioxidantů byly analyzovány tyto skupiny: flavonoidy, katechiny, karotenoidy, vitaminy A, C a E. Pro ověření kvality medu byl ve vzorcích stanoven obsah hydroxymethylfurfuralu.

Průměrné hodnoty celkové antioxidační kapacity se pohybovaly v rozmezí (12,75-137,49) mmol $\cdot 100\ g^{-1}$. Průměrné hodnoty celkových polyfenolů se pohybovaly v rozmezí (8,51-61,34) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ a průměrné hodnoty celkových flavonoidů se pohybovaly v rozmezí (0,75-6,04) mg $\cdot 100\ g^{-1}$. Z flavonoidů medy obsahovaly (41,83-585,10) µg $\cdot 100\ g^{-1}$ rutinu, (9,30-313,40) µg $\cdot 100\ g^{-1}$ myricetinu, (6,05-171,90) µg $\cdot 100\ g^{-1}$ luteolinu, (3,19-436,37) µg $\cdot 100\ g^{-1}$ quercetinu, (2,10-242,66) µg $\cdot 100\ g^{-1}$ apigeninu, (0,15-105,12) µg $\cdot 100\ g^{-1}$ kaempferolu a (0,07-17,52) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ naringeninu. Z katechinů bylo v medech změřeno (5,98-310) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ katechinu, (17,77-486,29) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ epikatechinu, (0,18-64,90) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ katechin galátu a (0,59-140,56) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ epikatechin galátu. Z lipofilních látek medy obsahovaly nejvíce tokoferol - (29,20-8531,17) µg $\cdot 100\ g^{-1}$. Obsah kyseliny askorbové se pohyboval v rozmezí (0,65-4,65) mg $\cdot 100\ g^{-1}$.

Obsah hydroxymethylfurfuralu se pohyboval v rozmezí (0,26-4,06) mg $\cdot 100\ g^{-1}$. Jeden výrobek nevyhověl normě.

Metodou LC/MS byl v lesním medu detekován luteolin, naringenin, protokatechinová kyselina, kávová kyselina a p-kumarová kyselina, v květovém medu navíc pak kyanidin a pinocembrin.

Nejvíce biologicky aktivních látek obsahovaly medy jednodruhové, nepatrně méně pak medy květové smíšené a medy lesní. Nejméně biologicky aktivních látek obsahovaly medy akátové.

Klíčová slova:

med, antioxidační kapacita, polyfenoly, flavonoidy, vitaminy

ABSTRACT

This diploma thesis was focused on biologically active compounds determination. 26 samples of honey, one sample of propolis and one sample of royal jelly were analyzed. Honey were harvested in year 2006 and 2007 and bought in retail chain, special shops and directly from bee-keeper.

Samples were analyzed by titration, spectrofotometry, LC/MS and RP-HPLC methods. The study was focused on analysis of antioxidants. Followed groups of antioxidants were determined: flavonoids, catechins, carotenoids, vitamins E, C, A. Authenticity of quality were determined by hydroxymethylfurfural analysis.

Average values of total antioxidant capacity ranged (12.75-137.49) mmol·100 g^{-1}. Average values of total phenolic ranged (8.51-61.34) mg ·100 g^{-1} and average values of total flavonoids ranged (0.75-6.04) mg·100 g^{-1}. Honey samples contained (41.83-585.10) µg ·100 g^{-1} of rutin, (9.30-313.40) µg ·100 g^{-1} of myricetin, (6.5-171.90) ìg ·100 g^{-1} of luteolin, (3.19-436.37) µg ·100 g^{-1} of quercetin, (2.10-242.66) µg ·100 g^{-1} of apigenin, (0.15-105.12) µg ·100 g^{-1} of caempferol and (0.07-17.52) mg ·100 g^{-1} of naringenin. From group of catechins there were measured (5.98-310) mg ·100 g^{-1} of catechin, (17.77-486.29) mg ·100 g^{-1} of epicatechin, (0.18-64.90) mg ·100 g^{-1} of catechin gallate and (0.59-140.56) mg ·100 g^{-1} of epicatechin gallate. From lipophilic compounds the most abundant in honey samples was tocopherol, its value ranged (29.20-8531.17) µg ·100 g^{-1}. Ascorbate content ranged (0.65-4.65) mg·100 g^{-1}. Content of hydroxymethyl furfural ranged (0.26-4.06) mg ·100 g^{-1}.

By LC/MS method luteolin, naringenin, protocatechin acid, coffee acid and p-cumaric acid in honeydew were detected and, furthermore, kyanidin and pinocembrin in floral honey were found.

Mono-floral honey contained biologically active compounds the most, imperceptibly less contained multi-floral honey and honeydew honey. Acacia honey contained the lowest amount of biologically active compounds.

Key words:

honey, antioxidant capacity, phenolic compounds, flavonoids, vitamins

JELÉNKOVÁ, Z. *Stanovení aktivních látek v medu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 102 s. Vedoucí diplomové práce doc. RNDr. Ivana Márová, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se sohlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis diplomanta

Poděkování:
Ráda bych poděkovala Doc. RNDr. Ivaně Márové, CSc. za odborné vedení v průběhu celé diplomové práce. Také děkuji své rodině podporu během celého studia.

OBSAH

1. ÚVOD 9
2. TEORETICKÁ ČÁST 10
2.1 Historie včelařství 10
2.2 Producent a výrobce medu 10
2.2.1 Včela medonosná 10
2.2.1.1 Stavba těla včely 11
2.2.1.2 Včelstvo 12
2.2.2 Zpracování medu – role včelaře 12
2.2.2.1 Včelařský provoz 12
2.2.2.2 Rozdělení včelařského roku 13
2.2.2.3 Medobraní 14
2.3 Tvorba medu 16
2.4 Nektar a medovice 17
2.4.1 Nektar 17
2.4.2 Medovice 18
2.4.3 Přinášení vody 18
2.5 Složení medu 19
2.5.1 Voda 19
2.5.2 Sušina 20
2.5.3 Cukry 20
2.5.4 Kyseliny 21
2.5.5 Aminokyseliny 21
2.5.6 Bílkoviny a peptidy 21
2.5.7 Minerální látky 22
2.5.8 Látky hormonálního charakteru 22
2.5.9 Barviva 22
2.5.10 Hydroxymethylfurfural 23
2.5.11 Vitaminy 23
2.5.12 Aromatické látky 24
2.5.13 Přírodní toxické látky 24
2.5.14 Tukové látky 24
2.5.15 Mikroorganismy 24
2.6 Druhy medů 24
2.6.1 Členění medu podle zákona 25
2.6.2 Rozdělení medů podle původu 26
2.6.2.1 Medovicové medy 26
2.6.2.2 Smíšené medy 26
2.6.2.3 Nektarové (květové) medy 27
2.6.2.3.1 České nektarové (květové) medy 27
2.6.2.3.2 Evropské nektarové (květové) medy 32
2.6.2.3.3 Světové nektarové (květové) medy 33
2.6.2.3.4 Neobvyklé medy nektarové (květové) 34
2.7 Ostatní včelí produkty 34
2.7.1 Propolis 34
2.7.1.1 Fyzikální vlastnosti 35
2.7.1.2 Chemické složení 35
2.7.1.3 Biologická aktivita propolisu a jeho složek 36
2.7.1.4 Použití 36

2.7.1.5 Získávání propolisu 36
2.7.2 Mateří kašička 37
2.7.2.1 Fyzikální vlastnosti 37
2.7.2.2 Skladování a zpracování mateří kašičky 37
2.7.2.3 Získávání mateří kašičky 38
2.8 Role medu ve výživě člověka 38
2.9 Biologicky aktivní látky: antioxidanty 39
2.9.1 Flavonoidy 39
2.9.2 Karotenoidy 41
2.9.3 Vitaminy s antioxidačním účinkem 42
2.9.3.1 Vitamin E – tokoferoly 42
2.9.3.2 Vitamin A – retinol 43
2.9.3.3 Vitamin C – kyselina askorbová 44
2.10 Hydroxymethylfurfural 45
2.11 Metody používané při analýze biologických vzorků 46
2.11.1 Extrakce 46
2.11.2 Chromatografické metody 47
2.11.2.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie 47
2.11.2.2 Hmotnostní spektroskopie 47
2.11.3 Absorpční spektrofotometrie 48
2.11.4 Senzorická analýza 48
3. CÍL PRÁCE 49
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 50
4.1 Přístroje, chemikálie a diagnostické soupravy 50
4.2 Materiál 51
4.3 Stanovení vybraných aktivních látek v medu 51
4.3.1 Stanovení celkové antioxidační kapacity 51
4.3.2 Analýza celkových polyfenolů 52
4.3.3 Analýza celkových flavonoidů 52
4.3.4 Analýza individuálních flavonoidů metodou RP-HPLC 53
4.3.5 Analýza katechinů metodou RP-HPLC 53
4.3.6 Analýza karotenoidů, α-tokoferolu a retinolu metodou RP-HPLC 53
4.3.7 Stanovení kyseliny askorbové 54
4.3.8 Stanovení hydroxymethylfurfuralu 54
4.3.8.1 Stanovení HMF ve vzorcích medu originálně balených 54
4.3.8.2 Stanovení HMF ve vzorcích po tepelném záhřevu 54
4.3.9 LC/MS analýza flavonoidů a katechinů 55
4.3.10 Orientační senzorická analýza a spotřebitelský dotazník 55
4.3.10.1 Orientační senzorická analýza 55
4.3.10.2 Spotřebitelský dotazník 55
5. VÝSLEDKY A DISKUSE 56
5.1 Výběr biologického materiálu 56
5.2 Stanovení celkové antioxidační kapacity 57
5.3 Analýza celkových polyfenolů a celkových flavonoidů 60
5.4 Analýza individuálních antioxidantů 64
5.4.1 Analýza flavonoidů 65
5.4.2 Analýza katechinů 71
5.4.3 LC/MS analýza flavonoidů a katechinů 75
5.4.4 Analýza karotenoidů, α-tokoferolu a retinolu 77
5.4.5 Stanovení kyseliny askorbové 80

5.5 Stanovení hydroxymethylfurfuralu 82
5.6 Orientační senzorická analýza a spotřebitelský dotazník 85
5.6.1 Orientační senzorická analýza 85
5.6.2 Spotřebitelský dotazník 86
5.7 Srovnání výsledků 90
6. ZÁVĚRY 92
7. LITERATURA 94
8. SEZNAM PŘÍLOH 97
9. PŘÍLOHY 98

1. ÚVOD

Med je lehce stravitelná, energeticky hodnotná potravina, obsahující vedle cukrů různé nutričně cenné doplňkové látky. Podporuje střevní peristaltiku (působí jako mírné projímadlo), snžuje sekreci žaludečních šťáv. Je součástí diety u rekonvalescentů po různých operacích a těžkých nemocech. Je velmi oblíbenou a přitom zdravou součástí výživy dětí. Sportovci ho používají k celkovému posílení organismu. Pro rychlé vstřebávání v organismu je významným doplňkem výživy u lidí ve stresových situacích a u těžce pracujících jedinců.

Med se v převážné míře konzumuje v čisté formě bez úpravy, pouze namazaný na chleba nebo pečivo, přidává se do čaje, ovocných šťáv, jogurtu nebo do mléka. Značná část medu se používá k výrobě různých druhů pečiva a perníku, kde významně zvyšuje vláčnost výrobku. Med se používá i k výrobě bonbonů a čokolád. Stále populárnější je med pastovité konzistence, který se připravuje cíleně z vhodných druhů medů. Sušením medu lze získat krystalický produkt, který se přidává do sušených mléčných nápojů a spolu se sušenými ořechy, jablky a kandovaným ovocem i do výrobků typu müsli. Med se používá i při fermentaci tabáku a úpravě dřeva na výrobu dýmek. Větší použití nachází při výrobě různých sirupů proti kašli. Také v kosmetice se med používá do různých krémů, mastí a pleťových masek.

S nárůstem počtu kardiovaskulárních onemocnění a počtu onemocnění rakovinou se zvýšil i počet studií zabývajících se vlivem potravin na zdraví člověka a vlivu látek v potravinách obsažených na prevenci proti výše zmíněným onemocněním.

Med je potravina, která neobsahuje významné množství jednotlivých antioxidantů, ale obsahuje celý komplex aktivních látek a může být používán poměrně často, takže by mohl nalézt kromě stávajících pozitivních účinků uplatnění i v prevenci proti progresi civilizačních degenerativních chorob.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Historie včelařství

Včelařství je jedním z nejstarších oborů lidské činnosti. Člověku nejdříve přinášelo včelí produkty, jakými byly med a vosk, později se začalo využívat i příznivých účinků dalších produktů, tj. mateří kašičky, včelího jedu a pylu. Pro své antibakteriální vlastnosti našel své uplatnění i propolis [1].

Počátky pouhého sběru medu a vosku, rovněž tak primitivního způsobu chovu včel na území Čech, můžeme klást do pravěku, tedy před dobu, z níž se mohly zachovat podrobnější nebo alespoň nějaké písemné doklady. Pro celé území českých historických zemí (Čechy, Morava a Slezsko) i sousedních zemí jsou písemné doklady z počátečního období historické doby vzácné a zmínky o včelách a jejich chovu ještě vzácnější. Nejprimitivnější forma získávání medu a vosku spočívala ve vyhledávání včelstev sídlících v přirozených dutinách stromů lesů a na jejich okrajích, ve stromech sídlišť apod. [2].

S postupem intenzity využívání půdy k zemědělským účelům nabývalo včelařství význam i při opylování hmyzosnubných rostlin. Včely se však podílejí i na udržování rovnováhy v přírodě a tím i na ochraně životního prostředí, a to opylováním planě rostoucích entomofilních rostlin.

V České republice se chovem včel zabývá téměř 53 000 občanů, kteří ošetřují 518 000 včelstev. Z toho je 51 000 včelařů, to je 97 %, členy Českého svazu včelařů a chovají 512 000, to je 98 % včelstev [1].

V Česku se v závislosti na klimatu a průběhu jednotlivých let pohybuje roční produkce medu dlouhodobě v rozmezí 5 až 8 tisíc tun. Spotřeba medu je však poměrně nízká – okolo 0,5 kg na obyvatele za rok. Pro srovnání: v sousedním Německu se udává spotřeba zhruba 1 kg, v Rakousku téměř 1,5 kg a v Řecku více než 1,5 kg. Tyto rozdíly lze vysvětlit především stravovacími návyky, ale i uvědomělým přesvědčením spotřebitelů, že med je přírodním produktem, který je nejen pohotovým zdrojem energie, ale má i další příznivé účinky na lidský organismus.

Z Česka se ročně vyváží 1,5 až téměř 3 tisíce tun medu. Postupně se však začal k nám zvyšovat dovoz zahraničních, zejména levnějších medů často ze vzdálených a exotických zemí. Objemy dovozových medů se rychle zvyšovaly, z několika stovek tun ročně v první polovině devadesátých let až na množství výrazně převyšující tisíc tun nyní. Nákup medů v zahraničí, jejich následné zpracování a distribuce do tržních sítí se u nás stala předmětem činnosti několika větších specializovaných společností [3].

2.2 Producent a výrobce medu

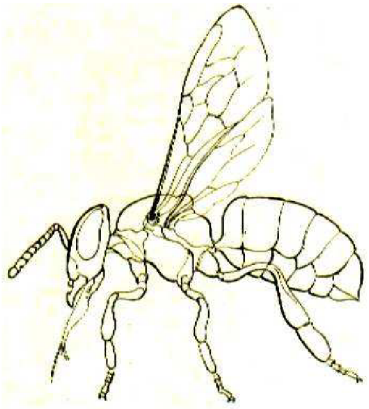
2.2.1 Včela medonosná [4]

Včela medonosná (*Apis mellifera = mellifica L.*) je samostatný druh, který patří do rodu včela. Rod včela tvoří čtyři druhy. Jsou to: včela zlatá, včela květná, včela indická, včela medonosná.

Včela medonosná je vývojově nejdokonalejší duh rodu včela. Je nejlépe přizpůsobena k opylování většiny hmyzomilných rostlin. Dává nejvyšší výnosy medu a nejlépe se hodí k chovu člověkem. V současné době se chová téměř na celé obyvatelné části zeměkoule. V jednotlivých oblastech pak hovoříme o rozchodu různých plemen. Mezi jednotlivými plemeny nejsou ostré hranice. Plemena se navzájem prolínají. K rozlišování jednotlivých čistých plemen slouží vnější znaky (délka nebo šířka jednotlivých částí těla, barva, ochlupení, žilnatina křídel aj.). Na vytváření plemen měly rozhodující vliv především klimatické podmínky.

2.2.1.1 Stavba těla včely

Tělo včely se skládá z hlavy, hrudi a zadečku. Je kryté chitinovým krunýřem. Chitinový krunýř je pevný a nazývá se vnější kostra včely. Chitin chrání vnitřní, měkké tělní orgány, zabezpečuje pevnost a stálý tvar jednotlivých částí těla včely. Vzhled včely je znázorněn na (obr. 1).



0br. 1. *Vzhled těly včely medonosné [4]*

Hlava včely má tvar zaobleného trojúhelníku. Je tvořena jednolitým chitinovaným krunýřem. Je sídlem většiny smyslových ústrojí. Na temeni hlavy jsou tři jednoduchá očka, po bocích hlavy pak dvě oči složené. Včely vidí mozaikovitě, celkový obraz vznikne složením dílčích obrazců. Včela je velmi citlivá na rychlé pohyby při manipulaci ve včelstvech. U trubců jsou oči více vypouklé a poněkud větší. U matky dosahuje počet oček ve složeném oku kolem 4000, u dělnice 4500, u trubce až 9500. Jednoduchými očky vidí včela na blízko, složenými pak pozoruje předmět v dáli. Těsně nad čelním štítkem, který tvoří přední část hlavy, jsou na hlavě umístěna tykadla. Včelí tykadla jsou lomená. Skládají se z článků. Zadní článek je nejdelší, je označován jako násadec. Druhým článkem je prstenec, který spojuje násadec s bičíkem složeným u matky a dělnice z deseti článků tykadla, u trubce z jedenácti. Články tykadla jsou duté, proudí jimi krev a vedou jimi nervy a vzdušnice. V konečných článcích tykadel jsou umístěna smyslová ústrojí. Součástí hlavy jsou ústní ústrojí. Jsou umístěna v dolní části hlavy. Patří k nim horní pysk, kusadla a sosák. Kusadla jsou rozdílná u matky, dělnice i trubce. Poprvé jsou použita vyvinutými jedinci při prokusování víčka buňky, v niž probíhal dosavadní vývoj. Trubci ani matky v dalším životě již kusadla nepoužívají. Zato u dělnic jsou kusadla využívána k mnoha pracovním úkonům. Sosák je ve své stavbě také velmi složitý. Skládá se z mnoha článků. Je tvořen čelistmi a spodním pyskem. Slouží jako ústrojí lízavě savé. Hlava je spojena úzkým hrdlem s hrudí.

Hruď včely je složena ze tří původních hrudních článků a z prvního zadečkového článku. Každý hrudní článek je tvořen částí hřbetní a částí břišní. Jsou spolu spojeny částí boční. Druhý a třetí hrudní článek nese dva páry křídel. Křídla jsou blanitá, pokrytá jemnými chloupky. Žilnatinu křídel tvoří vzdušnice, které současně slouží jako výztuž. Včela ovládá křídla hrudními létacími svaly. Na hrudi mezi hřbetní a břišní částí článků jsou vkloubeny tři páry nohou. Jsou také článkované, jednotlivé články jsou spojeny klouby. Pohyb nohou ovládají svaly, které jsou přímo v kyčli, ve stehně a v holeni. Nohy a křídla včele slouží jako pohybové ústrojí. Nohy používá k překonávání malých vzdáleností v úle, na česně úlu, na květu. Křídla pak k překonávání větších až velkých vzdáleností v přírodě. Včela dělnice je schopna létat za snůškou až 4 km. Při letu dosahuje rychlosti až 20 km za hodin. Hruď včely je ve své zadní části spojena stopečkou se zadečkem.

Zadeček je schopen zvětšovat se do všech stran podle potřeby včely. Jeho zvětšování má však určité hranice. Články zadečku jsou také chitinové. Každý článek se skládá z hřbetní a z břišní části. Jednotlivé články spojuje jemná membrána. Smršťování a roztahování zadečku je ovládáno svaly. Na zadečku je umístěno také sedm z deseti párů vzdušnicových otvorů (ostatní jsou na hrudi). Jak včela dýchá, můžeme pozorovat i pouhým okem před jejím vzlétnutím. Na spodní straně zadečku můžeme pozorovat zvláště upravené plošky na třetím až šestém článku. Jsou to tzv. vosková zrcadélka. Chitinová stěna je hustě proděravěna vyústěním voskotvorných žláz, které jsou umístěny uvnitř zadečku. Na zrcadélkách pak tuhnou jemně průsvitné šupiny vosku, které jiné včely hnětením kusadly zpracovávají na vosk.

2.2.1.2 Včelstvo

Včela medonosná žije v početných společenstvech – včelstvech. Včelstvo je z hlediska sociologického rodina, tvořená oplozenou matkou a jejími potomky – dělnicemi a trubci. Společně žijí pohromadě nejméně dvě generace včel a je mezi nimi aktivní součinnost. Žádná medonosná včela nemůže žít delší dobu sama; je odkázána na pomoc svých družek. Společný život dává včelám mnoho zajímavých rysů a vlastností a včelstvo tvoří harmonicky organizovaný celek.

Plodování včelstev začíná brzy po slunovratu v zimním období, kdy včelstva jsou pod vlivem chladu stažena do zimního chumáče. Jejich činnosti probíhají skrytě. S příchodem jara dochází k výrazné dělbě práce, včely začnou vyletovat pro vodu, pyl a za snůškou. Přínosy pylu a sladiny způsobují rychlý růst včelstev. To vede ke zvýšené tvorbě tepla a k dalšímu plodování, ke stavbě včelího díla. Rychlý růst počtu včel, teplé dny a těsné hnízdo mají za následek vznik rojové nálady, rojení a vznik nových včelstev dělením. Rozvoj včelstev vrcholí na začátku července, kdy včelstva nahromadí zásoby medu, a pak již všechna činnost směřuje pomalu k přípravě na klidové období – zimu.

Ve vrcholném období rozvoje tvoří včelstvo jedna matka, 300-600 trubců, 50 000-60 000 dělnic, vajíčka a plod, zásoby medu a pylu a včelí dílo z vosku – plodové a medné plásty. Úkolem matky je klást vajíčka a zajišťovat růst a rozmnožování včelstva. Trubci jsou včelí samečci, kteří mají za úkol osemenit mladé matky. Všechny práce ve včelstvu konají dělnice. Přinášejí nektar, medovici, pyl, propolis a vodu, zpracovávají sladinu v med, pečují o výživu plodu, stavějí voskové plásty a chrání včelstvo před vetřelci. Činnost včel dělnic je založena na dělbě práce, podmíněné chemickými látkami – feromony. Dělnice jsou nejpočetnějšími jedinci včelstva a určují jeho ráz [1].

2.2.2 Zpracování medu – role včelaře

2.2.2.1 Včelařský provoz

Včelařský provoz musí být vybaven [5]:

- úly s rozběrným dílem (chov včelstev na divočině pevně spojené se stěnami úlu je z důvodu kontroly včelích nemocí v ČR zakázán);
- mateřími mřížkami (deska s otvory znemožňujicími průchod a kladení matky v prostoru úlu určenému pouze k ukládání medu);
- ochrannými pomůckami (kukly, přilby, včelařské klobouky a rukavice);
- rozpěrákem (k uvolňování včelami přitmelených rámků a nástavků);
- kuřákem (k mírnění včel při práci dýmem);
- smetáčkem a smykem (zařízení tvaru velkého trychtýře k ometání včel z plástů);
- vhodným typem krmítek (mohou být součástí úlů);
- plemenáči a oplodňováčky (menší úlky pro chov matek);

- klíckami na matky;
- dalšími drobnými potřebami pro chov a značení včelích matek;
- medometem;
- odvíčkovávacími vidličkami a talíři;
- nádobami a síty na med;
- mnoha jinými pomůckami včetně moderní elektroniky.

Současným trendem světového i českého včelařství je práce v moderních nástavkových úlech složených ze dna, nástavků (bezedných truhlíků) s rámky, v nichž jsou plásty (v nástavku jich je obvykle devět až jedenáct) vyjímatelné horem a z víka se stříškou. Úly mohou být umístěny volně – na včelnici, v malých dřevěných přístřešcích chránících vždy několik úlů – ve včelnicích, nebo ve větších stavbách, v nichž může včelař pracovat i za nepříznivého počasí – ve stabilních včelínech nebo v mobilních kočovných vozech [5].

Úl a jeho součásti

Úl je příbytek včel s rozběrným dílem uměle vytvořeným člověkem. Jako moderní příbytek je konstruován tak, že je buď ve svém celku dělitelný na dva hlavní prostory – plodiště a medník, nebo nedělitelný – oba prostory jsou v jedné ochranné skříni.

Rozeznáváme tyto systémy úlů:

Stojany, v nichž je medník vždy umístěn nad plodištěm. Většinou se stojan skládá ze dvou a více oddělitelných nástavků. Podle přístupu ke včelám mluvíme o úlech stropovacích (přístup jen horem), zádovacích, kde plodiště a medník jsou od sebe neoddělitelné (přístup jen zadem). Známe úly kombinované nebo univerzální (přístupné horem i zadem), dále dříve používané listováky (s rámky ležícími na roštu a sním vyjímatelné, ale přístupné jen zadem), konečně zasouváky ve výsuvných truhlících umístěných v přihrádkové skříni, které jsou vhodné do kočovných vozů. Z přihrádky se vysouvá dozadu celá zásuvka s rámky a pracuje se v ní pak shora. Vícenástavkové úly jsou rovněž stropováky, u nichž se pracuje při ošetřování nejen s jednotlivými rámky, ale převážně s celými nástavky při oddělitelném dnu i víku úlu.

Ležany jsou úly s medníkem nebo dvěma medníky po stranách plodiště, umístěné v jednom prostoru nedělitelné skříně s přístupem k rámkům shora.

Úl chrání včelstvo nejen před povětrnostními vlivy, ale i před nepřáteli a škůdci. Od dávných dob se vyráběl většinou ze dřeva, což je materiál vyhovující včelám a technicky při výrobě úlu snadno zpracovatelný. V současné době jsou snahy používat kromě dřeva jiné hmoty, jako dřevotřískové desky, sololit, polystyren atd. Jednou ze základních a požadovaných vlastností úlu je teplodržnost. Včelstva potřebují k zachování života, k rozvoji i hospodárnému využívání zásob udržovat uvnitř obydlí určité existenční a optimální teploty. ke splnění tohoto požadavku napomáhá včelám konstrukce úlu a také materiál použitý k jeho zhotovení. Výběru úlu sice věnujeme pozornost a podle typu potom řídíme i zootechniku, avšak na medné výnosy nemá vliv jen samotný úl, ale také vlastnosti včelstva a hlavně snůškové podmínky [1].

2.2.2.2 Rozdělení včelařského roku [6]

Současný náhled na včelařskou technologii rozděluje průběh roku na pět časových úseků:

1. Počátek včelařského roku

(srpen až září)

- úprava prostoru včelstva pro zimu, nejlépe již po posledním vytočení medu v červenci;
- ihned po vytočení dodání zimních zásob a současná kontrola přítomnosti matky dle plodu;

- letní léčení varroázy.

2. Přezimování
(říjen až únor)
- léčení a diagnostika varroázy;
- kontrola stanovišť.

3. Vedení včelstev v časném jaru
(březen až duben)
- kontrola zásob nahlédnutím nebo vážením;
- do kvetení třešní klid.

4. Vedení včelstva během času rojení
(květen až červen)
- předcházení rojení přidáváním souší a mezistěn;
- předcházení rojení tvorbou oddělků, včetně chovu matek;
- mobilní včelaření za snůškou.

5. Medobraní
(červen až červenec)
- vytáčení zralého medu;
- letní diagnostika varroázy, sledování denního spadu;
- po vytočení úprava zimního prostoru a začátek dodávání zimních zásob.

2.2.2.3 Medobraní

Jakmile prohlídkou v mednících zjistíme, že včely začaly víčkovat zásoby, znamená to, že donesený nektar (nebo medovici) zpracovaly na med. Víčkování také naznačuje, že med je zralý a lze jej vymetat. O zralosti ještě nezavíčkovaných zásob se můžeme přesvědčit prudším trhnutím plástem drženým plochou ve vodorovné poloze nad otevřeným včelstvem. Med z plástu nemá vystřikovat. Lze si také pořídit jednoduchý refraktometr, s jehož pomocí rychle stanovíme obsah vody a tedy i zralost medu.

Medobraní provádíme, je-li to možné, za příznivého počasí, kdy je většina létavek mimo úl za pastvou. Pokud budeme odebírat plásty za snůšky, musíme je z úlu odebrat ráno, asi do deváté hodiny. Plásty jsou ještě bez řídkého denního přínosu.

Po otevření medníku několikrát zadýmáme kuřákem, uvolníme plásty rozpěrákem, vyjmeme je, ometeme včely a uložíme do prázdného rojáku. Na jejich místo vkládáme do medníku ihned souše [1].

Vytáčení medu

Medné plásty se mají vytočit brzy po vyjmutí z úlu (za tepla při vymetání vystřikuje med lépe z buněk). Odvíčkované plásty vkládáme do medometu tak, aby se u všech plástů otáčela spodní loučka vpřed, protože buňky na plástech jsou postaveny mírně šikmo nahoru.Jedině při tomto směru otáčení můžeme všechen med z plástů vymést. Vytáčí se zralý med. Z medometu med vytéká výpustným kohoutem do podstavených nádob s cedníkem.

O zralosti medu se můžeme znovu přesvědčit při jeho vytékání z medometu. Hustota je dostatečná, jestliže se med při vytékání stužkovitě skládá a při přelévání většího množství z nádoby vydává jeho proud šelestivě praskavý zvuk. Nejsme-li si někdy jisti zralostí medu, můžeme se o ní přesvědčit jeho zvážením. Jeden litr medu má mít nejmenší hmotnost kolem 1,40 kg. Takový med je zralý a při vhodném zpracování nepodléhá zkáze [1].

Uskladnění medu

Zralý med můžeme skladovat v dobrém stavu po více let. Nádoby na uskladnění medu mohou být skleněné, kovové (pocínované, hliníkové, poniklované) nebo i dřevěné. Nesmíme používat nádoby železné, zinkované, mosazné nebo měděné. Med je hygroskopická látka, která přijímá z okolního prostředí vlhko. Nejsou-li nádoby dobře uzavřeny a není-li med zralý, povrchová vrstva medu se ředí nasávaným vlhkem z ovzduší. Stoupne-li objem vody nad 20 %, mohou mikroorganismy v medu způsobit jeho kvašení. Zralý med s objemem vody pod 20 % je prostředí fyziologicky „suché“ a neumožňuje činnost mikroorganismům. Nádoby s medem proto uskladňujeme v čistých a suchých místnostech. nesmíme tam zároveň uchovávat různé páchnoucí nebo aromatické látky, protože med nabírá jejich vůni a tím získá špatnou chuť [1].

Při pokojové teplotě snese med v okolí asi 60 procentní relativní vlhkost vzduchu. Nikdy by se neměl skladovat v místnostech s vysokou relativní vlhkostí vzduchu – tedy v běžném sklepě nebo venku, kde bývá vzduch velmi vlhký při dešti. Běžné nádoby nejsou totiž vzduchotěsné (tedy ani parotěsné) a je-li nad medem v nádobě méně vodních par než v okolním prostředí, pronikají vodní páry podle rozdílu svého tlaku do nádoby, což má za následek vznik napřed tenké a později silnější vrstvičky zředěného medu na povrchu. Zde pak začnou kvasné procesy a med je dále znehodnocován. Med by se tedy měl skladovat na suchém místě při pokojové teplotě. Pokud se uskladňuje v chladnu, měl by být umístěn na nejteplejším místě této chladné místnosti, kde je také poměrně nejsušší vzduch [7].

Med nesmí být při skladování vystaven teplotě vyšší než 25 °C [8].

Krystalizace medu

Všechny medy po určité době přecházejí z tekutého stavu do tuhého. Hovoříme o krystalizaci medu. O tuhosti nebo tekutosti medu spolurozhoduje poměr dvou nejdůležitějších a v největší míře zastoupených složek medu. Je to cukr hroznový – glukóza a cukr ovocný – fruktóza [4].

Krystalizace medů je dána tím, že med je přesyceným roztokem cukrů. Vzhledem k tomu, že s cukrů přítomných v medu je ve vodě nejméně rozpustná glukóza, je i stupeň přesycení nejvíce závislý na tomto cukru. Fruktóza podstatně zpomaluje krystalizaci glukózy z přesycených roztoků. Na krystalizaci má urychlující účinek přítomnost krystalů, pylových a nebo prachových zrnek, mechanický šok při odstřeďování a tepelný šok při zpracování medu [1].

Vlastní krystalizace jako jev má dvě fáze [1]:

1. nukleace, což je vytvoření zárodečných krystalů, závisí na podmínkách získávání a skladování medu,
2. vlastní krystalizace, kdy zárodečné krystaly rostou až do velikosti viditelné pouhým okem, takže med ztuhne v celé hmotě.

Velikost krystalů závisí na mnoha faktorech [9]:

- na poměru glukózy a fruktózy,
- na obsahu vody,
- na teplotě.

Rychlost krystalizace je kromě jiného silně závislá na viskozitě medu. Protože viskozita závisí logaritmicky na teplotě (velká změna viskozity při poměrně malé změně teploty), medy skladované při teplotách nižších než -15°C zůstávají tekuté i několik desítek let.

Květový med obsahuje větší množství ovocného cukru, krystalizuje dřív než medovicový med. Ale ani toto tvrzení vždy neobstojí. Řepkový med začíná krystalizovat již za tři dny po medobraní, naproti tomu akátový med zůstává v tekutém stavu rok i delší dobu.

Zkrystalizované medy mají vždy světlejší barvu než medy v tekuté stavu.

Krystalizace medu není na závadu. Krystalizaci medu lze záměrně uspíšit. Krystaly u různých medů dosahují různé velikosti. Zkrystalizované medy se dají snadno upravit v tekutý med [1].

Ztekucování medu

Krystalizace medu je přirozený jev. Šetrné ztekucení med nepoškodí. Ztekucování se provádí ohřátím na 50°C. Nádoby s medem je možné zahřívat ve vodní lázni nebo v tepelné komoře. Pro malé a střední provozy nejlépe vyhovuje tepelná komora s dobrou izolací, elektrickým ohřevem, ventilátorem a termostatem. Komora může mít různou velikost podle požadované kapacity. Základním požadavkem je udržení nastavené teploty v celém prostoru komory, proto musí být zajištěna cirkulace vzduchu, bezpečné vytápění a přesná spolehlivá regulace. Topné těleso s ventilátorem může být na dně komory pod roštěm nebo i mimo komoru. V hliníkových konvích 35 kg se med ztekutí při teplotě vzduchu v komoře 50°C asi za dva dny [1].

Pastování medu

Pastování je úprava medu, jejímž výsledkem je jemně krystalická hmota (krystalky o velikosti asi 10 μm) pastové konzistence, která skladováním nemění své vlastnosti [1].

Ihned po vytočení a hrubém přecezení nalijeme med do nádob o obsahu 30-50 kg a necháme několik dní stát v klidu při teplotě medárny. Zpravidla po třech dnech je med vyčeřen. Z jeho povrchu opatrně odebereme pěnu. Potom čekáme, kdy se med začne kalit. To je ten pravý okamžik, kdy začneme s pastováním. Od této chvíle celý obsah nádoby několikrát denně důkladně promícháme. Mícháme pomalu, aby se do medu nevpravovaly bublinky vzduchu. K míchání používáme různé přípravky – od ruční špachtle, přes hranoly a vrtulky upnuté ve vrtačce až po automatická zařízení se silovými motory a spínacími hodinami. Míchání je s postupnou krystalizací namáhavější. Ke konci pastování je krystalizace velice rychlá. Vzniká velké množství malých krystalů o velikosti pod 10 μm. Okamžik, který nám napoví kdy přestat míchat a začít plnit do sklenic, nastává tehdy, kdy žlábek vytvořený např. lžičkou na hladině zvolna zmizí. Med je ještě v tekutém stavu, snadno se nalévá do sklenic a bublinky vzduchu vyplouvají na povrch. Takto naplněný med ve sklenicích dokončí již bez míchání započatou krystalizaci v celém objemu sklenice [9].

2.3 Tvorba medu

Včelí med je nejznámější a nejdůležitější včelí produkt. Med definujeme jako sladkou hmotu vytvářenou včelami z nektaru nebo z medovice, které včely sbírají, přetvářejí pomocí výměšků hltanových žláz a zralý uskladňují v plástech. Účelem zrání je přetvoření řídkých, a tedy i mikrobiálně nestálých přírodních šťáv na hutné a mikrobiálně stále zimní zásoby – med. Při zrání se mění i chemické složení původních surovin. Především se štěpí sacharóza na invertní cukr a současně z jednoduchým cukrů vznikají cukry složitější.

Když se včela mladuška stane létavkou, začne vyhledávat zdroje snůšky podle barev, vůně a některých údajů, získaných od starších létavek v tanečcích. Nalezne-li květ, usadí se buď přímo v něm, nebo u drobných květů usedá na listy nebo lodyhu, která ji unese. Po usazení vysune jazýček a sosáček a hledá místo, kde je kapka nektaru nebo medovice. Nektar se hromadí na nektariích nebo v prohlubních nedaleko nich. Při tom se včela řídí mnoha smysly, jejíchž sídlo je na tykadlech a na jazýčku. Jen vysunutým jazýčkem může zjistit, zda v květu je nektar nebo není. Květy, které nedávno navštívila jiná včela, pozná podle vůně, která tam zbyla.

Nektar i medovici saje sosáčkem nebo vylizuje jazýčkem a práce v jednotlivých květech je časově různě náročná. V otevřených a snadno přístupných nektariích je sbírání nektaru krátké, v květech trubkovitých, pro včelu s těžce přístupnými nektariemi, je doba sběru nektaru delší. Kolik květů navštíví létavka, než se rozhodne pro návrat do úlu, není přesně známo. Jisté však je, že ne všechny létavky si naplňují medný váček stejně. Medný váček má objem 55-60 mm^3 a létavka si ho nikdy nenaplní až k prasknutí. Nikdy ho také zcela nevyprázdní. Za snůškou vyletuje s určitou dávkou potravy.

Při návratu do úlu na sebe upozorní nabízením přinesené sladiny a tanečky, které mobilizují mladušky. Potom náklad předá 3-4 mladuškám. Odpočine si, vyčistí oči, tykadla a hrudník, přijme novou potravu na cestu a znovu vyletuje. Denně vykoná 7-16 letů, jež mohou trvat podle vzdálenosti a vydatnosti snůškového zdroje 7-80 minut.

Mladušky, které přinesenou sladinu přijaly, ji začnou zpracovávat na med. Přidají k ní výměšky hltanových žláz s obsahem invertázy. Tím dochází k chemickému štěpení cukrů a sacharóza nektaru ubývá a štěpí se na jednoduché cukry, fruktózu a glukózu. Zároveň vodnatý nektar na jazyku typickým způsobem odpařují a zahušťují. Mednou surovinu předávají dalším mladuškám a štěpení i odpařování probíhá pak v početném řetězci, než může být med uložen do buněk. Ještě je řídký, vodnatý a musí se dále odpařovat. To se děje buď v buňkách, nebo novým přenášením medu do dalších buněk. Zralý med je nakonec zapečetěn voskovým víčkem. To je již zpravidla tak zahuštěn, že obsahuje kolem 20 % vody. Biochemické pochody zrání však pokračují ještě delší dobu i v zavíčkovaných buňkách.

Zásoby medu slouží včelám jako potrava v době nedostatku nebo v zimním období. Člověk odebírá včelám zásoby medu a nahrazuje je vhodnou náhradní potravou – cukerným sirupem, který včely zpracovávají obdobně jako nektar a medovici [1].

2.4 Nektar a medovice

2.4.1 Nektar

Nejčastějším zdrojem medu je nektar. Nektar vylučují květy, někdy také listy rostlin, v nektariích. Nektar je sladký, vonící. Množství vyloučeného nektaru u různých květů je rozdílné.Nektar je vodný roztok mnoha organických sloučeni a minerálních látek, vyloučených nektariemi z rostlinných pletiv. Obsahuje především cukry, kdežto ostatní látky jako bílkoviny, organické kyseliny, minerální látky, barviva, vitaminy a aromatické látky, jsou v něm obsaženy v poměrně menším množství. Obsah popelovin v nektaru je 0,02-0,45 %. Povahou je nektar kyselý nebo téměř neutrální (pH = 2,7-6,4), jen u ojedinělých nektarů byla zjištěna alkalická reakce (pH = 9,1). Z vitaminů byly v nektaru zjištěny: tiamin, riboflavin, pyridoxin, kyselina nikotinová, kyselina listová, biotin a kyselina askorbová. Jejich obsah je však v nektaru a později i v medech z hlediska biologické potřeby člověka málo významný. dále jsou v nektaru obsaženy aminokyseliny a amidy. Některé nektary mohou obsahovat látky jedovaté pro včely i pro člověka [1].

Nejpodstatnější částí nektaru jsou cukry. Dosud jich bylo chemicky zjištěno 28. jejich koncentrace kolísá od 5 % do 86 %. Nektar s nižší koncentrací cukrů než 10 % včely nesbírají nebo přijímají jen jako vodu. Z cukrů je v nektaru nejvíce zastoupena sacharóza, glukóza a fruktóza a podle jejich vzájemného poměru rozdělujeme nektary rostlin do tří skupin:

1. nektary s převahou sacharózy,
2. nektary se stejným poměrem sacharózy, glukózy a fruktózy,
3. nektary bez sacharózy.

Poměr glukózy k fruktóze je rovněž proměnlivý, zvláště ve třetí skupině nektarů. Většinou má převahu fruktóza, nektary s převládající glukózou jsou vzácné. Převaha fruktózy nad glukózou může být až 28-násobná. Obsah a poměr cukrů v nektaru má vliv na kvalitu medu.

Například v nektarech řepkových a pampeliškových je málo fruktózy, v nektarech akátu a hluchavky má převahu fruktóza, a proto tyto medy zůstávají dlouho tekuté.

Ve vodivém pletivu rostlin, v sítkovicích, je přepravována pouze sacharóza. V nektaru jsou však již různé cukry. Svědčí to o tom, že nektaria se podílejí aktivně na přeměně cukrů v nektaru. V buňkách nektarií probíhá enzymatické štěpení sacharózy a z hexóz, jednoduchých cukrů, vznikají syntézou molekul nové cukry, např. melecitóza, rafinóza apod. Přeměnu cukrů vyvolává enzym invertáza.

Kromě uvedených látek se do nektaru druhotně dostávají kvasinky, pyl a jiné organické i anorganické částečky, které mohou ovlivnit složení nektaru a později i medu [1].

2.4.2 Medovice

Pro mednou produkci, zejména ve střední Evropě, má vedle nektaru vylučovaného květy hmyzosnubných rostlinných druhů velký význam další přírodní zdroj – medovice.

Jedná se o produkt zažívací soustavy stejnokřídlého hmyzu (*Homoptera*) – hustou sladkou tekutinu, která vytváří po částečném odpaření lepkavé povlaky nebo kapky na listech a jehličí stromů a keřů, na nichž se tento hmyz rozmnožil a jejich rostlinnými šťávami se živí jak larvy tak dospělci. Jejich ústní ústrojí je uzpůsobeno pro nabodávání rostlinných pletiv a k sání. Míza proudí sítkovicemi vodivého pletiva pod tlakem a kanálkem se dostává do ústní dutiny. Trávící soustava bývá u některých producentů medovice vybavena filtrační komorou, což je část jícnu nebo přední část žaludku vychlípená do konečníku. Přes její tenkou blanitou stěnu mohou procházet živiny s jednoduchou molekulární stavbou, hlavně roztoky cukrů, přímo do zadní části střeva, aniž by prošly trávícím procesem žaludku. Hromadí se v zadní části střeva (konečníku) a jsou buď vystřikovány řitním otvorem nebo přímo volně vytékají z těla (u puklic). Nejsou to tudíž výkaly, ale jen přefiltrovaná šťáva ze sítkovic, která má stejnou podstatu jako nektar rostlin.

Po chemické stránce je však medovice složitou látkou, složitější než nektar, obsahující v průměru 56 % vody (čerstvě vyloučená až 80 %). Z cukrů, které tvoří její podstatnou část, je nejvíce zastoupena sacharóza, glukóza a fruktóza, dále maltóza, melecitóza a řada dalších polysacharidů. Aminokyseliny se v ní nacházejí v menší koncentraci než v míze sítkovic, ale v širokém druhovém zastoupení. Jsou převážně rostlinného původu (alanin, kyselina asparagová, glutamová, histidin, lyzin a jiné). Z dalších látek jsou obsaženy v medovici různé minerální a aromatické látky, vitaminy, barviva; pH medovice se pohybuje v hodnotách 6,7 – 7,5.

Mezi prvořadé producenty medovice patří u nás některé druhy mšic (podřád *Aphidinea*). Medovice vytvářejí larvální stádia a samičky. Velké množství medovice vylučují také červci (podřád *Coccinea*) a mery (podřád *Psyllinea*).

Hlavní zdrojem snůšky medovice jsou u nás porosty jehličnatých lesů. Největší význam z lesních dřevin má smrk ztepilý. Rozloha smrkových lesů je u nás největší a rozmnožují se na něm významní producenti medovice, mezi něž lze zařadit čtyři druhy mšic a dva druhy puklic. Medovice se na něm může vyskytovat od poloviny dubna do srpna podle druhu hmyzu. Včelaři je vyhledávána medovicová snůška z jedle bělokoré, na níž žijí tři včelařsky významné druhy mšic. Opět jsou to mšice medovnice. Včely vyhledávají v letních měsících medovici i na řadě dalších stromů: borovice lesní, modřín opadavý aj. Zdrojem medovicové snůšky jsou v naší přírodě i četné listnaté stromy a keře. Velmi hojný a rozšířený producent medovice žije na lípách – lípě srdčité a velkolisté. Dalším zdrojem medovice může být buk lesní, dub letní, javor klen, javor mléč a vrba bílá [10].

2.4.3 Přinášení vody

Kromě nektaru (medovice), pylu a propolisu přinášejí včely do úlu velké množství vody. Zdroj vody, jímž bývá ve včelařském provozu zpravidla napajedlo, začnou včely houfně

vyhledávat hned v prvních dnech po jarním proletu a zájem o vodu mají po celé jaro, léto až do pozdního podzimu. Je-li však snůška nektaru, je o vodu v napajedle menší zájem. Řídký, vodnatý nektar vodu plně nahrazuje. Jakmile snůška nektaru přestane, objeví se létavky znovu na napajedle.

Na jaře požívají včely donesenou vodu k ředění hustých zásob medu. Krmná kašička larev má kolem 65 % vody. Obsah medných váčků mladušek je stále poměrně řídký, koncentrace tekutiny v medném váčku nepřesahuje 32-38 % a neustálým předáváním potravy se udržuje ve včelstvu na dosti stálé úrovni.

V zimním období získávají včely vodu z tzv. metabolické vody, uvolněné při trávení cukrů v zimních zásobách. Využívají i kondenzovanou vodu, vysráženou z vydýchaných par. Kondenzovanou vodu můžeme vidět na stěnách úlů. Pokud ji včely nevyužijí, může podporovat vznik plísní.

Do úlu nosí vodu létavky. Stanou se z nich specializované nosičky vody, vyhledávající napajedla nebo zdroje vody v přírodě, tj. vodoteče, kaluže a nejraději pórovitý, vodou nasáklý materiál – mech, rašelinu apod. Přínos vody do úlu je řízen poptávkou mladušek.

V úlu bychom marně hledali buňky s uskladněnou vodou. Včely vodu neskladují v buňkách plástů jako med a pyl. Jen zřídka je vidět drobné kapky vody lesknoucí se v trhlinách plástů. Nosičky vody předávají mladuškám náklad vody u česna úlu a ty ji pak využijí ihned tam, kde je potřebná. Pokud není o vodu zájem, usadí se mladušky s plným medným váčkem vody nedaleko otevřeného plodu a jako živé zásobníky vody čekají na příležitost, až bude voda využita krmičkami plodu.

Ve včelstvu má voda mnohostranný význam. Je ředidlem cukernaté potravy, slouží k udržení optimální vlhkosti v úlu, je pojistkou proti nebezpečnému, rychlému zvýšení teploty těla včel i v buňkách s plodem. Potřebují-li včely zvýšit vlhkost v úlu, činí tak odpařováním kapének tekutiny z medného váčku u kořene jazýčku. Včela pohybuje jazýčkem mírně dopředu a dozadu, čímž se plocha tekutiny u kořene jazýčku roztahuje a odpařuje se. Stejným způsobem ochlazuje včela svou hemolymfu, zahřátou v hrudním svalstvu.

V buňkách s odkrytým plodem zavěšují včely na horní stěnu buňky drobné kapénky vody a tím zajišťují, že v buňce nedojde k přehřátí. Voda se pomalu odpařuje, tím se snižuje teplota a vhodně upravuje vlhkost vzduchu v buňce.

Vodu přinášejí včely z různých zdrojů, z hlediska lidské hygieny často nevhodných. Rády navštěvují zdroje vody smíšené s močůvkou nebo močí. Dávají přednost vodě mírně slané před vodou destilovanou, třebaže již 1% roztok kuchyňské soli je pro včely jedovatý.

Hygienické napajedlo, na které se včely naučí pravidelně létat od jara do podzimu, je nejjistějším zdrojem nezávadné vody pro včelstvo [1].

2.5 Složení medu

V medu bylo až doposud popsáno více než dvě stě organických sloučenin, z nichž nejvýznamnější skupinu co do počtu sloučenin představují aromatické látky. Ty medu dodávají charakteristickou vůni a chuť. Počtem sloučenin jsou dále velmi významně zastoupeny cukry a aminokyseliny. Cukry přitom tvoří více než 80 % hmotnosti medu, minerální látky jsou v medu zastoupeny do 1 % (především soli draselné, sodné, vápenaté, hořečnaté, železité, manganaté a borité), vitaminy tvoří méně než 0,3 %, aminokyseliny méně než 0,2 %, aromatické látky méně než 20 ppm. Významnou složkou medu jsou enzymy (především invertáza, diastáza, glukooxidáza a další). Některým enzymům jsou přisuzovány také antibakteriální účinky medu [1].

2.5.1 Voda

Voda je v medech obsažena v množství 15-21 %. Nevyzrálé medy mají i více vody a jsou náchylné ke kvašení. Obsah vody je základním kritériem kvality medu. Naše i evropská

norma požaduje maximálně 19 % vody. Obsah vody v medu se zjišťuje refraktometricky nebo ze specifické hmotnosti. Pro kvalitu medu je optimální obsah vody 17-18 % [1].

Obsah vody v medu jednoho včelstva může kolísat plást od plástu. V okrajových plástech má med vyšší obsah vody než ve středních plástech. Ve ztluštělých plástech má med rovněž vyšší obsah vody než v normálních plástech. Med ve vyšších nástavcích je vlhčí než v nástavcích nad plodem. Problémy s obsahem vody jsou zejména u květových medů (nektar již má zpravidla více vody než medovice). Květový med by měl být zavíčkován – když ne zcela, pak alespoň ze dvou třetin. Med při trhnutí plástem nesmí vystříknout. Nezralý vytočený květový med kvasí a hořkne [11].

Podle vyhlášky č. 76/2003 Sb. ze dne 6. března 2003, může být obsah vody v medu nejvýše 20 % hmot. pro med květový a 20 % hmot. pro med medovicový. U vřesového (*Calluna*) medu a medu průmyslového může být obsah vody nejvýše 23 % hmot.; u medu z vřesu (*Calluna*) určeného pro průmyslové účely může být obsah vody nejvýše 25 % hmot. [14].

2.5.2 Sušina

Sušina medu je tvořena z více než 90 % různými cukry. Z ostatních látek jsou v medu obsaženy bílkoviny, aminokyseliny, organické kyseliny, minerální látky, vitaminy, barviva, aromatické látky, hormony další stovky přírodních látek [1].

2.5.3 Cukry

Většinu cukerné sušiny medů tvoří fruktóza (ovocný cukr) a glukóza (hroznový cukr). Téměř ve všech medech převažuje fruktóza nad glukózou, což se projevuje tím, že tyto medy stáčejí rovinu polarizovaného světla doleva – jsou levotočivé. Medy z akátu, vřesu a kaštanovníku setého mají poměr fruktózy ke glukóze vyšší než 1,3; ostatní medy mají poměr od 1 do 1,3. Podle norem mají mít medy nejméně 60 % redukujících cukrů (tj. glukózy, fruktózy a maltózy) [1]. Podle vyhlášky č. 76/2003 Sb. ze dne 6. března 2003 má být součet obsahu fruktózy a glukózy nejméně 60 % hmot. pro medy květové a 45 % hmot. pro medy medovicové [14]. Medovicové medy mývají relativně méně redukujících cukrů než nektarové, protože obsahují více cukrů složitějších [1].

Sacharóza je přirozenou součástí nektaru i medovice, ale enzymaticky se štěpí. Proto se její výskyt v neporušeném medu pohybuje okolo 1 %. Limity pro sacharózu v normách jsou vyšší, protože jsou vztaženy ke starší analytické metodě, která měří tzv. zdánlivou sacharózu (dohromady více podobných cukrů). Enzym invertáza obsažený v hltanových žlázách včel štěpí sacharózu přítomnou v nektaru na směs rovných dílů glukózy a fruktózy. Při tomto štěpení se určité množství vody zabuduje do vzniklých molekul a to napomáhá při zahušťování nektaru na med. Při velmi intenzivní snůšce nestačí invertáza zcela rozložit přítomnou sacharózu, a to je pak příčinou dočasně vyššího obsahu ve vzniklém medu [1]. Obsah sacharózy by však měl být nejvýše 5,0 % hmot. jak v medech květových tak v medech medovicových, podle vyhlášky č. 76/2003 Sb. ze dne 6. března 2003. U medu květového jednodruhového akátového z trnovníku akátu (*Robinia pseudoacacia*), z tolice vojtěšky (*Medicago sativa*), z banksie (*Banksia menziesii*), z kopyšníku (*Hedysarum*), z blahovičníku (*Eucalyptus camadulensis*), z *Euryphia Lucina*, z *Eucryphia miliganii*, z citrusů (*Citrus spp*.) může být obsah sacharózy nejvýše 10,0 % hmot.; u levandulového medu (*Lavandula spp*.) a u medu z brutnáku lékařského (*Borago officinalis*) může být obsah sacharózy nejvýše 15,0 % hmot [14]. Obsah sacharózy v medech v procesu jejich stárnutí klesá [12].

Složitější, tzv. vyšší cukry (oligosacharidy, dextriny) jsou přítomny zejména v medovicových medech. Jejich koncentrace bývá kolem 10 %, někdy i více. Nektarové medy obsahují vyšší cukry pouze do 2-3 %. Mezi prvními byla v medu identifikována maltóza, později následovaly další. Maltóza tvoří asi třetinu všech oligosacharidů přítomných v medu.

Oligosacharidy medu vznikají hlavně enzymaticky. Spolupůsobí enzymy včel, producentů medovice i rostlin samotných. Častým trisacharidem v medu je melecitóza. Tento cukr způsobuje krystalizaci medu v plástech během několika dnů. Včelaři tento jev označují jako cementový med. Výskyt melecitózového medu není typický pouze pro modřínovou medovici, jak se tradovalo, ale je závislý i na druhu producenta a pravděpodobně i na teplotních a vlhkostních podmínkách. Melecitóza není pro včely stravitelná. Její přítomnost v zimních zásobách může způsobit oslabení i úhyn včelstva [1].

2.5.4 Kyseliny

Kyseliny jsou obsaženy ve všech druzích medů a způsobují kyselou reakci a chuť. Základní kyselinou v medu je kyselina glukonová, vznikající z glukózy enzymatickou oxidací. V medu je obsažena spíše ve formě laktonu, který po zředění vodou přejde na glukonovou kyselinu. Laktony tvoří asi třetinu celkové kyselosti medu. V medu jsou dále ve významném množství přítomny kyselina citrónová, jablečná a jantarová; v malém množství kyseliny octová, mravenčí, máselná, mléčná, šťavelová, glykolová a 2-oxoglutarová. Bohaté spektrum organických kyselin je znakem pravosti medu, cukerné zásoby včel jsou na organické kyseliny chudé. Medy obsahují běžně do 30 milivalů kyselin v 1kg medu. Limit podle norem je 40 milivalů, vyšší kyselost svědčí o kvašení medu. Celkovou kyselost medu můžeme vyjádřit i jako hodnotu pH. Medy mají průměrné pH od 3,9 do 4,0, při čemž medy nektarové jsou kyselejší (pH 3,4) a medovicové mohou obsahovat až pH 6,1. Příčinou menší aktivní kyselosti medovicových medů je vyšší obsah minerálních látek, které působí tlumivě na kyselost [1].

Kvalitativní i kvantitativní zastoupení organických kyselin v medech je velice variabilní a závisí hlavně na botanickém druhu medu, ale může být ovlivněno také procesem zrání medu a způsobem jeho skladování po vytočení. S úrovní obsahu kyselin v medu přímo souvisí také jeden z parametrů jeho kvality – KYSELOST. Rozeznáváme tři druhy kyselosti: volnou, laktonovou a celkovou. Pro vyjadřování kyselosti medu se běžně používá termín volná kyselost (dále jen kyselost), která je definována jako obsah všech volných kyselin obsažených v medu. Kyselost medu se vyjadřuje v miliekvivalentech (mekv) na 1 kg medu. Kvalitní medy z lokalit ČR obsahují běžně do 30 mekv kyselin/kg medu. Při vytočení nevyzrálých medů s vyšším obsahem vody nebo při nevhodném skladování může dojít k procesu kvašení medu. V tomto případě dochází ke zvýšení obsahu organických kyselin a tím i ke snížení celkové kvality medu [13].

2.5.5 Aminokyseliny

Aminokyseliny se výrazně podílejí na chuťových vlastnostech medů. Podle obsahu aminokyselin je možné určit i geografický původ některých medů. Nejvíce aminokyselin nacházíme ve smíšených medech. Převažující aminokyselinou v medech je prolin, vyskytuje se v medech v koncentraci 200-500 mg/kg. Skladováním při zvýšené teplotě obsah prolinu pozvolna klesá, pravděpodobně reaguje s cukry, popřípadě s hydroxymethylfurfuralem [1].

2.5.6 Bílkoviny a peptidy

Molekulová hmotnost bílkovin v medu se pohybuje od 40 do 400 000. Asi polovina dusíkatých látek v medu jsou nízkomolekulární látky, peptidy. Ostatní jsou vysokomolekulární. Většina má biochemickou aktivitu – patří mezi enzymy, které urychlují různé metabolické reakce v živých organizmech.

Invertáza je významným enzymem v medu, který štěpí sacharózu na jednoduché cukry glukózu a fruktózu. Rozpuštěním sacharózy v nektaru se podstatně zvýší rozpustnost cukrů ve vodě a tím i stabilita vznikajícího medu. Invertáza má i další funkce. Nejen rozkládá sacharózu, ale i obráceným pochodem vytváří z jednoduchých cukrů složité cukry –

oligosacharidy, k čemuž spotřebovává nejméně rozpustný cukr – glukózu. Tak se snižuje náchylnost medu ke krystalizaci. Je přesvědčivě prokázáno, že medná invertáza pochází téměř výhradně z hltanových žláz včel. Aktivita invertázy je důležitých ukazatelem kvality medu. Teplem a skladováním aktivita klesá. Při teplotě 20°C poklesne aktivita invertázy na polovinu za 820 dnů.

Diastáza je souborem enzymů štěpící škrob. Rovněž diastáza pochází z hltanových žláz včel. Také aktivita tohoto enzymu je ukazatelem kvality medu [1]. Dle vyhlášky č. 76/2003 Sb. ze dne 6. března 2003 je stanoven limit pro obsah diastázy, vyjádřený ve stupních podle Schadeho, takto: 8,0 stupňů pro květové medy a rovněž 8,0 stupňů pro medy medovicové. U medu s přirozeně nízkým obsahem enzymů (citrusové medy) a obsahem HMF nižším než 15 mg/kg může být aktivita diastázy nejméně 3 [14].

Glukózooxidáza vytváří z glukózy kyselinu glukonovou a peroxid vodíku, který je vlastně aktivním principem „inhibinu“, známého ze starší literatury. Medný enzym pochází z hltanových žláz včel a podílí se z větší části na tvorbě kyselosti medu [1]. Ve skutečnosti je tento enzym v medu inaktivní, ale v rozpuštěném medu se stává aktivní a katalyzuje produkci peroxidu vodíku a glukonové kyseliny z glukózy [15]. Med obsahuje také katalázu, štěpící peroxid vodíku na kyslík a vodu, a dále kyselou fosfatázu a další enzymy [1].

2.5.7 Minerální látky

Minerální látky jsou v medech přítomny až do koncentrace 1 %; většinou jsou rostlinného původu. Medovicové medy jsou mnohem bohatší na obsah minerálních látek než medy nektarové. Cukerné zásoby včel obsahují maximálně do 0,1 % minerálních látek. Z makrobiogenních prvků absolutně převažuje draslík. Po něm následuje sodík, vápník a hořčík, síra, fosfor. Ze stopových prvků jsou významně zastoupeny: železo, měď, zinek a mangan. Medy z českých zemí mají větší obsah niklu, než je známé o medech z celého světa. Obsah olova je hluboko pod hranicí určenou hygienickými limity. S obsahem minerálních látek a s kyselostí medu souvisí i barva medu. Medovicové medy jsou tmavší barvy také proto, že rostlinná barviva mají díky přítomnosti většího množství železa, manganu a mědi při nižší kyselosti medovicových medů intenzivní barevné odstíny. Vysoký obsah železa v medu poznáme, jestliže med přidáme do čaje. Železo reaguje s taninem přítomným v čaji za vzniku šedočerné barvy, popřípadě sraženiny [1].

2.5.8 Látky hormonálního charakteru

Acetylcholin je přirozeným přenášečem vzruchů v periferním nervovém systému. V medu je obsažen až do koncentrace 45 mg/kg. Většina pochází pravděpodobně z pylu. Med obsahuje rovněž 20 μg volného a 20-60 μg vázaného adrenalinu v jednom kg [1].

2.5.9 Barviva

Barva medu je závislá především na botanickém původu medu, způsobu zpracování a délce skladování. V medu nacházíme jednak rostlinná barviva, jednak barviva vnesená do medu činnosti včely a také barviva vzniklá chemickými reakcemi během skladování a zpracování medu [1]. Tmavnutí medu během skladování probíhá díky Maillardově reakci, karamelizaci fruktózy a reakcím polyfenolů [16].

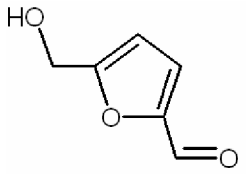
Z rostlinných barviv ovlivňují výrazně barvu medu flavonoidy, antokyany, karotenoidy, xantofyly a chlorofyly. Protože na barvu medu působí mnoho vlivů, je třídění medů podle barvy velmi nepřesné. Obecně patří mezi medy světlé většina nektarových medů a mezi medy tmavé většina medovicových medů. Barvu je vždy nutné hodnotit u medů tekutých, protože zkrystalizováním barva medů zesvětlí. Barvu hodnotíme subjektivně podle různých barevných srovnávacích stupnic, například podle Pfunda [1].

Z flavonoidních rostlinných barviv byl v medu prokázán kvercetin a rutin, který je znám jako P-faktor proti skleróze [1], dále chrysin, pinocembrin, pinobanskin, kempferol, luteolin, galangin, apigenin, naringenin, hesperetin a myricetin [17]. Ferreres et al. (1991) uvedli ve studii, že pinocembrin, pinobanksin, galangin, chrysin, luteolin, apigenin, isorhamnetin a quercetin-3-methyl ether jsou hlavními sloučeninami nacházející se v medu [18]. Sabatier et al. (1992) identifikovali kvercetin, pinobanksin, kempferol, pinocembrin, chrysin, galangin a tektochrysin ve slunečnicovém medu [19]. Zeměpisný a botanický původ medu je nejdůležitějším faktorem mající ovlivňujícím obsah konkrétních flavonoidů ve vzorcích medu [20].

Rostlinná barviva v medu výrazně převažuji. Barviva přecházejí z medných a pylových zásob do vosku, odkud zpětně přecházejí do medu. Tím se stává, že v medu je obsaženo zpravidla více druhů rostlinných barviv, než by odpovídalo botanickému původu medu. Další skupinou barviv v medu jsou látky majících původ ve zbytcích košilek po včelím plodu. Z aminokyseliny tyrozinu vznikají melanoidní barviva. Další aromatické aminokyseliny reagují s cukry, především s fruktózou, za vniku hnědých barviv, z nichž některá mají specificky výrazné aroma [1].

2.5.10 Hydroxymethylfurfural

5–hydroxymethyl–2–furaldehyd (HMF) a příbuzné sloučeniny se přirozeně tvoří v potravinách obsahujících sacharidy. Vzniknout mohou Maillardovou reakcí (neenzymatické hnědnutí) nebo kyselou dehydratací hexóz. HMF se prakticky nevyskytuje v čerstvých potravinách [21]. Na obr. 2 je znázorněn strukturní vzotec HMF.



Obr. 2. *Strukturní vzorec hydroxymethylfurfuralu [21]*

Med je přírodní sladidlo, ve kterém mohou nastat oba typy reakce. V čerstvých medech je hodnota obsahu HMF velmi nízká [22]. Čerstvé a v chladu skladované medy mají obsah HMF do 10 mg/kg [1]. Daleko vyšší hodnoty vykazují medy, které byly zahřáté, skladované za nevhodných podmínek nebo falšované přídavkem invertního sirupu [23]. Z těchto zjištění vyplývá, že HMF je rozpoznávacím parametrem při určování čerstvosti a kvality medu [24]. Obsah 40 mg je ještě na hranici, vyhovuje normě. To odpovídá zhruba zahřátí medu na 70°C po dobu 5 hodin. Medy s obsahem několika stovek mg HMF, které se občas vyskytnou v obchodní síti, svědčí o několikanásobném nešetrném rozehřívání a jejich biologická hodnota je tím značně poškozená [1].

Dle vyhlášky č. 76/2003 Sb. ze dne 6. března 2003 smí květový i medovicový med obsahovat maximálně 40 mg HMF v 1 kg. U medu deklarovaného původu z regionů s tropickým klimatem a u směsi těchto medů může být obsah hydroxymethylfurfuralu nejvýše 80 mg/kg [14].

2.5.11 Vitaminy

Med obsahuje především tiamin, riboflavin a kyselinu pantotenovou. Většina vitaminů pochází z pylu, větší množství i z nektaru nebo medovice. Z hlediska lidské výživy mohou tyto vitaminy přestavovat pouze doplňkový zdroj [1].

2.5.12 Aromatické látky

V medech bylo dále zjištěno velké množství různých aromatických látek a dalších biologicky aktivních látek, které jsou často typické právě pro med a mají důležitý význam ve výživě včel i člověka. Jejich výzkum zdaleka není ukončen [1].

2.5.13 Přírodní toxické látky

Hlavním zdrojem toxických medů jsou vřesovité rostliny (*Ericaceae*), zahrnující různé druhy pěnišníků, azalek, kyhanek a kalmií. První zprávy o otravě těmito druhy pocházejí již z roku 401 před n.l., kdy došlo k otravě řeckých vojáků v Malé Asii medem z *Rhododendron ponticum*. Dalším zdrojem toxických medů jsou keře *Coriaria aborea* z Nového Zélandu, přesněji medovice z tohoto keře. Toxické medy byly zjištěny i v Maďarsku z rulíku zlomocného nebo durmanu. V Severní Americe jsou známy toxické medy z liány *Gelsemium sempervirens*, kterou známe pod názvem virginský jasmín. Pirrolizidinové alkaloidy se vyskytují v medech ze starčeku přímětníku, ale otravy nebyly zatím popsány [1].

2.5.14 Tukové látky

Med obsahuje asi 0,015 různých lipidů. Z nich je asi 45 % esterů cholesterolu, 22 % triglyceridů, 18 % volných kyselin a 17 % volného cholesterolu. Z mastných kyselin tvořících estery byly identifikovány: kyselina kaprylová, laurová, palmitoleová, palmitová, stearová, oleová, arachidonová a linolenová [1].

2.5.15 Mikroorganismy

Mikroorganismy v medu nejsou s výjimkou kvasinek schopné růstu. V medu nalézáme bakterie a další mikroorganismy, které jsou běžné v okolním prostředí. Jejich celkové množství svědčí o hygienické úrovni včelařského provozu a zařízení pro vytáčení a zpracování medu. Osmofilní kvasinky z rodů *Zygosaccharomyces, Schizosaccharomyces, Saccharomyces* aj. se začínají rozmnožovat, když obsah sušiny v medu klesne pod 60 %. K tomu dochází zpravidla tehdy, když med ponecháme ve styku se vzdušnou vlhkostí vyšší než 60 % relativní vlhkosti. V mikrovrstvě na povrchu medu poklesne obsah sušiny a kvasinky s jíž růstem a množením udrží vhodné podmínky pro další růst. V medovicových medech se nacházejí i spory hub z rodů *Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes a Deuteromycetes.* Pro člověka patogenní druhy nebyly v medu prokázány [1].

V medech ze včelstev nakažených morem včelího plodu se vyskytují spory původce moru *Paenibacillus larvae larvae*. Pro člověka takový med škodlivý není, ale mohl by se případně stát zdrojem nákazy pro další včelstvo. Protože v České republice se všechna ohniska moru svědomitě likvidují, svědčí nález moru v medu o tom, že med je zahraničního původu a není jisté, zda neobsahuje nežádoucí zbytky antibiotik, která se v některých zemích k tlumení moru používají [1]. V současné době není pro použití u včel povolen žádný přípravek s obsahem antibiotik [25].

Některé prameny varují před botulismem z medu. Nálezy anaerobní bakterie *Clostridium botulinum* v medu jsou však naprosto ojedinělé a nepředstavují reálné riziko. Přestože normy připouštějí až 100 milionů běžných nepatogenních mikroorganismů v medu, kvalitní medy neobsahují více než 1000 mikroorganismů [1].

2.6 Druhy medů

Rozmanitostí rostlinného původu medu je dána i mnohotvárnost medů získaných od včel. Čisté, jednodruhové medy vznikají snad jen v cílených pokusech výzkumníků. Praktičtí včelaři získávají přibližně jednodruhové medy pouze z tak vydatné snůšky, kterou u nás poskytuje řepka, akát, maliník, jetele a medovice. Je tomu tak proto, že včelař vytáčí med až

po určité době a zároveň je malá pravděpodobnost, že by v této době poskytoval snůšku jen jeden rostlinný druh [1].

Obr. 3. *Různé druhy medů*

2.6.1 Členění medu podle zákona [14]

Med se člení:

a) podle původu

1. květový,
2. medovicový.

b) podle způsobu získávání a úpravy

1. vytočený med,
2. plástečkový med,
3. lisovaný med,
4. vykapaný med,
5. med s plástečky,
6. filtrovaný med,
7. pastový med.

Medem se rozumí potravina přírodního sacharidového charakteru, složeného převážně z glukózy, fruktózy, organických kyselin, enzymů a pevných částic zachycených při sběru sladkých šťáv květů rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice), nebo na živých částech rostlin včelami (*Apis mellifera*), které sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech.

Med květový (nektarový) je med pocházející zejména z nektaru květů.

Med medovicový je med pocházející z výměšků hmyzu (*Hepiptera*) sajícího z rostlin na živých částech rostlin nebo ze sekretů živých částí rostlin.

Pastový (pastovaný) med je med, který byl po získání upraven do pastovité konzistence a je tvořen směsí jemných krystalů.

Vytočený med je med získaný odstřeďováním odvíčkovaných bezplodových plástů.

Plástečkový med je med uložený a zavíčkovaný včelami do bezplodových plástů čerstvě postavených na mezistěnách vyrobených výhradně ze včelího vosku nebo bez nich a prodávaný v uzavřených celých plástech nebo dílech takových plástů.

Vykapaný med je med získaný vykapáním odvíčkovaných bezplodových plástů.

Med s plástečky je med, který obsahuje jeden nebo více kusů plástečkového medu.

Lisovaný med je med získaný lisováním bezplodových plástů za použití mírného ohřevu do 45 °C nebo bez použití tepla.

Filtrovaný med je med, který byl po získání upraven odstraněním cizích anorganických nebo organických látek takovým způsobem, že dochází k významnému odstranění pylu.

Pekařský med (průmyslový med) je med určený výhradně pro průmyslové použití nebo jako složka do jiných potravin; může mít cizí příchuť nebo pach, může vykazovat počínající kvašení nebo mohl být zahřát [14].

Označování

Kromě údajů uvedených v zákoně a v prováděcím právním předpisu (Vyhláška č. 324/1997 Sb., o způsobu označování potravin a tabákových výrobků, o přípustné odchylce od údajů o množství výrobku označeného symbolem „e“, ve znění vyhlášky č. 43/2005 Sb.) se med dále označí:

a) podle jeho původu podle § 8 písm. a) a podle způsobu jeho získávání a úpravy podle § 8 písm. b); v případě, že se jedná o vytočený med, nemusí být způsob získávání a úpravy uveden;

b) zemí původu, kde byl med získán; pokud se jedná o směs medů pocházejících z více zemí Evropské unie nebo ze třetích zemí, lze jej označit příslušným názvem:

1. „směs medů ze zemí ES“,
2. „směs medů ze zemí mimo ES“,
3. „směs medů ze zemí ES a ze zemí mimo ES“.

2.6.2 Rozdělení medů podle původu [26]

2.6.2.1 Medovicové medy

Je známo několik druhů medovicových medů, jež se významně liší barvou, chutí i vodivostí. Typické tmavé medovicové medy pocházejí především ze snůšky z jehličnatých lesů (tj. medovicový med smrkový, borovicový, modřínový a jedlový). Medovicová snůška na listnatých dřevinách (zejména na dubech, javorech, bucích, lípách, vrbách, topolech a břízách) je zpravidla méně vydatná a poskytuje méně kvalitní medovicový med.

Jedlový medovicový med svým tmavě hnědým až červeným zbarvením s nazelenalým odstínem, sladovou příchutí a dlouhou dobou tekutosti nejvíce vyhovuje vžitým představám o lesním medu a je na evropském trhu z medovicových medů nejvíce ceněn.

Z jihovýchodní Evropy (Řecko, Egejské moře, např. ostrov Thasos) a zejména z Turecka jsou dovážena velká množství **medovicových medů piniových** z teplomilných porostů borovic. Jsou to medovicové medy výrazné kořeněné chuti a aroma, nicméně světlejší červenohnědé barvy, než je u našich medovicových medů obvyklé.

Všem medovicovým medům je vlastní řádově vyšší obsah minerálních látek než mají medy květové. Tyto medy mají zpravidla výraznější aroma (ostřejší škrablavá chuť na kořenu jazyka), vysokou enzymovou aktivitu a kladnou polarizaci při polarimetrické analýze, která je dokáže odlišit od medů s uměle zvýšenou vodivostí.

2.6.2.2 Smíšené medy

Medovicové medy bývají však často smíšeny s medy květovými, protože v hlavních oblastech jejich výskytu, kterými jsou různé lesní komplexy, včely kromě sběru medovice současně přinášejí do úlů nektar pocházející převážně z tzv. lesní buřeně (jako jsou maliníky, vrbky, starčeky a jiné lesní byliny). Vznikají tak smíšené medy tvořící většinu medné produkce na lesních stanovištích v letech, kdy se na nich vyskytuje nektarová i medovicová snůška. Smíšené medy mají velmi rozdílné vlastnosti, jsou většinou závislé na větším množství druhů rostlin, z nichž včelstva donášejí do medovice nektar. Chuť i celkový vzhled

těchto medů jsou tak silně proměnlivé v závislosti na stanovišti a druhu navštěvovaných rostlin. Charakter těchto druhů medu nejlépe vystihuje obecný název **lesní smíšený med**.

V protikladu ke smíšeným medům (jimiž se rozumějí medy obsahující medovici i větší množství nektaru) stojí **smíšené květové medy**, jež pocházejí převážně jen z nektaru různých druhů rostlin (zpravidla jsou označovány jako medy polyflorální). Tvoří významnou část naší medné produkce letního období.

Z polyflorálních medů z oblastí s tropickou vegetací jsou do Evropy dovážena větší množství medu z poloostrova Yucatan. Jedná se o tmavě žlutý až hnědý med krémové konzistence. O tmavší druhy medu je v USA menší zájem, a proto jsou dováženy do Evropy stejně jako polyflorální světlý med pampový z Argentiny. (Podobný vzhled má i světlý polyflorální med ukrajinský a ruský – tzv. raznotravije.)

2.6.2.3 Nektarové (květové) medy

Naopak květové druhové medy musejí pocházet z výrazně převažující jediné nektarové snůšky. Mají proto přísně normativně určené vlastnosti, aby mohly být jako jednodruhové obchodovány. V našich podmínkách se jedná zejména o med řepkový, akátový, slunečnicový a jen v malém množství také o med lipový, jetelový, svazenkový, vojtěškový či vikvový.

Světový a evropský trh však zná desítky různých druhových květových medů, které jsou obchodovány za často velmi rozdílné ceny. Jejich rozdíly závisí především na dostupném množství a oblibě některých zvláštních druhů medu u určité skupiny evropských nebo amerických spotřebitelů.

2.6.2.3.1 České nektarové (květové) medy

Hlavním český druhovým květovým medem je bezesporu **med řepkový** obsahující zpravidla příměs nektaru ovocných stromů, trnky a na jaře kvetoucích bylin. V řepkovém medu se nachází vysoký podíl glukózy, který způsobuje rychlou krystalizaci v podobě poměrně tvrdé bílé hmoty. Barva tohoto medu je ve zkrystalizovaném stavu téměř bílá (při následných krystalizacích po zahřátí světle žlutá), v tekutém stavu je med jasně žlutý. Chuť má jemně aromatickou, lišící se i podle odrůdy navštěvované řepky. Chuťové kvality řepkových medů doznaly v uplynulých dvaceti letech významného zlepšení právě zavedením nových (tzv. bezerukových) odrůd řepky olejky. Nejčistější charakteristicky druhové řepkové medy přicházejí na evropský trh z Francie a České republiky. Na světovém trhu je významným dodavatelem medu obdobných vlastností z řepáku olejného (*Brassica rapa*) Indie.

Obr. 4. *Řepka olejka*

Med akátový vzniká v podmínkách nejintenzivnějších snůšek v teplých oblastech Čech a jihovýchodní Moravy. Přestože v rámci ČR má produkce akátového medu významný - až 20% podíl na celkové medné produkci, hlavními zdroji tohoto druhu medu pro evropský trh jsou státy jihovýchodní Evropy – především Maďarsko, Rumunsko a Bulharsko. Náš podíl na tomto trhu je v podstatě zanedbatelný a produkce medu ČR je plně uplatnitelná na vnitřním trhu. Akátový med je vodojasné až lehce nažloutlé barvy s lehkým zelenavým odstínem, který je typický zejména pro velmi dobře vyhraněné akátové medy. Akátový med má v důsledku mimořádně vysokého obsahu fruktózy výrazně sladkou chuť s jemným typickým aroma. Vysoký obsah fruktózy způsobuje i dlouhou dobu tekutosti tohoto medu. Akátové medy se vyznačují nejnižšími známými hodnotami elektrické vodivosti, ale také nejnižší enzymovou aktivitou.

Obr. 5. *Trnovník akát*

Také produkce **slunečnicového medu** z pohledu prodávaného množství je v podmínkách České republiky stále ještě okrajovou záležitostí. Slunečnice v dobrých klimatických podmínkách a vhodné roční době (nikoli pozdní výsevy pěstované na zelenou hmotu) poskytuje velmi dobré výnosy nektaru. Stejně jako její květenství i slunečnicový med má typickou zlatožlutou až žloutkově žlutou barvu. V krémové podobě má vynikající chuťové a aromatické vlastnosti a je proto často využíván jako jednodruhový med pro pastování (nebo i jako jeho součást). Přirozená krystalizace slunečnicových medů je podobně jako u řepky rychlá, protože také v jejím nektaru je velké množství glukózy. Na rozdíl od řepky může však konečný produkt především podle obsahu vody být jak jemnozrnný, tak i poměrně hrubozrnný. Často však po krystalizaci obsahuje tekutou vrstvu na povrchu. V Evropě se vyznačuje vysokou produkcí slunečnicového medu především Francie. Tento med je však ve velkém množství produkován také v Bulharsku, Rumunsku, na Ukrajině, v Maďarsku a v Mexiku.

Obr. 6. *Slunečnice roční*

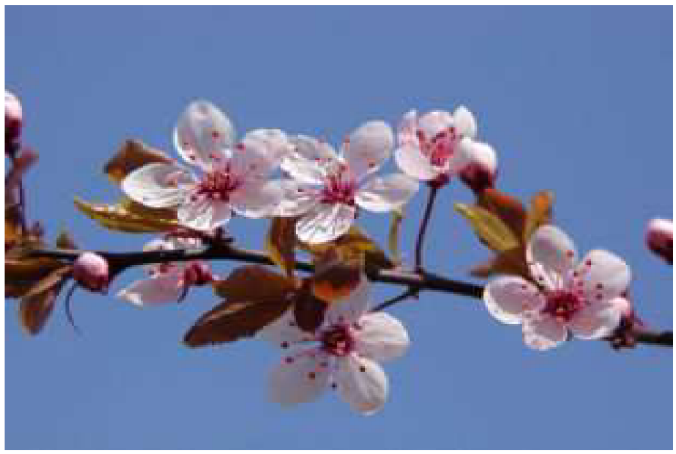
Lipový med pochází z nektaru lipových květů velice často s výrazným podílem lipové medovice. Má výraznou vůni i chuť po mentolu a v důsledku této vůně a příchutí vzniká při jeho konzumaci lehce nahořklý pocit. Lipový květový med pocházející výhradně z nektaru lípy je ještě typičtější (má jemnější chuť i aroma) než smíšený lipový med s lipovou medovicí. Má světle žlutou barvu s lehce nazelenalým odstínem. Ve směsi s medovicí je až oranžově žlutý. Pro většinu smíšených lipových medů je typická vodivost 6-7. Lipové medy mají vysokou enzymovou aktivitu. Větší produkci lipového medu má především severní Evropa a Dálný východ.

Obr. 7. *Lípa obecná*

Dalším významným druhem z hlediska světové produkce a tržního uplatnění je **jetelový med** a vlastnostmi podobné druhy medu z bobovitých pícnin – **med vikvový a vojtěškový**. Krátce po vytočení může být v jetelových, vikvových a vojtěškových medech podobně jako v medech akátových také vyšší obsah řepného cukru (sacharózy). Podobně jako med řepkový mají i tyto druhy velmi vysoký obsah glukózy a jsou považovány za výborný zdroj energie. Evropská produkce těchto druhů medu je zcela nedostatečná a jetelový med je proto dovážen především z Kanady. Má velmi příjemnou jemně sladkou chuť a je oblíben zejména u dětí. V tekutém stavu má světle žlutou barvu, rychle však krystalizuje do bílé jemně krémové hmoty.

Obr. 8. *Jetel luční*

Dalším druhem květového medu, s nímž se můžeme z domácí snůšky setkat, je **med z ovocných stromů**. Tento druh medu je v tekutém stavu jasně žluté až světle hnědožluté barvy. Pochází většinou z nektaru ovocných stromů a trnky s příměsí nektaru jírovců, jeřábů a hlohu. Je získáván nejen v Evropě (zejména v oblastech bez řepkové snůšky), ale i v Severní a Jižní Americe, nebo např. v Izraeli. Aroma má velmi jemnou až výraznou ovocnou příchuť. Tento druh medu velmi rychle krystalizuje ve světle hnědou krystalickou hmotu.



Obr. 9. *Ovocný strom v květu*

Med pampeliškový se vyznačuje sytě žlutou barvou připomínající pampeliškové květy a rychlou krystalizací a výraznější ovocnou příchutí. Na některých lokalitách může být v pampeliškovém medu větší podíl nektaru z hlohu, což se projevuje zvláštní příchutí a aroma květů hlohu v jinak sytě žlutém pampeliškovém medu.

Obr. 10. *Pampeliška*

Med pohankový je v českých podmínkách poměrně vzácný, přesto jej v posledních letech přibývá. Má zejména v tekutém stavu tmavší červenohnědé zbarvení a při krystalizaci získává krémovou konzistenci. Má zvláště výrazné silné pryskyřičné aroma. Pohanka se tradičně nebo i nověji více pěstuje v Polsku, na Ukrajině, a severním Německu, severozápadní Francii a některých oblastech USA.

Obr. 11. *Pohanka obecná*

Podobně vzácně avšak v posledních letech poněkud častěji se setkáváme s **medem svazenkovým**, který má žlutohnědou barvu, velmi jemnou chuť a poněkud opožděnou krystalizaci. Tento druh medu je spotřebiteli ceněn a vyhledáván, ale na tuzemském trhu zaujímá jen okrajové postavení zvláštního druhu medu podobně jako například maliníkový med.

Obr. 12. *Svazenka vratičolistá*

Maliníkový med má v tekutém stavu světle žlutou barvu a má velmi příjemné ovocné aroma. Patří k vyhledávaným druhům medu, avšak zůstává specialitou trhu. Jeho částečný nedostatek je kompenzován dovozem z Kanady. Med z maliníku poměrně rychle krystalizuje do bílé máslovité konzistence.

Obr. 13. *Maliník obecný*

V našich poměrech se celkem výjimečně můžeme setkat také s **medem vřesovým**, který je zvláštností mezi všemi evropskými druhy medu pro svoji kořeněnou vůni a chuť, zlatohnědou barvu s červeným odstínem. Konzistence tohoto medu je želatinózní (vřesový med je tzv. tixotropní). Nektarodárnost vřesu a malé plochy porostů vřesu v ČR nevytvářejí bohužel podmínky pro dostatečnou produkci tohoto na evropském trhu vysoce ceněného druh medu. Vřesová snůška je však velmi významná na celém atlantickém pobřeží Evropy – především ve Španělsku, Portugalsku a v Bretani. Vřesové medy se vyznačují vysokým obsahem enzymů.

Obr. 14. *Vřes obecný*

2.6.2.3.2 Evropské nektarové (květové) medy [26]

Jih Francie v medné produkci naopak proslavuje **levandulový med**, jenž patří k nejjemněji přirozeně krystalizujícím a chuťově neobyčejně delikátním evropským druhovým medům. Velmi jemné aroma tohoto medu pocházejícího z Provensálska je zvýrazněno éterickou vůní po levandulových květech. Levandulový med má velmi jemnou krémově krystalickou konzistenci a světle žlutou barvu. Krystalizuje do jemné sádlovitě bílé hmoty a může obsahovat více než 5 % sacharózy.

Ze subtropických oblastí celého světa, v Evropě především ze Španělska, pochází **med citrusový**. Má velmi jemnou vůni po pomerančovníkových květech a sytě žlutou barvu s oranžovým tónem. Krystalizuje v podobě jemné krémové hmoty.

2.6.2.3.3 Světové nektarové (květové) medy [26]

Ze subtropů a tropů zejména Mexika a střední Ameriky pochází také **med kávovníkový** – rychle a jemně krystalizující světle hnědé barvy se slabým aroma po kávě.

Květový **med mimózový** je dalším druhem medu velmi světlé barvy, který pochází z výšin v oblasti Chiapas v Mexiku. Má velmi jemnou vůni a schopnost setrvávat delší dobu v tekutém stavu.

Ze subtropického klimatu periodicky zaplavovaných mangrovových porostů gumovníků na Floridě pochází **med tupelo**. Tento druh medu má jantarově nazelenalou barvu a výraznou vůni. Vysoký podíl fruktózy způsobuje jeho dlouhou dobu tekutosti.

Dalšími „exotickými" druhy medu, s nimiž se lze setkat na trhu EU, jsou **med mydlokorový** (quilajový) ze statných růžovitých stromů chilských And poskytujících jemně krémový med s výrazným aroma a **med ulmový**, který včely vytvářejí z nektaru jiné statné jihoamerické dřeviny *Eucryphia cordifolia* (čeledi *Eucryphiaceae*, jež s našimi jilmy není příbuzná) vystupující v chilských Andách až do výše 700 m n.m. Významným zdrojem vysoce aromatického medu je jiný druh tohoto rodu *Eucryphia lucida* v australské Tasmánii. Tyto tmavě žluté medy jsou rovněž jemně krémové konzistence a výrazně kořenité chuti.

Z teplých a suchých polopouštních oblastí Severní a Jižní Ameriky se dostává na evropský trh **med meskytový** z nektaru nízkých stromů *Prosopis glandulosa*, které rostou invazně v polopouštních oblastech Mexika a Argentiny. Vyznačuje se méně sladkou chutí s jemným ovocným aroma. Tento med je na trh dodáván v tekutém stavu jako jasně žlutý nebo světlý krémový med. Ve stejných oblastech se sklízí také med bavlníkový. Ten je však spíše specialitou trhu USA. V tekutém stavu je jasně žlutý, rychle a pevně krystalizuje do hmoty podobné řepkovému medu, chuť má však ostřejší a méně sladkou.

Na severoamerický trh je také vázána převážně část produkce a spotřeby **medu komonicového**. Ten je vodojasné až lehce nazelenale žluté barvy s příjemnou vanilkovou příchutí. Patří proto k ceněným druhům medu. Na evropském trhu je však málo nabízen podobně jako **med čistcový**, jenž byl dříve ve větším množství sklízen také v České republice z nepodmítnutých ploch po sklizni obilovin. Čistcový med je v tekutém stavu sytě žlutý, pomalu a jemně krystalizuje do bledě žluté hmoty.

Z jižní Francie, Itálie a pobřeží Jadranu se importuje **med z kaštanovníku jedlého**. Na trhu s medem představuje spíše specialitu dodávanou v menších množstvích. Často obsahuje větší podíl medovice. Patří k medům tmavší barvy přecházející od tmavě žluté po tmavě hnědou. Je velmi bohatý obsahem enzymů a má velmi výraznou kořeněnou až nahořklou chuť a vůni. Konzistence je obvykle velmi hustá, krystalizuje po delší době. Vyznačuje se také vysokými hodnotami vodivosti – často vyššími než s jakými se setkáváme u medovicových medů.

Z jihoevropských druhů je obchodně významný také **tymiánový med**. Ten pochází především z jižní Evropy a z některých oblastí Asie i Nového Zélandu. Má výraznou vůni a chuť po éterických olejích mateřídoušky. Na trh je dodáván v jemně krystalické konzistenci a šedobílé barvě. V tekutém stavu má tmavší žlutohnědou barvu.

Ze Středomoří a jižních států USA pochází také **med kopyšníkový** z *Hedysarum coronarium* (*sula*). Má jasně žlutou barvu a jemnou chuť. V celém Středomoří se sklízí také **rozmarýnový med**. Jeho hlavním dodavatelem na evropský trh je Španělsko. je to světlý a méně sladký druh medu se slabým aroma snůškové rostliny krystalizující v šedobílé krémové konzistenci.

Eukalyptové medy jsou tradičně importovány především z Austrálie a v posledních letech také z Argentiny a Uruguaye, ale sklízeny jsou i v mnoha jiných teplých oblastech (včetně nejteplejších částí Evropy). Většinou obsahují významný podíl medovice. Proto mohou mít barvu světle žlutavou až tmavě hnědou. Při krystalizaci přecházejí do jemné krémové hmoty. Chuť je vždy doprovázena typickým ovocně kořeněným aroma. U světlých, jemnějších a více ceněných druhů připomíná příchuť či vůni po mátě, u tmavších po melase.

Planikový med je typický svým nezaměnitelným hořce nasládlým aroma. Planiky patří mezi vřesovcovité keře převážně teplých subtropických oblastí s velmi pozdní dobou kvetení a jedlými červenými plody. Podobně vysoce ceněn je **manukový med** z novozélandského keře manuka. Tento med má sytě jantarovou barvu a vyznačuje se intenzivním bylinným aroma. Z Nového Zélandu je do Evropy dovážen také **med brutnákový**. Je velmi světlé až žlutošedé barvy, méně sladký, krystalizuje jemně do lehce roztíratelné hmoty.

Ze suchých oblastí jižních Karpat je exportován **med koriandrový**. Má výrazně kořenité aroma s lehkou mátovou příchutí, žlutohnědou barvu a delší dobu tekutosti. V České republice se vzácně setkáváme s podobným (avšak méně aromatickým) **medem kmínovým**. Dalším obchodovaným druhem je **med mátový** pocházející z různých druhů máty. Do Evropy se dováží především ze severozápadní části Severní Ameriky. Je tmavě jantarové barvy, což zhoršuje jeho uplatnění na trhu v USA, kde výrazně převažuje zájem o med světlých barev, a krystalizuje do jemnozrnné hmoty. Mátový med je typický výraznou vůní a množstvím aromatických látek, které z něj činí v evropských poměrech jeden z nejžádanějších druhů medu.

2.6.2.3.4 Neobvyklé medy nektarové (květové) [26]

Zvláštností mezi druhovými medy v Evropě je **med klejichový** dodávaný především z Maďarska. Tento med je v tekutém stavu velmi světlý (podobně jako akátový med) až vodojasný. Je však na rozdíl od akátového medu silně aromatický. Z důvodu vysokého obsahu fruktózy má intenzivně sladkou chuť a setrvává až dva roky v tekutém stavu.

Celkem vzácně se můžeme setkat i s druhovými medy pocházejícími z polních plevelných druhů rostlin. Mezi nimi přední místo zaujímá **med chrpový**. Tento druh medu je velmi jemně aromatický a pod ultrafialovým světlem jasně fluoreskuje. Fluorescenční barviva v chrpovém medu jsou příčinou barevných změn při různých úhlech pohledu na sklenici medu – od různých odstínů žluté až po béžovou barvu.

Vysoce aromatický, dlouho tekutý, žluté až nazelenalé barvy je **pajasanový med** (z pajasanu žláznatého), který se velmi často vyskytuje jako smíšený s lípovým medem, zejména pak v evropských velkoměstech (jakými jsou např. Vídeň a Berlín). Zde se pajasany z původních výsadeb parkových stromů rozšířily místy až jako plevelné rychle rostoucí dřeviny a poskytují velmi významné snůšky. Se snůškou z pajasanů se v menším rozsahu setkáváme i v některých českých městech (např. v Praze a v Plzni).

2.7 Ostatní včelí produkty

2.7.1 Propolis

Propolis (obr. 15), dluž, smoluňka nebo včelí tmel je pryskyřičnatá látka, kterou tvoří včely. Základní surovinu pro ni sbírají na pupenech rostlin a přinášejí do úlu podobně jako rousky pylu na třetím páru noh, v pylovém košíčku. V úlu má propolis mnohostranné použití a jeho účinky při udržování hygieny životního prostředí v úlu jsou obdivuhodné.

Obr. 15. *Propolis*

Včely používají propolis pro tmelení celých stěn úlu i jednotlivých menších plošek; zazdívají jím škvíry a otvory na zimu, někdy dokonce i zužují česno úlu. Včelí tmel je tepelně izolační látka, která zároveň impregnuje dřevěné stěny úlu a chrání je proti dřevokazným houbám. Je to současně výborný stavební materiál, kterým dokonce zpevňují namáhané části včelího plástu a okraje buněk [4].

Propolis na stěnách úlu má nejen tepelně izolační vlastnosti, ale ohřevem stěn úlu se z propolisu uvolňují těkavé látky nasycující atmosféru úlu. Tyto těkavé látky mají antibakteriální účinky, což spolu s dalšími faktory zabraňuje pomnožení mikroorganismů v úlu.

Antimikrobiální účinky propolisu podnítily zájem včelařské veřejnosti a lékařů i farmaceutů o využití této látky v různých oborech lidské činnosti [1].

2.7.1.1 Fyzikální vlastnosti

Propolis má specifickou hmotnost od 1,112 do 1,136. Bod tání propolisu je velmi proměnlivý jakož i ostatní vlastnosti propolisu, a to v závislosti na rostlinném původu. Pohybuje se od 70 °C do 100 °C a je vždy vyšší než bod tání včelího vosku. Propolis je málo rozpustný ve vodě, částečně rozpustný v éteru a chloroformu a silně rozpustný v ethylalkoholu a glycerolu [27].

2.7.1.2 Chemické složení

Složení propolisu je značně proměnlivé a podíl jednotlivých složek udávaných různými autory výrazně kolísá [27]. Podle jednotlivých skupin obsahuje propolis 50 % pryskyřičnatých látek, 30 % včelího vosku, 10 % éterických olejů, 5 % pylu a 5 % různých organických sloučenin [28]. Skupinovou analýzou bylo zjištěno, že propolis má číslo kyselosti asi 40, jodové číslo nad 25 a číslo zmýdelnění 175. V propolisu bylo dosud identifikováno několik set různých látek [27].

Mnoho látek má propolis společných s včelím voskem, neboť včely záměrně mísí původní pryskyřice s touto látkou. Propolis obsahuje určité množství vitaminů skupiny B, zpravidla v množství kolem 1 ppm. Dále propolis obsahuje určitá množství stopových prvků, které mohou výrazně ovlivnit barvu propolisu, protože reagují s flavonoidními barvivy na šedočerné nebo zelenočerné látky.26 Z flavonoidů se v propolisu nachází kvercetin, kempferol, galangin, naringenin, pinocembrin a chrysin [29]. Kromě flavonoidů obsahuje propolis také terpenoidy, steroidy a aminokyseliny [30]. Konečně propolis obsahuje i menší množství polysacharidů (asi 2 %) [27].

2.7.1.3 Biologická aktivita propolisu a jeho složek

Propolis má bakteriostatické účinky na celou řadu bakterií, např. *Bacillus subtilis*, salmonely, stafylokoky a jiné patogenní a nepatogenní organismy. Působí rovněž na různé druhy hub a kvasinek. Většina těchto účinků se připisuje přítomným flavonoidů, menší část derivátům přítomných organických kyselin [27].

Farmakologické vlastnosti propolisu

Využívají se především antimikrobiální vlastnosti a propolis se aplikuje formou mastí nebo roztoků. Může zvyšovat účinek některých antibiotik proti bakteriím tam, kde není na závadu rozdílná stabilita těchto látek v prostředí. Většímu využití propolisu ve farmakologii brání obtížná standardizace propolisu, který má velmi proměnlivé složení. Propolis má i anestetické vlastnosti a zvyšuje i působení prokainových anestetik, kde však působí spíše jako povrchové anestetikum, a proto se využívá především ve stomatologii. V kožním lékařství se osvědčil proti houbovým onemocněním. Před použitím je nutné provést zkoušku na alergeny a vnímavost člověka [27].

2.7.1.4 Použití

Propolis se značně využívá v lidovém lékařství již řadu let. Bylo zjištěno, že má antiseptické, protiplísňové, protibakteriální, protivirové, protizánětlivé a antioxidační vlastnosti [31]. Běžně se propolis a preparáty z něj, které jsou v lékárnách dostupné bez lékařského předpisu, používají proti respiračním onemocněním, jako je zánět horních cest dýchacích, běžné nachlazení nebo infekce podobné chřipce, dále v dermatologii na léčení ran, ošetření popálenin, akné, oparu a neurodermatitidy [32]. Propolis se také používá u ústních vod a zubních past, kde napomáhá k prevenci zánětu dásní i dutiny ústní [33]. Propolis se většinou používá jako ethanolový roztok [27].

2.7.1.5 Získávání propolisu

Není snadné pozorovat včely při sběru propolisu na pupenech rostlin, jako jsou topoly, olše, vrby, smrky, jedle, modříny a ostatní jehličnany. Včely sbírají propolis na stromech po celé vegetační období, nejvíce však na podzim, kdy také nejvíce tmelí. Během dne je sběr propolisu soustředěn do odpoledních hodin teplých a slunečných dnů. Pryskyřičnatá látka musím být rozehřátá sluncem, aby byla vláčná a snadno zpracovatelná.

Při rouskování propolisu sedí včely na místě a surovinu zpracovávají kusadly a nohama. Mění své postavení jen podle toho, který pár noh potřebují uvolnit na zpracování.

Když najde včela – sběratelka propolisu – vhodnou částečku na pupenu, opře se o ni nohama a začne vykusovat malý kousek. Vytržený kousek pak zpracovává v chodidlech předních noh. Při hnětení přidává k hrudce výměšek slinné žlázy, který působí jako ředidlo. Když je hrudka zpracovaná, hrábne nohou dopředu a převezme hrudku na patu; z paty ji otře na holeň do košíčku na stejné noze. Podobně jako u pylu vznikají na obou nohách rovnoměrné hrudky propolisu.

Zpracovávání propolisové suroviny je mnohem namáhavější než hnětení pylových rousek ze sypkého materiálu, a proto trvá poměrně dlouho. Vytvoření propolisové hrudky trvá 25-30 minut čistého času, někdy však i více než jednu hodinu.

Včely neskladují propolis v úlu, ale hned jej použijí. Po návratu do úlu sběratelka propolisu vyhledá skupinu včel, jež tmelí, a zůstane sedět v klidu nedaleko nich. Čas od času k ní přiběhne některá z tmelících včel, odtrhne kus tmelu z hrudky v jejím košíčku a tmelí dál. Tak se sběratelka postupně zbaví svého nákladu. Někdy to trvá i několik hodin. Tmelící včela znovu hněte kousek propolisu a přidává k němu výměšek slinných žláz a snad i medného váčku. Až z tmelu vznikne pastovitá hmota, potírají s ní včely potřebné místo. Při tom

používají kusadla jako špachtle. Plochu hrubě potaženou tmelem ještě hoblují a uhlazují kusadly [4].

Propolis seškrabujeme z předmětů a úlových částí tupým předmětem nebo špachtlí tak, aby se do propolisu nedostaly úlomky dřeva. Množství získaného propolisu je různé, kolísá od několika gramů do 100 g a více a je závislé na způsobu odběru, síle včelstva, prostředí, ve kterém se včelstvo nachází, a na schopnosti včelstva tmelit. Propolis uskladňujeme v neprodyšných obalech v chladnu a temnu [1].

2.7.2 Mateří kašička

Hltanové žlázy včel dělnic produkují krmnou šťávu, kterou nazýváme mateří kašička. Dostává ji matka během larválního vývoje i po vylíhnutí. Larvy dělnic jsou touto šťávou krmeny pouze do třetího dne, a proto se pohlavně zcela nevyvinou. Tento jev odedávna zvyšoval zájem o mateří kašičku a její využití ve výživě a lékařství [27].

2.7.2.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti

Mateří kašička je hustá smetanově žlutá látka typické vůně a kyselé chuti. Kyselost má od pH 2,5 do 4,8. Není zcela rozpustná ani ve vodě, ani v ethylalkoholu, chloroformu, acetonu a fyziologickém roztoku. Během stárnutí se výrazně mění její elektrická vodivost, která může být ukazatelem její kvality [27].

Chemické složení

Objem vody v kašičce dosahuje hodnot 65-70 %. Cukry tvoří do 40 % sušiny, bílkoviny asi 30 %, tuky 12-20 % a minerální látky až do 4 % sušiny. Spektrum minerálních látek je velmi bohaté a některé z nich, jako železo, kobalt a zinek, jsou organicky vázané. Většinu tukové frakce tvoří kyselina 10-hydroxy-2-decenová a další podobné decenové kyseliny (80-90 %). Zbytek jsou fenoly, steroly, fosfolipidy, vosky a neutrální tuky.

Cukry se v mateří kašičce vyskytují jednak volně a jednak ve formě glykoproteinů. V kašičce byla nalezena glukóza, fruktóza, sacharóza a ribóza. Nukleové kyseliny se vyskytují v množství okolo 0,35 %. V mateří kašičce byly prokázány ve značném množství aminokyseliny, celkem asi 25 různých druhů. většina bílkovin mateří kašičky jsou různé enzymy. Byl v ní prokázán peptid, který má podobné hormonální účinky jako inzulín. Ve významném množství jsou v mateří kašičce obsaženy prakticky všechny známé vitaminy. Nejvyšší obsah byl zjištěn u kyseliny pantotenové, která se vyskytuje v koncentraci až 500 μg na gram kašičky v čerstvém stavu [27].

2.7.2.2 Skladování a zpracování mateří kašičky

Mateří kašička je velmi citlivá na teplo, světlo, kyslík a styk s kovy. Skladujeme ji nejlépe v nádobách z tmavého skla v temnu a při teplotě 0 °C. Při zmrazení kašičky na -15 až -18 °C dbáme na to, aby se až do okamžiku konzumu uchovávala jen při této teplotě. Opakované rozmrzání škodí mateří kašičce stejně jako skladování při teplotách nad +5 °C. Nádoby s kašičkou plníme tak, aby v nich bylo co nejméně vzduchu, a hermeticky je uzavíráme. Pro potřeby průmyslu se mateří kašička lyofilizuje, tj. sublimačně suší při teplotách okolo -30 °C.

Čerstvou i lyofilizovanou kašičku můžeme dále skladovat i v květovém, jemně krystalickém medu. Medovicové medy jsou méně kyselé, a tím i méně vhodné ke skladování mateří kašičky, které se přidává 1-5 g na 250 g medu.

Využívají se příznivé účinky mateří kašičky na ochranu pleti, její regeneraci a odstranění vrásek [27].

2.7.2.3 Získávání mateří kašičky

Mateří kašičku získáváme vybíráním nebo odsáváním z matečníku ve stáří larvy čtyři dny, kdy je jí v buňce největší množství. Pracovní postupy získávání mateří kašičky mají mnoho společného s chovem matek, řídí se stejnými pravidly, přičemž cílem celého postupu je docílit co největšího množství přijatých matečníků s velkým množství mateří kašičky.

Rozeznáváme tři způsoby získávání mateří kašičky:

- za trvalé nepřítomnosti matky v úlu,
- za trvalé přítomnosti matky v úlu,
- kombinovaný způsob – se startérem.

Mateří kašičku odebíráme třetí den po vložení série do včelstva. Tyčinkou ze dřeva nebo z plastu s háčkem vyjmeme z matečníků larvičky. Mateří kašičku vybíráme lžičkou ze dřeva nebo plastu. Mateří kašičku můžeme také vysávat pomocí podtlakového zařízení; tento způsob je podstatně rychlejší a umožňuje vyšší výtěžnost. Do chovných rámků po odběru kašičky obvykle znovu přelarvujeme a vkládáme zpět do stejných včelstev, protože se tím zvyšuje procento přijatých misek. Mateří kašičku čistíme od kousků vosku cezením přes hustou silonovou síťovinu, často za využití podtlaku [27]

2.8 Role medu ve výživě člověka

Med je lehce stravitelná, energeticky hodnotná potravina, obsahující vedle cukrů různé nutričně cenné doplňkové látky [1]. Má vysokou nutriční hodnotu – 303 kcal/100 g [34]. Podporuje střevní peristaltiku, snižuje sekreci žaludečních šťáv [1] a napomáhá prevenci proti různým gastrointestinálním onemocněním [34]. Je součástí diety u rekonvalescentů po různých operacích, těžkých nemocech. Je velmi oblíbenou a přitom zdravou součástí výživy dětí. Sportovci ho používají k celkovému posílení organismu. Pro rychlé vstřebávání v organismu je významným doplňkem výživy u lidí ve stresových situacích a u těžce pracujících jedinců. Med se v převážné míře konzumuje v čisté formě bez úpravy, pouze namazaný na chleba nebo pečivo, přidává se do čaje, ovocných šťáv, jogurtu nebo do mléka [1].

V posledních letech se zvýšil zájem o antioxidanty obsažené v potravinách kvůli jejich ochrannému efektu proti poškozením způsobeným oxidačními pochody [35]. Současné názory předpokládají, že oxidační reakce a reakce volných radikálů mají na svědomí degenerativní procesy spojené se stárnutím [36] a různá onemocnění jako je rakovina, ateroskleróza a diabetes [37]. Med jako zdroj mnoha antioxidantů, by mohl napomoci při předcházení těmto nemocem.

V poslední době se častěji ozývají upozornění alergologů, že pyly pocházející z rostlin, na které nejsme zvyklí, u některých alergiků vyvolávají až nepředvídatelné reakce, To je závažný poznatek, jenž nabádá k opatrnosti při konzumaci medů pocházejících z exotických zemí [3].

Kvalita medu pro lidskou výživu

Ve snaze zjistit kvalitu medu pro lidskou výživu provedli američtí lékaři již v polovině minulého století pokusy ve dvou věkových skupinách dětí (7-13 let a 2-6 měsíců). Podávali jim roztoky různých cukrů a sledovali jejich hladinu v krevním oběhu po 15, 30, 60, 90 a 120 minutách. Výsledky ukázaly, že med byl během prvních 15 minut absorbován nejrychleji ze všech testovaných cukrů s výjimkou glukózy. Med nezaplavil krevní oběh nadbytkem cukrů a jeho pokles byl pravidelný a pomalý až k výchozí hranici. To proto, že obsahuje kombinaci dvou cukrů – glukózy a fruktózy. Glukóza se vstřebává rychle a také rychleji mizí z oběhu, zatímco fruktóza se vstřebává poněkud pomaleji a udrží hladinu krevního cukru na vyšší úrovni. Med podle výzkumníků nezaplaví tělo také nadbytkem cukrů, s nímž by si neumělo

poradit. Z trávicí soustavy rychle mizí a neumožňuje tak vznik nežádoucích kvasných procesů [38].

V později provedených pokusech podávali 14 dětem různé druhy mléka, dávky vitaminu D a med nebo kukuřičný sirup. Po 120 časových periodách s různými kombinacemi potravy autoři zjistili, že byl-li v potravě přítomen med, dětský organizmus z ní pro sebe ve všech případech využil více vápníku. Stejní autoři pak dále zjistili, že podobně jako vápník, byl v přítomnosti medu z potravy lépe využíván i hořčík, což je další prvek nezbytně nutný pro živé buňky a tkáně. Oba prvky jsou však nutné i pro nervovou a svalovou činnost a řadu biochemických reakcí [38].

Pro tělesnou činnost je rovněž důležité dobré zásobení buněk kyslíkem prostřednictvím krevního barviva – hemoglobinu (vyskytuje se v červených krvinkách). K syntéze hemoglobinu je nutný přísun železa, patrné musejí být i stopy mědi. Oba prvky bývají v medu přítomné. Vliv medu na tvorbu hemoglobinu byla studována na 6 dvojicích dětí ze stejné rodiny, podobné konstituce i hladiny hemoglobinu. Jedno dítě dostávalo k běžné potravě ještě mléko a med, druhé jen mléko. Výsledky ukázaly, že děti, které dostávaly navíc med, měly vyšší obsah hemoglobinu [38].

Podobně v jiné studii bylo sestaveno 29 dvojic chlapců s podobnými fyziologickými charakteristikami. Jeden z každé dvojice dostával denně 2 lžíce medu k běžné stravě po dobu 6 týdnů. Druhý z dvojice sloužil jako kontrola – jedl stravu bez medu. Na konci pokusu dvě třetiny chlapců živených navíc medem měly zvýšený obsah hemoglobinu v krvi (v průměru o 8,5 %). U dvou třetin chlapců, kteří med nedostávali, byl zjištěn pokles hladiny hemoglobinu a třetina v každé skupině nevykazovala žádnou změnu [38].

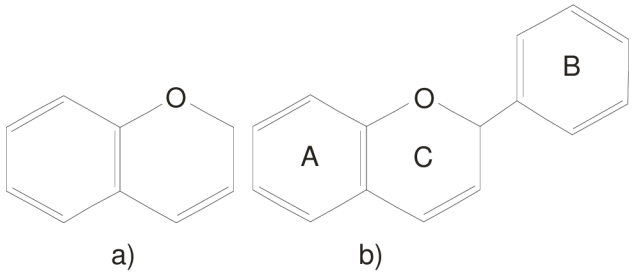
2.9 Biologicky aktivní látky: antioxidanty

Všechny látky, které chrání potraviny před autooxidací, můžeme označit jako inhibitory oxidace. Jenom ty látky, které inhibují oxidaci reakcí s volnými radikály, můžeme nazvat jako antioxidanty. Přírodní antioxidanty se nacházejí ve většině rostlin, mikroorganismů, hub a dokonce i ve zvířecích tkáních. Majoritní skupinou přírodních antioxidantů jsou fenolické sloučeniny a nejdůležitější skupiny jsou tokoferoly, flavonoidy a fenolové kyseliny [39].

2.9.1 Flavonoidy

Flavonoidní látky neboli flavonoidy jsou značně rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů obsahujících v molekule dva benzenové kruhy spojené třiuhlíkovým 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.

U většiny flavonoidů je C3 řetězec součástí cyklického (pyranového) kruhu. Jsou tedy odvozeny od kyslíkatých heterocyklických sloučenin 2H-chromenu, substituovaného v poloze C-2 fenylovou skupinou, který se nazývá flavan [40]. Struktura 2H-chromenu a flavanu je znázorněna na obr. 16.



Obr.16. *Struktura a) 2-chromenu b) flavanu [40]*

Podle stupně oxidace C3 řetězce rozeznáváme tyto základní struktury flavonoidů [40]:

- katechiny (3-flavonoly)
- leukoantokyanidiny (3,4-flavandioly)
- flavanony
- flavanonoly
- flavony
- flavonoly
- anthokyanidiny
- chalkony a dihydrochalkony
- aurony
- isoflavonoidy.

Všech flavonoidních látek je dnes známo více než 4000 a stále se v různých rostlinných zdrojích nacházejí další sloučeniny. Některé z flavonoidů jsou významnou součástí přírodních barviv, podílejících se na biochemických procesech. Vyskytují se jako bezbarvé, žluté, červené až modrofialově zbarvené struktury. Skupiny jako katechiny a leukoantokyanidiny jsou sloučeniny bezbarvé, ale hnědé pigmenty z nich vznikají procesem enzymového hnědnutí [40].

Biochemie flavonoidů

O flavonoidech se dlouho předpokládalo, že slouží pouze jako květní pigmenty k lákaní hmyzu, jako signální molekuly, nebo jako antimikrobiální látky. Dnes však víme, že flavonoidy mohou inhibovat lipoperoxidaci, mohou mít protinádorový, protiischemický, antialergický, nebo protizánětlivý účinek.
Mechanismus účinků flavonoidů není dosud přesně znám, pravděpodobně inhibují metabolickou dráhu vzniku superoxidu tím, že vychytávají už vytvořený superoxidový radikál. Dále inhibují agregaci krevních destiček a tím zabraňují vzniku krevních sraženin. Díky své schopnosti inhibovat lipoperoxidaci brání rozvoji aterosklerózy. Nejvýznamnější je ale protinádorové působení flavonoidů, přičemž inhibiční účinek se projevuje hlavně v počáteční fázi rakoviny. Flavonoidy mají antimutagenní schopnosti a zabraňují navíc vazbě karcinogenů na DNA [40].

Fyziologie a výživa

O biologických vlastnostech jednotlivých flavonoidů je toho známo poměrně málo. Velmi závisí na složení potravy a způsobu přípravy pokrmů, zejména na přítomnosti ovoce a zeleniny. Obecně se uvažuje 100–200 mg flavonoidů jako doporučená denní dávka.

Významnou měrou se flavonoidy podílí na permeabilitě a pružnosti krevních kapilár, jsou schopny působit proti nadměrnému krvácení při menstruačních a poporodních stavech. Antioxidačním účinkem ovlivňují současně hladinu cholesterolu v krvi, k čemuž značně přispívá i pohyb. U sportovců zmírňují následky úrazů (krevní podlitiny hemorhoidy) a podporují vylučování těžkých kovů. Významný je rovněž jejich hepatoprotektivní účinek [40].

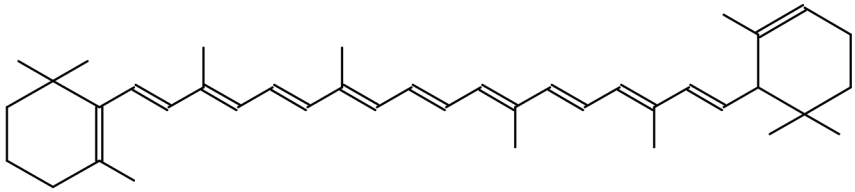
Výskyt

Flavonoidy, konkrétně flavonoly (rutin, morin, kvercetin, galangin, kemferol, atd.), se vyskytují v potravinách hlavně jako glykosidy a jako kopigmenty doprovázející anthokyany [40].

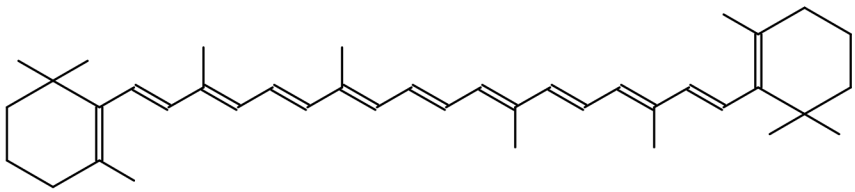
2.9.2 Karotenoidy

Mezi pigmenty přítomnými v živých organismech jsou karotenoidy, hned po chlorofylech, v přírodě nejrozšířenější. Lze je nalézt v rostlinné říši, v bakteriích, houbách a zvířatech. Je odhadováno, že roční produkce karotenoidů v přírodě se pohybuje okolo 10^8 tun [41]. Živočichové však nejsou schopni karotenoidy syntetizovat. [42]

Karotenoidy jsou tetraterpeny odvozeny od symetrické C40 struktury. Karotenoidy mohou být rozděleny do dvou velkých skupin: karoteny, které jsou přísně uhlovodíky, a xantofyly, odvozené od struktury obsahující kyslíkaté funkční skupiny. Strukturálně, karotenoidy mohou být acyklické (např. lykopen) nebo obsahují kruh pěti nebo šesti uhlíků na jednom nebo obou koncích molekuly (např. β-karoten). Struktura α-karotenu a β-karotenu je znázorněna na obr. 17 a 18.



Obr. 17. *Struktura α-karotenu [42]*



Obr. 18. *Struktura β-karotenu [42]*

V ovoci a květinách je hlavní funkce karotenoidů nalákat zvířata (hmyz, ptáky, savce) tak, aby zajistila rozšíření semen a přenášení pylu [43]. Karotenoidy také hrají velmi důležitou roli jako ochrana chlorofylů a obecně ve fotosyntéze blokováním velmi reaktivních forem triplet chlorofylů a kyslíku v singletovém stavu vznikajících během absorbování světelné energie [44].

Biosyntéza karotenoidů

Karotenoidy jsou isoprenoidní sloučeniny a jsou syntetizovány řadou reakcí z velké isoprenoidní dráhy. Celá biosyntéza probíhá v chloroplastech (v zelených pletivech) nebo chromoplastech (ve žlutých a červených pletivech).

Isoprenoidní řetězec vzniká z kyseliny mevalonové prenyl transferázou do stupně C20, kdy vznikne geranylgeranyldifosfát. Dvě molekuly geranylgeranyldifosfátu vytvoří 15-cis-fytoen jako první produkt s C40 karotenoidní strukturou.

Fytoen je bezbarvý, ale podléhá sérii desaturačních reakcí. Konečným produktem je lykopen. Molekula lykopenu může podléhat cyklizaci za vzniku šestičlenného kruhu na jednom nebo obou koncích molekuly. Tato reakce je katalyzována dvěma lykopencyklázami. Jedná se o dvou stupňovou reakci, kde vzniká β-iononový kruh na každém konci molekuly lykopenu za vzniku β,β-karotenu [45].

Fyziologie a výživa

Karotenoidy se vstřebávají mukózními buňkami a nezměněné se vážou na chylomikrony. Absorpce jednotlivých karotenoidů však není vždy kvantitativní. Velmi závisí na složení potravy a způsobu přípravy pokrmů, zejména na přítomnosti tuků. Karotenoidy jsou transportovány, podobně jako cholesterol, lipoproteiny.

Obecně se uvažuje, že 6 mg β-karotenu nebo 12 mg jiných biologicky aktivních karotenoidů je ekvivalentní 1 mg retinolu. Potřeba tohoto vitaminu je kryta asi z 50 % provitaminy rostlinného původu. Při těžkých případech nedostatku tohoto vitaminu dochází k ireverzibilním změnám na oku (xeropthalmie, keratomalacie), které končí oslepnutím. Nadměrný příjem karotenoidů se příznaky hypervitaminosy nevyznačuje, může se však projevit přechodným zbarvením kůže (xanthodermie).

Podstata biologických účinků karotenoidů spočívá v jejich antioxidačním působení. Pro svoje antioxidační vlastnosti se karotenoidy obecně uplatňují v prevenci degenerativních procesů a jako antikarcinogenní látky [42].

Karotenoidy působí podobně jako tokoferoly ve funkci membránových antioxidantů. Jsou účinné při zhášení singletového kyslíku a reagují více či méně ochotně také s volnými radikály. Pro svoje antioxidační vlastnosti se karotenoidy uplatňují v prevenci degenerativních procesů a jako antikarcinogenní látky. Vykazují antioxidační účinky v systémech obsahujících lipidy a také *in vivo* úměrně koncentraci [42] .

2.9.3 Vitaminy s antioxidačním účinkem

Vitaminy jsou definovány jako organické nízkomolekulární sloučeniny syntetizované autotrofními organismy. Heterotrofní organismy je syntetizují jen v omezené míře a získávají je jako exogenní látky především potravou, případně některé z nich prostřednictvím působení střevní mikroflóry. Vitaminy jsou v určitém minimálním množství nezbytné pro látkovou přeměnu a regulaci metabolismu člověka. Nejsou zdrojem energie ani stavebním materiálem, ale vesměs mají funkci jako součást katalyzátorů biochemických reakcí, proto bývají často označovány jako exogenní esenciální biokatalyzátory [42]

Jednotlivé vitaminy se liší nejen svou strukturou, ale i konkrétní funkcí v metabolismu. Dělí se však podle jedné ze svých fyzikálních vlastností – rozpustnosti v polárním a nepolárním prostředí:

- vitaminy rozpustné ve vodě (hydrofilní): B-komplex, askorbát (C), biotin (H)
- vitaminy rozpustné v tucích (lipofilní): vitaminy A, D, E, K

Nepřítomnost nebo relativní nedostatek vitaminů vede k charakteristickým poruchám nebo chorobám z nedostatku, tzv. hypovitaminose (nedostatečné množství vitaminu) nebo až k avitaminose (úplný nedostatek vitaminu, projevující se poruchou některých biochemických procesů). Opakem těchto stavů je hypervitaminosa (nadměrný příjem vitaminů).

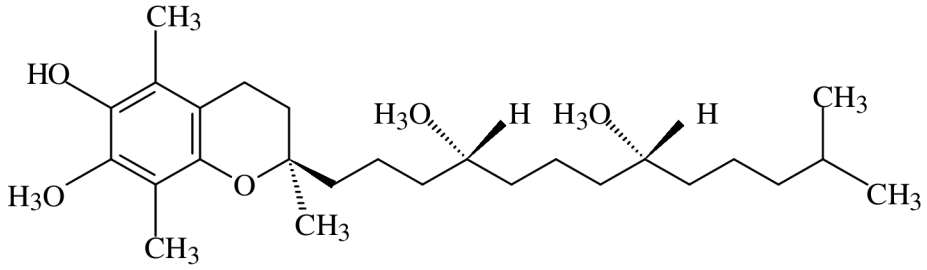
Vitaminy obecně patří mezi labilní složky potravin. Během technologického zpracování i kulinárních úprav potravin dochází u většiny vitaminů k větším či menším ztrátám. Proto se dnes vitaminy používají k obohacování mnoha výrobků, k tzv. restituci a fortifikaci potravin. Některé vitaminy také nalezly použití jako přirozená barviva (riboflavin, vitamin A, provitaminy A) a jako antioxidanty (vitamin C, A, E, provitaminy A) [42].

2.9.3.1 Vitamin E – tokoferoly

Vitamin E je významným antioxidantem rozpustným v tucích. Poprvé byl izolován z mikroorganismů pšenice a získává se zejména z ořechů, olejových semen a cereálií. Vitamin E je ve skutečnosti společný termín pro osm sloučenin: α-, β-, γ-, a δ-tokoferol, a α-, β-, γ-, a δ-tokotrienol, které obsahují chromanový cyklus s nasyceným nebo nenasyceným

isoprenoidním postranním řetězcem s 16 atomy uhlíku. Tokoferoly mají nasycený terpenoidní postranní řetězec odvozený od tokolu, tokotrienoly mají nenasycený postranní řetězec.

V přírodě se nejčastěji, až 90 %, nacházejí (2R,4´R,8´R)-isomery tokoferolů, označované též jako (RRR)-isomery, d-tokoferoly, resp. (±)-tokoferoly. Jejich zástupcem je např. (RRR)-α-tokoferol, jehož struktura je znázorněna na obr. 19 [46].



Obr. 19. *(RRR)-α-tokoferol [46]*

Biochemie vitaminu E

Vitamin E (zvláště α-tokoferol) je nejvýznamnějším lipofilním antioxidantem uplatňujícím se u eukaryotických buněk jako ochrana nenasycených mastných kyselin v lipidech a fosfolipidech před poškozením volnými radikály. Uplatňuje se také při ochraně lipoproteinů přítomných v plasmě. Další funkce vitaminu E nejsou dosud dostatečně známy.

Všechny tokoferoly a tokotrienoly mají aromatický kruh nesoucí hydroxylovou skupinu, což jim umožňuje darovat vodík volným radikálům, a tím se chovat jako biologický antioxidant. nepárový elektron, který vznikl po odštěpení vodíku, je delokalizován v aromatickém kruhu tokoferolu a díky tomu je tokoferol relativně stabilní a nereaktivní. Řetězová reakce iniciována hydroxyradikály může být narušena vznikem stabilních radikálů jako výsledek interakce s vitaminem E [46].

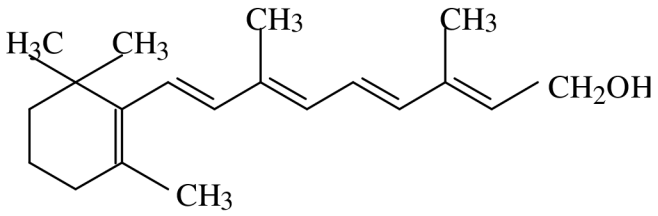
Fyziologie a výživa

Dostatečný příjem vitaminu E je považován za prevenci oxidace lipidů biomembrán. Vitamin E je proto faktorem zpomalujícím proces stárnutí organismu a uplatňujícím se v prevenci kardiovaskulárních chorob a vzniku rakoviny.Deficience je poměrně vzácná, ale občas se může vyskytovat u novorozeňat a adolescentů. Projevem deficience jsou hlavně degenerativní nervové a svalové změny. Ke konzumaci nadměrného množství tokoferolů může docházet jen ve výjimečných případech.

Potřeba vitaminu E není přesně dosud známa. Závisí značně na příjmu polyenových mastných kyselin. Pro osoby s průměrným denním příjmem těchto mastných kyselin (14-19 g) se doporučuje denní příjem okolo 15 mg [46].

2.9.3.2 Vitamin A – retinol

Pod pojem vitamin A zahrnujeme celou skupinu látek, které mají stejný mechanismus účinku a podobné chemické složení. Základní a nejvýznamnější aktivní látkou této skupiny vitaminů v živočišných tkáních je all-trans-retinol, neboli axeroftol či vitamin A_1. Retinol je isoprenoid s pěti konjugovanými dvojnými vazbami v molekule, resp. alicyklický diterpenový alkohol s tzv. β-iononovým kruhem a s postranním řetězcem čtyř konjugovaných dvojných vazeb. V potravinách je doprovázen řadou analogů a metabolitů lišících se strukturou iononového cyklu nebo postranního řetězce [42]. Struktura all-trans-retinolu je znázorněna na obr. 20.



Obr. 20. *Struktura all-trans-retinolu [42]*

Biosyntéza retinolu

Výchozí strukturou pro vznik retinolu je β-karoten. Působením β-karotendioxygenásy je oxidativně štěpen na dvě molekuly retinalu. Retinal je dále částečně redukován na all-trans-retinol a částečně oxidován na kyselinu retinovou. Většina retinolu je však esterifikována vyššími mastnými kyselinami. Spolu s dalšími biologicky aktivními formami vitaminu A je skladován v játrech a transportován plasmou vázaný na specifické bílkoviny [42].

Výživa a fyziologie

Doporučená denní dávka retinolu je přibližně 0,8 – 1,0 mg.

Retinol samotný není antioxidantem, avšak jeho provitaminy – karotenoidy, v jejichž podobě bývá přijímán, vykazují významné antioxidační účinky. Vitamin A vykazuje však celou řadu jiných významných fyzilogických funkcí spojených zejména s aktivitou imunitního systému a s procesem vidění . Avitaminosa vitaminu A se projevuje poruchami vidění, inhibicí růstu a deformacemi kostí a reprodukčních orgánů. Klinické příznaky avitaminosy se však týkají především kůže a očí. Dlouhodobý nedostatek vitaminu A vede k rohovatění sliznic, hlavně epitelu sliznice nosohltanu, jícnu, průdušnice a střeva. Nejznámějším příznakem nedostatku vitaminu A je šeroslepost (hemeralopie), způsobená nedostatečnou schopností sítnice adaptovat se na menší intenzitu světla [42].

Výskyt

Vitamin A se v potravinách rostlinného původu, v mikroorganismech (bakteriích, kvasinkách, plísních) ani ve vyšších houbách nevyskytuje, zde jsou přítomny pouze jeho provitaminy, tedy karoteny nebo xantofyly. Bohatými zdroji vitaminu A jsou pouze potraviny živočišného původu, jako vaječný žloutek, játra, tělesné tuky mnoha živočichů, naopak mléko a maso obsahují tohoto vitaminu poměrně málo (obsah vitaminu je úměrný obsahu tuku). Dobrým zdrojem jsou proto mléčné výrobky s vyšším obsahem tuku a máslo. Velmi vydatným zdrojem vitaminu A jsou jaterní rybí tuky, především olej z tresčích jater [42].

2.9.3.3 Vitamin C – kyselina askorbová

Základní biologicky aktivní sloučeninou vitaminu C je kyselina askorbová. Ze čtyř možných stereoisomerů vykazuje aktivitu vitaminu C pouze kyselina L-askorbová. Názvem vitamin C se označuje nejen kyselina L-askorbová, ale také celý reversibilní oxidačně-redukční systém. Ten zahrnuje kyselinu L-askorbovou, produkt její jednoelektronové oxidace, který se nazývá L-askorbylradikálem a produkt dvouelektronové oxidace, tj. kyselinu L-dehydroaskorbovou [42].

Biochemie kyseliny askorbové

Vitamin C je vitaminem pouze pro člověka a několik dalších živočichů. Podílí se především na významných hydroxylačních reakcích probíhajících v organismu. Vitamin C se dále účastní biosyntézy mukopolysacharidů, prostaglandinů, absorpce iontových forem

železa, jeho transportu, stimuluje transport sodných a chloridových iontů, uplatňuje se rovněž v metabolismu cholesterolu, drog a v řadě dalších reakcí.

Velmi důležitými reakcemi souvisejícími s antioxidačními vlastnostmi vitaminu C jsou reakce s aktivními formami kyslíku, resp. s volnými radikály, a reakce s oxidovanými formami vitaminu E, které zabezpečují ochranu vitaminu E a lipidů membrán před oxidací. Inhibuje také tvorbu nitrosaminů a působí tak jako modulátor mutageneze a karcinogeneze. Mnoho dalších aktivit vitaminu C je dosud známo jen částečně [42].

Výživa a fyziologie

Doporučená denní dávka kyseliny L-askorbové se pohybuje v závislosti na zátěži organismu v rozmezí 60-200 mg. U pacientů s respiračními chorobami a u rekonvalescentů se podávají denní dávky okolo 1000 mg i více. Veškerá potřeba vitaminu je kryta z potravy, hlavně bramborami, zeleninou a ovocem. Deficience vitaminu se projevuje řadou nespecifických příznaků, nejčastěji tzv. jarní únavou. Nejznámějším syndromem akutní avitaminosy je skorbut (kurděje) [42].

Použití

Kyselina askorbová má díky svým vlastnostem (vitamin, antioxidant a chelatační činidlo) široké použití jako potravinářské aditivum především v konzervárenské a kvasné technologii, v technologii masa a tuků a v cereální technologii.

Kyselina askorbová je jedním z nejméně stálých vitamínů. Nejvýznamnější jsou ztráty výluhem a ztráty oxidací. V nepřítomnosti vzdušného kyslíku jsou ztráty způsobeny hlavně degradací katalyzovanou kyselinami. Povaha a rozsah ztrát závisí však na mnoha faktorech, jako jsou pH, teplota, množství vody, zralost, přítomnost kyslíku atd [42].

2.10 Hydroxymethylfurfural

5-hydroxymethyl-2-furaldehyd je cyklický aldehyd, který vzniká při rozkladu monosacharidů. Objevuje se ve všech produktech, které obsahují vodu a monosacharidy v kyselém prostředí [21]. Je to v čistém stavu bezbarvá krystalická látka, která je tak chemicky reaktivní, že na vzduchu okamžitě hnědne a například v medu reaguje s ostatními složkami za vzniku žlutohnědých barviv. HMF nebo spíše jeho reakční produkty mají slabou „ovocnou vůni“ [1].

Biosyntéza hydroxymethylfurfuralu

Reakce neenzymatického hnědnutí může být definována jako sekvence několika kroků, která začíná reakcí amino skupiny aminokyselin, petidů nebo proteinů, s glykosidovou hydroxylovou skupinou cukrů; děj terminuje vznik hnědých dusíkatých polymerů nebo melanoidů. Rychlost a schéma reakce závisí na charakteru reagujících aminokyselin nebo proteinů a sacharidů. Dalšími faktory, které hrají roli můžou být teplota, vlhkost, kyslík, kovy, fosfáty, oxid siřičitý a další inhibitory.

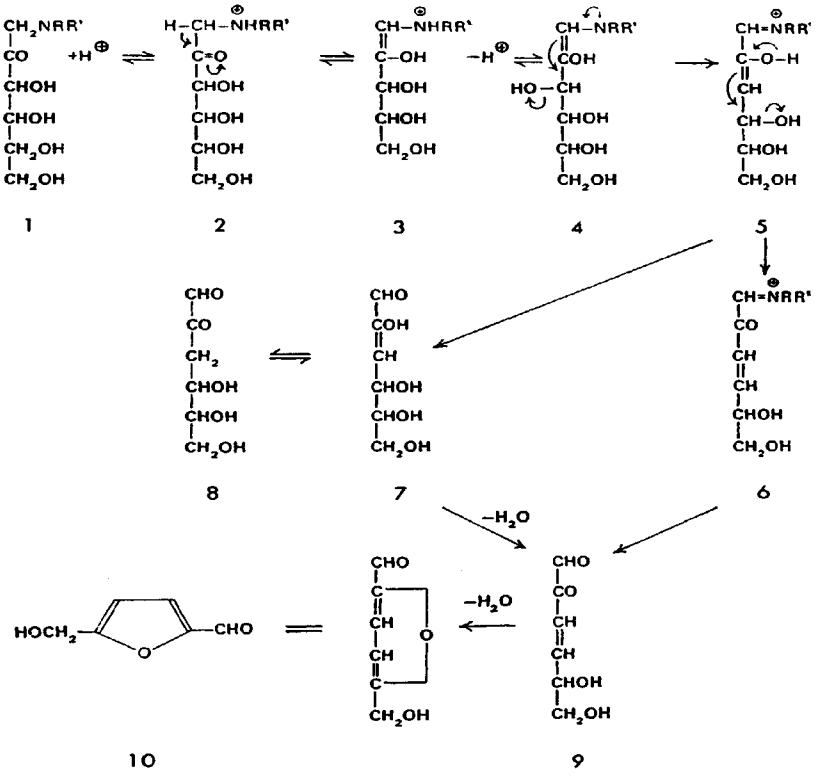
Reakci neenzymatického hnědnutí můžeme rozdělit do pěti kroků [47]:

1. Vznik *N*-substituovaného glykosylaminu z aldózy nebo ketózy reakcí s primární aminoskupinou aminokyseliny, peptidu nebo proteinu.
2. Přeskupení glykosylaminu podle Amadoriho reakce, která vede k vzniku aldózaminu nebo ketózaminu.
3. Druhé přeskupení ketózaminu a reakce s aldózou za vzniku diketózaminu, nebo reakce aldózaminu s aminokyselinou za vzniku diaminosacharidu.
4. Dehydratace aminosacharidu za vniku amino- nebo non-aminosloučenin.

5. Kondenzace sloučenin vzniklých v kroku č.4 za vzniku aminosloučenin, které poskytují hnědé pigmenty.

V kroku č.4 jsou ketózaminy rozkládány 1,2-enolizací nebo 2,3-enolizací. Dráha 1,2-enolizace se objevuje hlavně při hnědnutí a taky vede ke vzniku sloučenin, jako je hydroxymethylfurfural, které způsobují nežádoucí aroma v potravinách.

Ketózamin (1) je protonován v kyselém prostředí (2). Tato reversibilní reakce vede ke vzniku 1,2-enolaminu (3) a je usnadněna *N*-substitucí na uhlíku C1. Následující kroky zahrnují β-eliminaci hydroxylové skupiny na uhlíku C3. V (4) je enolamin ve volné bazické formě a konvertuje na Schiffovu bázi (5). Schiffova báze může podlehnout hydrolýze a vznikne enolforma (7) 3-deoxyosulózy (8). V dalším kroku může Schiffova báze (5) uvolnit proton a hydroxylová skupina z uhlíku C4 postoupí vzniku nové Schiffovy báze (6). Obě tyto sloučeniny a 3-deoxyosulóza mohou být přetransformovány v nenasycenou osulózu (9) a eliminací protonu a hydroxylové skupiny vznikne hydroxymethylfurfural (10) [47]. Schématicky je tento sled reakcí znázorněn na obr. 21.



Obr. 21. *Schéma vzniku hydroxymethylfurfuralu [47]*

2.11 Metody používané při analýze biologických vzorků

2.11.1 Extrakce

Extrakční dělení je založeno na selektivním přechodu složek analyzované soustavy mezi dvěma vzájemně nemísitelnými fázemi, vyplývajícím z jejich nestejné rozpustnosti v těchto fázích. Provádí se jako jednorázová extrakce nebo v chromatografické formě a patří k nejrozšířenějším dělícím postupům používaným při stanovení organických i anorganických látek.

Extrakční soustavy lze dělit podle různých hledisek. Podle zúčastněných fází rozeznáváme extrakci v systému tuhá fáze-kapalina a kapalina-kapalina. Používá se zejména v biologii, biochemii a organické chemii.

Celkový extrakční děj lze rozdělit na tři následné stupně. Nejprve se musí v roztoku vytvořit taková forma sledované látky, která je vhodná z hlediska účinnosti extrakce a její selektivity. Pak se dvě fáze spolu uvedou do styku a po určité době se vytvoří rozdělovací rovnováha. Konečně ve třetím stupni dojde k různým interakcím mezi extrahovanou látkou a rozpouštědlem nebo látkami v rozpouštědle přítomnými. Po tomto vlastním extrakčním ději může následovat např. zpětná extrakce (reextrakce), odpaření rozpouštědla apod., podle požadavků dalšího fyzikálně chemického zpracování vzorku [48].

2.11.2 Chromatografické metody

Základním principem všech chromatografických metod je rozdělení směsi mezi dvě fáze, z nichž jedna je nepohyblivá, stacionární, a druhá se pohybuje, je mobilní.

Podle povahy fází rozlišujeme dva základní typy chromatografie – kapalinovou a plynovou. Stacionární fází může být v obou případech inertní nosič pokrytý kapalnou fází, tuhý adsorbent, měnič inotů apod. Mobilní fází je v případě kapalinové chromatografie kapalina, u plynové chromatografie plyn.

V chromatografii probíhá rozdělení látky mezi dvě heterogenní fáze obdobně jako při extrakci. Chromatografie je však proces kontinuální.

Po přivedení do chromatografického systému se látka ihned rozdělí mezi obě fáze v poměru daném distribuční konstantou. Rovnováha je však neustále porušována tokem mobilní fáze. látka je unášena z oblasti, kde je v rovnováze se stacionární fází, do oblasti, kde je její koncentrace ve stacionární fázi menší [48].

2.11.2.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

V dnešních chromatografických technikách zaujímají přední místo metody kolonové chromatografie. Jejich význam neustále roste. Moderní metodou, k jejímž rozvoji došlo v posledních letech, je vysokoúčinná (vysokotlaká) kapalinová chromatografie – HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

Vysoké účinnosti a rychlosti se dosahuje u této metody použitím velkých průtoků a tlaků mobilní fáze a krátkých kolon plněných náplněmi z velmi jemných částic. V tomto uzavřeném chromatografickém systému zajišťuje pohyb eluentu vysokotlaké čerpadlo. Nízkotlaká kapalinová chromatografie vyžaduje pro provedení separace hodiny až dny, při vysokotlaké vystačíme obvykle s minutami, nejvýše desítkami minut. Použití vysokých tlaků klade značné nároky na instrumentální zařízení HPLC.

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie se využívá zejména pro stanovení biochemicky významných látek, jako jsou různá antibiotika, vitaminy, alkaloidy, narkotika, aminokyseliny, steroidní látky, hormony, léky apod [48].

2.11.2.2 Hmotnostní spektroskopie

Hmotnostní spektroskopie bývá řazena k spektroskopickým metodám, i když v jejím případě nejde o interakci zkoumané látky s elektromagnetickým vlněním. V hmotnostní spektroskopii se pomocí elektrického a magnetického pole od sebe oddělují ionizované atomy, molekuly nebo jejich fragmenty na základě své rozdílné hmotnosti. Převedení atomů nebo molekul v ionty se nejčastěji dosahuje ionizací v plynné fázi, kdy jsou atomy nebo molekuly bombardovány proudem elektronů. Aby se zabránilo rekombinaci (opětnému spojení) vzniklých iontů, je nutné zajistit v celém zařízení vysoké vakuum. Vzniklé ionty jsou urychlovány v elektrickém poli o napětí U, jehož působením se ionty o různé hmotnosti začnou pohybovat různou rychlostí. Potom vstupují do magnetického pole o magnetické

indukci *B*, kolmého na směr elektrického pole, které je přitahuje a způsobí, že ionty se začnou pohybovat po kruhových drahách. Původní proud iontů se tedy rozdělí na několik svazků, které vždy obsahují ionty stejné hmotnosti. Tyto svazky nakonec vyhodnotí detektor [48].

2.11.3 Absorpční spektrofotometrie

Absorpční spektrální analýza je založena na schopnosti látek pohlcovat zářivou energii. Absorpce záření je popsána matematickými vztahy, které v integrální formě vedou k Lambertovu-Beerovu zákonu, který je současně znám i jako definice absorbance.

$$\log I_0/I = \varepsilon . c . l = A,$$

kde A – absorbance, ε – extinkční koeficient, c – koncentrace látky v roztoku a l – tloušťka optické vrstvy.

Lamber-Beerův zákon je zákonem mezním. Platí pro zředěné roztoky, přísně monochromatické záření, a to buď v homogenním nebo heterogenním prostředí. Měří se při konstantní vlnové délce a při konstantní tloušťce kyvety se zjišťuje hodnota absorbance.

Absorpční spektrometrie využívá monochromatického záření UV a VIS spektra, získaného pomocí hranolového nebo mřížkového monochromátoru. V UV oblasti se používá jako zdroj záření deuteriová lampa, ve VIS oblasti lampa halogenová nebo wolframová. Vzorek je umístěn v kyvetě. Skleněná je použitelná pro viditelnou oblast, křemenná pro oblast ultrafialovou [49].

2.11.4 Senzorická analýza

Senzorickou analýzou rozumíme hodnocení potravin bezprostředně našimi smysly, včetně zpracování výsledků lidským centrálním nervovým systémem.

Senzorické zkoušky jsou analýzy provedené prostřednictvím hodnotitelů za podmínek, které zaručují přesné, objektivní a reprodukovatelné senzorické hodnocení potravin. Dosáhne se toho použitím několikačlenné poroty, standardních podmínek, kdy jsou odstraněny rušivé vlivy standardních metod, využitím zkušených hodnotitelů a standardních postupů při interpretaci dosažených výsledků [50].

3. CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je stanovit obsah biologicky aktivních látek v různých druzích medu dostupných na českém trhu. Účelem pilotní srovnávací studie je zjistit, zda lze najít systém vhodných parametrů, který umožní ověřit původ medu (nektar, medovice), původ nektaru (medovice), použitý technologický postup zpracování a způsob skladování. Dalším dílčím cílem je srovnání naměřených hodnot s informacemi získanými ze spotřebitelského dotazníku.

Za účelem splnění cílů budou řešeny následující dílčí úkoly:

- optimalizace metod extrakce a stanovení vybraných antioxidantů a celkové antioxidační aktivity; stanovení dalších aktivních složek medu,
- analýza aktivních složek a biologické aktivity ve vybraných druzích medu – srovnávací studie,
- orientační senzorická analýza medů a spotřebitelský dotazník.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Přístroje, chemikálie a diagnostické soupravy

Přístroje:

- sestava HPLC (firma ECOM, spol s r.o., ČR)
  - programátor gradientu GP5
  - vysokotlaké čerpadlo LCP 4020
  - dávkovací analytický ventil smyčkový C R54157
  - termostat kolon LCO 101
  - spektrofotometrický detektor LCD 2084
- integrátor DataApex Clarity
- hmotnostní spektrometr LCQ Advantage Max (Thermo Finnigan)
- UV ± VIS spektrofotometr Helios α, (Unicam, GB)
- analytické váhy BOECO (SRN)
- vakuová odparka JK (IKA-WERKE, GMBH & Co., SRN)
- systém pro extrakci SPE-GC
- centrifuga U-32R BOECO (SRN)
- ultrazvuková vana PS02000 (Powersonic s r.o., SR)
- termostat Kavalier EL-20D

Chemikálie:

- Ethanol UVAPUR (*ML Chemica, ČR*)
- Methanol (*Scharlau Chemie S.A., Španělsko*)
- Ethylester kyseliny octové p.a. (*Lach-Ner, s r.o., ČR*)
- Diethylether p.a. (*Lach-Ner, s r.o., ČR*)
- Acetonitril (*Scharlau Chemie S.A., Španělsko*)
- Kyselina o-fosforečná (*Lachema, ČR*)
- Aceton p.a. (*Lach-Ner, s r.o., ČR*)
- Folin-Ciocaultovo činidlo (*RNDr. Jan Kulich, ČR*)
- Uhličitan sodný (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Dusitan sodný (*Lachema, ČR*)
- Chlorid hlinitý (*Lachema, ČR*)
- Hydroxid sodný (*Lach-Ner, s.r.o., ČR*)
- Octan sodný dihydrát (*Lach-Ner, s.r.o., ČR*)
- Octová kyselina (*Lach-Ner, s.r.o., ČR*)

Standardy:

- Rutin (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Myricetin (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Luteolin (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Quercetin (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Apigenin (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Naringenin (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Kaempferol (*Fluka, SRN*)
- Tocopherol (*Merck, SRN*)
- Retinol (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- β-carotene (*Sigma-Aldrich, SRN*)

- Lutein (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Catechin (Sigma-Aldrich, SRN)
- Epicatechin (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Catechin gallate (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Epicatechin gallate (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Kyselina gallová (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Hydroxymethylfurfural (*Sigma-Aldrich, SRN*)
- Kyselina L-askorbová (*Sigma-Aldrich, SRN*)

Diagnostické soustavy:

- Total Antioxidant Status (*Randox Laboratories; šarže 115813, expirace 09/2008*)

4.2 Materiál

Analýze bylo podrobeno celkem 28 vzorků, z toho 25 vzorků medů, 1 vzorek propolisu, 1 vzorek mateří kašičky a 1 vzorek byla v laboratoři připravená směs květového medu s propolisem a mateří kašičkou. 22 vzorků medů bylo zakoupeno v supermarketech, v prodejnách biopotravin i specializovaných včelařských prodejnách. Tyto vzorky byly zakoupeny ve stejnou dobu v prosinci 2007 a byly všechny najednou otevřeny těsně před první analýzou. 6 vzorků medů bylo pořízeno přímo od včelaře, a to v červenci 2007. Tyto vzorky byly také dříve otevřeny. Všechny medy byly skladovány v temnu a při konstantní teplotě +19 °C.

Propolis byl zakoupen ve specializované včelařské prodejně a v laboratoři byl skladován v temnu a při teplotě +19 °C. Mateří kašička byla rovněž zakoupena ve specializované včelařské prodejně a byla uchovávaná v lednici při teplotě do +5 °C.

4.3 Stanovení vybraných aktivních látek v medu

4.3.1 Stanovení celkové antioxidační kapacity

Na stanovení celkové antioxidační kapacity byla použita diagnostická souprava Total Antioxidant Status. Stanovení bylo provedeno podle postupu přiloženého k diagnostické soupravě výrobcem.

1,0 g vzorku medu byl rozpuštěn v 1,00 ml destilované vody. 10 µl tohoto roztoku bylo napipetováno do kyvety a smícháno s 0,5 ml chromogenu. Poté byla změřena absorbance pomocí UV/VIS spektrofotometru při vlnové délce 600 nm. Potom se k směsi v kyvetě přidalo 0,1 ml substrátu (peroxid vodíku) a znovu se změřila absorbance přesně po třech minutách. Stejným postupem se změřily obě absorbance u standardu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina) i u blanku. Antioxidační kapacita v $mmol \cdot l^{-1}$ byla vypočtena podle níže uvedeného vzorce.

$$TAS\ (mmol \cdot l^{-1}) = \frac{\text{koncentrace standardu}}{(\Delta A\ \text{blank} - \Delta A\ \text{standard})} \times (\Delta A\ \text{blank} - \Delta A\ \text{vzorek})$$

Vzorek mateří kašičky v medu měl tak vysokou antioxidační kapacitu, že musel být zředěn 10krát. Navážka mateří kašičky byla 0,2 g, další postup byl stejný jako u ostatních vzorků. Propolisu bylo naváženo 0,05 g a byl rozpuštěn v 5,00 ml ethanolu. Další postup byl stejný jako u ostatních vzorků.

4.3.2 Analýza celkových polyfenolů

Stanovení celkového obsahu fenolů bylo prováděno standardní fotometrickou metodou s Folin-Ciocaltauovým činidlem. Standardem byl 6 $mol.l^{-1}$ roztok kyseliny gallové v destilované vodě. Folin-Ciocaltauovo činidlo bylo zředěno vodou v poměru 1 : 9. Dále byl použit nasycený roztok uhličitanu sodného (7,5 g $NaCO_3$ + 95 ml H_2O).

Sestavení kalibrační křivky

Přesně navážené množství kyseliny gallové bylo rozpuštěno v absolutním ethanolu. Z tohoto zásobního roztoku byla naředěna kalibrační řada o koncentraci 110 – 560 $mg \cdot ml^{-1}$. Do zkumavek bylo napipetováno 1 ml zředěného Folin-Ciocaltauova činidla, 1 ml H_2O a 50 µl standardního roztoku kyseliny gallové. Vše bylo důkladně promícháno a ponecháno 5 minut v klidu. Poté bylo přidáno do každé zkumavky 1 ml nasyceného roztoku $NaCO_3$, důkladně promícháno a necháno 15 minut reagovat. Vzorky byly fotometrovány při 750 nm proti blanku (zředěné Folin-Ciocaltauovo činidlo).

Vlastní stanovení

Navážka 1,0 g vzorku medu byla rozpuštěna v 1,00 ml destilované vody. Do zkumavek bylo napipetováno 1 ml zředěného Folin-Ciocaltauova činidla, 1 ml H_2O a 50 µl roztoku vzorku. Vše bylo důkladně promícháno a ponecháno 5 minut v klidu. Poté bylo přidáno do každé zkumavky 1 ml nasyceného roztoku $NaCO_3$, důkladně promícháno a necháno 15 minut reagovat. Poté byly vzorky fotometrovány při 750 nm proti slepému roztoku (zředěné Folin-Ciocaltauovo činidlo).

4.3.3 Analýza celkových flavonoidů

Stanovení celkového obsahu flavonoidů v extraktech se provádělo s použitím orientační metody s hlinitou solí a dusitanem. Standardem byl katechin. Pro analýzu byly použity činidla 5% roztok dusitanu sodného, 10% roztok chloridu hlinitého, 1 $mol \cdot l^{-1}$ roztok hydroxidu sodného a 1 $mol \cdot l^{-1}$ roztok katechinu.

Sestavení kalibrační křivky

Přesně navážené množství katechinu bylo rozpuštěno v absolutním ethanolu. Z tohoto zásobního roztoku byla naředěna kalibrační řada o koncentraci 20 – 310 $mg \cdot ml^{-1}$. Do zkumavek bylo napipetováno 0,5 ml standardního roztoku katechinu a 1,5 ml destilované vody. Ke všem vzorkům bylo přidáno 0,2 ml roztoku $NaNO_2$, důkladně promícháno a po 5 minutách přidáno 0,2 ml 10 % $AlCl_3$. Roztok byl důkladně promíchán a ponechán 5 minut při laboratorní teplotě. Poté bylo přidáno 1,5 ml NaOH a 1 ml destilované vody, promícháno a ponecháno 15 minut při laboratorní teplotě. Poté byla měřena absorbance proti slepému roztoku (destilovaná voda) při vlnové délce 510 nm.

Vlastní stanovení

Navážka 1,0 g vzorku medu byla rozpuštěna v 1,00 ml destilované vody. Do zkumavek bylo napipetováno 0,5 ml roztoku vzorku a 1,5 ml destilované vody. Ke všem vzorkům bylo přidáno 0,2 ml roztoku $NaNO_2$, důkladně promícháno a po 5 minutách přidáno 0,2 ml 10 % $AlCl_3$. Roztok byl důkladně promíchán a ponechán 5 minut při laboratorní teplotě. Poté bylo přidáno 1,5 ml NaOH a 1 ml destilované vody, promícháno a ponecháno 15 minut při laboratorní teplotě. Poté byla měřena absorbance proti blanku (destilovaná voda) při vlnové délce 510 nm.

4.3.4 Analýza individuálních flavonoidů metodou RP-HPLC

Navážka 1,0 g vzorku medu byla rozpuštěna v 5 ml destilované vody. Poté byla provedena extrakce flavonoidů ethylacetátem. Po třepaní a rozdělení vrstev byla ethylacetátová frakce odpipetována do připravené odpařovací baňky. Ke zbylé vodné frakci byl znovu přidán ethylacetát a extrakce byla zopakována. Obě ethylacetátové frakce byly spojeny a rozpouštědlo bylo odpařeno na rotační vakuové odparce. Odparek byl rozpuštěn v 1,00 ml mobilní fáze (stejné, jaká byla použita pro eluci), zfiltrován a použit k analýze.

Stanovení obsahu flavonoidů bylo provedeno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reversní fázi (RP-HPLC). Chromatografie byla provedena na koloně Kromasil (150 x 4,6 mm, C18, 7 μm). Pro eluci byl zvolena mobilní fáze o složení 30 % acetonitrilu, 20 % methanolu, 49,5 % destilované vody a 0,5% kyseliny fosforečné. Eluce byla prováděna izokraticky při teplotě 30 °C. Rychlost průtoku mobilní fáze byla 0,75 $ml \cdot min^{-1}$ a objem dávkovací smyčky byl 20 μl. Detekce byla prováděna spektrofotometricky při vlnové délce 370 nm. Separace trvala 10 minut. Kvantitativní vyhodnocení bylo provedeno s použitím externí kalibrace pomocí příslušných standardů.

Kalibrace HPLC stanovení

Byly vytvořeny zásobní roztoky následujících standardů: rutin, myricetin, luteolin, kvercetin, apigenin, naringenin a kempferol. Přesná navážka každého ze standardů byla rozpuštěna v 1 ml absolutního ethanolu. Pracovní roztoky byly vytvořeny naředěním zásobních roztoků standardů a to tak, že byly dosaženy následující koncentrace: 0 – 130 $\mu g \cdot ml^{-1}$ rutinu, 0 – 220 $\mu g \cdot ml^{-1}$ myricetinu, 0 – 110 $\mu g \cdot ml^{-1}$ luteolinu, 0 – 260 $\mu g \cdot ml^{-1}$ kvercetinu, 0 – 120 $\mu g \cdot ml^{-1}$ apigeninu, 0 – 360 $\mu g \cdot ml^{-1}$ naringeninu a 0 – 130 $\mu g \cdot ml^{-1}$ kempferolu.

4.3.5 Analýza katechinů metodou RP-HPLC

Navážka 1,0 g vzorku medu byla rozpuštěna v 5,00 ml destilované vody. Po zfiltrování byl roztok přímo použit ke stanovení.

Analýza obsahu katechinů byla provedena metodou RP-HPLC. Chromatografie probíhala na koloně Kromasil (150 x 4,6 mm, 18C, 7 μm). Eluce probíhala izokraticky při 30 °C, mobilní fází byla voda – methanol v poměru (55 : 45). Objem smyčky byl 20 μl. Rychlost průtoku byla 0,75 $ml \cdot min^{-1}$. Detekce proběhla pomocí spektrofotometrického detektoru při vlnové délce 280 nm. Separace trvala 6 minut. Kvantitativní vyhodnocení bylo provedeno s použitím externí kalibrace pomocí příslušných standardů.

Kalibrace HPLC stanovení

K vytvoření zásobních roztoků byly použity čtyři standardy, a to katechin, epikatechin, katechin galát a epikatechin galát. Přesně odvážené množství bylo rozpuštěno v 1 ml absolutního ethanolu. Z takto vytvořených zásobních roztoků byly ředěním připraveny řady pracovních roztoků o koncentracích 0 – 200 $\mu g \cdot ml^{-1}$ pro (-)-katechin, 0 – 140 $\mu g \cdot ml^{-1}$ pro (-)-epikatechin, 0 – 100 $\mu g \cdot ml^{-1}$ pro (-)-katechin galát a 0 – 130 $\mu g \cdot ml^{-1}$ pro (-)-epikatechin galát.

4.3.6 Analýza karotenoidů, α-tokoferolu a retinolu metodou RP-HPLC

Navážka 1,0 g vzorku medu byla rozpuštěna v 5 ml destilované vody. Poté byla provedena extrakce lipofilních látek diethyletherem. Po třepaní a rozdělení vrstev byla diethyletherová vrstva odpipetována do připravené odpařovací baňky. Ke zbylé vodné vrstvě byl znovu přidán diethylether a extrakce byla zopakována. Druhá odpipetovaná diethyletherová vrstva byla přidána k první a rozpouštědlo bylo odpařeno na rotační vakuové odparce. Odparek byl rozpuštěn 1,00 ml methanolu, zfiltrován a použit k analýze.

Stanovení obsahu lipofilních látek bylo provedeno metodou RP-HPLC. Chromatografie byla provedena na koloně Kromasil (150 x 4,6 mm, C18, 7 μm) při telotě 45 °C. Jako mobilní faze pro eluci byl zvolen methanol. Eluce byla prováděna izokraticky. Rychlost průtoku mobilní fáze byla 1,1 $ml \cdot min^{-1}$ a objem dávkovací smyčky byl 20 μl. Detekce byla prováděna spektrofotometricky při vlnových délkách 325 nm pro retinol a 289 nm pro tokoferol a 450 nm pro karotenoidy. Separace trvala 4 minuty u retinolu, 6 minut u tokoferolu a 15 minut u karotenoidů. Kvatitativní vyhodnocení bylo provedeno s použitím externí kalibrace pomocí příslušných standardů.

Kalibrace HPLC stanovení

Ze zásobních roztoků, kde bylo přesně navážené množství standardu rozpuštěno v absolutním ethanolu, byly ředěním vytvořeny pracovní roztoky o těchto koncentracích 0 – 1,25 $\mu g \cdot ml^{-1}$ pro lutein, 0 – 300 $\mu g \cdot ml^{-1}$ pro α-karoten a 0 – 300 $\mu g \cdot ml^{-1}$ pro β-karoten.

Pro kalibraci retinolu byl připraven zásobní roztok rozpuštěním přesně naváženého množství standardu trans-all-retinolu v absolutním ethanolu. Z tohoto zásobního roztoku byla ředěním připravena řada pracovních roztoků o koncetraci 0 – 4,5 $\mu g \cdot ml^{-1}$.

Pro kalibraci α-tokoferolu byly ze zásobního roztoku připraveny pracovní roztoky o koncentracích 0,003 – 1,356 $mg \cdot ml^{-1}$.

4.3.7 Stanovení kyseliny askorbové

Kyselina askorbová byla stanovena titračně.

Navážka 4,0 g vzorku medu byla rozpuštěna v malém množství 2% kyseliny chlorovodíkové. Roztok byl kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 25 ml a doplněn po rysku 2% HCL. takto připravený roztok byl převeden do titrační baňky a tirován odměrným roztokem 2,6-dichlorindofenolu o koncentraci c = 0,0005 $mol \cdot l^{-1}$ do lososově růžového zbarvení stálého minimálně 15 sekund.

Standardizace byla provedena krystalickou kyselinou askorbovou.

4.3.8 Stanovení hydroxymethylfurfuralu [51]

4.3.8.1 Stanovení HMF ve vzorcích medu originálně balených

Navážka 2,5 g medu byla rozpuštěna v 5,00 ml destilované vody. Roztok byl zfiltrován a přímo použit ka analýze.

Stanovení obsahu hydroxymethylfurfuralu bylo provedeno metodou RP-HPLC. Separace proběhla na koloně Kromasil (150 x 4,6 mm, 18C, 7 μm) při teplotě 30 °C. Eluce probíhala izokraticky mobilní fází 1% vodný roztok kyseliny octové – acetonitril v poměru 97 : 3. Rychlost průtoku mobilní fáze kolonou byla 1,0 $ml \cdot min^{-1}$. Objem dávkovací smyčky byl 20 μl. Detekce byla prováděna spektrofotometricky při vlnové délce 284 nm. Separace trvala asi 10 minut. Kvatitativní vyhodnocení bylo provedeno pomocí externí kalibrace s využitím standardu hydroxymethylfurfuralu.

Kalibrace HPLC stanovení

Přesně odvážené množství hydroxymethylfurfuralu bylo rozpuštěno v 1 ml absolutního ethanolu. Z takto připraveného zásobního roztoku byly postupně ředěním připraveny pracovní roztoky o koncentracích 0 – 125 $\mu g \cdot ml^{-1}$.

4.3.8.2 Stanovení HMF ve vzorcích po tepelném záhřevu

Do zkumavek bylo naváženo 2,5 g vzorku medu. Zkumavky byly umístěny do lázně teplé 80 °C na dobu 5 hodin. Po pěti hodinách byly vytaženy a ochlazeny na laboratorní telotu. Poté byly opět ponořeny do vodní lázně teplé 100 °C na dobu 2 hodin. Po uplynutí potřebné doby

byly zkumavky vytaženy a ochlazeny na laboratorní teplotu. Ke každému vzorku medu bylo přidáno 5,00 ml destilované vody. Další postup byl stejný jako v předchozím stanovení (viz. 4.3.8.1).

4.3.9 LC/MS analýza flavonoidů a katechinů

Hmotnostní spektrometr LCQ Advantage Max s elektrosprejovou ionizací a analyzátorem iontová past byl optimalizován na polyfenolickou kyselinu chlorogenovou, jejíž kvazi-molekulární ion o m/z 353.5 byl stanoven v záporném módu. Parametry ladící metody jsou uvedeny v tabulce 1:

Tab. 1. *Parametry ladící metody*

parametr MS	*záporný mód*
množství sušícího plynu (arb)	30
množství přídavného sušícího plynu (arb)	10
napětí na kapiláře ESI (kV)	4,0
teplota na vstupní kapiláře (°C)	250
napětí na vstupní kapiláře (V)	-47,00

1,09 g medu květového (5) a 1,2 g medu lesního (21) bylo rozpuštěno v 2,5 ml 2 % HCl. Vzorek byl dále extrahován pomocí SPE na kolonách Amid-2 [52].

Vzorek medu byl aplikován na chromatografickou kolonu Kromasil (viz kap. HPLC stanovení) pomocí dávkovacího ventilu s dávkovací smyčkou o objemu 20 ul. Separace vzorku byla provedena izokratickou elucí mobilní fází acetonitril:1% kyselina octová v poměru 50:50 dávkované průtokem 0,4 ml/min. HPLC kolona byla temperována na 30 °C. Jednotlivé složky vzorku byly detekovány hmotnostním spektrometrem v režimu MS full scan.

4.3.10 Orientační senzorická analýza a spotřebitelský dotazník

4.3.10.1 Orientační senzorická analýza

Souběžně s analýzou biologicky aktivních látek v medu probíhala také analýza čajů. Této skutečnosti bylo využito pro orientační senzorickou analýzu čajů s medem. Senzorická analýza probíhala formou orientačního senzorického dotazníku.

Hodnotitelé měli za úkol rozpoznat dva druhy medů a uvést, který z těchto dvou druhů preferují. Poté měli ve 100 ml vybraného čaje (jeden druh ovocný a jeden druh bylinkový) rozpustit 1 lžičku medu a hodnotit chuť podle přiložené stupnice.

Stupně hodnocení: 1 = vynikající, 2 = velmi dobrá, 3 = dobrá, 4 = dostačující a 5 = nedostačující.

Senzorický dotazník je citován v příloze 1.

4.3.10.2 Spotřebitelský dotazník

Pro srovnání s výsledky analýzy aktivních látek v medu byl vytvořen spotřebitelský dotazník. Dotazník byl dán k vyplnění studentům chemické fakulty, VUT v Brně. Respondenti měli zodpovědět skupinu otázek týkajících se spotřeby medu a preferencí druhů medu.

Spotřebitelský dotazník je citován v příloze 2.

5. VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1 Výběr biologického materiálu

Jednotlivé druhy medů, jejich složení (pokud bylo uvedeno) a země původu jsou uvedeny v tab. 2., v tab. 3. jsou uvedeny tytéž parametry pro propolis, mateří kašičku a „směs“.

Tab. 2. *Jednotlivé druhy medů, jejich složení a země původu*

č.	druh medu	složení	země původu	poznámka
1	lipový	neuvedeno	ČR	2006
2	květový (šlehaný)	neuvedeno	ČR	2007
3	květový (šlehaný)	neuvedeno	ČR	2006
4	slunečnicový	neuvedeno	ČR	2006
5	řepkový (natural)	neuvedeno	ČR	-
6	řepkový (pastovaný)	neuvedeno	ČR	-
7	luční (květový)	neuvedeno	ES a mimo ES	supermarket
8	lesní (květový smíšený)	neuvedeno	ES a mimo ES	supermarket
9	luční (květový)	neuvedeno	ES a mimo ES	supermarket
10	lesní	med medovicový a med květový	ES a mimo ES	supermarket
11	květový smíšený	neuvedeno	ČR	„klasa A“
12	s tymiánem a bylinami	luční 60 %, lesní 20 % a tymiánový 20 %	Řecko	
13	akátový	neuvedeno	Slovensko	-
14	mateří kašička v medu	med květový pastovaný 98,2 %, mateří kašička 1,0 % a kys. akorbová 0,8 %	ČR	-
15	luční (z lučních květů)	neuvedeno	Itálie	biomed
16	med z eukalyptových květů	neuvedeno	Itálie	biomed
17	luční	neuvedeno	Itálie	biomed
18	akátový	neuvedeno	Itálie	biomed
19	med z pomerančových květů	neuvedeno	Itálie	biomed
20	„včelí mystérium“	med medovicový, mateří kašička, pyl a propolis	ČR	-
21	pohankový	neuvedeno	ČR	-
22	maliníkový	neuvedeno	ČR	-
23	ostropestřec mariánský	neuvedeno	ČR	-
24	květový	neuvedeno	ČR	-
25	medovicový	neuvedeno	ČR	-

Tab. 3. *Parametry složení a země původu uvedé pro propolis, mateří akšičku a směs připravenou v laboratoři*

č.	produkt	složení	země původu	poznámka
26	mateří kašička	neuvedeno	ČR	-
27	propolis	neuvedeno	ČR	-
28	směs připrav. v laboratoři	med květový 98,06 %, mateří kašička 0,97 % a propolis 0,97 %	ČR	-

Poznámka pro tab. 2. i tab. 3.: - = bez poznámky, ČR = Česká republika, ES a mimo ES = ze zemí Evropského společenství a ze zemí mimo země Evropského společenství. Medy číslo 7, 8, 9, 10 byly zakoupeny v supermarketech a med číslo 11 dosáhl ocenění kvality „klasa A“. Med číslo 2 byl stočen a upraven na šlehaný v roce 2007, med číslo 3 pak v roce 2006. Medy číslo 1 a 4 byly také vyrobeny v roce 2006.

Med číslo 28, tj. směs byla připravena v laboratoři smícháním 2,0 g propolisu a 2,0 g mateří kašičky s 201,6 g květového medu.

Pro lepší orientaci ve výsledcích byly vzorky medu, mateří kašičky a propolisu rozděleny do osmi skupin. V následující tabulce tab. 4. je uvedeno, pomocí jejich čísel, rozdělení medů z tabulky tab. 2. a tab.3.

Tab. 4. *Rozdělení medů, mateří kašičky a propolisu do jednotlivých skupin*

číslo skupiny	číslo druhu medu
1	21, 22, 23
2	12, 14, 20, 28
3	15, 16, 17, 18, 19
4	13, 18
5	2, 3, 7, 9, 11, 15, 17, 24
6	8, 10, 25
7	1, 4, 5, 6
8	26, 27, 24, 28

5.2 Stanovení celkové antioxidační kapacity

Na stanovení celkové antioxidační kapacity byla použita diagnostická souprava Total Antioxidant Status (Randox, USA). Postup stanovení je uveden v kapitole 4.3.1. Všechny vzorky byly změřeny třikrát a výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu Microsoft Office Excel 2003. Pro lepší orientaci ve výsledcích bylo použito rozdělení vzorků do osmi skupin podle tabulky č.4 (viz výše).

Tab. 5. udává průměrné hodnoty celkové antioxidační kapacity a jednotlivých vzorků.

Tab. 5. *Přehled průměrných hodnot celkové antioxidační kapacity u jednotlivých vzorků*

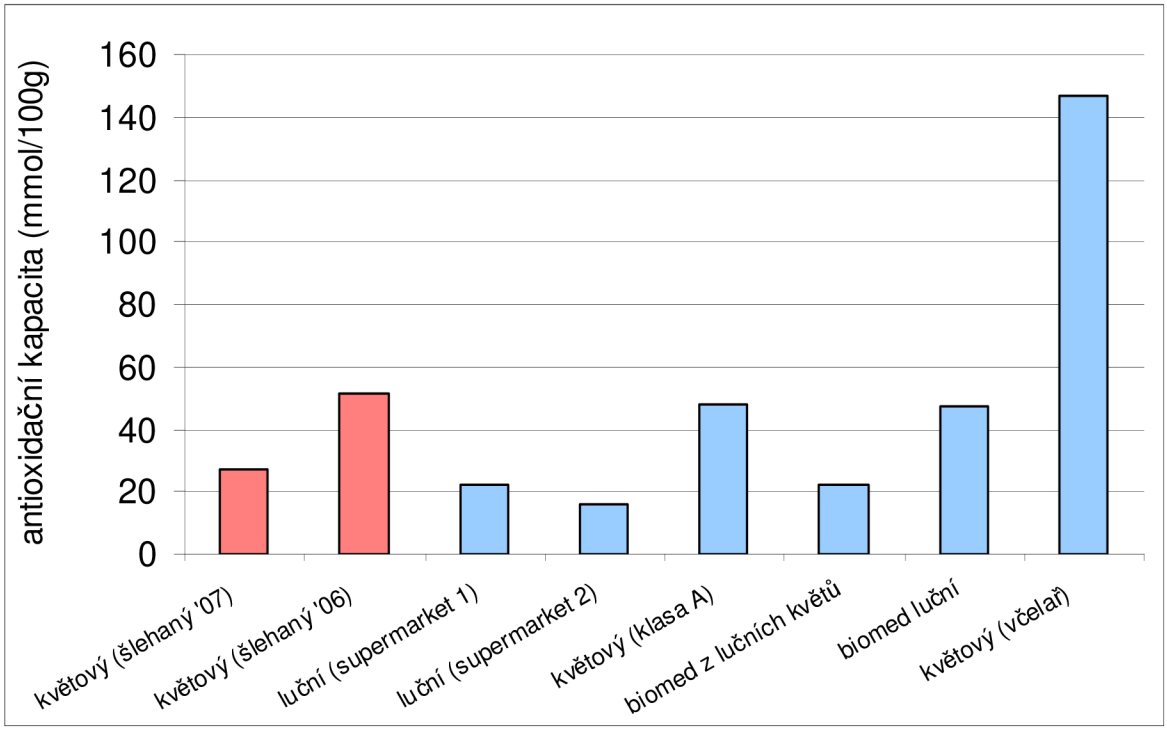
druh medu	antioxidační kapacita mmol/100 g	druh medu	antioxidační kapacita mmol/100 g
lipový	45,01 ± 0,51	luční (z lučních květů)	21,99 ± 0,34
květový (šlehaný) 2007	26,86 ± 0,38	med z eukalyptový květů	62,14 ± 0,67
květový (šlehaný) 2006	51,34 ± 0,61	luční	47,09 ± 0,44
slunečnicový	55,76 ± 0,58	akátový	33,28 ± 0,45
řepkový (natural)	16,51 ± 0,31	med z pomerančový květů	12,75 ± 0,29
řepkový (pastovaný)	40,23 ± 0,50	„včelí mystérium“	58,68 ± 0,59
luční (květový) (supermarket 1)	22,31 ± 0,35	pohankový	58,63 ± 0,55
lesní (květový smíšený) (supermarket 1)	37,84 ± 0,49	maliníkový	40,20 ± 0,42
luční (květový) (supermarket 2)	16,20 ± 0,30	ostropestřec mariánský	60,31 ± 0,60
lesní (supermarket 2)	44,61 ± 0,48	květový	146,68 ± 1,28
květový smíšený	48,15 ± 0,50	medovicový	137,49 ± 1,16
s tymiánem a bylinami	55,04 ± 0,58	mateří kašička	198,62 ± 1,33
akátový	16,73 ± 0,32	propolis	57355,93 ± 300,42
mateří kašička v medu	3118,93 ± 11,02	směs připravená v laboratoři	122,46 ± 1,06

Z tabulky 5. a grafů 1.-3. je patrné, že květový med šlehaný z roku 2006 měl větší antioxidační kapacitu něž květový med šlehaný z roku 2007, přestože je o celý jeden rok starší. Toto mohlo být způsobeno skutečností, že květový med z roku 2006 měl i čerstvý více antioxidačních látek a také tím, že takt upravený med si po dlouho dobu uchovává svou kvalitu. Celkově měl z květových medů největší antioxidační kapacitu med květový zakoupený přímo od včelaře (až trojnásobnou ve srovnání s medy získanými z obchodní sítě) a nejmenší medy květové zakoupené v supermarketech. Medy květové měli průměrně antioxidační kapacitu nepatrně nižší než medy lesní. Při porovnání lesních medů měl lesní med získaný přímo od včelaře podstatně vyšší antioxidační kapacitu (ovněž více než trojnásobnou) než medy pořízené v supermarketech. Vyšší antioxidační kapacitu měl řepkový med pastovaný než řepkový med po úpravě. Med akátový med měl nižší antioxidační kapacitu než med akátový označený jako bio-med.

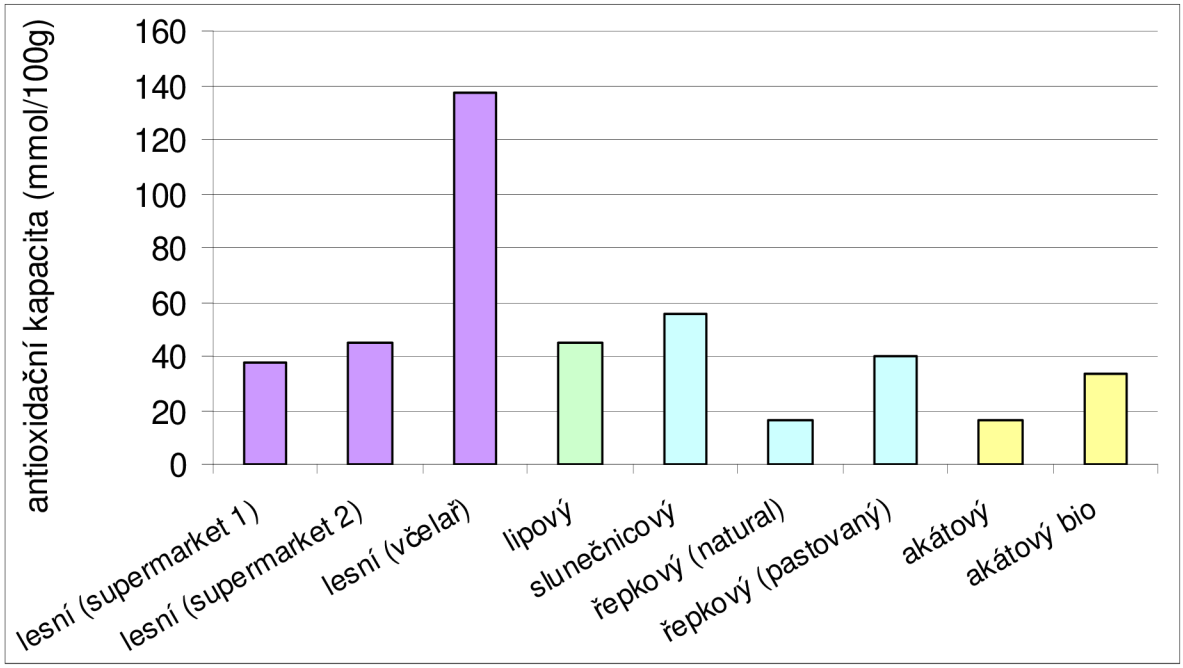
Nejvyšší antioxidační kapacitu z analyzovaných vzorků vykazoval propolis. Důvodem by mohl být fakt, že propolis byl na rozdíl od všech ostatních vzorků rozpuštěných ve vodě rozpuštěn v ethanolu, čímž mohlo přejít do roztoku větší množství antioxidantů. Dalším důvodem je koncentrovaný charakter propolisu a lze předpokládat, že tento produkt má obecně velké množství antioxidantů. Velmi vysoká hodnota celkové antioxidační kapacity byla stanovena ve výrobku mateří kašička v medu. Tato vysoká hodnota je způsobena pravděpodobně kyselinou askorbovou, která byla do výrobku přidána za účelem konzervace, přidané množství 0,8 % bylo deklarováno na etiketě. Nejnižší hodnota celkové antioxidační kapacity byla naměřena u medu z pomerančových květů, důvodem mohou být kromě způsobu

zpracování i podmínky transportu a skladování. Celková antioxidační kapacita medů se pohybovala v rozmezí (12,75-137,49) mmol ·100 g^{-1}.

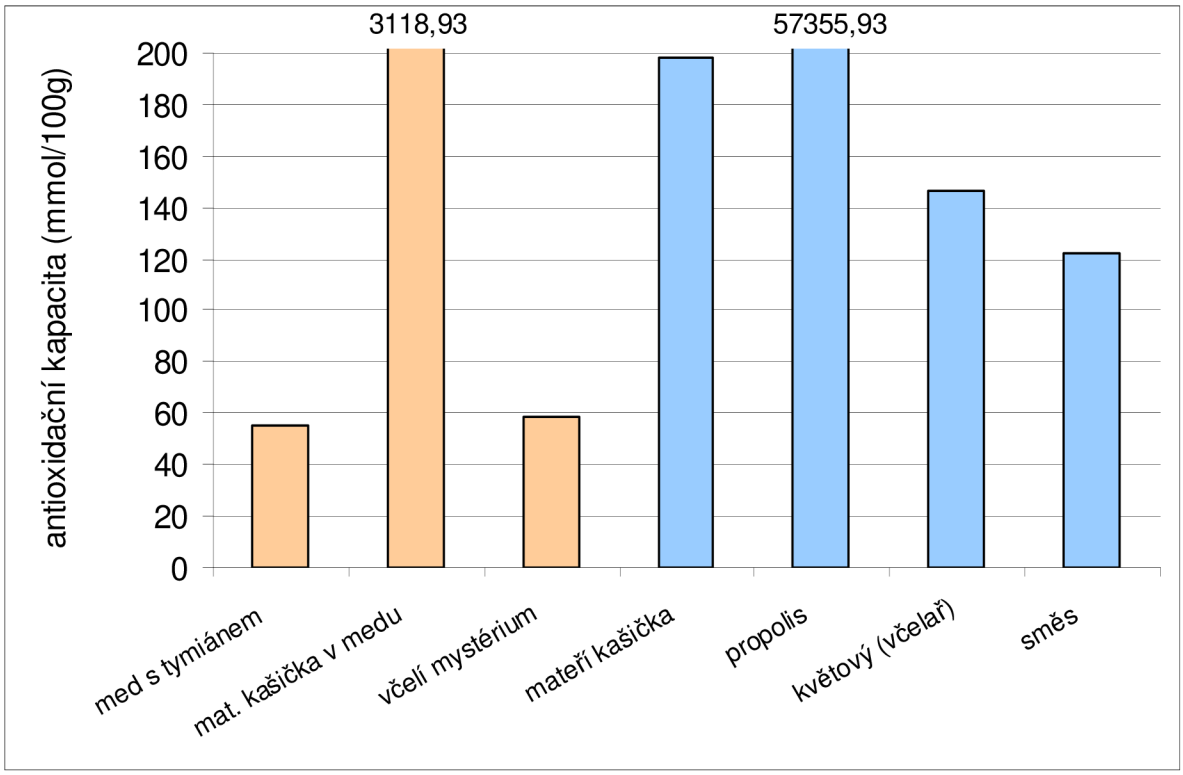
Graf 1. *Hodnoty celkové antioxidační kapacity u vybraných vzorků medu*



Graf 2. *Hodnoty celkové antioxidační kapacity u vybraných vzorků*



Graf 3. *Hodnoty celkové antioxidační kapacity u vybraných vzorků*



5.3 Analýza celkových polyfenolů a celkových flavonoidů

Stanovení celkových polyfenolů a celkových flavonoidů bylo provedeno spektrofotometricky, postupy stanovení jsou uvedeny v kapitole 4.3.2 a 4.3.3. Všechny vzorky byly změřeny třikrát a výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu Microsoft Office Excel 2003. Pro lepší orientaci ve výsledcích bylo použito rozdělení vzorků do osmi skupin podle tabulky č.4.

Tab. 6. udává průměrné hodnoty celkových polyfenolů a celkových flavonoidů u jednotlivých vzorků medu.

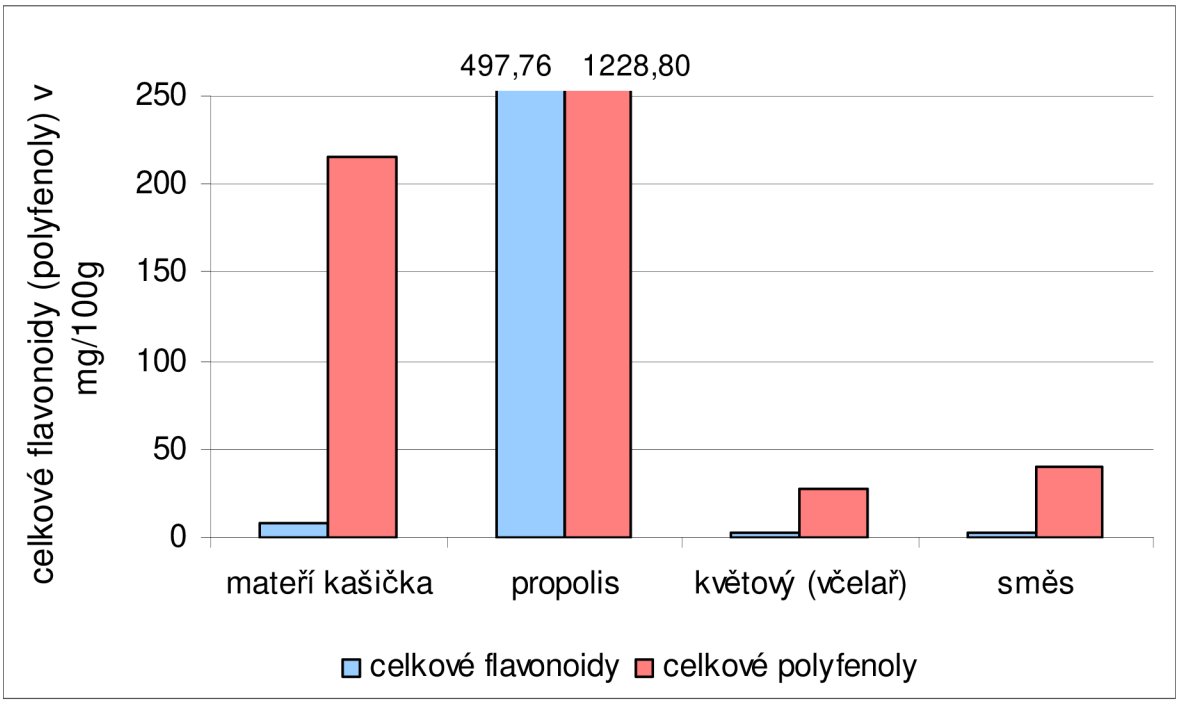
Tab. 6. *Průměrné hodnoty celkových polyfenolů a celkových flavonoidů u jednotlivých vzorků*

druh medu	celkové flavonoidy mg/100 g	celkové polyfenoly mg/100 g	% polyfenolů tvořené flavonoidy
lipový	3,25 ± 0,03	28,77 ± 0,03	11,30
květový (šlehaný)	1,93 ± 0,03	19,87 ± 0,03	9,71
květový (šlehaný)	1,48 ± 0,00	19,21 ± 0,03	7,70
slunečnicový	3,92 ± 0,04	24,66 ± 0,00	13,34
řepkový (natural)	1,73 ± 0,03	12,73 ± 0,02	13,59
řepkový (pastovaný)	2,20 ± 0,03	24,14 ± 0,03	9,11
luční (květový)	1,32 ± 0,03	10,46 ± 0,03	12,62
lesní (květový smíšený)	1,86 ± 0,07	24,11 ± 0,03	7,71
luční (květový)	0,80 ± 0,00	9,89 ± 0,03	8,09
lesní	4,60 ± 0,04	41,29 ± 0,00	11,14
květový smíšený	4,22 ± 0,03	44,32 ± 0,00	9,52
s tymiánem a bylinami	4,39 ± 0,03	23,05 ± 0,06	19,05

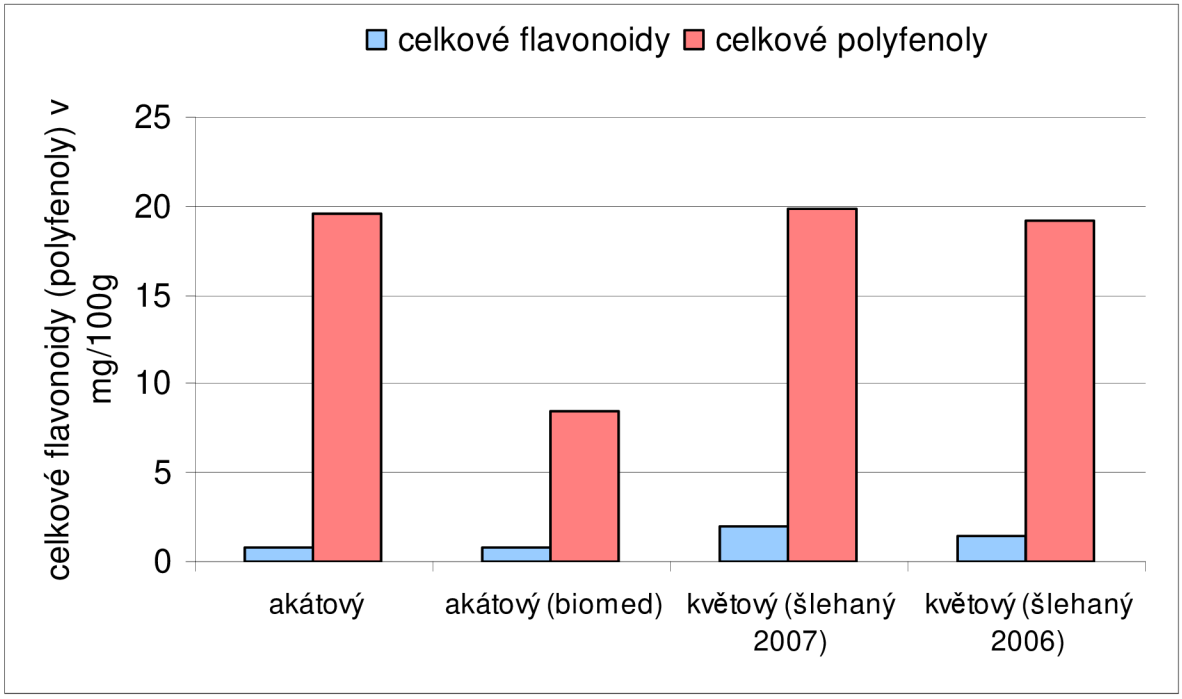
druh medu	celkové flavonoidy mg/100 g	celkové polyfenoly mg/100 g	% polyfenolů tvořené flavonoidy
akátový	0,83 ± 0,03	19,61 ± 0,00	4,23
mateří kašička v medu	4,94 ± 0,10	61,34 ± 0,03	8,05
luční (z lučních květů)	2,90 ± 0,00	28,09 ± 0,03	10,32
med z eukalyptových květů	5,97 ± 0,06	26,09 ± 0,03	22,88
luční	5,82 ± 0,08	31,17 ± 0,04	18,67
akátový	0,75 ± 0,03	8,51 ± 0,07	8,81
med z pomerančových květů	2,07 ± 0,03	15,25 ± 0,00	13,57
„včelí mystérium“	4,47 ± 0,00	24,81 ± 0,00	18,01
pohankový	5,93 ± 0,00	20,12 ± 0,00	29,47
maliníkový	2,91 ± 0,03	18,29 ± 0,03	15,91
ostropestřec mariánský	4,94 ± 0,03	22,88 ± 0,03	21,59
květový	2,94 ± 0,00	27,91 ± 0,03	10,53
medovicový	6,04 ± 0,04	54,41 ± 0,03	11,10
mateří kašička	7,76 ± 0,24	215,57 ± 1,53	3,60
propolis	497,76 ± 1,27	1228,80 ± 6,22	40,51
směs připravená v laboratoři	3,19 ± 0,03	39,87 ± 0,07	8,00

Hodnoty celkových flavonoidů se pohybovaly v rozmezí (0,75-6,04) mg $\cdot 100\ g^{-1}$. Nejnižší hodnoty vykazoval med akátový a nejvyšší hodnoty (z medů) vykazoval med medovicový. Mezi všemi vzorky byl nejvyšší obsah flavonoidů naměřen u propolisu. Je to dáno povahou a charakterem propolisu, který obecně vykazuje vyšší hodnoty biologicky aktivních látek. Hodnoty celkových polyfenolů se pohybovaly v rozmezí (8,51-61,34) mg $\cdot 100\ g^{-1}$. Nejnižší hodnoty byly naměřeny u medu akátového a nejvyšší, co se týká medů, u vzorku mateří kašička v medu. Obecně se hodnoty polyfenolů u medů smíšených pohybovaly výše než u medů jednodruhových. Med akátový měl vyšší obsah celkových polyfenolů než med akátový označený jako bio-med. Šlehaný (květový) med z roku 2007 a med řepkový pastovaný obsahovaly více celkových flavonoidů i celkových polyfenolů než med šlehaný (květový) z roku 2006 a med řepkový bez úpravy. Medy medovicové (lesní) vykazovaly o málo vyšší hodnoty než medy květové (nektarové). Výrazné rozdíly jsou mezi medy zakoupenými u včelaře a medy zakoupenými v supermarketu, kdy tyto vykazují nižší hodnoty celkových flavonoidů i celkových polyfenolů. Vybrané vzorky a jejich hodnoty jsou pro lepší ilustraci znázorněny v grafech 4.-8.

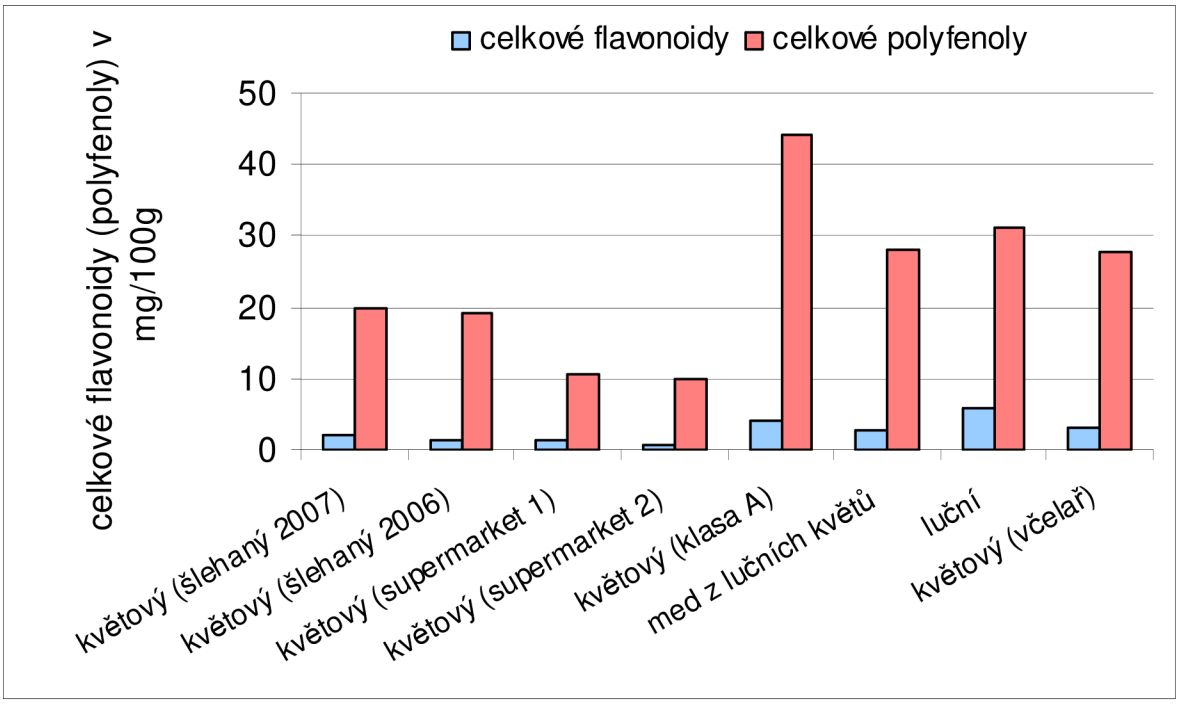
Graf 4. *Hodnoty celkových flavonoidů a celkových polyfenolů u vybraných vzorků*



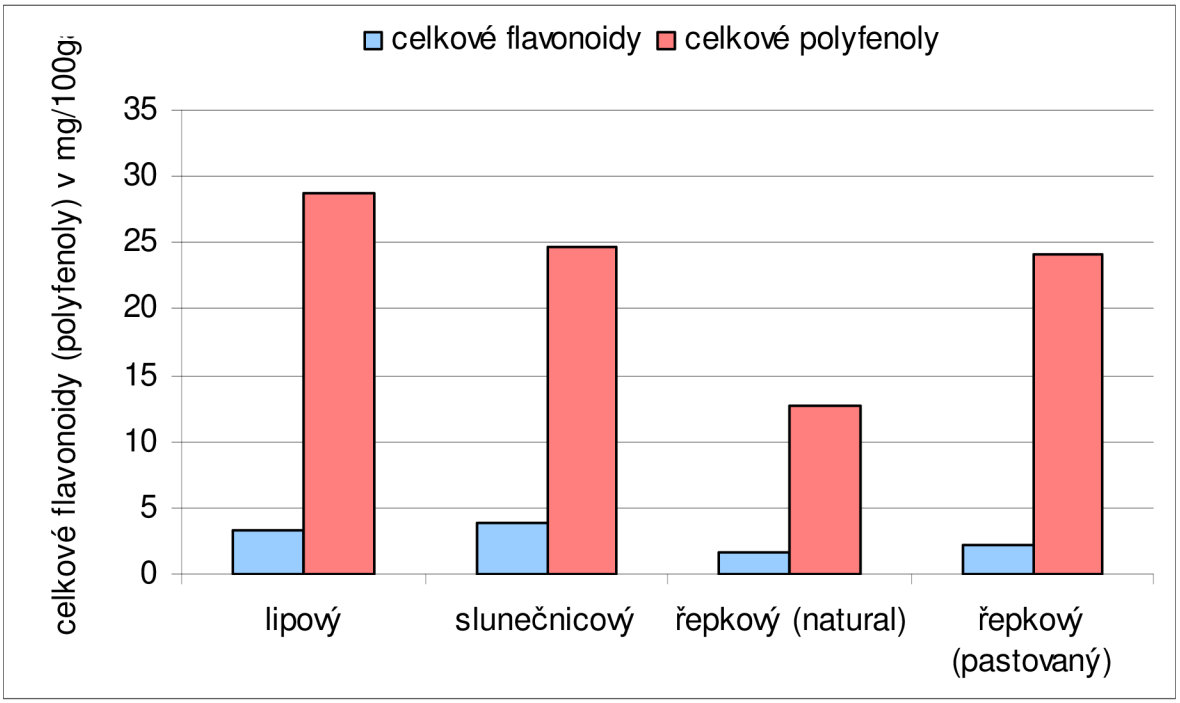
Graf 5. *Hodnoty celkových flavonoidů a celkových polyfenolů u vybraných vzorků*



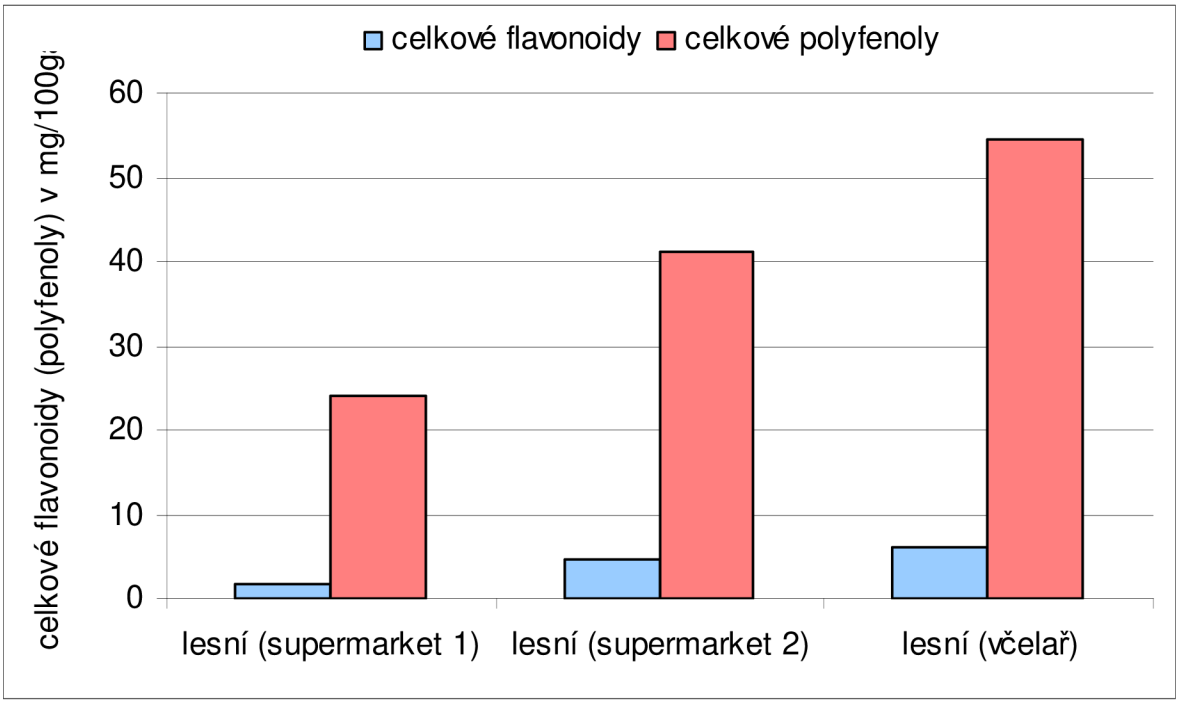
Graf 6. *Hodnoty celkových flavonoidů a celkových polyfenolů u vybraných vzorků*



Graf 7. *Hodnoty celkových flavonoidů a celkových polyfenolů u vybraných vzorků*



***Graf 8.** Hodnoty celkových flavonoidů a celkových polyfenolů u vybraných vzorků lesního medu*



Z tab. 6 i grafů 4. – 8. je patrné, že flavonoidy tvoří 4,23 až 29,47 % z celkových polyfenolů. Hodnoty se poněkud liší v závislosti na druhu medu, avšak celkově je patrné, že flavonoidy tvoří jen malou část polyfenolických látek přítomných v medu. Je však třeba vzít do úvahy i orientační charakter metod stanovení obou diskutovaných skupinových parametrů.

5.4 Analýza individuálních antioxidantů

Stanovení jednotlivých vybraných antioxidantů bylo provedeno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s reverzní fází, RP-HPLC, se spektrofotometrickou detekcí. Postupy stanovení jsou uvedeny v kapitolách 4.3.4 (stanovení flavonoidů), 4.3.5 (stanovení katechinů) a 4.3.6 (stanovení karotenoidů, α-tokoferolu a retinolu). Všechny vzorky byly změřeny třikrát a výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu Microsoft Office Excel 2003. Pro lepší orientaci ve výsledcích bylo použito rozdělení vzorků do osmi skupin podle tabulky č.4.

Kalibrací byly získány tyto regresní přímky: rutin – $y = 72{,}668x$ ($R^2 = 0{,}9995$), myricetin – $y = 270{,}52x$ ($R^2 = 0{,}9989$), luteolin – $y = 263{,}03x$ ($R^2 = 0{,}9995$), kvercetin - $y = 190{,}55x$ ($R^2 = 0{,}9995$), apigenin - $y = 140{,}57x$ ($R^2 = 0{,}9992$), naringenin - $y = 4{,}1545x$ ($R^2 = 0{,}9991$), kempferol - $y = 290{,}96x$ ($R^2 = 0{,}9992$), katechin - $y = 36{,}129x$ ($R^2 = 0{,}9998$), epikatechin - $y = 41{,}473x$ ($R^2 = 0{,}9999$), katechin galát - $y = 299{,}43x$ ($R^2 = 0{,}9996$), epikatechin galát - $y = 91{,}659x$ ($R^2 = 0{,}9992$), tokoferol - $y = 21{,}109x$ ($R^2 = 0{,}9998$)) a retinol - $y = 201{,}65x$ ($R^2 = 0{,}9994$).

5.4.1 Analýza flavonoidů

V tabulce 7. jsou uvedeny průměrné hodnoty rutinu, myricetinu, luteolinu a kvercetinu. Průměrné hodnoty naringeninu, apigeninu a kempferolu jsou uvedeny v tabulce 8.

Tab 7. *Průměrné hodnoty rutinu, myricetinu, luteolinu a kvercetinu v jednotlivých vzorcích*

druh medu	rutin	myricetin	luteolin	kvercetin
	µg/100 g			
lipový	585,10 ± 15,26	72,42 ± 4,92	39,74 ± 0,19	10,24 ± 1,59
květový (šlehaný)	401,55 ± 9,96	74,96 ± 5,40	16,57 ± 1,91	6,25 ± 0,23
květový (šlehaný)	206,60 ± 15,31	32,66 ± 2,29	18,11 ± 2,04	5,41 ± 0,15
slunečnicový	189,90 ± 1,91	30,53 ± 0,98	43,67 ± 0,56	3,19 ± 0,13
řepkový (natural)	82,66 ± 6,01	43,76 ± 3,81	-	5,98 ± 0,53
řepkový (pastovaný)	110,25 ± 3,77	53,60 ± 1,30	-	3,49 ± 0,35
luční (květový)	190,78 ± 11,12	19,47 ± 2,52	31,55 ± 1,93	3,32 ± 0,39
lesní(květový smíšen	226,62 ± 5,76	30,32 ± 1,01	46,72 ± 5,19	22,91 ± 1,14
luční (květový)	112,30 ± 5,30	15,89 ± 5,53	4,13 ± 0,43	7,34 ± 0,41
lesní	149,15 ± 3,60	24,77 ± 0,60	33,75 ± 3,60	10,72 ± 0,32
květový smíšený	235,92 ± 1,84	85,05 ± 2,40	7,52 ± 0,78	27,68 ± 0,17
s tymiánem a bylinami	318,17 ± 17,93	35,02 ± 1,69	4,32 ± 0,05	8,31 ± 0,42
akátový	41,83 ± 5,24	9,30 ± 0,66	16,15 ± 1,57	41,31 ± 0,40
mateří kašička v medu	370,92 ± 0,33	41,31 ± 1,37	127,53 ± 6,87	32,64 ± 0,66
luční (z lučních květů)	133,33 ± 8,34	112,37 ± 9,54	171,90 ± 1,10	49,34 ± 0,78
med z eukalyp. květů	250,18 ± 38,85	313,40 ± 15,34	10,22 ± 2,33	-
luční	232,60 ± 12,48	142,52 ± 10,55	39,48 ± 3,94	436,37 ± 2,06
akátový	56,18 ± 4,30	12,23 ± 3,69	15,90 ± 0,34	32,89 ± 0,76
med z pomeranč. květů	169,35 ± 21,31	65,07 ± 0,28	20,93 ± 1,28	83,16 ± 1,82
„včelí mystérium“	222,07 ± 5,83	42,43 ± 7,21	32,27 ± 0,86	226,24 ± 4,98
pohankový	198,79 ± 3,99	-	6,05 ± 0,44	174,88 ± 3,20
maliníkový	118,29 ± 8,02	59,30 ± 5,91	17,52 ± 1,44	92,09 ± 1,21
ostropestřec mariánský	165,24 ± 2,98	102,60 ± 16,99	53,35 ± 0,53	285,46 ± 5,26
květový	508,55 ± 2,40	133,29 ± 4,13	72,48 ± 1,61	35,73 ± 0,83
medovicový	346,21 ± 7,83	36,44 ± 0,74	20,51 ± 5,20	14,28 ± 0,92
mateří kašička	259,53 ± 12,78	32,23 ± 2,50	56,29 ± 0,39	22,73 ± 1,73
propolis	1280,61 ± 22,66	1258,27 ± 64,38	-	874,97 ± 3,90
směs připr. v laboratoři	317,04 ± 4,56	229,14 ± 7,44	87,47 ± 0,48	26,12 ± 0,56

Pozn.: - = neidentifikován

Tab 8. *Průměrné hodnoty naringeninu, apigeninu a kempferolu v jednotlivých vzorcích*

druh medu	naringenin	apigenin	kaempferol
	mg/100 g	µg/100 g	
lipový	-	71,17 ± 1,20	0,15 ± 0,09
květový (šlehaný)	0,59 ± 0,01	242,66 ± 6,14	1,33 ± 0,14
květový (šlehaný)	0,23 ± 0,03	174,08 ± 3,33	1,00 ± 0,19
slunečnicový	0,42 ± 0,06	115,08 ± 3,44	0,42 ± 0,08
řepkový (natural)	-	-	1,71 ± 0,00
řepkový (pastovaný)	-	-	1,76 ± 0,03
luční (květový)	0,79 ± 0,09	-	0,29 ± 0,12
lesní (květový smíšený)	1,03 ± 0,09	12,63 ± 1,67	2,13 ± 0,16
luční (květový)	0,31 ± 0,04	13,55 ± 1,05	1,52 ± 0,23
lesní	0,41 ± 0,02	24,63 ± 1,63	0,81 ± 0,05
květový smíšený	1,37 ± 0,08	-	13,89 ± 1,03
s tymiánem a bylinami	0,63 ± 0,10	-	15,38 ± 0,44
akátový	0,92 ± 0,00	-	5,58 ± 0,28
mateří kašička v medu	2,32 ± 0,05	-	12,89 ± 1,02
luční (z lučních květů)	1,27 ± 0,10	108,14 ± 3,27	15,38 ± 0,84
med z eukalyptových květů	0,08 ± 0,03	11,39 ± 0,99	16,77 ± 1,20
luční	0,17 ± 0,02	-	83,53 ± 4,96
akátový	0,07 ± 0,00	36,08 ± 2,68	9,89 ± 0,73
med z pomerančových květů	0,24 ± 0,06	2,10 ± 0,47	59,10 ± 0,90
„včelí mystérium“	8,78 ± 0,03	-	91,50 ± 3,33
pohankový	2,92 ± 0,10	47,33 ± 3,24	50,43 ± 1,16
maliníkový	0,10 ± 0,02	8,34 ± 0,83	33,95 ± 0,86
ostropestřec mariánský	0,27 ± 0,03	-	96,08 ± 2,46
květový	17,52 ± 0,24	-	105,12 ± 4,21
medovicový	3,76 ± 0,02	-	13,24 ± 1,63
mateří kašička	2,37 ± 0,04	-	2,94 ± 0,87
propolis	148,21 ± 1,06	-	17,14 ± 1,44
směs připravená v laboratoři	10,66 ± 0,18	-	81,11 ± 2,04

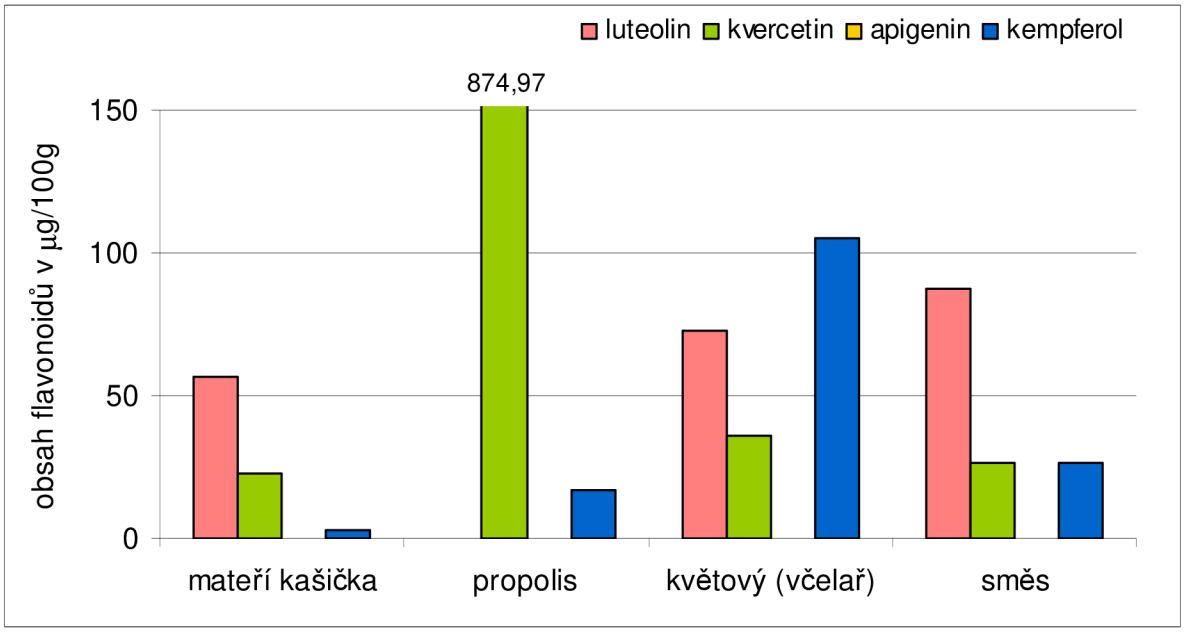
Pozn.: - = neidentifikován

Obsah jednotlivých flavonoidů úzce souvisí se snůškou medu, tedy jakého rostlinného původu byl nektar (medovice), ze kterého med vznikl [20]. Obsah rutinu se pohyboval v rozmezí (41,83-585,10) µg $\cdot$100 g^{-1}, obsah myricetinu v rozmezí (9,30-313,40) µg $\cdot$100 g^{-1}, obsah luteolinu v rozmezí (6,05-171,90) µg $\cdot$100 g^{-1}, obsah kvercetinu v rozmezí (3,19-436,37) µg $\cdot$100 g^{-1}, obsah apigeninu v rozmezí (2,10-242,66) µg $\cdot$100 g^{-1}, obsah kempferolu v rozmezí (0,15-105,12) µg $\cdot$100 g^{-1} a obsah naringeninu v rozmezí (0,07-17,52) mg $\cdot$100 g^{-1}. Hodnoty jednotlivých flavonoidů pro mateří kašičku a propolis jsou uvedeny v tab. 7. a 8.

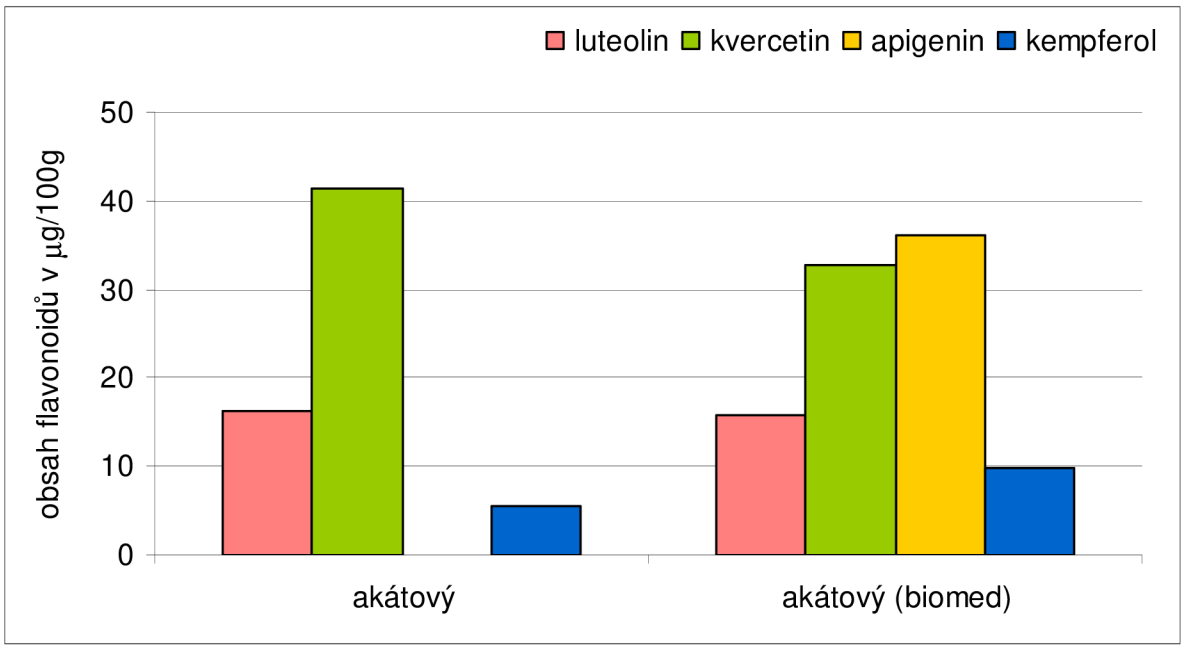
Nejnižší hodnotu rutinu vykazoval med akátový, nejvyšší pak med lipový. Nejnižší hodnotu myricetinu měl opět med akátový, nejvyšší pak med z eukalyptových květů. Med pohankový obsahoval nejméně luteolinu ze všech vzorků, nejvíce luteolinu obsahoval med z lučních květů. Nejnižší obsah kvercetinu vykazoval med slunečnicový, nejvyšší obsah byl pak naměřen u medu lučního. Nejvyšší hodnoty ze všech flavonoidů byly naměřeny pro naringenin. Nejméně naringeninu obsahoval opět med akátový, nejvíce pak med květový. Nejnižší hodnota apigeninu byla naměřena u medu z pomerančových květů, nejvyšší pak u medu květového. U medu květového byla naměřena i nejvyšší hodnota kempferolu, a nejnižší

pak u medu lipového. Obecně měl nejnižší obsah flavonoidů med akátový a medy květové obsahovaly flavonoidů více než medy lesní. Jednotlivé hodnoty analyzovaných flavonoidů u vybraných vzorků jsou znázorněny v grafech 9 -17.

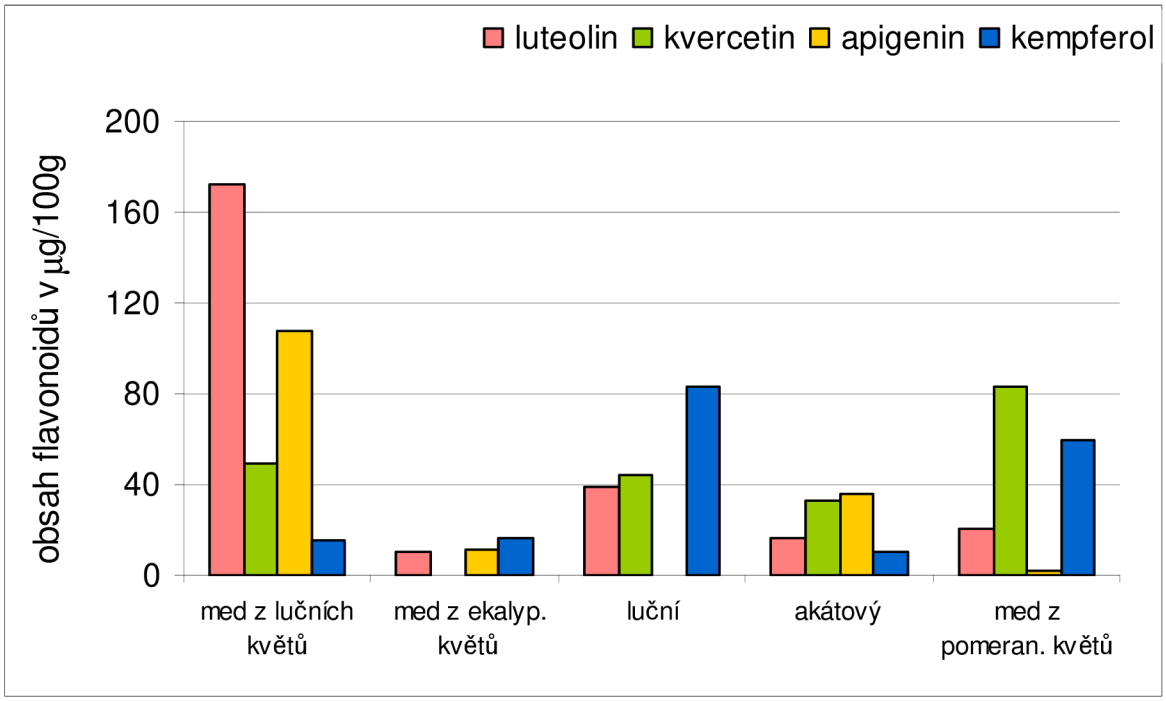
Graf 9. *Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



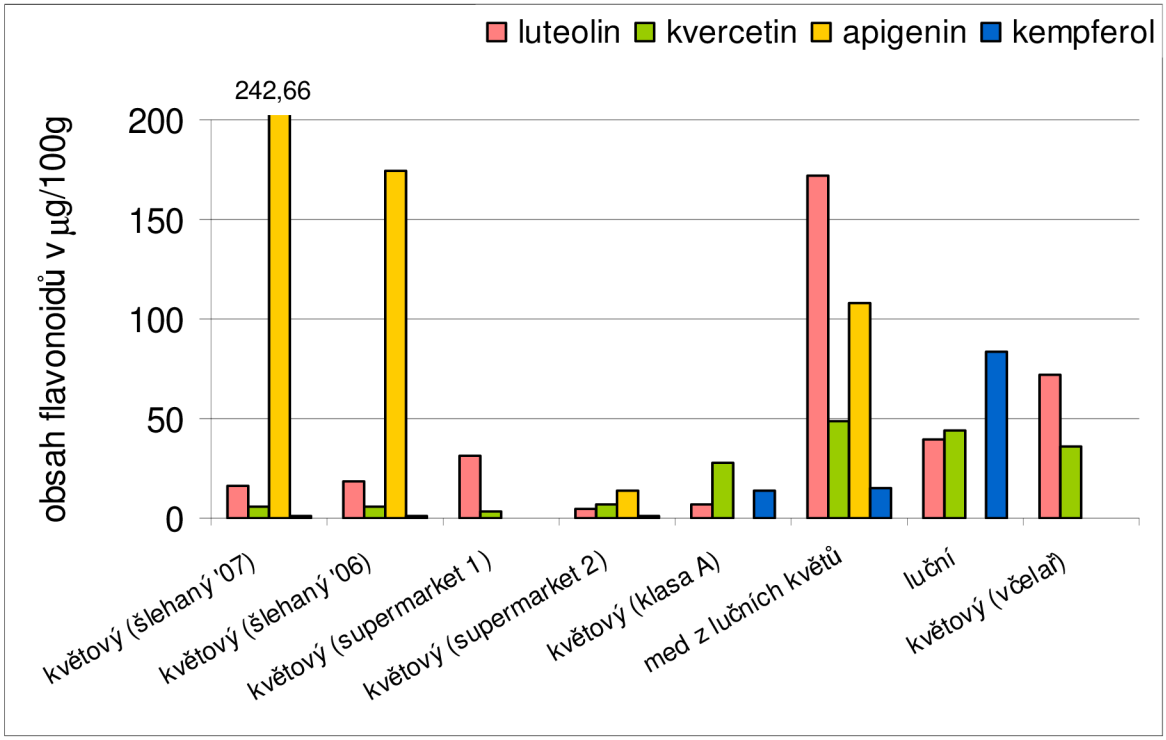
Graf 10. *Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



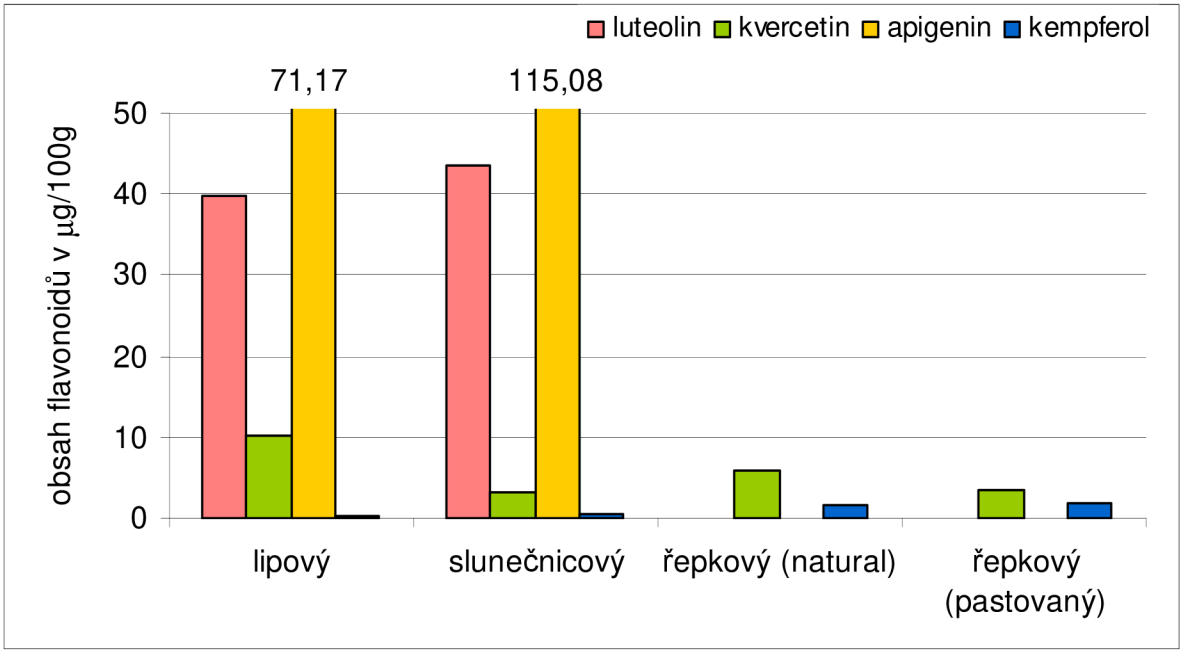
Graf 11. *Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



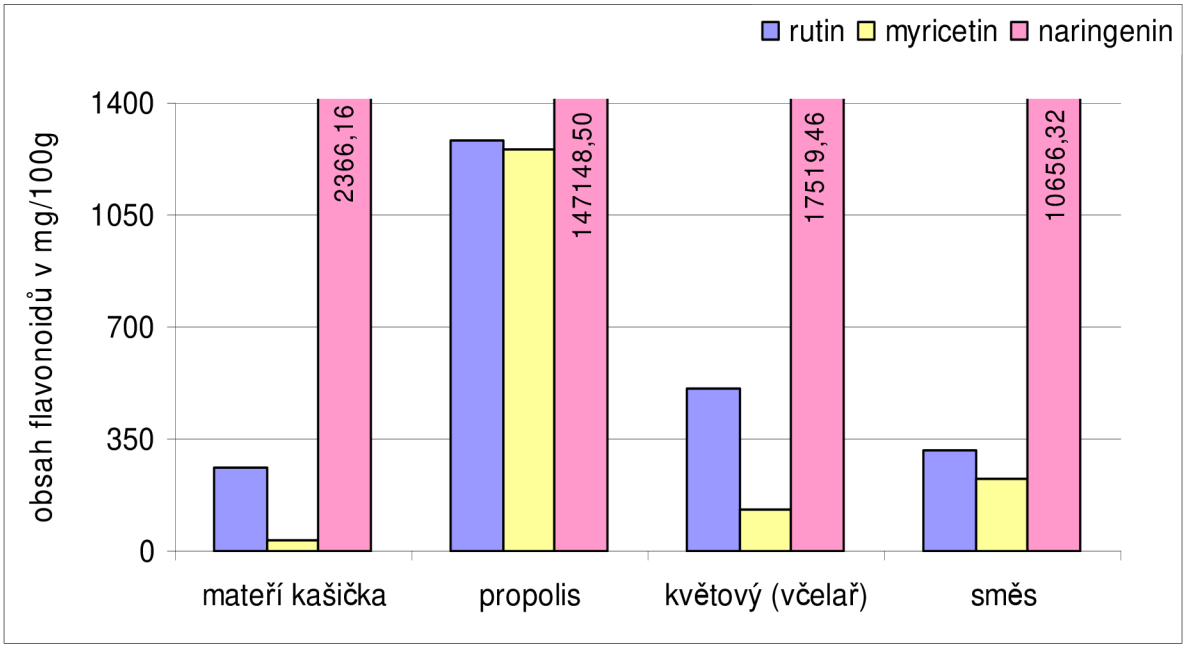
Graf 12. *Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



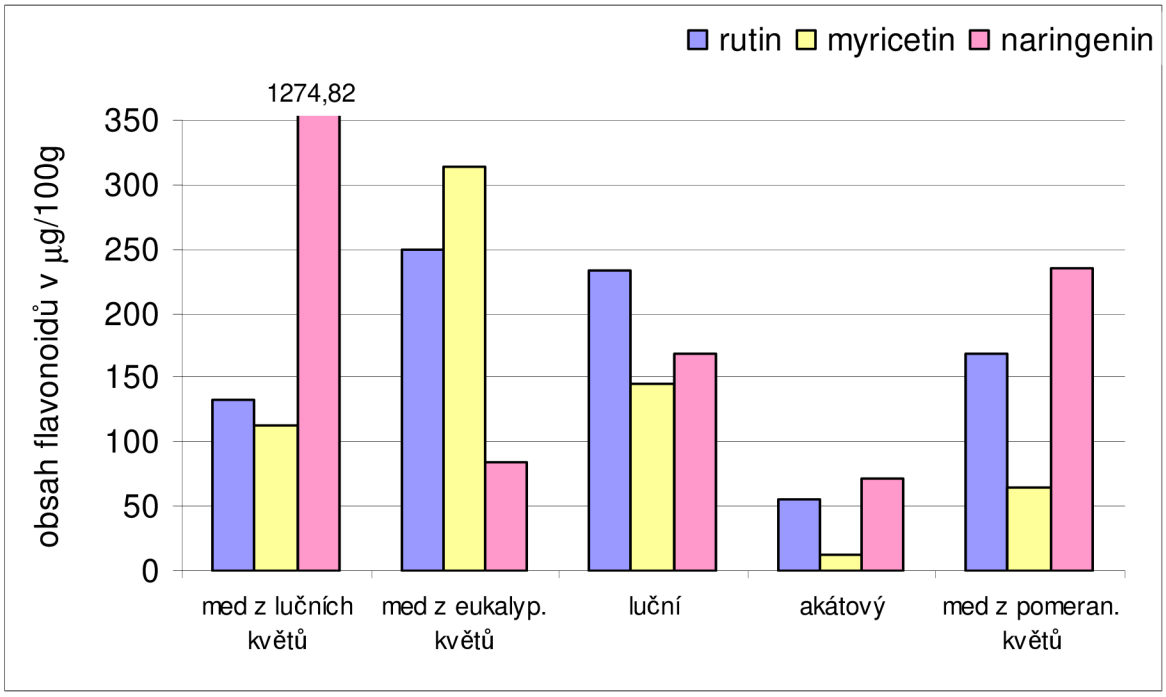
Graf 13. *Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



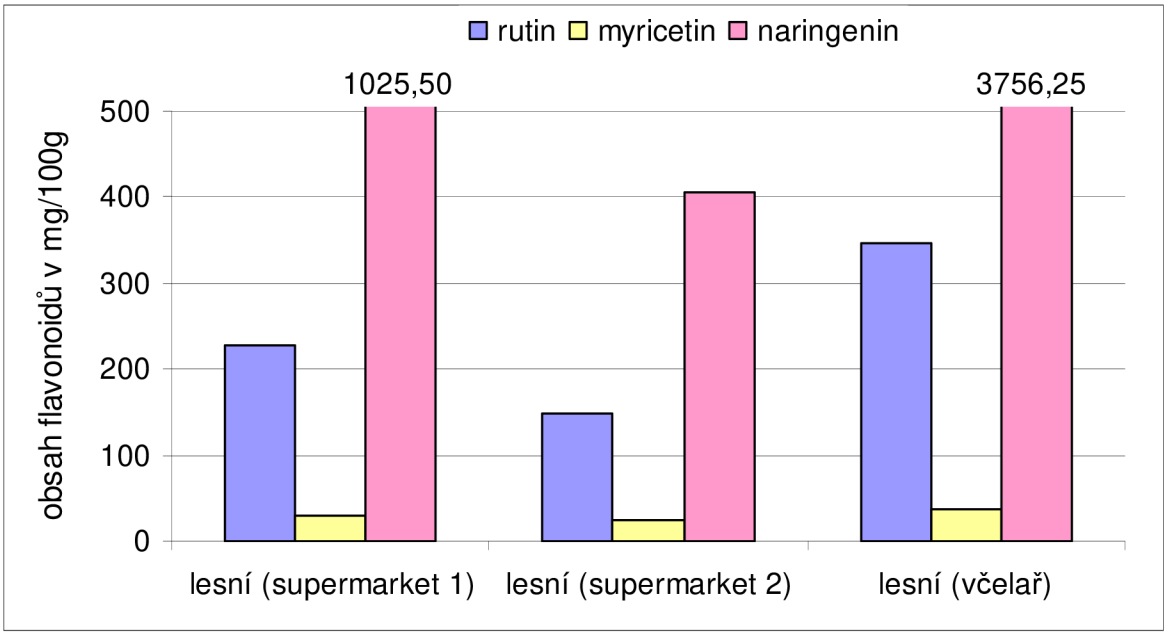
Graf 14. *Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



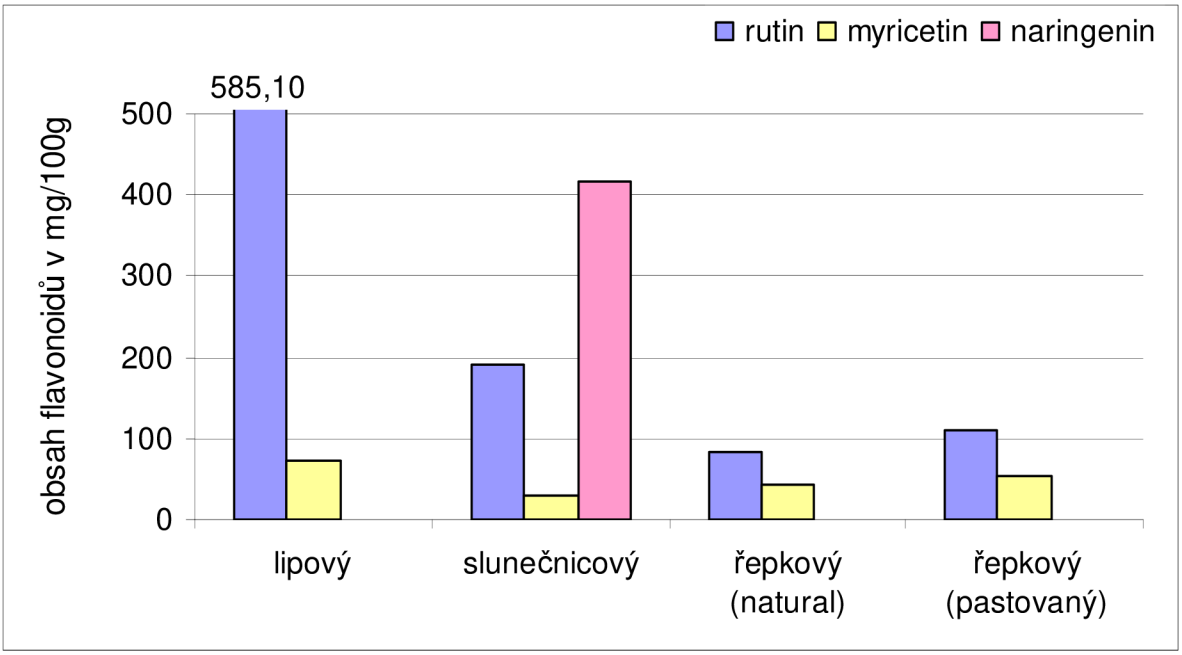
***Graf 15.** Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



***Graf 16.** Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



Graf 17. *Hladiny individuálních flavonoidů u vybrané skupiny vzorků medu*



Z výsledků analýzy vybraných typů individuálních flavonoidů je patrné, že některé druhy medů vykazují výrazně odlišné zastoupení. Příkladem je řepkový med, jehož profil flavonoidů je výrazně odlišný od většiny ostatních medů (viz graf 13 a 17). Řepkový med obsahuje rutin, myricetin, kvercetin a kempferol a neobsahuje naringenin, luteolin a apigenin.

Rozdíly v zastoupení jsou patrné rovněž u jiných jednodruhových medů, zatímco u smíšených medů lze pozorovat spíše kvantitativní rozdíly způsobené s největší pravděpodobností rozdílným postupem zpracování.

5.4.2 Analýza katechinů

V tabulce 9. jsou uvedeny průměrné hodnoty katechinu, epikatechinu, katechin galátu a epikatechin galátu.

Tab. 9. *Průměrné hodnoty katechinu, epikatechinu, katechin galátu a epikatechin galátu u jednotlivých vzorků*

druh medu	katechin	epikatechin	katechin galát	epikatechin galát
	mg/100 g			
lipový	49,24 ± 0,64	486,29 ± 2,97	12,92 ± 0,89	-
květový (šlehaný)	12,30 ± 0,42	48,00 ± 0,26	1,04 ± 0,06	-
květový (šlehaný)	16,61 ± 0,72	57,03 ± 0,66	1,02 ± 0,53	-
slunečnicový	20,32 ± 0,23	88,39 ± 0,43	1,14 ± 0,03	-
řepkový (natural)	21,90 ± 0,42	17,77 ± 0,21	0,43 ± 0,03	-
řepkový (pastovaný)	9,60 ± 0,15	36,01 ± 0,45	0,84 ± 0,01	-
luční (květový)	26,89 ± 0,09	70,38 ± 0,76	1,44 ± 0,73	-
lesní (květový smíšený)	16,84 ± 0,13	48,80 ± 0,48	0,85 ± 0,02	-
luční (květový)	8,89 ± 0,01	53,61 ± 0,61	0,43 ± 0,02	-

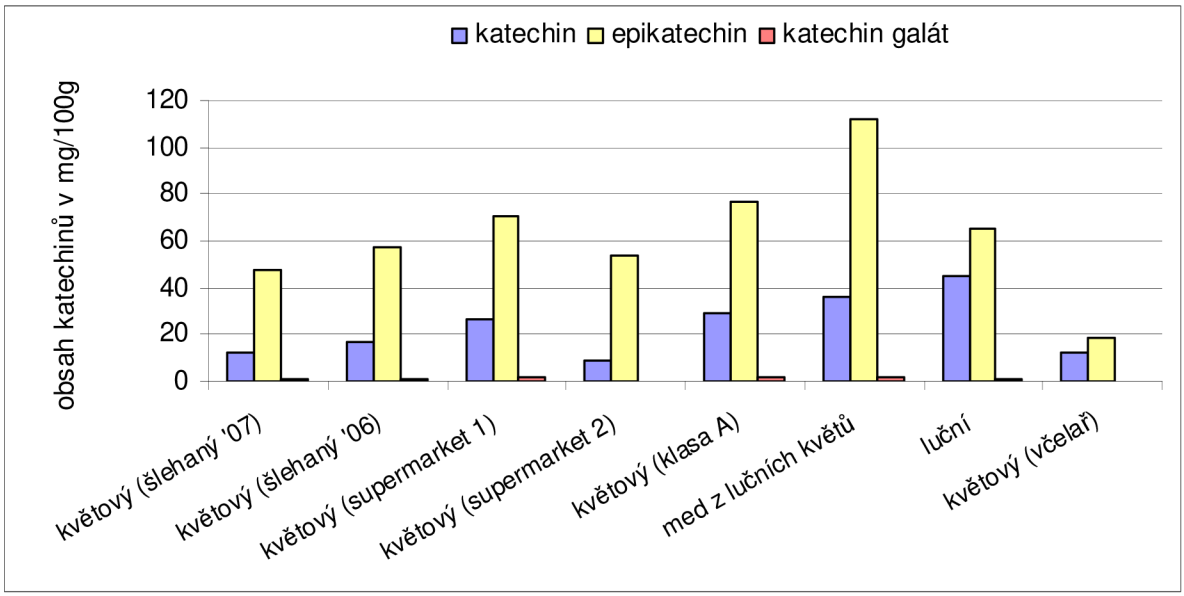
druh medu	katechin	epikatechin	katechin galát	epikatechin galát
lesní	19,35 ± 0,24	40,07 ± 0,53	0,95 ± 0,04	-
květový smíšený	28,94 ± 0,56	77,18 ± 0,37	2,09 ± 0,86	-
s tymiánem a bylinami	40,28 ± 0,52	119,88 ± 0,26	1,31 ± 0,39	-
akátový	5,98 ± 0,03	20,27 ± 0,33	0,18 ± 0,07	-
mateří kašička v medu	310,62 ± 2,05	69,48 ± 0,72	2,09 ± 0,13	5,32 ± 0,07
luční (z lučních květů)	36,54 ± 0,11	112,04 ± 1,16	2,10 ± 0,15	-
med z eukalyp. květů	29,44 ± 0,31	33,10 ± 0,28	0,61 ± 0,07	2,05 ± 0,08
luční	44,63 ± 0,33	65,04 ± 0,34	0,69 ± 0,05	-
akátový	18,91 ± 0,16	14,91 ± 0,23	0,18 ± 0,03	-
med z pomeran. květů	22,98 ± 0,54	44,41 ± 0,35	0,60 ± 0,06	-
„včelí mystérium“	19,23 ± 0,39	65,01 ± 0,55	0,71 ± 0,04	-
pohankový	108,35 ± 1,13	48,32 ± 0,37	2,12 ± 0,46	-
maliníkový	43,60 ± 0,23	156,73 ± 0,42	2,99 ± 0,04	-
ostropestřec mariánský	56,90 ± 0,72	151,37 ± 0,86	3,36 ± 0,06	-
květový	211,94 ± 1,17	57,38 ± 0,76	-	-
medovicový	-	306,47 ± 1,64	64,90 ± 0,99	140,56 ± 0,54
mateří kašička	12,06 ± 0,09	18,56 ± 0,54	0,25 ± 0,04	-
propolis	46,87 ± 2,04	65,30 ± 3,68	1,42 ± 0,74	-
směs připravená v laboratoři	11,06 ± 0,19	21,40 ± 0,38	0,33 ± 0,02	0,59 ± 0,06

Pozn.: - = neidentifikováno

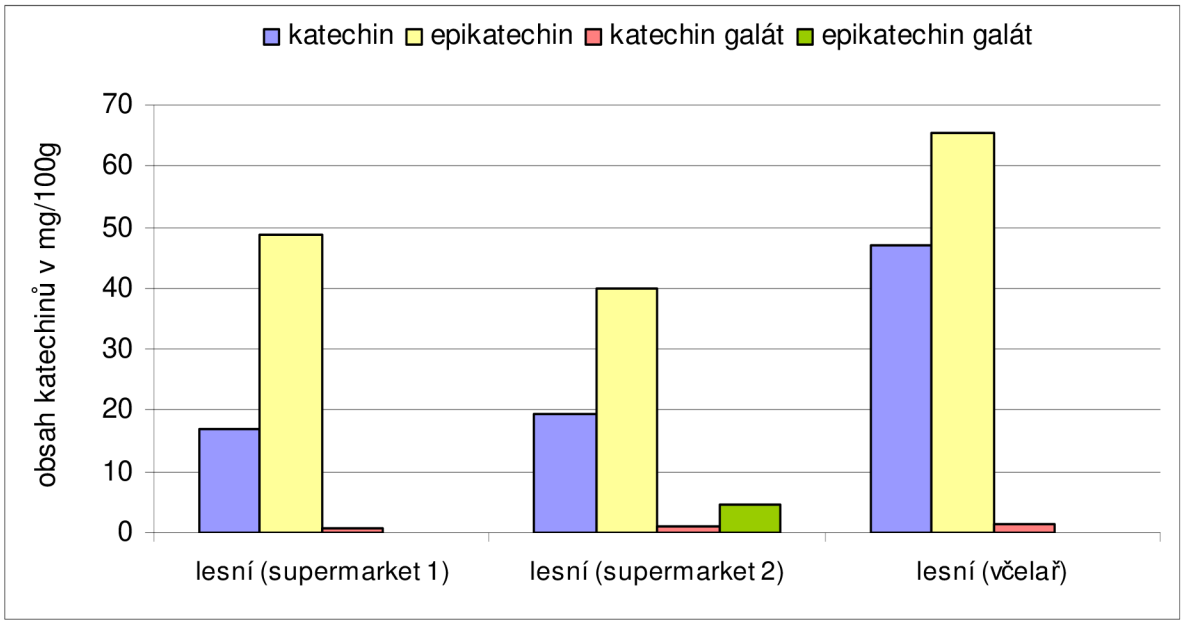
Obsah jednotlivých katechinů se u medů pohyboval v rozmezích (5,98-310) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ u katechinu, (17,77-486,29) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ u epikatechinu, (0,18-64,90) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ u katechin galátu a (0,59-140,56) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ u epikatechin galátu. Naměřené hodnoty těchto katechinů u propolisu a mateří kašičky jsou uvedeny v tab. 9. Katechinu bylo naměřeno nejméně v akátovém medu, nejvíce pak obsahoval vzorek mateří kašičky v medu. Epikatechinu bylo naměřeno nejméně v medu řepkovém, nejvíce pak v medu lipovém. Nejnižší hodnoty katechin galátu byly získány opět v medu akátovém a nejvyšší v medu medovicovém. Hodnoty epikatechin galátu byly naměřeny jen u některých vzorků, u ostatních se nepodařilo tuto látku identifikovat. To mohlo být způsobeno tím, že k analýze katechinů byl použit přímý nástřik vzorku medu rozpuštěného ve vodě a tudíž nemuselo dojít u dokonalé extrakci. Z jednodruhových medů měli nejvíce katechinů med pohankový, maliníkový, med z ostropestřce mariánského a med lipový. Medy medovicové obsahují celkově více katechinů než medy květové. Z medovicových medů měl více katechinů med pořízený od včelaře než medy zakoupené v supermarketu. Mezi akátovými medy nebyl zjištěn výraznější rozdíl a obecně tyto medy měli nejnižší hladiny katechinů ze všech vzorků. Jednotlivé obsahy vybraných katechinů u vybraných vzorků jsou znázorněny v grafech 18.-21.

Pro posouzení původu medu by zřejmě muselo být využito zastoupení, případně kvantitativní stanovení minoritních složek, protože obsah katechinu a epikatechinu nevykazuje zásadní rozdíly u analyzovaných druhů medu.

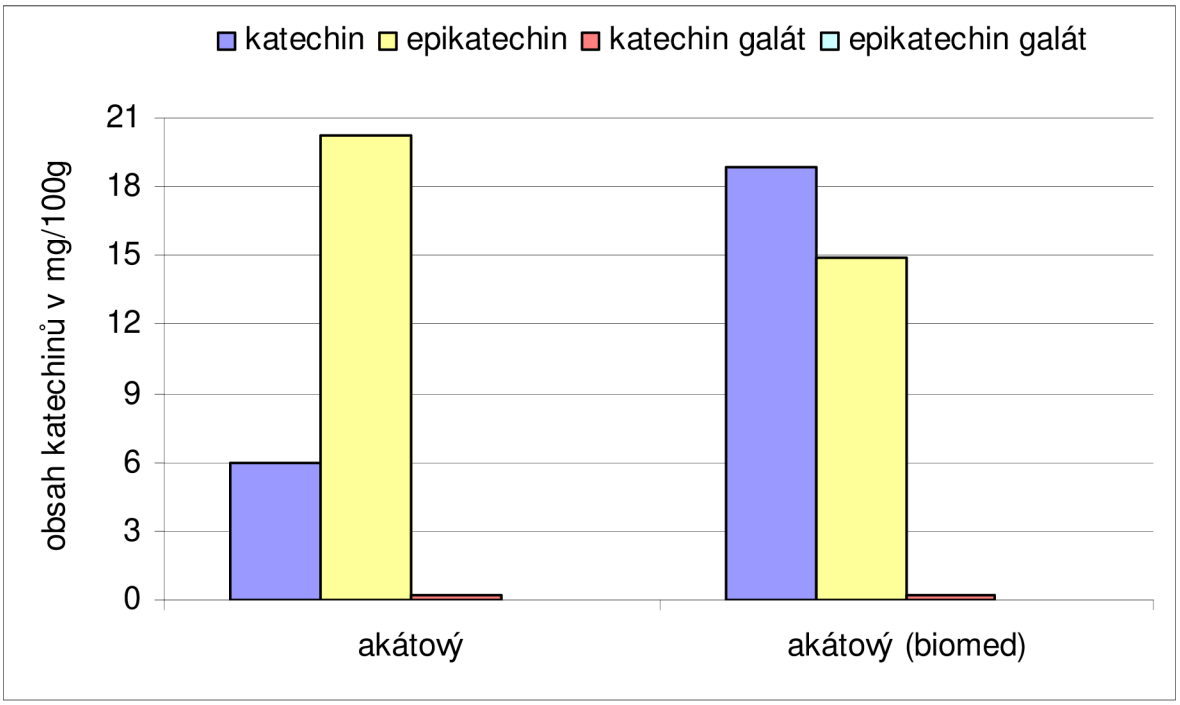
Graf 18. *Hladiny katechinů u vybraných vzorků medu*



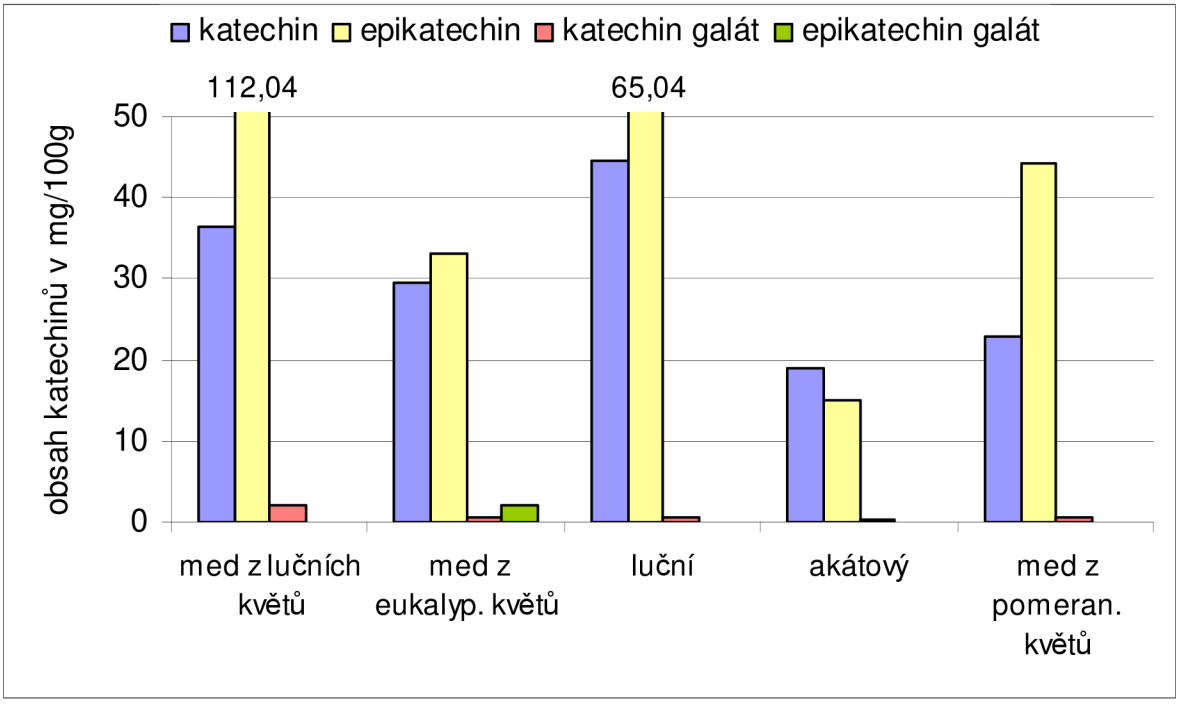
Graf 19. *Hladiny katechinů u vybraných vzorků medu*



Graf 20. *Hladiny katechinů u vybraných vzorků medu*



Graf 21. *Hladiny katechinů u vybraných vzorků medu*

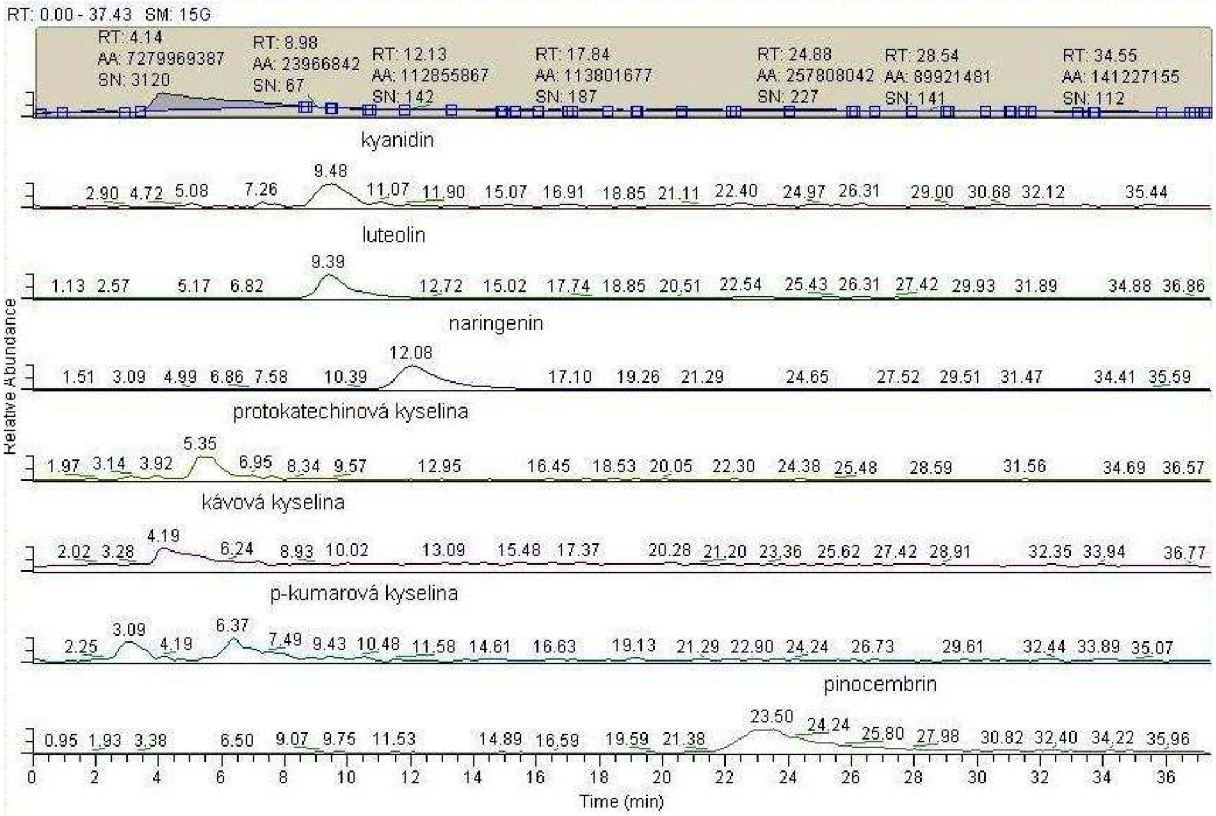


5.4.3 LC/MS analýza flavonoidů a katechinů

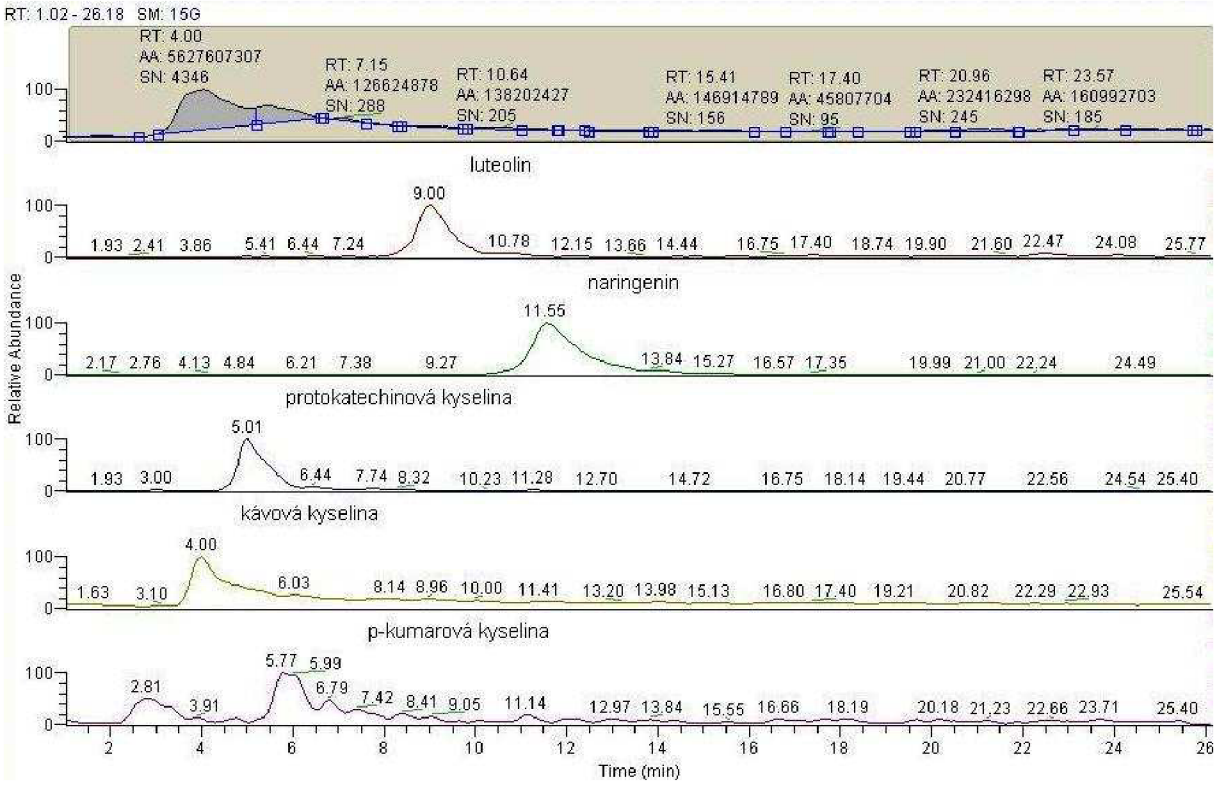
Dva vzorky medu, květový a medovicový, byly podrobeny analýza na hmotnostním spektrofotometru. Postup je uveden v kapitole 4.3.9. Ve vzorcích byly analyzovány flavonoidy a katechiny. Vzorky byly analyzovány kvalitativně, a to zejména za účelem verifikace analýzy individuálních antioxidantů metodou RP-HPLC/UV-VIS.

V medu květovém byl detekován prokyanidin B2, luteolin, naringenin, protokatechinová kyselina, kávová kyselina, p-kumarová kyselina a pinocembrin. V medu lesním byl detekován luteolin, naringenin, protokatechinová kyselina, kávová kyselina a kyselina p-kumarová.

Chromatogram květového medu je znázorněn na obr. 22 a chromatogram medovicového medu je znázorněn na obr. 23.



Obr. 22. *LC/MS chromatogram květového medu*



Obr. 23. *LC/MS chromatogram medovicového medu*

Metodou LC/MS byly detekovány stejné flavonoidy jako metodou RP-HPLC. Není vhodné analyzovat metodou LC/MS majoritní látky, které lze velmi dobře stanovit pouze metodou RP-HPLC. Použití LC/MS by bylo vhodné jako verifikace meření, případně pro stanovení minoritních látek.

5.4.4 Analýza karotenoidů, α-tokoferolu a retinolu

Průměrné hodnoty karotenoidů, α-tokoferolu a retinolu jsou uvedeny v tabulkách 10 a 11.

Tab. 10. *Průměrné hodnoty luteinu, α-karotenu a β-karotenu u jednotlivých vzorků*

druh medu	lutein	α-karoten	β-karoten
	µg/100 g		
lipový	0,04 ± 0,001	2,09 ± 0,58	5,95 ± 0,99
květový (šlehaný)	0,08 ± 0,004	4,48 ± 0,81	1,82 ± 0,42
květový (šlehaný)	0,01 ± 0,001	0,44 ± 0,84	1,95 ± 0,35
slunečnicový	0,05 ± 0,008	5,76 ± 0,93	1,74 ± 0,09
řepkový (natural)	0,08 ± 0,005	11,58 ± 1,12	4,75 ± 0,66
řepkový (pastovaný)	0,08 ± 0,006	0,71 ± 0,09	1,47 ± 0,73
luční (květový)	0,08 ± 0,005	8,89 ± 0,39	6,78 ± 0,91
lesní (květový smíšený)	0,02 ± 0,007	4,10 ± 0,95	0,42 ± 0,06
luční (květový)	0,04 ± 0,007	6,32 ± 0,71	1,68 ± 0,26
lesní	0,19 ± 0,02	4,81 ± 0,28	1,06 ± 0,13
květový smíšený	0,02 ± 0,006	2,00 ± 0,62	1,49 ± 0,16
s tymiánem a bylinami	0,01 ± 0,003	4,84 ± 0,96	0,17 ± 0,08
akátový	0,12 ± 0,01	5,50 ± 0,68	2,37 ± 0,33
mateří kašička v medu	0,09 ± 0,004	1,01 ± 0,04	3,01 ± 0,54
luční (z lučních květů)	0,02 ± 0,002	19,46 ± 1,99	2,44 ± 0,29
med z eukalyptových květů	0,11 ± 0,03	4,55 ± 0,52	5,18 ± 0,69
luční	0,01 ± 0,003	3,59 ± 0,35	3,31 ± 0,46
akátový	0,05 ± 0,002	2,91 ± 0,26	2,21 ± 0,31
med z pomerančových květů	0,22 ± 0,007	1,10 ± 0,00	2,47 ± 0,63
„včelí mystérium“	0,11 ± 0,03	2,86 ± 0,13	2,28 ± 1,00
pohankový	0,0043 ± 0,0007	3,52 ± 0,16	2,63 ± 0,30
maliníkový	0,06 ± 0,03	7,66 ± 1,09	4,40 ± 0,12
ostropestřec mariánský	0,07 ± 0,002	5,87 ± 1,40	2,67 ± 0,29
květový	0,0034 ± 0,0008	17,90 ± 1,76	1,44 ± 0,27
medovicový	0,14 ± 0,03	0,17 ± 0,05	1,79 ± 0,52
mateří kašička	0,14 ± 0,02	10,35 ± 1,34	9,12 ± 0,87
propolis	0,49 ± 0,06	2,40 ± 0,24	5,05 ± 0,64
směs připravená v laboratoři	0,08 ± 0 009	13,49 ± 1,48	0,69 ± 0,09

Tab. 11. *Průměrné hodnoty tokoferolu a retinolu u jednotlivých vzorků*

druh medu	tokoferol	retinol*
	µg/100 g	
lipový	152,97 ± 18,52	-
květový (šlehaný)	151,63 ± 12,30	-
květový (šlehaný)	120,35 ± 16,21	8,78 ± 0,52
slunečnicový	127,78 ± 17,88	9,09 ± 0,43
řepkový (natural)	112,31 ± 10,24	7,73 ± 0,19
řepkový (pastovaný)	248,71 ± 11,26	8,28 ± 0,61
luční (květový)	140,19 ± 18 55	7,33 ± 0,59
lesní (květový smíšený)	300,07 ± 25,64	8,46 ± 0,75

druh medu	tokoferol	retinol*
luční (květový)	159,81 ± 19,00	5,44 ± 0,16
lesní	221,64 ± 13,95	9,78 ± 0,81
květový smíšený	196,61 ± 17,67	9,19 ± 0,33
s tymiánem a bylinami	216,72 ± 11,28	8,12 ± 0,51
akátový	122,43 ± 10,61	4,84 ± 0,03
mateří kašička v medu	185,82 ± 9,83	5,25 ± 0,17
luční (z lučních květů)	296,77 ± 17,11	12,72 ± 2,05
med z eukalyptových květů	463,59 ± 26,44	11,92 ± 2,16
luční	189,03 ± 21,63	14,05 ± 2,66
akátový	170,55 ± 28,34	4,75 ± 0,64
med z pomerančových květů	179,90 ± 29,43	2,60 ± 0,00
„včelí mystérium“	29,20 ± 0,62	0,76 ± 0,12
pohankový	220,75 ± 10,41	17,14 ± 2,46
maliníkový	197,67 ± 29,96	11,62 ± 2,27
ostropestřec mariánský	99,04 ± 4,48	13,61 ± 0,14
květový	49,32 ± 3,91	-
medovicový	1674,33 ± 33,75	0,72 ± 0,05
mateří kašička	482,60 ± 16,90	2,12 ± 0,59
propolis	-	-
směs připravená v laboratoři	8531,17 ± 59,55	-

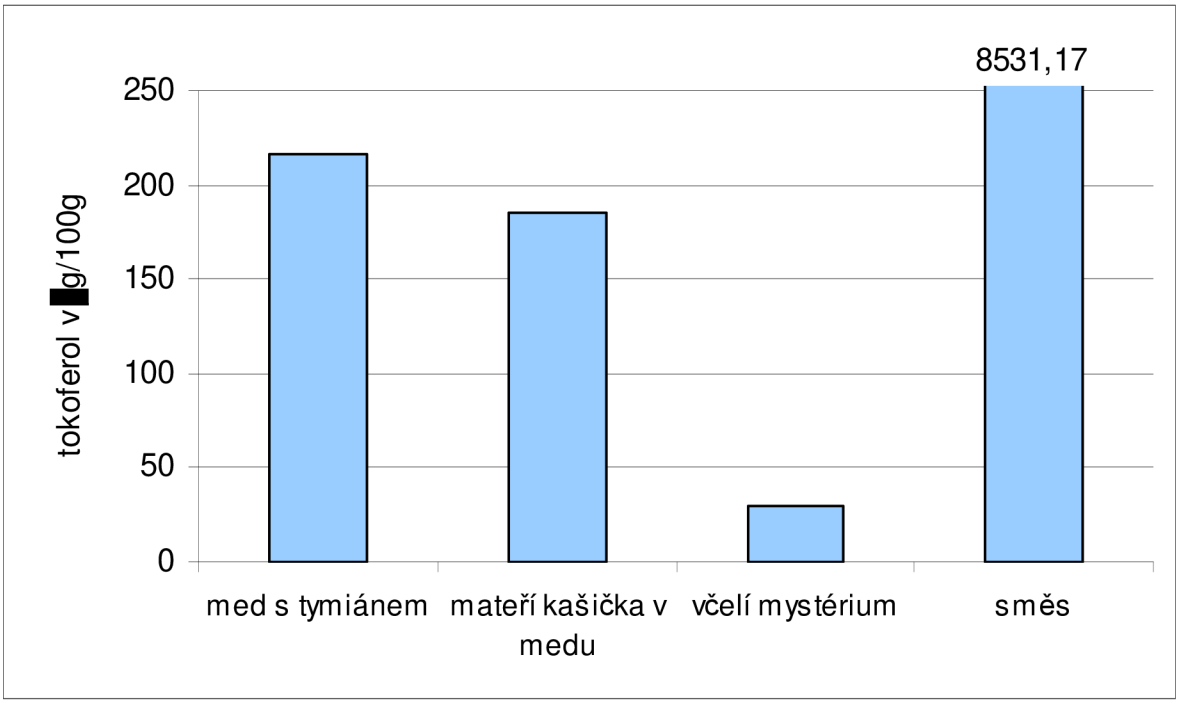
Pozn.: - = neidentifikován, * = sloučenina mající stejný retenční čas jako standard retinolu

Z lipofilních látek bylo v medu stanoveno nejvíce tokoferolu. Obsah karotenoidů se pohyboval v rozmezích (0,0034-0,49) $\mu g \cdot 100\ g^{-1}$ u luteinu, (0,17-17,90) $\mu g \cdot 100\ g^{-1}$ u α-karotenu a (0,17-6,78) u β-karotenu. Jednotlivé hodnoty jsou uvedeny v tab. 10. Vesměs se jedná o velmi nízké hodnoty, které nemají zřejmě významný vliv na biologickou hodnotu medu, mohou však přispívat k jeho charakteristickému zbarvení (květové, řepkové a luční medy).

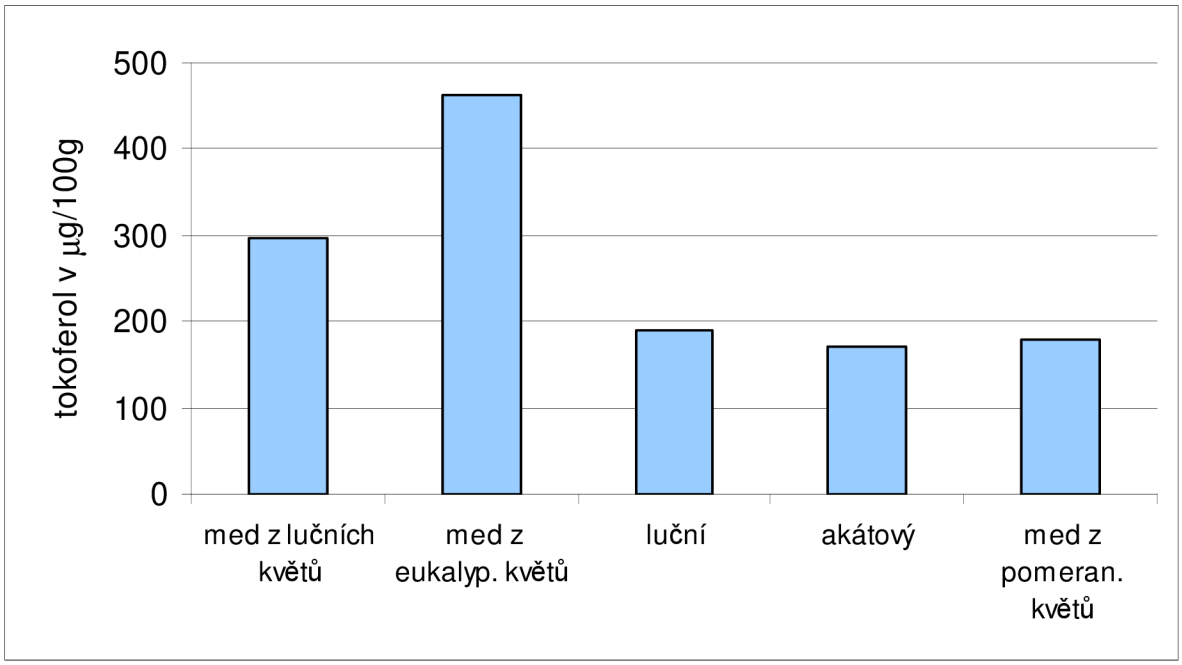
Obsah tokoferolu byl stanoven v rozmezí (29,20-8531,17) $\mu g \cdot 100\ g^{-1}$. Nejvyšší obsah byl stanoven u směsi medu a mateří kašičky připravené v laboratoři. Obsah vitaminu E u vybraných vzorků je znázorněn v grafech 22.-24.

Ve většině druhů medu byla detekována sloučenina o stejném retenčním čase jako standard retinolu. Vzhledem k tomu, že nebyla nalezena jediná studie, která by potvrdila přítomnost vitaminu A v medu, případně v těle včely [53] nebyla tato sloučenina za retinol považována. Bohužel se nepodařilo obsah vitaminu A potvrdit pomocí metody LC/MS, kde z časových důvodů byly proměřeny pouze látky rozpustné v polárních rozpouštědlech. Obsah vitaminu A v medu a jeho verifikace bude provedena v navazující práci.

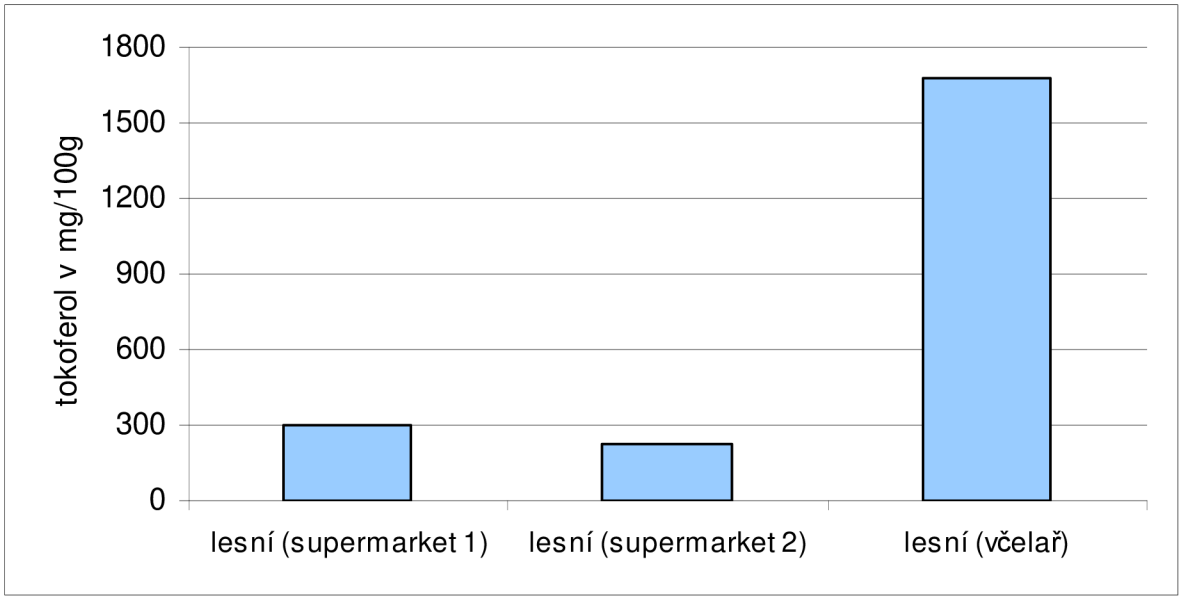
Graf 22. *Hodnoty tokoferolu u vybraných vzorků medu*



Graf 23. *Hodnoty tokoferolu u vybraných vzorků medu*



Graf 24. *Hodnoty tokoferolu u vybraných vzorků medu*



5.4.5 Stanovení kyseliny askorbové

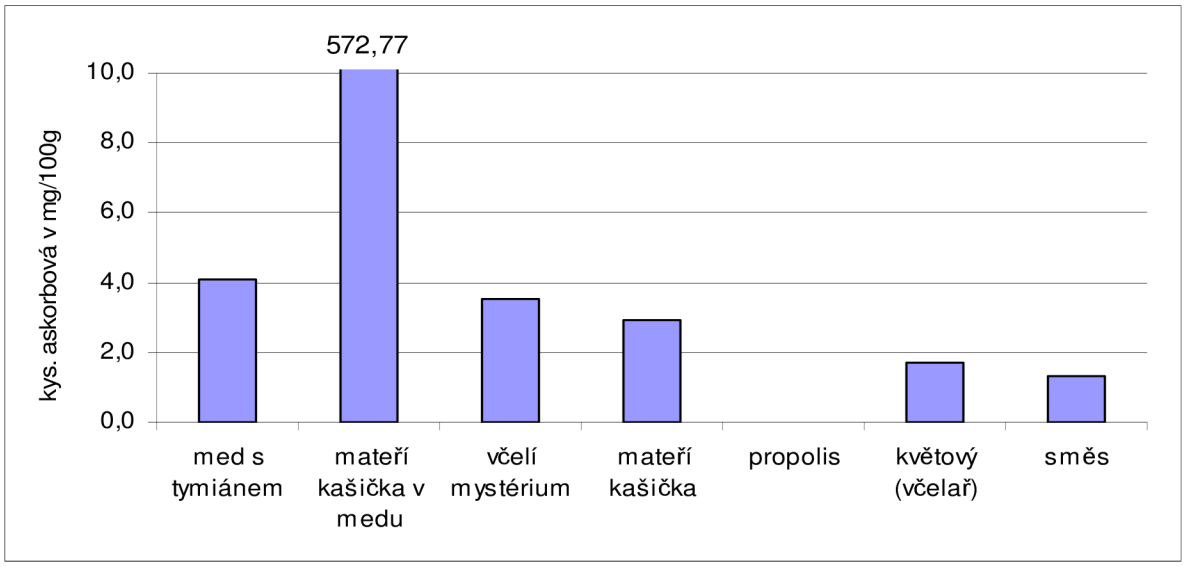
Kyselina akorbová byla stanovena titračně podle postupu uvedeného v kapitole 4.3.7. Všechna stanovení byla provedena třikrát a statisticky vyhodnocena pomocí programu Microsoft Office Excel 2003. Jednotlivé naměřené hodnoty jsou uvedené v tabulce 12.

Tab. 12. *Průměrné hodnoty kyseliny askorbové u jednotlivých vzorků medu*

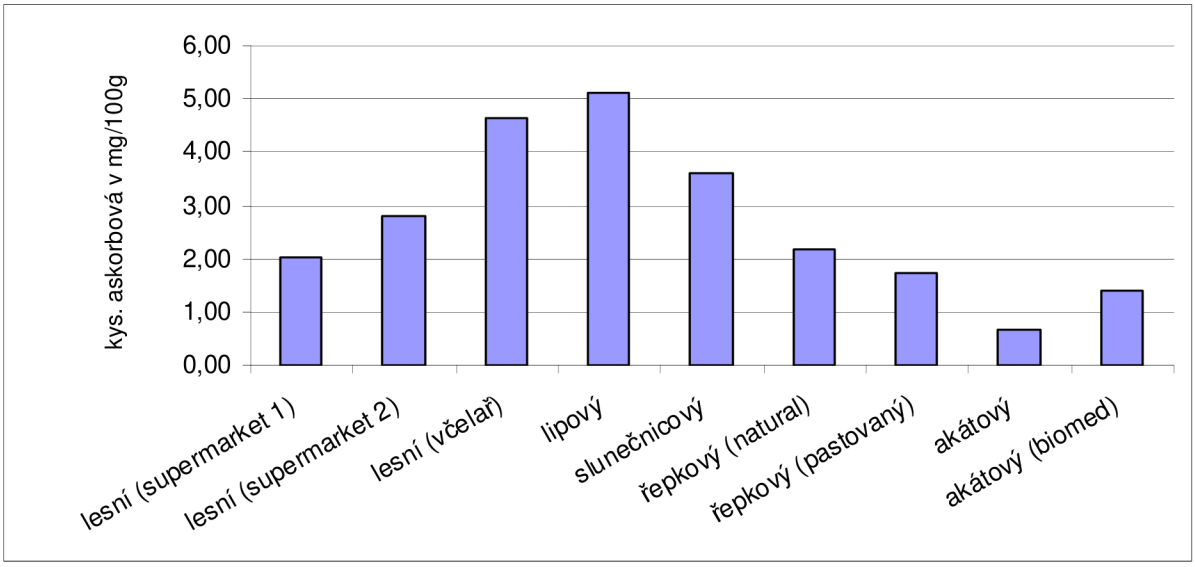
druh medu	vitamin C mg/100 g	druh medu	vitamin C mg/100 g
lipový	5,12 ± 0,09	luční (z lučních květů)	2,40 ± 0,06
květový (šlehaný) 2007	2,48 ± 0,22	med z eukalyptový květů	2,14 ± 0,04
květový (šlehaný) 2006	2,98 ± 0,08	luční	2,62 ± 0,16
slunečnicový	3,62 ± 0,15	akátový	1,41 ± 0,17
řepkový (natural)	2,17 ± 0,17	med z pomerančový květů	1,95 ± 0,18
řepkový (pastovaný)	1,74 ± 0,19	„včelí mystérium“	3,54 ± 0,04
luční (květový) (supermarket 1)	2,37 ± 0,15	pohankový	5,34 ± 0,13
lesní (květový smíšený) (supermarket 1)	2,02 ± 0,13	maliníkový	3,00 ± 0,08
luční (květový) (supermarket 2)	1,44 ± 0,07	ostropestřec mariánský	4,74 ± 0,07
lesní (supermarket 2)	2,81 ± 0,14	květový	1,72 ± 0,09
květový smíšený	4,55 ± 0,19	medovicový	4,65 ± 0,07
s tymiánem a bylinami	4,11 ± 0,07	mateří kašička	2,93 ± 0,13
akátový	0,65 ± 0,04	propolis	0,00 ± 0,00
mateří kašička v medu	572,77 ± 12,07	směs připravená v laboratoři	1,33 ± 0,09

Z tabulky 12 a grafů 25.-26. je patrné, že nejvyšší obsah kyseliny askorbové byla naměřen ve vzorku mateří kašička v medu. Tento vysoký obsah byl způsoben kyselinou askorbovou přidanou do výrobku jako konzervant. Přidaný obsah činí 0,8 % a je uvedený na etiketě výrobku. Obsah vitaminu C se u analyzovaných medů pohybuje v rozmezí (0,65-4,65) mg ve 100 g. Nejméně kyseliny askorbové bylo stanoveno v akátovém medu, nejvíce pak v medu medovicovém. Z květových medů obsahoval nejvíce kyseliny askorbové med květový označený známkou klasa A. Medy květové obsahovaly obecně méně kyseliny askorbové než medy medovicové (lesní). Z jednodruhových medů vykazoval nejvíce kyseliny askorbové med pohankový, med z ostropestřce mariánského a med lipový. Med řepkový bez úpravy obsahoval více kyseliny askorbové než med řepkový pastovaný; med akátový obsahoval méně kyseliny askorbové něž med akátový označený jako bio-med.

Graf 25. *Obsah kyseliny askorbové u vybraných vzorků medu*



Graf 26. *Obsah kyseliny askorbové u vybraných vzorků medu*



5.5 Stanovení hydroxymethylfurfuralu

Stanovení hydroxymethylfurfuralu bylo provedeno metodou RP-HPLC. Postup stanovení je uveden v kapitole 4.3.8. Všechny vzorky byly změřeny třikrát a výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu Microsoft Office Excel 2003. Pro lepší orientaci ve výsledcích bylo použito rozdělení vzorků do osmi skupin podle tabulky č.4.

Tabulka 13. udává průměrné hodnoty hydroxymethylfurfuralu u jednotlivých vzorků medu. V prvním sloupci je uvedena hladina HMF v původních vzorcích medu. Pro srovnání účiku zahřívání byl proveden řízený experiment, při kterém byly analyzované medy opakovaně zahřívány v laboratoři. Hodnoty HMF po zahřátí jsou uvedeny v druhém a třetím sloupci tab.13. Červeně je v prvním sloupci označena hodnota, která je vyšší než normou povolené množství 4 mg/100 g [14]. Kalibrací byla získána regresní přímka y = 568,43x (R^2 = 0,9998).

Tab. 13. *Průměrné hodnoty hydroxymethylfurfuralu před záhřevem a po záhřevu u jednotlivých vzorků medu*

druh medu	HMF před záhřevem mg/100 g	Mezistupeň vybrané vzorky mg/100 g	HMF po záhřevu mg/100 g
lipový	0,24 ± 0,00	-	9,66 ± 0,09
květový (šlehaný)	0,52 ± 0,01	-	10,50 ± 0,87
květový (šlehaný)	1,46 ± 0,00	-	19,50 ± 0,33
slunečnicový	3,09 ± 0,00	-	30,32 ± 0,78
řepkový (natural)	0,23 ± 0,01	-	8,96 ± 0,84
řepkový (pastovaný)	0,38 ± 0,00	2,63 ± 0,02	16,19 ± 1,05
luční (květový)	0,26 ± 0,00	-	13,06 ± 0,08
lesní (květový smíšený)	0,20 ± 0,00	-	14,67 ± 1,44
luční (květový)	1,79 ± 0,01	4,52 ± 0,09	15,15 ± 0,05
lesní	0,88 ± 0,00	-	6,63 ± 0,32
květový smíšený	0,89 ± 0,02	-	16,89 ± 1,12
s tymiánem a bylinami	4,06 ± 0,00	-	23,83 ± 0,96
akátový	0,76 ± 0,01	-	10,41 ± 0,05
mateří kašička v medu	0,56 ± 0,00	-	28,83 ± 0,26
luční (z lučních květů)	1,64 ± 0,01	-	17,05 ± 0,40
med z eukalyptových květů	1,13 ± 0,00	-	18,92 ± 0,99
luční	1,63 ± 0,00	-	25,15 ± 1,45
akátový	0,73 ± 0,00	-	9,70 ± 0,43
med z pomerančových květů	2,09 ± 0,01	-	20,40 ± 0,09
„včelí mystérium“	2,04 ± 0,01	2,40 ± 0,03	31,12 ± 0,55
pohankový	0,66 ± 0,00	-	23,74 ± 0,96
maliníkový	0,38 ± 0,00	-	20,10 ± 0,08
ostropestřec mariánský	1,37 ± 0,00	-	21,26 ± 0,03
květový	0,50 ± 0,02	-	9,53 ± 0,13
medovicový	0,41 ± 0,00	-	10,54 ± 0,10
mateří kašička	0,54 ± 0,01	-	15,43 ± 0,22
propolis	-	-	-
směs připravená v laboratoři	0,46 ± 0,01	-	12,61 ± 0,38

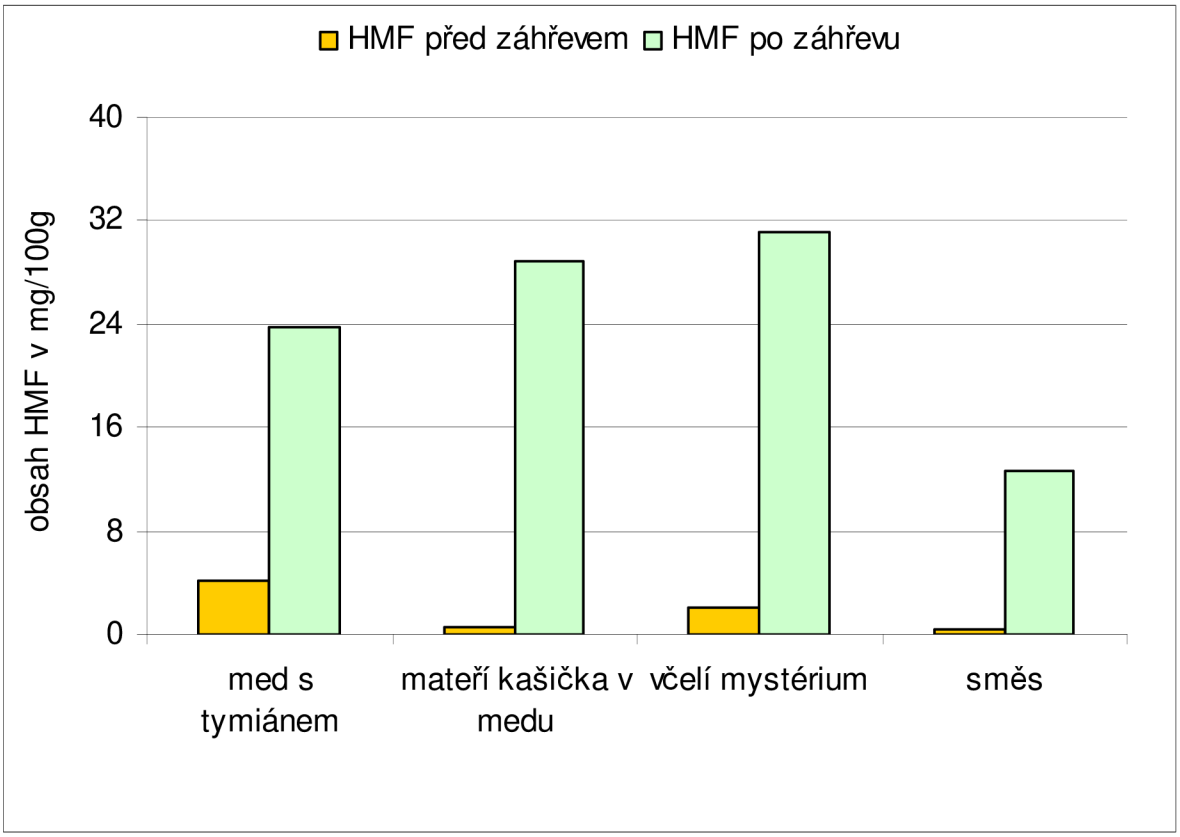
Pozn.: - = nebyl stanoven

Obsah hydroxymethylfurfuralu zavisí nejen na obsahu sacharidů a aminokyselin, ze kterých vzniká, ale rovněž na podmínkách při jakých byl med skladován, zda byl či nebyl ztekucován a v neposlední řadě na skutečnosti zda byl do medu přidán invertní sirup [21]. Hodnoty hydroxymethylfurfuralu se pohybovaly v rozmezí (0,26-4,06) mg $\cdot 100\ g^{-1}$. Jeden výrobek překročil normou povolené množství 4 mg $\cdot 100\ g^{-1}$ [14] a to med s tymiánem a bylinami. Tato vysoká hodnota mohla být způsobena nevhodným skladováním u výrobce či prodejce, opakovaným ztekucováním či přídavkem invertního sirupu.

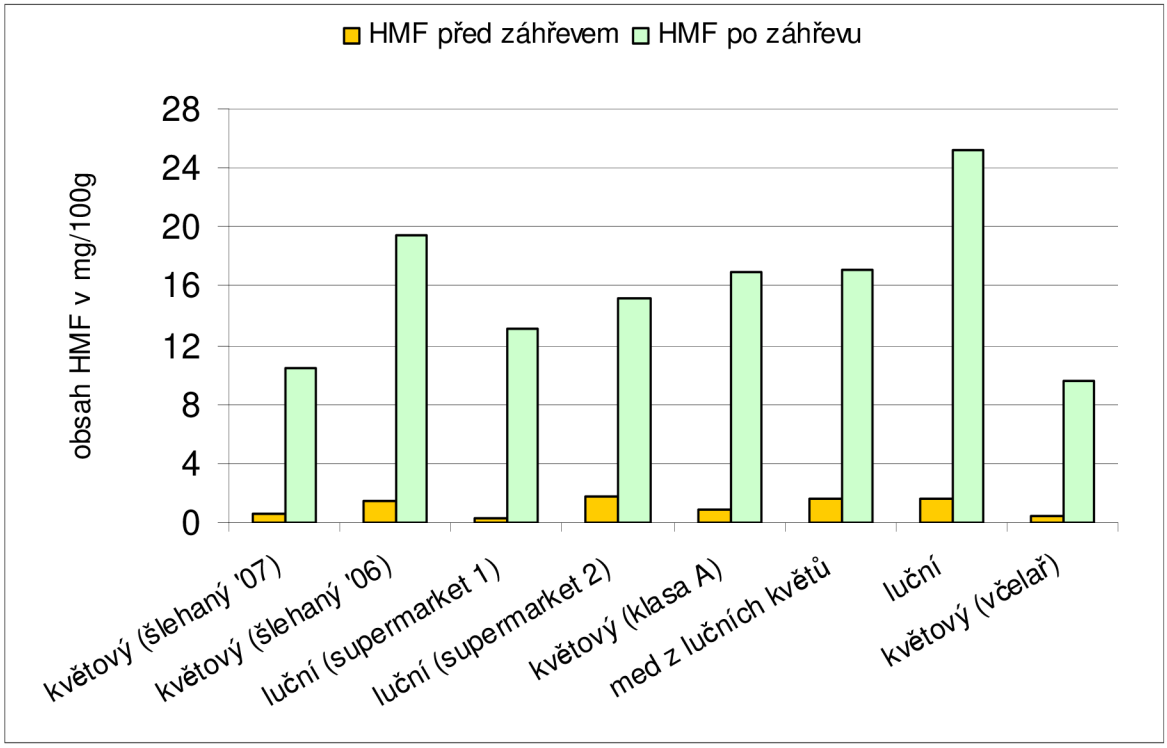
Jaký vliv na obsah hydroxymethylfurfuralu má teplota, bylo experimentálně zjištěno dvoustupňovým záhřevem vzorků medů. V prvním stupni byl med zahřát na teplotu 80 °C po dobu 5 hodin. Poté byly tři náhodně vybrané vzorky zanalyzovány (hodnoty uvedené v druhém sloupci tab. 13). Vzhledem k tomu, že byla mírně překročena, nebo vůbec, normovaná hranice 4 mg/100 g, byl proveden druhý záhřev tentokráte na 100 °C po dobu 2 hodin. Po tomto záhřevu se obsah hydroxymethylfurfuralu rapidně navýšil na hodnoty v rozmezí (6,63-31,12) mg $\cdot 100\ g^{-1}$. Po tomto záhřevu by již žádný výrobek nevyhověl normě.

Lze tedy předpokládat, že vzorky medu dodané do obchodní sítě nebo získané u včelaře nebyly tepelně zpracovány nevhodným způsobem. Hodnoty hydroxymethylfurfuralu u jednotlivých vzorků jsou znázorněny v grafech 27.-29.

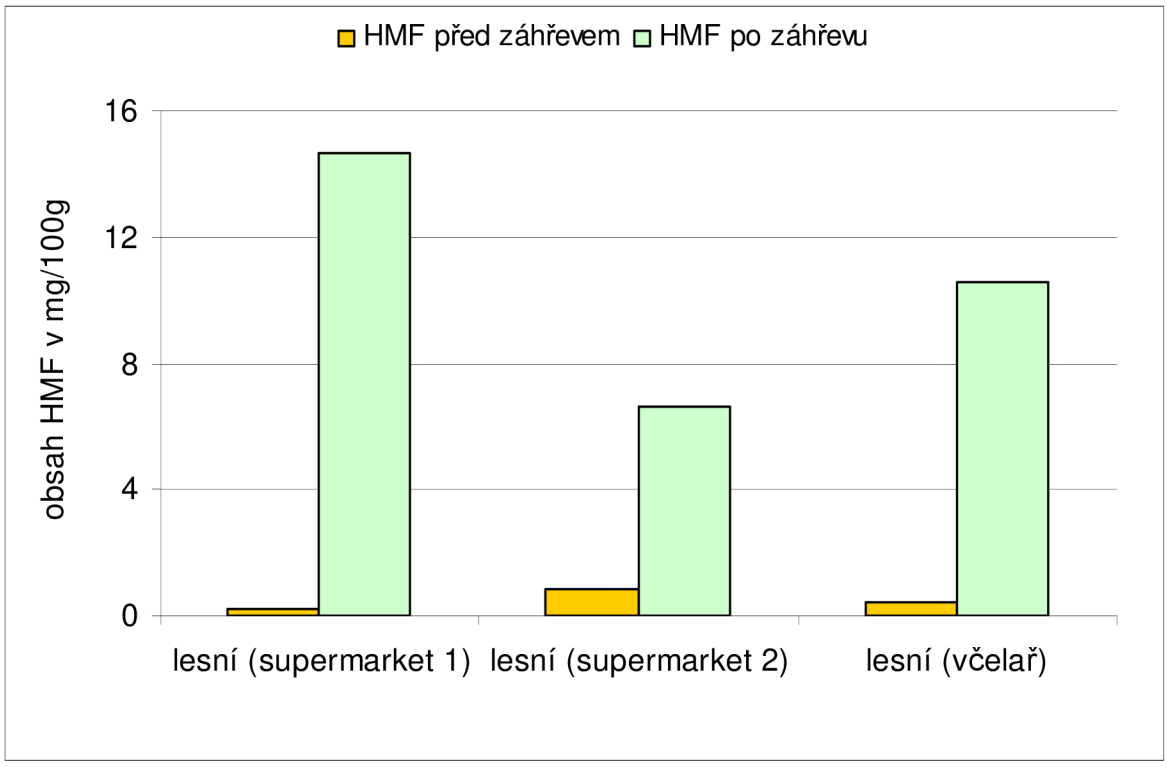
Graf. 27. *Hodnoty hydroxymethylfurfuralu u vybraných vzorků medu*



Graf 28. *Hodnoty hydroxymethylfurfuralu u vybraných vzorků medu*



Graf 29. *Hodnoty hydroxymethylfurfuralu u jednotlivých vzorků medu*



5.6 Orientační senzorická analýza a spotřebitelský dotazník

5.6.1 Orientační senzorická analýza

Senzorická analýza byla provedena za účelem monitoringu chuťové přijatelnosti ovocných a bylinných čajů s přídavkem medu u dvou významně odlišných souborů hodnotitelů. Jednou skupinou byli senioři studující na Univerzitě třetího věku při VUT v Brně a druhou studenti maturitního ročníku Gymnázia Zastávka. Rozdělení a charakteristika jednotlivých účastníků senzorického hodnocení u obou skupin je uvedeno v tab. 14. a v tab. 15.

Tab. 14. *Rozdělení a charakteristika účastníků senzorického testu – senioři*

počet účastníků	počet kuřáků	věk	muži	ženy
14	0	75,12 ± 7,63	2	12

Tab. 15. *Rozdělení a charakteristika účastníků senzorického testu – junioři*

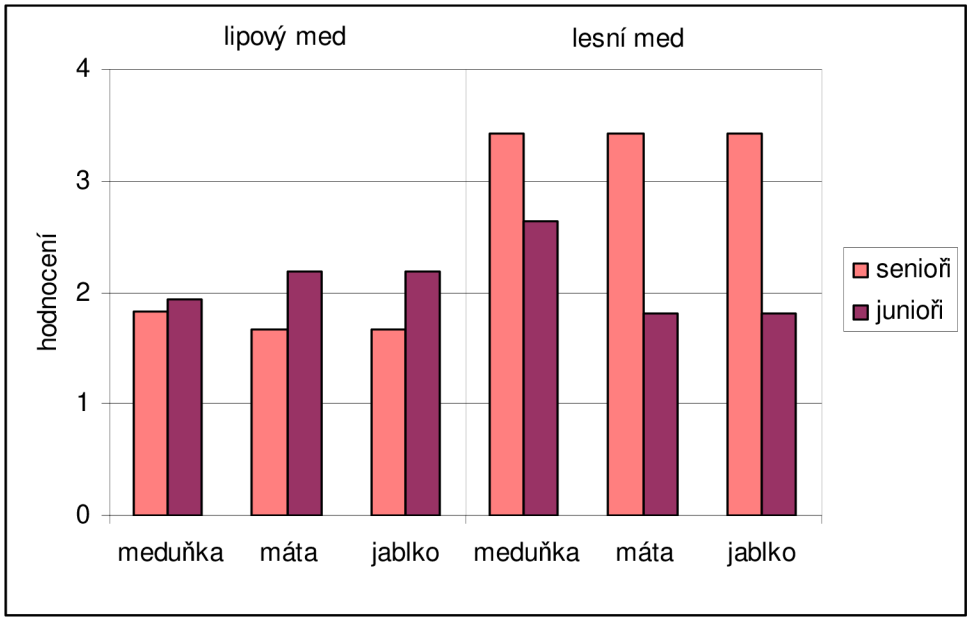
počet účastníků	počet kuřáků	věk	muži	ženy
16	0	18,14 ± 0,67	9	7

K hodnocení byly vybrány dva druhy bylinných čajů, a to mátový a meduňkový a jeden druh ovocného čaje s příchutí jablko. Pro přidání do čajů byly vybrány dva druhy medů, tmavý lesní med zakoupený v běžné obchodní síti a světlý lipový med získaný přímo od včelaře s potvrzením původu. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v následující tab. 16 a grafu 30.

Tab. 16. *Průměrné hodnocení vybraných ovocných a bylinných čajů s medy*

	lipový med			lesní med		
	meduňka	máta	jablko	meduňka	máta	jablko
senioři	1,83	1,67	1,67	3,42	3,42	3,42
junioři	1,94	2,19	2,19	2,63	1,81	1,81

Graf 30. *Srovnání průměrného hodnocení vybraných čajů s medy seniory a juniory*



Z výsledků je patrné, že senioři preferují do čajů med světlý (v naší studii konkrétně lipový), zatím co junioři med tmavý lesní. Tento rozdíl může být způsoben tím, že tmavý med je celkově chuťově výraznější a mladí lidé mu dávají přednost, protože je pro ně chutnější, jak bylo zjištěno ve spotřebitelském dotazníku (viz. 5.6.2).

Juniorům nejvíce chutnala kombinace lesního medu s mátový čajem, rovněž tak kombinace lesního medu s čajem s příchutí jablko. Senioři pak nejvíce preferovali lipový med s mátou. Nejhůře pak dopadl u seniorů lesní med ve všech třech druzích čaje. Juniorům nejméně chutnala kombinace lesního medu s meduňkovým čajem.

5.6.2 Spotřebitelský dotazník

Spotřebitelský dotazník byl zhotoven za účelem zjištění prefernce určitého druhu medu a monitoringu informovanosti spotřebitelů v této oblasti. Spotřebitelský dotazník vyplnilo 30 studentů chemické fakulty, VUT v Brně. Rozdělení a charakteristika účastníků je uvedena v tab. 17.

Tab. 17. *Rodělení a charakteristika respondentů*

počet účastníků	počet kuřáků	věk	muži	ženy
30	2	23,23 ± 1,76	7	23

Na otázku, zda jíte med, odpovědělo 26 respondentů ano a 4 dotazovaní odpověděli ne. Studenti nejčasteji preferují med lesní, případně jim na druhu nezáleží. Oblibu si získal také med květový nebo pampeliškový, méně pak med lipový, akátový a pastovaný. Výsledky preference určitého druhu medu jsou uvedeny v grafu 31. Studenti konzumují med nejčastěji v čaji. Důvodem by mohla být skutečnost, že med je velmi dobré sladidlo a na rozdíl od cukru je považován za zdravější. Často se med konzumuje samotný, s pečivem nebo jako součást potravin. Někteří respondenti uvedli, že med konzumují v kávě nebo v müsli tyčinkách. Procentuální rozdělení forem konzumace medu je znázorněno v grafu 32.

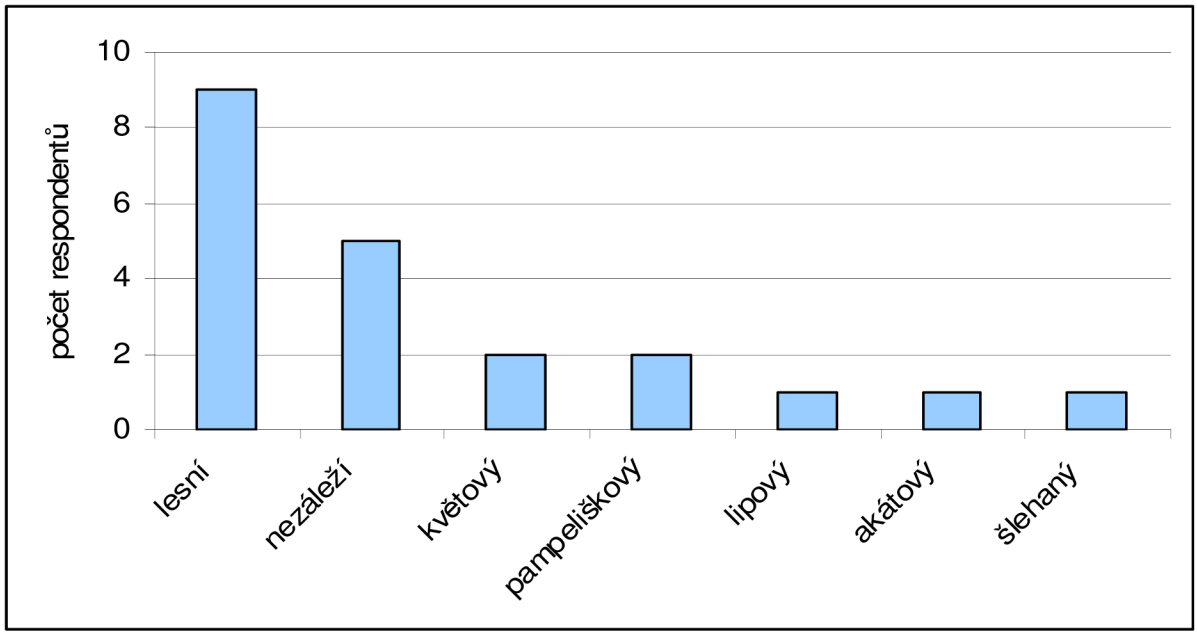
Na otázku, zda si myslíte, že je některý druh medu zdravější než ostatní a proč, byla nejčastější odpověď „nevím“. Takto odpovědělo 8 ze 30 dotázaných. 5 z 30 si myslí, že žádný druh není zdravější než jiný. Tři respondenti uvedli, že zdravější je lesní med, a to z důvodu většího obsahu minerálních látek, případně jiného složení. Jeden student uvedl, že zdravější je med luční, protože v lese není tolik nektaru. Obecně se dotazovaní domnívají, že zda je med zravější či nikoli záleží na místě sběru, případně na zpracování medu, a že med je lepé pořídit přímo od včelaře, protože nebude obsahovat žádná aditiva.

10 z 30 dotázaných konzumuje přibližně 10-100 gramů medu měsíčně a 25 z 30 nakupuje med přímo u včelaře. Procentuální rozdělení konzumace a nákupu medu je v grafech 33 a 34.

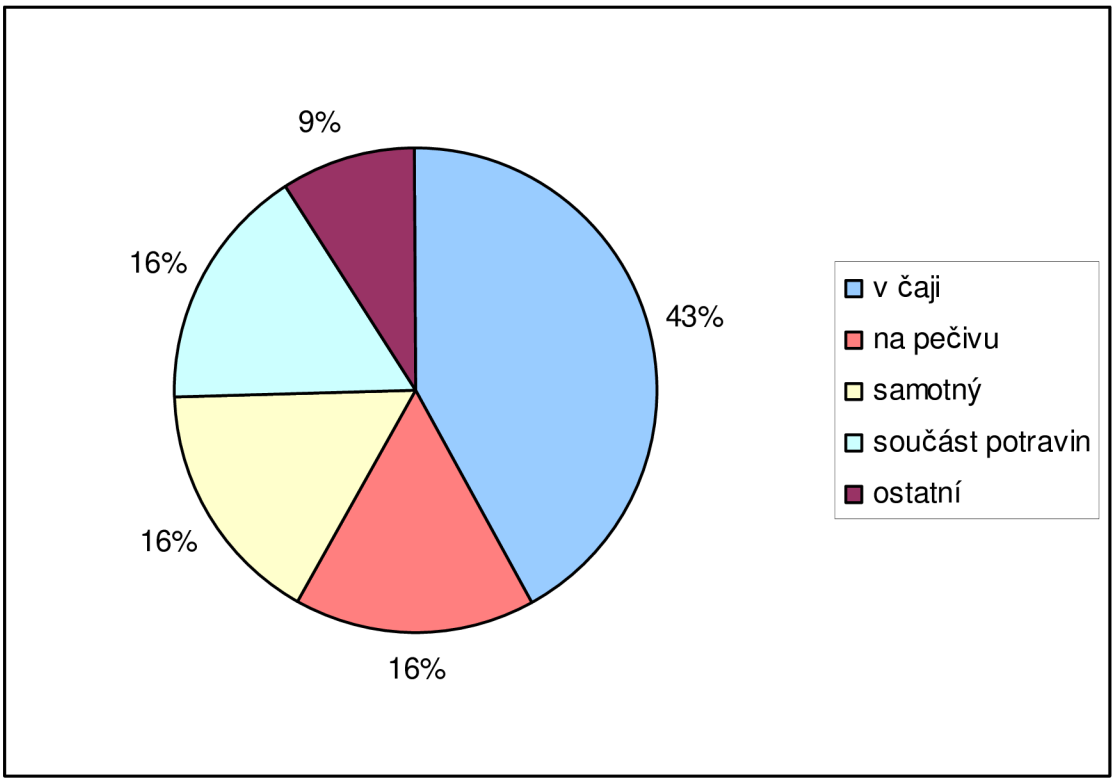
Na otázku, zda preferujete světlý (květový) nebo tmavý (lesní) med a proč, odpovědělo 50 % respondentů, že preferují med tmavý (lesní) a to z důvodu lepší chuti (což bylo nejčastější odůvodnění), z přesvědčení, že lesní med obsahuje více tělu a zdraví prospěšných látek. 10 % pak odpovědělo, že preferují med světlý (květový) kvůli lepší chuti. 40 % dotazovaných nepreferuje ani jednu skupinu.

K uvedeným druhům medu měli respondenti uvést zda o těchto druzích slyšeli a zda je také konzumují. Ani jeden z uvedených druhů medu nebyl studentům neznámý. Nejvíce mají v povědomí med lesní, luční a pampeliškový. Důvodem jistě je dostupnost medu lesního a lučního a velmi velká obliba vlastní výroby medu pampeliškového. Nejméně pak znali med tropický. Tato skutečnost svědčí o nízké informovanosti spotřebitelů o složení medů, které konzumují. Je totiž běžnou praxí, že medy dostupné v maloobchodní sítí obsahují část medů tropických. Toto bývá uvedeno na etiketě ve formě sdělení, že med pochází ze zemí mimo země Evropského společenství (mimo ES). Studenti konzumují pravidelně a nejčastěji med lesní a luční, velmi oblíbené jsou také med pampeliškový a šlehaný. Srovnání jednotlivých druhů medu podle toho, zda o nich respondenti slyšeli a podle konzumace je v grafech 35. a 36.

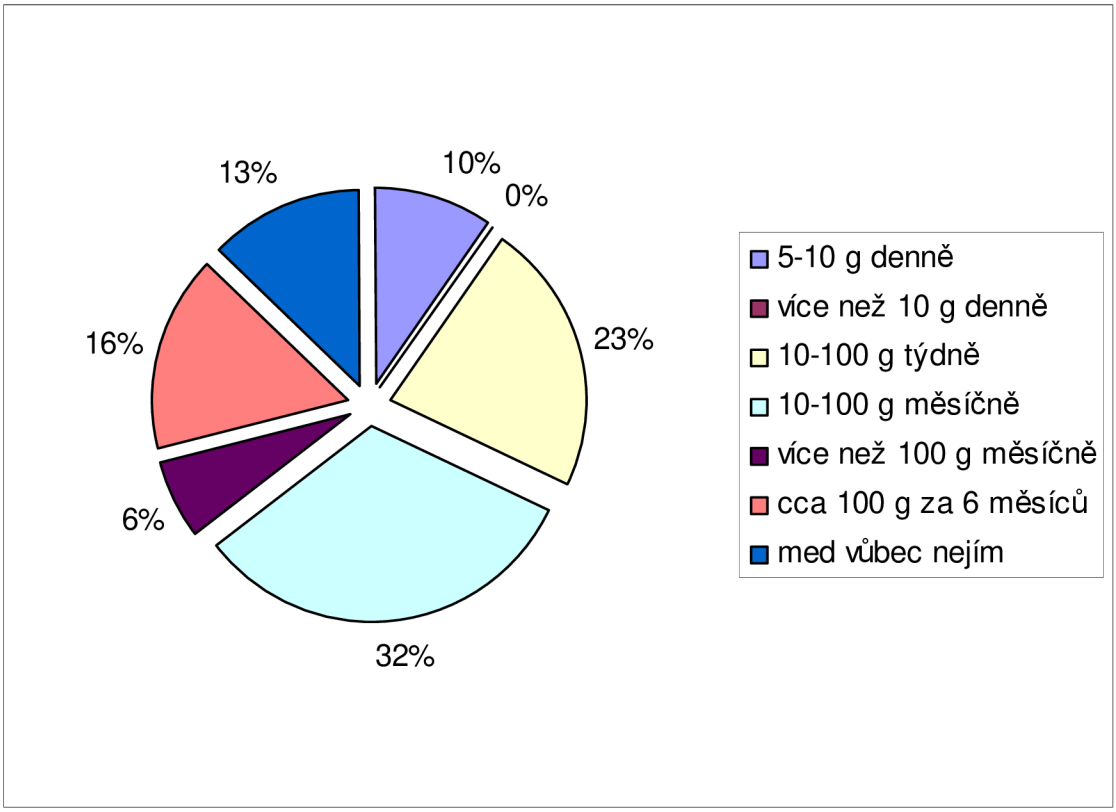
Graf 31. *Preference určitého druhu medu*



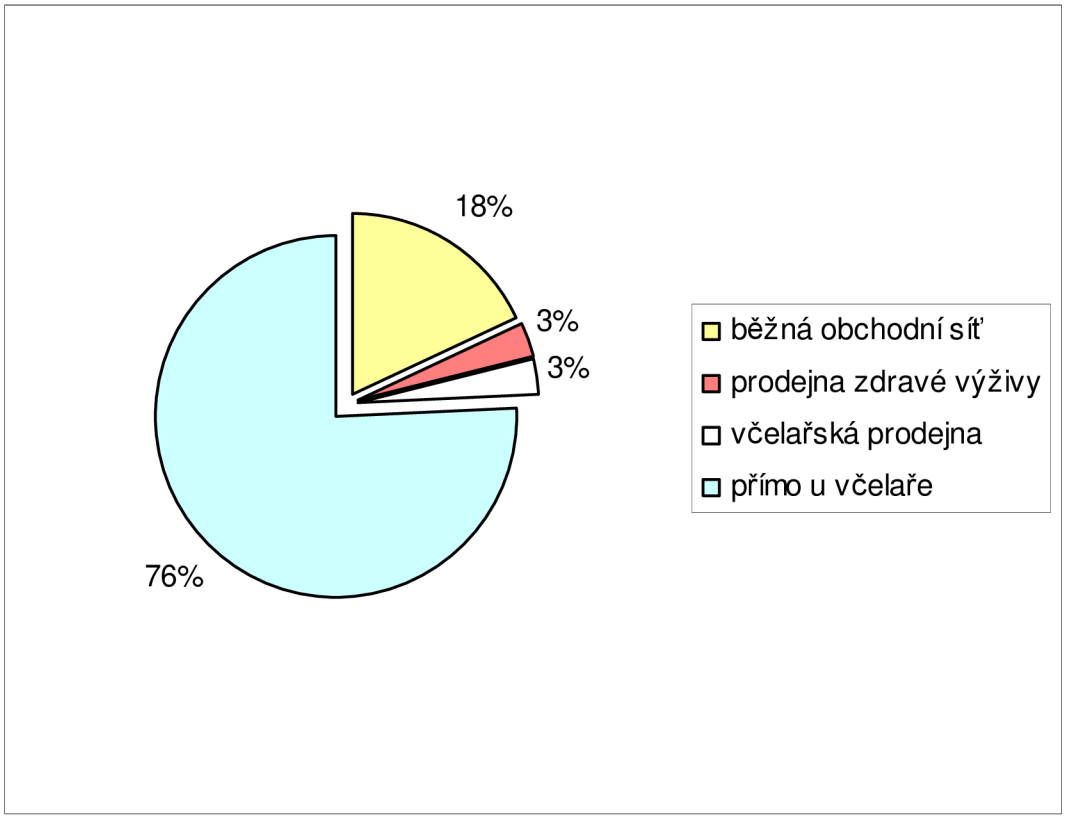
Graf 32. *Procentuální rozdělení forem konzumace medu*



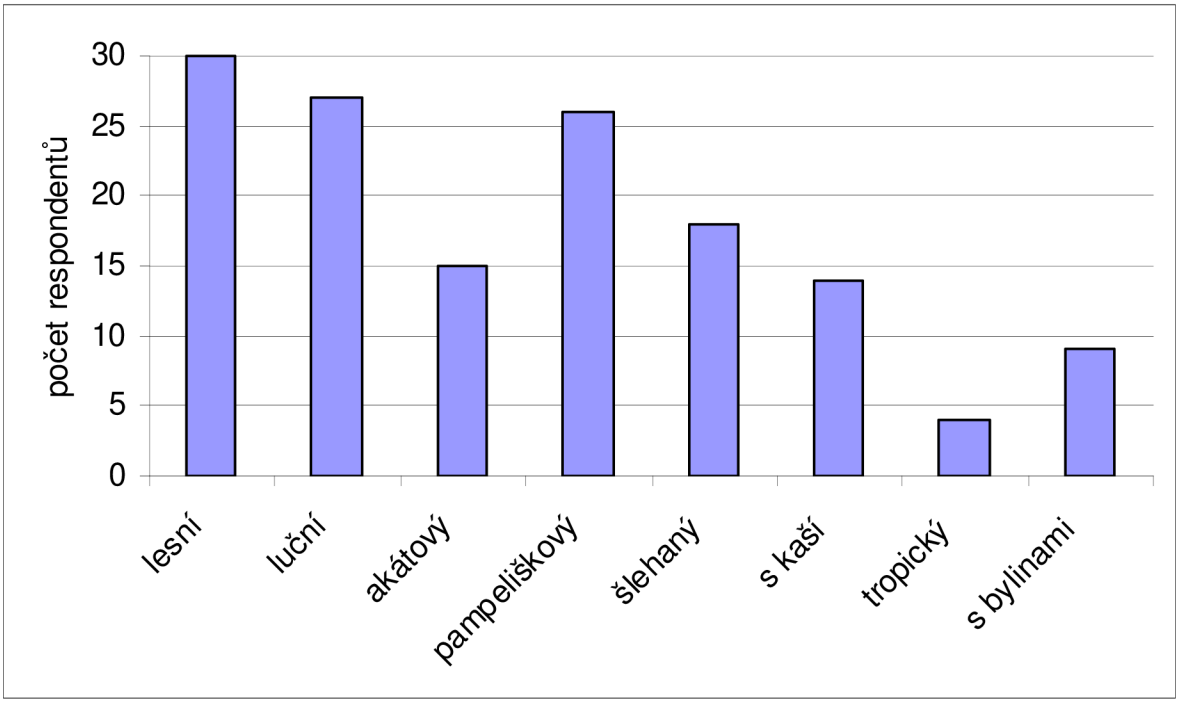
Graf 33. *Procentuální rozdělení zkonzumovaného množství medu*



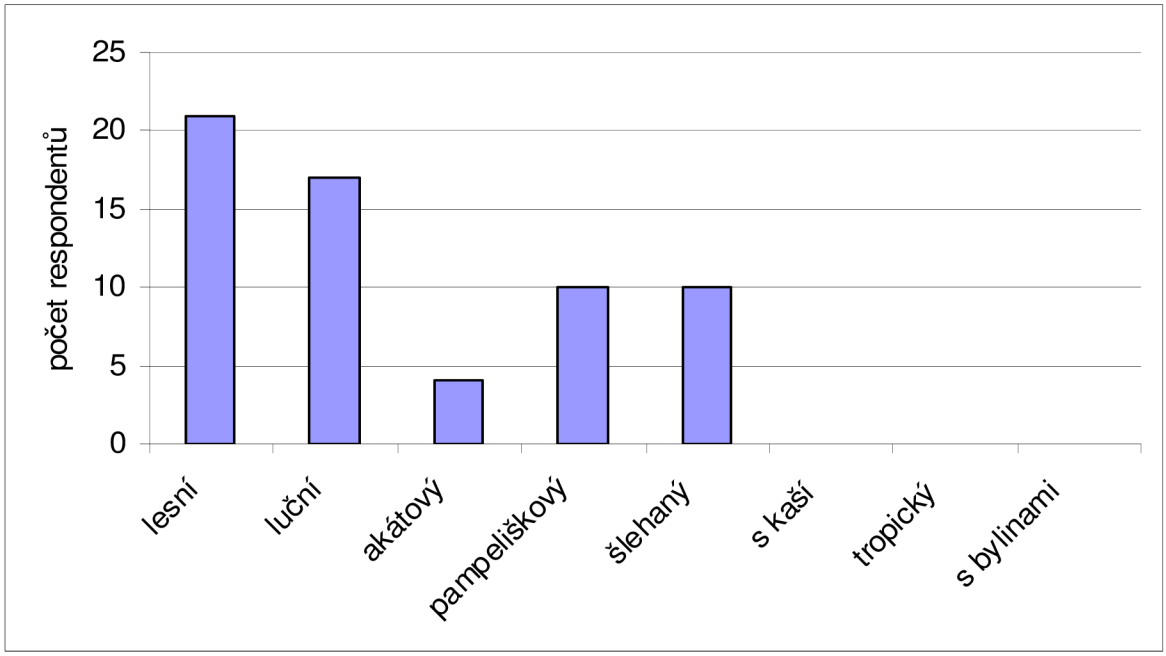
Graf 34. *Procentuální rozdělení nákupu medu*



Graf 35. *Srovnání jednotlivých druhů medu podle toho, zda o nich respondenti slyšeli*



Graf 36. *Srovnání jednotlivých druhů medu podle pravidelné konzumace*



5.7 Srovnání výsledků

Závěrem lze říci, že celková hodnota biologicky aktivních látek byla poněkud vyšší u medů jednodruhových než u medů smíšených. Z jednodruhových medů pak měly vyšší obsah biologicky aktivních látek medy tmavší (pohankový, maliníkový, ostropestřec mariánský) než medy světlejší (med z eukaplyptových květů, med z pomerančových květů, akátový, lipový, slunečnicový, řepkový). Květové medy (smíšené) obsahovaly celkově o něco více biologicky aktivních látek než medy lesní, což bude způsobeno skutečností, že nektar obsahuje více biologicky aktivních látek než medovice.

Poněkud více biologicky aktivních látek antioxidačního typu než u medů květových (smíšených) bylo změřeno u výrobků obsahujících propolis či mateří kašičku. Důvodem je fakt, že samotný propolis i mateří kašička vykazovaly velmi vysoké hodnoty biologicky aktivních látek. Pokud byl do medu přidán propolis či mateří kašička, případně obojí, hodnoty biologicky aktivních látek ve směsi se zvýšily.

Řepkový med pastovaný obsahoval o něco více antioxidačně aktivních látek než med řepkový bez úpravy. Je tedy zřejmé, že během pastování nedochází k zásadním ztrátám biologicky aktivních látek, naopak, pastovaný med si déle udrží vyšší hodnoty biologicky aktivních látek než med bez úpravy. Šlehaný květový med z roku 2006 obsahoval více biologicky aktivních látek než med téhož druhu vyrobený v roce 2007. Med si je tedy schopen uchovat při vhodném skladování vysoký obsah biologicky aktivních látek i po značně dlouhou dobu. Med akátový obsahoval méně biologicky aktivních látek než med akátový s označením bio-med. Celkově nejnižší obsah biologicky aktivních látek byl změřen v medech akátových, což odpovídá výsledkům ostatních studií.

Medy zakoupené v supermarketech obsahovaly celkově výrazně méně biologicky aktivních látek než některé medy zakoupené ve specializovaných prodejnách či přímo u včelaře.

Z výsledků provedených analýz je patrné, že pouze na základě zastoupení analyzovaných složek nelze jednoznačně říci, zda je „zdravější“ med květový či medovicový. Podle dosažených výsledků má daleko zásadnější vliv na kvalitu medu způsob zpracování,

skladování a výsledné úpravy, než samotný původ medu. Jednoznačně vyšší hodnoty biologicky aktivních látek byly stanoveny v medech získaných přímo od včelaře, což svědčí zřejmě o profesionálním a osobním přístupu k produktu. Jako kvalitní se jevily rovněž některé medy zakoupené v prodejnách zdravé výživy, ale samotný tento fakt ještě neznamená, že produkt bude kvalitnější nežli z běžné obchodní sítě. Nejvíce obsahových látek bylo naměřeno ve vzácných včelích produktech, jako je mateří kašička a propolis.

6. ZÁVĚRY

- V předložné práci koncipované jako pilotní srovnávací studie bylo analyzováno 26 vzorků medů stočených v letech 2006 a 2007, kteé byly získány v maloobchodní síti, ve specializovaných prodejnách a přímo u výrobce. Vzorky byly analyzovány pomocí metod titračních a spektrofotometrických, metodou RP-HPLC a metodou LC/MS. Studie byla zaměřena zejména na analýzu antioxidantů. Z antioxidantů byly analyzovány flavonoidy, katechiny, karotenoidy, vitaminy C, E a A. Pro ověření kvality medu byl ve vzorcích stanoven obsah hydroxymethylfurfuralu.
- Celková antioxidační kapacita byla měřena spektrofotometricky. Průměrné hodnoty se u vzorků medů pohybovaly v rozmezí (12,75-137,49) mmol $\cdot 100\ g^{-1}$. Velmi vysoká hodnota byla nalezena u výrobku mateří kašička v medu, což bylo zřejmě způsobeno deklarovaným přídavkem kyseliny askorbové do výrobku za účelem konzervace. Celkově nejvyšší hodnoty byly naměřeny u propolisu a u mateří kašičky, z medů u medu květového, nejnižší pak u medu akátového.
- Obsah celkových polyfenolů a celkových flavonoidů byl stanoven spektrofotometricky. Průměrný obsah celkových polyfenolů se pohyboval v rozmezí (8,51-61,34) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ a průměrný obsah celkových flavonoidů se pohyboval v rozmezí (0,75-6,04) mg $\cdot 100\ g^{-1}$. Nejnižší hodnoty jak celkových polyfenolů, tak celkových flavonoidů byly naměřeny u medů akátových. Nejvyšší hodnoty pak byly zjištěny u medu medovicového (nejvyšší obsah celkových flavonoidů) a u výrobku mateří kašička v medu (nejvyšší obsah celkových polyfenolů).
- Analýza individuálních flavonoidů byla provedena metodou RP-HPLC se spektrofotometrickou detekcí. Z flavonoidů byly v medu stanoveny koncentrace rutinu, myricetinu, luteolinu, quercetinu, apigeninu, naringeninu a kaempferolu. Obsah rutinu se pohyboval v rozmezí (41,83-585,10) μg $\cdot 100\ g^{-1}$, obsah myricetinu v rozmezí (9,30-313,40) μg $\cdot 100\ g^{-1}$, obsah luteolinu v rozmezí (6,05-171,90) μg $\cdot 100\ g^{-1}$, obsah kvercetinu v rozmezí (3,19-436,37) μg $\cdot 100\ g^{-1}$, obsah apigeninu v rozmezí (2,10-242,66) μg $\cdot 100\ g^{-1}$, obsah kempferolu v rozmezí (0,15-105,12) μg $\cdot 100\ g^{-1}$ a obsah naringeninu v rozmezí (0,07-17,52) mg $\cdot 100\ g^{-1}$. Obecně byly nejvyšší obsahy všech flavonoidů naměřeny u medů květových smíšených. Nejméně flavonoidů pak obsahoval med akátový. Specifické zastoupení flavonoidů vykazoval řepkový med.
- Analýza katechinů byla provedena metodou RP-HPLC se spektrofotometrickou detekcí. Z katechinů byly v medu stanoveny obsahy katechinu, epikatechinu, katechin galátu a epikatechin galátu. Obsah jednotlivých katechinů se u medů pohyboval v rozmezích (5,98-310) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ u katechinu, (17,77-486,29) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ u epikatechinu, (0,18-64,90) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ u katechin galátu a (0,59-140,56) mg $\cdot 100\ g^{-1}$ u epikatechin galátu. Epikatechin galát byl stanoven jen u některých vzorků. Nejvíce katechinu bylo naměřeno ve výrobku mateří kašička v medu, nejvíce epikatechinu bylo naměřeno v medu lipovém a nejvyšší hodnoty katechin galátu byly stanoveny v medu medovicovém. Nejnižší obsah katechinů byl naměřen v medu akátovém.
- Dva druhy medu, med květový a med medovicový, byly kvalitativně zanalyzovány pomocí metody LC/MS. V medu květovém byl detekován kyanidin, luteolin, naringenin, protokatechinová kyselina, kávová kyselina, p-kumarová kyselina a pinocembrin. V medu lesním byl detekován luteolin, naringenin, protokatechinová kyselina, kávová kyselina a kyselina p-kumarová. Není vhodné analyzovat metodou LC/MS majoritní látky, které lze velmi dobře stanovit pouze metodou RP-HPLC. Použití LC/MS by bylo vhodné jako verifikace meření, případně pro stanovení minoritních látek.

- Z lipofilních látek bylo v medu stanoveno nejvíce tokoferolu. Obsah karotenoidů se pohyboval v rozmezích (0,0034-0,49) $\mu g \cdot 100\ g^{-1}$ u luteinu, (0,17-17,90) $\mu g \cdot 100\ g^{-1}$ u α-karotenu a (0,17-6,78) u β-karotenu. Obsah tokoferolu byl stanoven v rozmezí (29,20-8531,17) $\mu g \cdot 100\ g^{-1}$. V nepolárním extraktu medu byla rovněž detekována sloučenina o stejném retenční čase jako standard retinolu, strukturu této látky bude však potřeba verigfikovat metodou LC/MS.
- Obsah kyseliny askorbové byl stanoven titračně. Nejvyšší hodnota byla naměřena ve výrobku mateří kašička v medu, kde byl askorbát přidán jako jako konzervant. Obsah vitaminu C se u medů pohyboval v rozmezí (0,65-4,65) mg ve 100 g. Nejméně kyseliny askorbové bylo stanoveno v akátovém medu, nejvíce pak v medu medovicovém.
- Obsah hydroxymethylfurfuralu byl stanoven metodou RP-HPLC. Stanovené hodnoty se pohybovaly v rozmezí (0,26-4,06) $mg \cdot 100\ g^{-1}$. Jeden výrobek nevyhověl stanovené normě. To mohlo být způsobeno špatnými skladovacími podmínkami výrobku, ztekucením výrobku, případně byl do výrobky přidán invertní sirup. Experimentálně byl zjištěn rovněž vliv teploty na obsah hydroxymethylfurfuralu. Po dvoustupňovém záhřevu se hodnoty pohybovaly v rozmezí (6,63-31,12) $mg \cdot 100\ g^{-1}$.
- Orientačně senzorické analýzy se zúčastnilo 30 hodnotitelů, 14 seniorů a 12 juniorů. Senioři hodnotili lépe med lipový, zatímco junioři med lesní. Spotřebitelský dotazník byl zodpovězen 30 respondenty. 26 z 30 respondentů med konzumuje. Nejčastější způsob konzumace medu je v čaji. Většina dotázaných konzumuje pravidelně 10-100 gramů medu měsíčně a med nakupuje u včelaře. 50 % respondentů preferuje med lesní, především kvůli chuti. 40 % respondetů pak nezáleží na druhu medu. Respondenti měli největší povědomí o medu lesním a lučním, které taky nejvíce konzumují.
- Celková hodnota biologicky aktivních látek byla o málo vyšší u medů jednodruhových než u medů smíšených. Květové medy (smíšené) obsahovaly celkově o něco více biologicky aktivních látek než medy lesní, což bude způsobeno skutečností, že nektar obsahuje více biologicky aktivních látek než medovice.
- Poněkud více biologicky aktivních látek než u medů květových (smíšených) bylo změřeno u výrobků obsahujících propolis či mateří kašičku. Důvodem je fakt, že samotný propolis i mateří kašička vykazovaly velmi vysoké hodnoty biologicky aktivních látek.
- Řepkový med pastovaný obsahoval nepatrně více biologicky aktivních látek než med řepkový bez úpravy. Je tedy zřejmé, že během pastování nedochází k zásadním ztrátám biologicky aktivních látek. Šlehaný květový med z roku 2006 obsahoval více biologicky aktivních látek než týž med z roku 2007.
- Z výsledků provedených analýz je patrné, že pouze na základě zastoupení analyzovaných složek nelze jednoznačně říci, zda je „zdravější“ med květový či medovicový. Podle dosažených výsledků má daleko zásadnější vliv na kvalitu medu způsob zpracování, skladování a výsledné úpravy, než samotný původ medu. Jednoznačně vyšší hodnoty biologicky aktivních látek byly stanoveny v medech získaných přímo od včelaře, což svědčí zřejmě o profesionálním a osobním přístupu k produktu. Jako kvalitní se jevily rovněž některé medy zakoupené v prodejnách zdravé výživy, ale samotný tento fakt ještě neznamená, že produkt bude kvalitnější nežli z běžné obchodní sítě. Nejvíce obsahových látek bylo naměřeno ve vzácných včelích produktech, jako je mateří kašička a propolis.

7. Literatura

1 Veselý, V. a kol.: *Včelařství*. 2. vyd. Praha: Nakladatelství Brázda, 2003. 272 s. ISBN 80-209-0320-8

2 Tempír, Z.: Začátky sdružování včelařů. *Včelařství*, 2002, roč. 55, č. 1, s. 2 (obálka). ISSN 0042-2924

3 Krabec, J.: Medu jíme poměrně málo, zřejmě na něj moc nemyslíme. *Včelařství*, 2005, roč. 58, č. 10, s. 3-4 (příloha). ISSN 0042-2924

4 Hanousek, L.: *Začínáme včelařit*. 1. vyd. Praha: Zemědělské nakladatelství Brázda, 1991. 128 s. ISBN 80-209-0194-9

5 Švamber, V.: Základy včelařství pro včelaře i nevčelaře. *Včelařství*, 2002, roč. 55, č. 10, s. 1-2 (příloha). ISSN 0042-2924

6 Texl, P.: Leden je počátkem. *Včelařství*, 2006, roč. 59, č. 1, s. 16. ISSN 0042-2924

7 Ptáček, V.: Vliv vlhkosti vzduchu na kvalitu medu. *Včelařství*, 2003, roč. 56, č.10, s. 237. ISSN 0042-2924

8 Vamberk, V.: Výrobní praxe ve včelařství. *Včelařství*, 2004, roč. 57, č. 5, s. 130. ISSN 0042-2924

9 Texl, P.: Pastování medu. *Včelařství*, 2003, roč. 56, č. 7, s. 168. ISSN 0042-2924

10 Háslbachová, H.: Medovice a zdroje její snůšky. *Včelařství*, 2004, roč. 57, č. 9, s. 235,237. ISSN 0042-2924

11 Boháč, J.: Co má vliv na obsah vody? *Včelařství*, 2002, roč. 55, č. 10, s. 172 ISSN 0042-2924

12 Piškulová, J.: Soubor medů Akát 2001. *Včelařství*, 2002, roč. 55, č. 1, s. 8. ISSN 0042-2924

13 Piškulová, J.: Organické kyseliny v medu. *Včelařství*, 2003, roč. 56, č. 11, s. 286. ISSN 0042-2924

14 Vyhláška č. 76/2003 Sb. ze dne 6. března 2003, která stanovuje požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony, ve znění vyhlášky č. 43/2005 Sb. Vyhláška nabyla účinnosti dne 1. května 2004.

15 Cocker LJ. The enyzmic production of acid honey. *J Sci Food Agric* 1951;2:411

16 Pereyra Gonzales, A., Burin, L., and Pilar Buera, M. (1999). Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food Research International*, 32, 185-191.

17 Gheldof, N., and Engeseth, N.J. (2002). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3050-3055.

18 Ferreres, F., Tomas-Barberan, F.A., Gil, M.I., and Tomas-Lorente, F. (1991). An HPLC technique for flavonoid analysis in honey. *Journal of the Science Food Agriculture*, 56, 49-56.

19 Sabatier, S., Amiot, M.J., Tacchini, M., and Aubert, S. (1992). Identification of flavonoids in sunflower honey. *Journal of Food Science*, 57 (3), 773-777.

20 Andrade, P., Ferreres, F., Gil, M.I., and Tomas-Barberan, F.A. (1997). Determination of phenolic compounds in honeys with different floral origin by capillary zone electrophoresis. *Food Chemistry*, 60 (1), 79-84.

21 Askar, A.: *Fluessiges Obst*. 51 (1984) 564.

22 Bogdanov, S., Rieder, K., Ruegg, M.: *Apidologie* 18 (1987) 267.
23 López, B., Latorre, M. J., Fernández, M. I., Garcia, M. A., Garcïa, S., Herrero, C.: *Food Chem*. 55 (1996) 281.
24 Fallico, B., Zappalá, M., Arena, E., Verzera, A.: *Food Chem*. 85 (2004) 305.
25 Frgalová, K.: Rezidua antibiotik v medu. *Včelařství*, 2004, roč. 57, č. 6, s. 145. ISSN 0042-2924
26 Švamberk, V.: Druhy medu na českém a evropském trhu. *Včelařství*, 2003, roč. 56, č. 8, s. 184-189. ISSN 0042-2924
27 Kamler, F., Titěra, D., Veselý, V.: *Získávání a zpracování včelích produktů*. Institut vzdělávání a výchovy Mze, Praha, 1999.
28 Marcucci, M. C.: *Apidologie* 26 (1995) 83.
29 Pietta et al. Fitoterapia 73 Suppl. 1 (2002) S7-S20.
30 Marcucci, M.C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83-99.
31 Ghisalberti, E.: *Bee world* 60 (1979) 59.
32 Budrock, G. A.: *Food Chem Toxicol* 36 (1998) 347.
33 Koo, H., Rosalen, P. L., Cury, J.A., Park, Y.K., Ikegaku, M., Sattler, A.: Caries res 33 (1999) 393.
34 Postmes, T., van den Bogaard, A. E., and Hazen, M. (1993). Honey for wounds ulcers and skin graft preservation. *Lancet*, 341, 756-757
35 Hertog, M.G.L., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B., and Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342, 1007-1011
36 Ames, B.N., Shigenaga, M.K., and Hagen, T.M. (1993). Oxidant, antioxidant, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 7915-7922
37 Gutteridge, J.M.C., and Halliwell, B. (1994). *Free radicals and antioxidant in aging and diseases* (pp. 111-135). Oxford, UK: Oxford University Press
38 Ptáček V.: Hodnota medu pro výživu člověka. *Včelařství*, 2003, roč. 56, č. 8, s. 181. ISSN 0042-2924
39 Pokorný, J., Yanishlieva, N., Gordon, M.: Antioxidant in Food, *Woodhead Publishing*, 2001. 380 p. ISBN 978-1-85573-463-0
40 Velíšek, J.: *Chemie potravin 3*, 1. vyd. Ossis Tábor, 1999. 368 S. ISBN 80-902391-5-3
41 Weedon, BCL. 1971. Occurrence. In Carotenoids. Ed. Isler O. Birkhäuser Verlag. Basel, Switzerland, Chap. 2, 29-59
42 Velíšek J.: *Chemie potravin 2*. 1.vyd. Ossis Tábor, 1999. 368 S. ISBN 80-903291-5-3
43 Bartley G.E. and Scolnik P.A. 1995. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and humen health. *Plant cell* 7: 1027-1038
44 Frank HA and Cogdell RJ. 1993. The photochemistry and function of carotenoids in photosynthesis. *In Carotenoids in photosynthesis*. Chap.8, 252-326
45 Britton, G. 1998. Overview of carotenoid biosynthesis. *In Carotenoids Volume 3*: Biosynthesis. Birkhäuser, Basel
46 Burton, GW, Joyce, A and Ingold, KU. First proof that vitamin E is the major lipid-soluble chain-breaking antioxidant in human blood plasma, *Lancet*, 1983, 2, 327-8

47 Hurst, D.T.: Recent Developments in the Study of Nonenzymic Browning and Its Inhibition by Sulphur Dioxide, *BFMIRA Scientific and Technical Surveys*, No. 75, Leatherhead, England, 1972
48 Čermáková, L., Feltl, L., Němcová, I., Němec, I., Pacáková, V., Štulík, K.: *Analytická chemie 2*. 1. vyd., SNTL – nakladatelství technické literatury, Praha, 1980. 272 s.
49 Klouda P.: *Moderní analytické metody*, nakladatelství Klouda, Ostrava 1996
50 Pokorný, J., Valentová, H., Panovská, Z.: *Senzorická analýza potravin*. 1. vyd. VŠCHT Praha. 1998. 95 s. ISBN 80-7080-329-0
51 Nozal, M.J. et al.: *J. Chromatogr*. A 917 (2001) 95-103
52 Trčková, M.: *Diplomová práce*, VUT, Brno 2008
53 Skinner, M., Jones, K.E. and Dunn, B.P.: Undetectability of vitamin A in bee brood. *Editions scientifiques*. France, 1995. 407-414 p.

8. SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 – Orientační senzorický dotazník
Příloha 2 – Senzorický/spotřebitelský dotazník
Příloha 3 – LC chromatogram analýzy flavonoidů v lučním medu
Příloha 4 – LC chromatogram analýzy flavonoidů v medu z ostropestřce mariánského
Příloha 5 – LC chromatogram analýzy flavonoidů v květovém medu
Příloha 6 – LC chromatogram analýzy katechinů v akátovém medu
Příloha 7 – LC chromatogram stanovení hydroxymethylfurfuralu před záhřevem
Příloha 8 – LC chromatogram stanovení hydroxymethylfurfuralu po zahřátí

9. PŘÍLOHY

Orientační senzorický dotazník – čaje s medem

Hodnotitel: Věk:
Pohlaví: Muž Žena
Kuřák: Ano Ne

1. Poznávání medů.
V kelímcích máte dva vzorky medu; pokuste se určit druh.

Med 1…….

Med 2……..

2. Který vzorek medu Vám lépe chutnal:……

3. Senzorické hodnocení čaje s medem
Do 100 ml vybraného čaje (jeden druh ovocného a jeden druh bylinkového) přidejte 1 lžičku medu 1 nebo medu 2, po rozpuštění ochutnejte a přiřaďte hodnocení vybraného čaje s medem podle přiložené stupnice.

Stupně hodnocení:
1. vynikající
2. velmi dobrá
3. dobrá
4. dostačující
5. nedostačující

Příloha 1. *Orientační senzorický dotazník*

Senzorický/spotřebitelský dotazník - med

Hodnotitel: Věk:
Pohlaví: Muž ❒ Žena ❒
Kuřák: Ano ❒ Ne ❒

A. Jíte med? Pokud ano, jaký druh preferujete a v jaké formě jej nejčastěji konzumujete (samotný, do čaje, jako součást potravin…)?

B. Myslíte si, že je některý druh medu zdravější než ostatní a proč?

C. Jaké množství medu přibližně zkonzumujete? (označte příslušnou možnost; orientační odhad – 1 čajová lžička = 5 g; malé balení medu = 100 g)

- ❒ více než 10 g denně
- ❒ 5 -10 g denně
- ❒ 10 – 100 g týdně
- ❒ více než 100 g měsíčně
- ❒ 10 – 100 g měsíčně
- ❒ cca 100 g za 6 měsíců
- ❒ med vůbec nejím

D. Kupujete si med v běžné obchodní síti nebo ve specializovaných prodejnách? (Označte vhodnou možnost; i více)

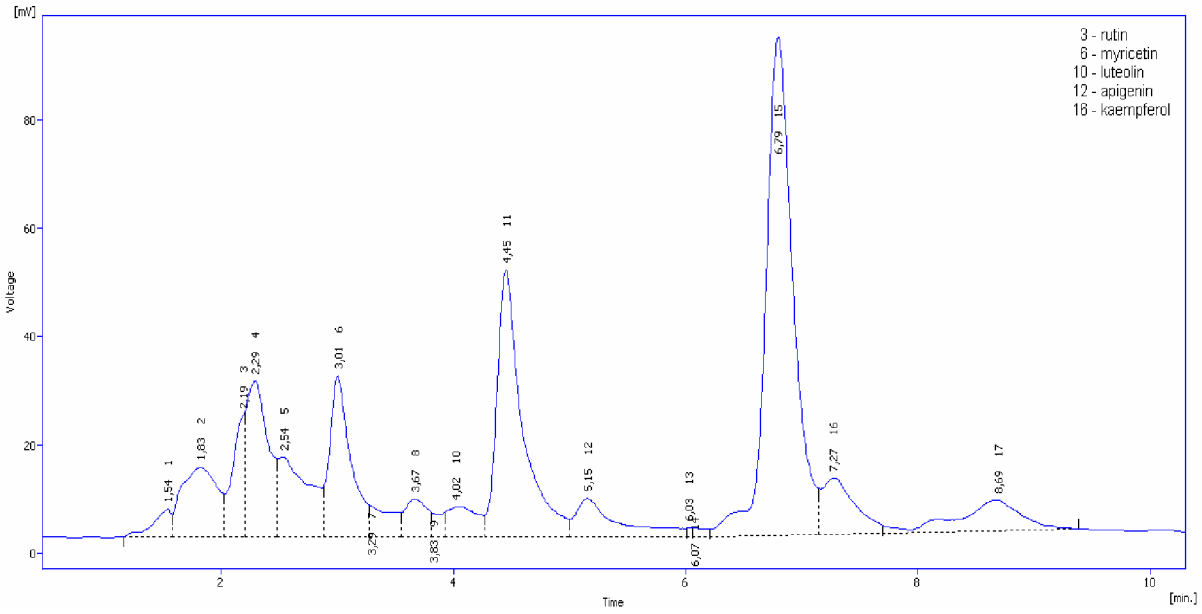
- ❒ v běžné obchodní síti
- ❒ v prodejnách zdravé výživy
- ❒ ve specializovaných včelařských prodejnách
- ❒ přímo u včelaře

E. Preferujete světlý (květový) nebo tmavý (lesní) med a proč?

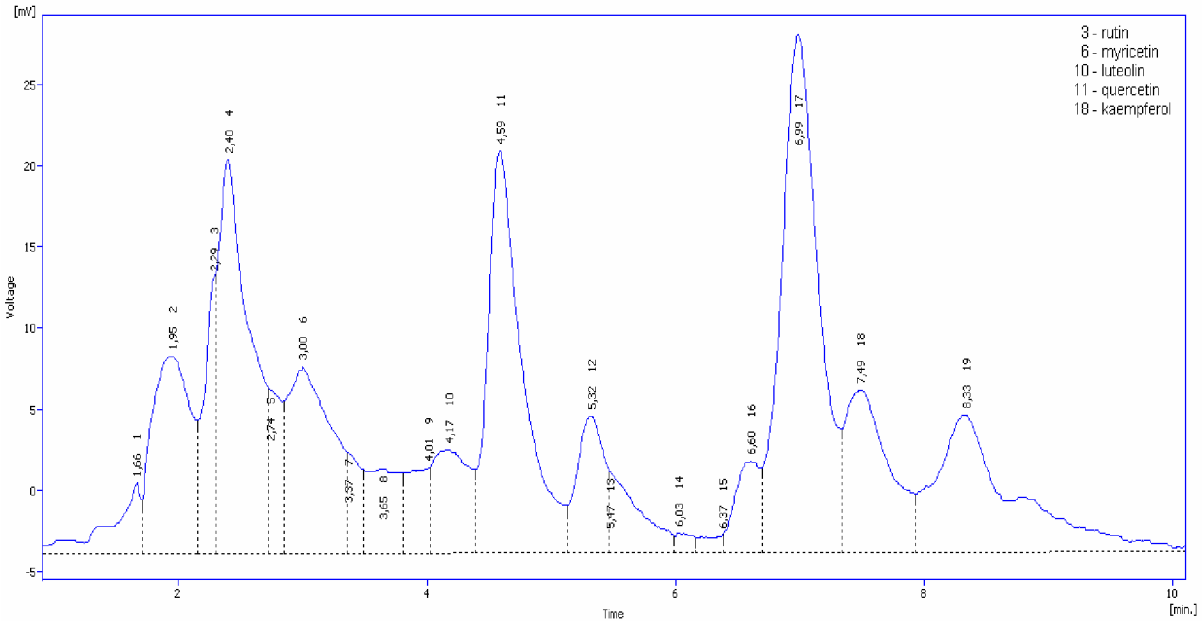
F. K uvedeným druhům medu uveďte, zda jste o nich někdy slyšel/slyšela (1.sloupec) a zda je příležitostně či pravidelně jíte (2. sloupec)

Med	**hodnocení**		**Med**	**hodnocení**	
Lesní	❒	❒	**šlehaný**	❒	❒
Luční	❒	❒	**s kašičkou**	❒	❒
Akátový	❒	❒	**tropický**	❒	❒
Pampeliškový	❒	❒	**s bylinnými extrakty**	❒	❒

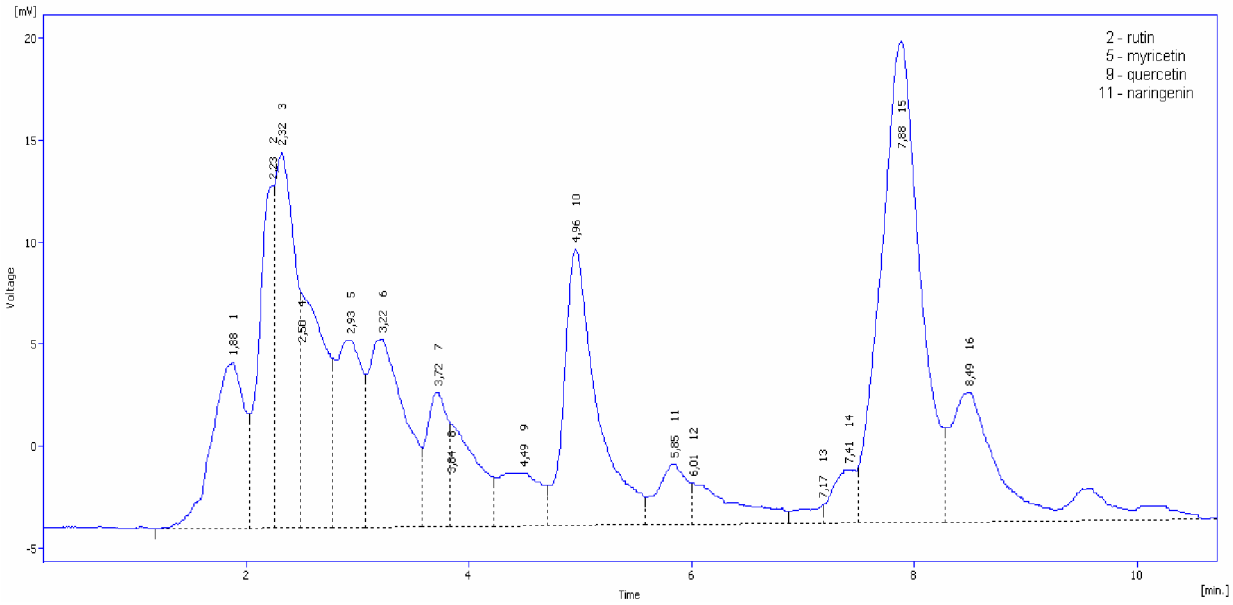
Příloha 2. *Senzorický/spotřebitelský dotazník*



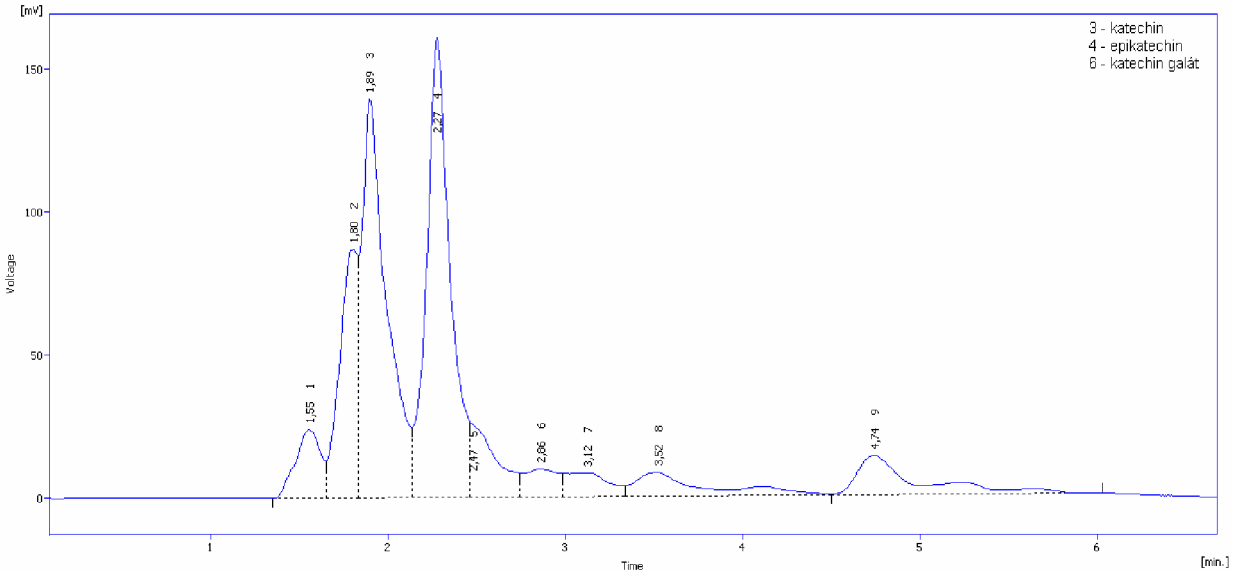
Příloha 3. *Analýza flavonoidů v lučním medu*



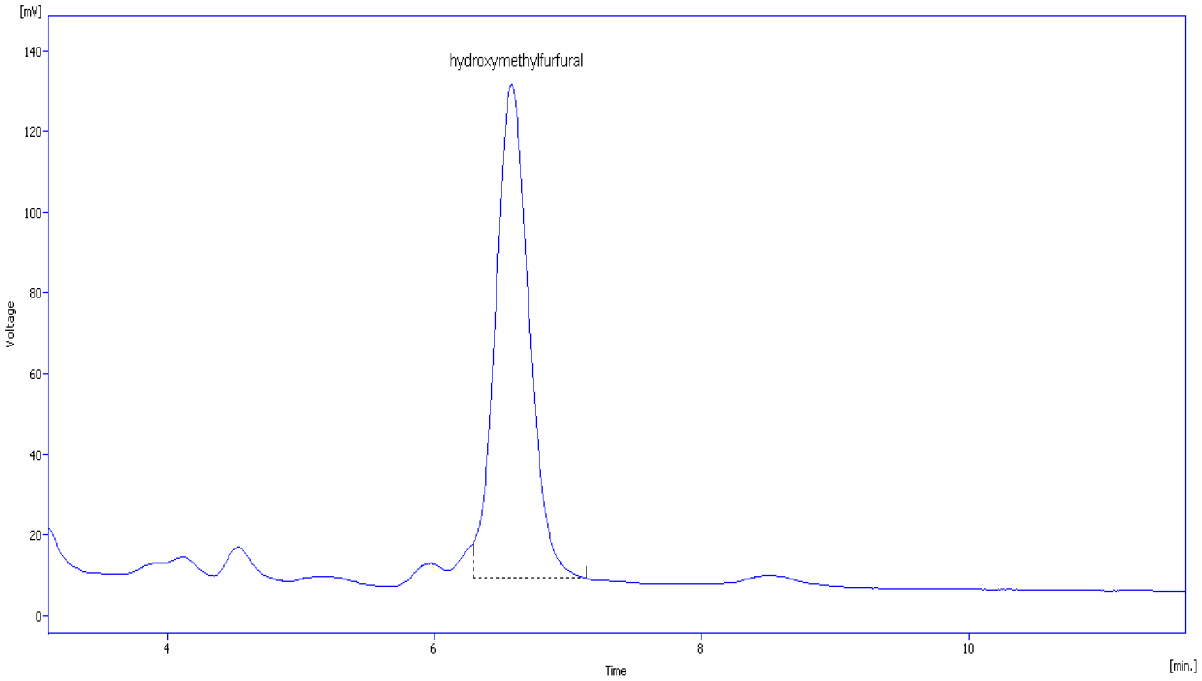
Příloha 4. *Analýza flavonoidů v medu z ostropestřce mariánského*



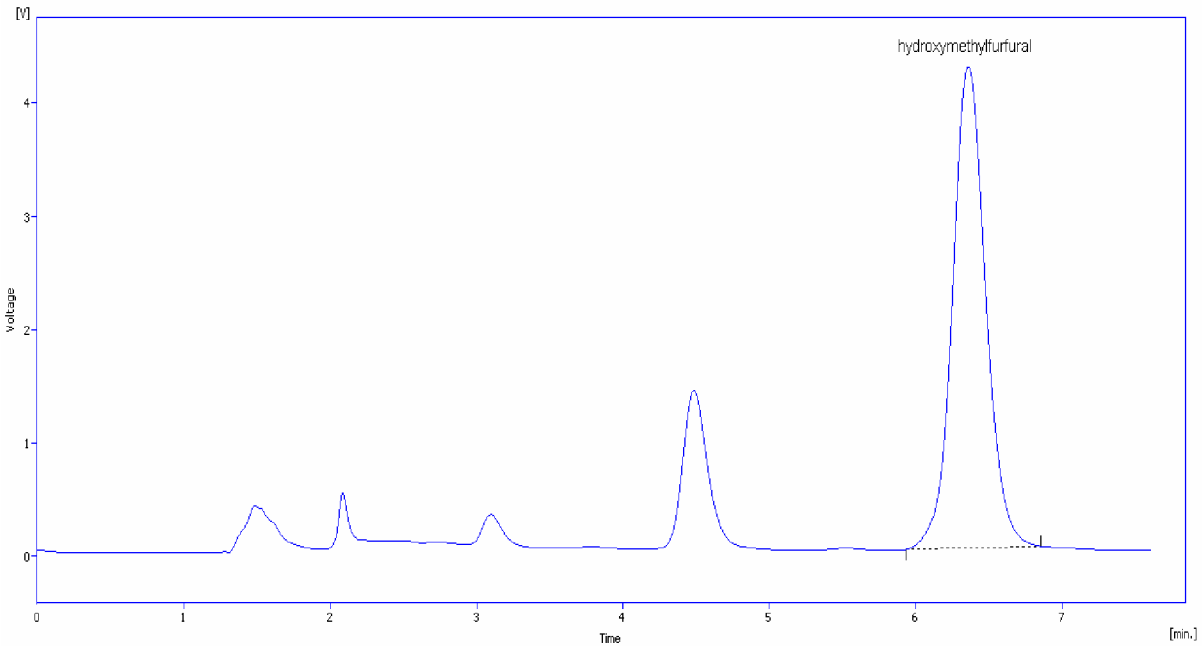
Příloha 5. *Analýza flavonoidů v květovém medu*



Příloha 6. *Analýza katechinů v akátovém medu*



Příloha 7. *Analýza HMF před záhřevem*



Příloha 8. *Analýza HMF po zahřátí*