



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**VYUŽITÍ ANALYTICKÝCH METOD A CHEMOMETRIE
K OVĚŘENÍ GEOGRAFICKÉ AUTENTICITY MEDU**

USE OF ANALYTICAL METHODS AND CHEMOMETRY TO VERIFY THE GEOGRAPHICAL
AUTHENTICITY OF HONEY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Lucie Marková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1706/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Lucie Marková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Využití analytických metod a chemometrie k ověření geografické autenticity medu

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracování literární rešerše k tématu BP
2. Analýza vzorků medu pomocí spektroskopických a separačních metod
3. Zpracování naměřených dat s využitím statistických metod
4. Zhodnocení dosažených výsledků

Termín odevzdání bakalářské práce: 30.7.2021:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Lucie Marková
student(ka)

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je ve své teoretické části zaměřená na proces výroby medu, jeho složení a způsoby jeho falšování, či nedodržování požadavků na kvalitu. Experimentální část pak popisuje metody, pomocí kterých byly shromážděné vzorky zkoumány. Byly sledovány tyto parametry: obsah vybraných sacharidů a organických kyselin, prvkové složení, stanovení sušiny, titrační kyselost a vodivost. Naměřená data byla využita pro vyhodnocení, zda se české medy svým složením nějak liší od zahraničních. Výsledek statistické analýzy ukázal, že obsah vápníku, mědi a glukózy se v medech z ČR a ze zahraničí významně lišil a tyto parametry mohou být využity pro posuzování geografického původu medu. Celkové vyhodnocení však vedlo k nedostatečnému rozlišení vlastností tuzemských a zahraničních medů. Účinnost rozlišení by mohla být zvýšena analýzou více vzorků a stanovením více parametrů. Nakonec byly některé vybrané parametry diskutovány, zda výrobce dodržel požadavky na kvalitu medu vyplývající z platné legislativy.

ABSTRACT

The theoretical part of this bachelor thesis is focused on the process of producing the honey by bees, its composition and means of its adulteration or ways to detect substandard products. The experimental part describes methods, which were used to observe the samples. Saccharides, organic acids, mineral content, the amount of dry matter, titration acidity and conductivity were measured. Obtained data were used for differentiation the Czech and foreign honey. The result of the statistical analysis shows the calcium, copper and glucose content are suitable parameters to differentiate the Czech honey from that externals. These parameters could be used to distinguish the two different geographical origin of honey. Nevertheless, the total evaluation seems to be insufficient for differentiation these two groups. The efficiency could be increased by the including more samples for analysis, or measuring more parameters. Finally, some of the parameters were used for quality control of honey.

KLÍČOVÁ SLOVA

med, autenticita, elementární analýza, vodivost, organické kyseliny, PCA

KEY WORDS

honey, authenticity, mineral content, conductivity, organic acids, PCA

MARKOVÁ, Lucie. *Využití analytických metod a chemometrie k ověření geografické authenticity medu*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131389>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Pavel Diviš.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucímu bakalářské práce, panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. za vstřícný přístup, odborné vedení a poskytování veškerých potřebných informací ohledně práce. Zároveň bych ráda poděkovala panu Ing. Jakubu Křikalovi za cenné rady jak k prováděným experimentům, tak i ohledně psaní samotné práce. Dále bych chtěla velmi poděkovat panu Ing. Jaromíru Pořízkovi za pomoc při zpracování dat.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	HISTORIE MEDU	8
2.2	PROCES VZNIKU MEDU	8
2.2.1	Původ medu	8
2.2.2	Sběr nektaru	9
2.2.3	Vznik medu	9
2.2.4	Získávání medu	10
2.3	ČLENĚNÍ MEDU	10
2.3.1	Členění podle producenta medu	11
2.3.2	Členění podle rostlinného původu	11
2.3.3	Členění podle způsobu získání, nebo obchodní úpravy	12
2.4	SLOŽENÍ MEDU	12
2.4.1	Voda	13
2.4.2	Cukry	14
2.4.3	Proteiny	14
2.4.4	Aminokyseliny	15
2.4.5	Enzymy	15
2.4.6	Organické kyseliny	16
2.4.7	Minerální látky	16
2.4.8	Vitaminy	17
2.4.9	Těkavé látky	17
2.4.10	Pigmenty	17
2.4.11	Lipidy	18
2.5	FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI MEDU	18
2.5.1	Barva	18
2.5.2	Elektrická vodivost	19
2.5.3	Hustota	19
2.5.4	Hygroskopicitá	19
2.5.5	Viskozita a reologické vlastnosti	19
2.5.6	Optická rotace	19
2.5.7	Kyselost	19
2.6	KONTROLA KVALITY A FALŠOVÁNÍ MEDU	20
2.6.1	Kvalita medu	20
2.6.2	Botanický původ	22
2.6.3	Geografický původ	23
2.6.4	Falšování medu	24
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	26
3.1	POPIS VZORKŮ:	26
3.2	LABORATORNÍ VYBAVENÍ A PŘÍSTROJE	26
3.3	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	28
3.4	ANALÝZA VZORKŮ MEDU	29
3.4.1	Stanovení sacharidů glukózy a fruktózy metodou HPLC-ELSD	29

3.4.2	Stanovení obsahu organických kyselin metodou IC	29
3.4.3	Stanovení obsahu vybraných prvků metodou ICP-OES	29
3.4.4	Refraktometrické stanovení sušiny	31
3.4.5	Stanovení kyselosti medu	31
3.4.6	Měření vodivosti	31
4	VÝSLEDKY A DISKUSE	32
4.1	OBSAH GLUKÓZY A FRUKTÓZY	32
4.2	OBSAH ORGANICKÝCH KYSELIN	33
4.3	PRVKOVÁ ANALÝZA.....	34
4.4	REFRAKTOMETRICKÉ STANOVENÍ SUŠINY	37
4.5	KYSELOST MEDU	38
4.6	VODIVOST MEDU	39
4.7	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ	40
5	ZÁVĚR.....	44
6	SEZNAM ZDROJŮ:.....	45

1 ÚVOD

Med je všeobecně známá a běžně dostupná potravina. Podle vyhlášky č. 76/2003 Sb., je med definován jako potravina přírodního sacharidového charakteru, složená převážně z glukózy, fruktózy, organických kyselin, enzymů a pevných částic zachycených při sběru sladkých šťáv květů rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice), nebo na živých částech rostlin včelami (*Apis mellifera*), které ho sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech [1].

Velký význam, který je medu připisován, není způsoben pouze jeho skvělou nutriční hodnotou, ale zároveň jeho tvůrci, včely, jsou nepostradatelnou součástí přírodních ekosystémů po celém světě. Právě ony se z velké části podílejí na opylení kvetoucích rostlin, což je v přírodě klíčový proces. Výrazný pokles počtu včel a obecně pokles hmyzu by měl fatální následky v každém ekosystému [2].

Problém nastává při určování, o jaký typ medu se jedná. U tohoto sladkého produktu sledujeme botanický a geografický původ, nebo lze medy rozdělit podle způsobu jeho získání, přičemž přirozená snaha o co nejvyšší finanční zisky za med vede k tendencím ho falšovat, a to buď umělým navyšováním jeho produkce, nebo podvody vedoucími k jeho zařazení do výše oceňované skupiny. Existuje mnoho technik, jak zfalšovat med, a ne všechny jsou snadno odhalitelné. Jsou hledány stále nové metody, které by spolehlivě sloužily k odhalení nekvalitního, nebo chybně označeného medu.

Tato bakalářská práce se zabývá analýzou vzorků českého a zahraničního medu, přičemž cílem této práce bylo ověření, zda je možné na základě vybraných sledovaných parametrů a při využití chemometrických metod od sebe navzájem tyto skupiny medů odlišit.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Historie medu

Přesné datum, kdy lidé začali med včelám odebírat není známo, ale již odpradávná byl využíván jako sladidlo i jako prostředek ke konzervaci potravin. Nejstarším záznamem o shromažďování medu je pravděpodobně jeskynní malba z Pavoučí jeskyně nedaleko španělské Valencie, která byla objevena teprve v roce 1919. Odhaduje se, že vznikla před 10-15 tisíci lety [2]. Nicméně nejstarší nalezené fosilie včel medonosných jsou datovány už do doby před 150 miliony lety [3].

Původně byl zdrojem medu pouze a jedině jeho sběr od divokých včel. Bylo to však velmi zdoluhavé, namáhavé a nebezpečné, proto se v pozdějších dobách naučili lidé včely chovat. Za první civilizaci, která se stala průkopníky včelaření, se považují Kréťané a Egypťané. Hliněné roury, používané jako úly, začali používat již 2 400 let před Kristem. Dokonce svá včelstva údajně převáželi pomocí lodí po řece Nilu na místa, kde se v danou dobu nacházelo nejvíce rostlin v rozkvětu. Včely můžeme pozorovat také vyobrazené na hieroglyfech. Egypťané považovali včely často za symbol vlády faraonů. Podle egyptské legendy jsou včely oživé slzy boha slunce Ra. Med byl neobyčejně vzácný a drahý a byl určen jen vysoce postaveným. Byl také důležitou součástí pohřebního kultu, vtíral se do mrtvých těl pro jeho konzervační účinky [2].

Také v Řecku má med velmi dlouhou historii. Med byl hojně využíván v kuchyni i pro své léčivé účinky. Například v kombinaci se sýrem se podával jako dar bohům. Dodnes se dochovalo mnoho národních pokrmů, které obsahují med [3]. I zde vznikla zajímavá teorie o vzniku medu. Existovalo přesvědčení, že med padá z nebe na květiny jako déšť a včely ho sají. Aristoteles se zajímal přednostně o včely než o jejich produkt. Ve svých myšlenkách dospěl pryč k závěru, že včelí společenstvo je obrazem dokonale organizovaného státu [2].

V období nastolení křesťanství hrály včely také významnou roli. Včelí vosk se intenzivně využíval pro výrobu svíček do kostelů [3]. Legenda o biskupovi Ambrožovi vypráví, že když byl sv. Ambrož ještě malý, usedl mu na obličej včelí roj a začal ho krmit přímo do úst medem, což bylo považováno za boží znamení a předzvěst slavné budoucnosti [2]. Význam medu nepatrně začal upadat až v době renesance, kdy ho předčil levnější cukr [3].

2.2 Proces vzniku medu

Název této kapitoly je poněkud zavádějící. Slovo vznik by mohlo evokovat, že med je vyráběn lidmi a vychází jako produkt z nějaké továrny. Je obecně známo, že med vzniká jako produkt včel medonosných, a několika dalších jiných druhů hmyzu. Včely však nevytváří med pro lidi. Jeho primární funkcí je být včelám zdrojem obživy. Vytváří si ho jako zásobní látku jak pro okamžitou spotřebu, tak i pro pozdější dobu, například pro zimní období.

2.2.1 Původ medu

Na začátku cesty ke vzniku medu je sluneční energie. Je pohlcována listy zelených rostlin, které ji využívají k procesu tvorby organických látek nazvaného fotosyntéza. Rostliny se mimo jiné ve svém životním cyklu také potřebují rozmnožovat. Je třeba přenést pyl z jednoho jedince na druhého. Některé k tomu využívají vítr, jiné třeba hmyz. K nalákání hmyzu rostliny používají barvy květů, vůni, ale také sladký nektar, který se stává energetickou „odměnou“ pro opylovače. Je to směs rozpuštěných cukrů, ze kterých lze získat více energie než té, kterou musel opylovač vynaložit, aby rostlinu navštívil [4].

2.2.1.1 Nektar

Složení nektaru se liší od místa, kde se rostlina nachází, od druhu hmyzu, kterým je rostlina opylována a dalšími mnoha aspekty. Důležitou a převládající složkou nektaru je voda. Její obsah v nektaru úzce souvisí s podnebními podmínkami, které vládou oblasti, kde se rostlina nachází. Tvorbou nektaru totiž rostlina přichází o část vody, ne však o tak velkou, o jakou přichází například evaporací, ale přesto v oblastech s nedostatkem vody dochází k tvorbě menších, nebo méně četných květů s nižším obsahem nektaru. [5].

Obsah vody souvisí s obsahem sušiny, která je tvořena převážně cukry sacharózou, glukózou a fruktózou. Sušina se obvykle stanovuje pomocí refraktometru. Liší se opět u různých druhů rostlin. Jedním z extrémních případů je rostlina aloe (*Aloe castanea*), která ve svém nektaru obsahuje méně než 10 % cukrů. Opačným protikladem může být například kmín (*Carum carvi*), který má nektar o koncentraci v průměru 66,5 %. Obsah cukrů může ale stejně tak velmi kolísat v rámci jednoho druhu rostliny. Koncentrace cukru v nektaru *Clintonia borealis* se pohybuje mezi 4–72 %. Rozdíly v hodnotách jsou způsobeny manipulací s nektarem. Záleží, zda byl v daný moment rostlinou zrovna vyloučen, nebo jestli byla právě jeho část odebrána konzumentem [5].

Také tvar květu souvisí se složením nektaru. Existují různé studie popisující složení nektaru v závislosti na tvaru květu. Obecně platí, že tubulární hluboké květy mají tendenci tvořit nektar převážně ze sacharózy, zatímco mělké květy obsahují obvykle nektar více bohatý na monosacharidy. Zřejmě to souvisí s tím, že různé cukry evaporují různou rychlostí [5].

V nektaru dominují tři cukry: sacharóza, fruktóza a glukóza. Ostatní cukry se vyskytují ve stopových množstvích. Mezi ty méně časté se řadí manóza, arabinóza, xylóza, z disacharidů maltóza nebo melibióza a také malé v malém množství oligosacharidy rafinóza, nebo melezitóza. Některé trisacharidy pak bývají typičtější pro medovici. V závislosti na druhu rostliny pak mohou převažovat další různé cukry. Nektar může obsahovat kromě cukrů řadu dalších významných látek, například sorbitol [5].

2.2.2 Sběr nektaru

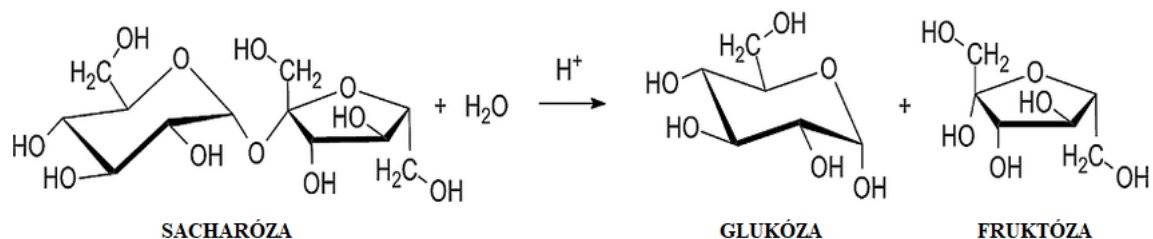
Pro sběr nektaru jsou ze včelího společenstva určeny takzvané létavky. Na přenos mají na těle speciální útvar zvaný medný váček (*proventriculus*). Je to rozšířená část jícnu, kam ukládají nasbíraný nektar. Kapacita váčku je kolem 50 μ l. Naplněný tak může obsahovat 40 mg nektaru, což představuje zhruba 50 % hmotnosti včely [6]. Na jeden litr doneseného nektaru je tak třeba 20 tisíc takových dodávek. Objem nasbíraného medu lze sledovat také přírůstem hmotnosti úlu [4].

Po návratu do úlu létavka předá nektar některé z jiných úlových včel, nebo jej rovnou uloží do buňky plástu. Surový nektar však není trvanlivý, a proto je třeba ho dále zpracovat na výsledný produkt, kterým je med [4].

2.2.3 Vznik medu

Nektar je potravina s vysokým obsahem vody s rozpuštěnými cukr. Je ideálním médiem pro mikroorganismy. Pokud by byl ponechán v původní podobě, do několika dnů by podlehl zkvašení všudypřítomnými kvasinkami. Proto nektar včely přetvářejí na med, který je díky nízkému obsahu vody nevhodný pro rozmnožování mikroorganismů, a tím pádem téměř neomezeně skladovatelný. Je dále stabilizován přírodními látkami, jako jsou například různé enzymy a organické kyseliny. Tyto látky se do medu dostávají už v průběhu sběru nektaru. Během přenosu medu v medném váčku se do nektaru přidávají výměšky včelích žláz, které vykazují vysokou enzymatickou aktivitu. Stejně tak je nektar obohacován včelími enzymy i předáváním mezi včelami a přemísťováním nektaru z buňky do buňky na včelím plástu [4].

Přidané enzymy ze slinných žláz katalyzují různé biochemické reakce, především rozklad některých složitějších cukrů na jednodušší. Procesem zvaným hydrolýza jsou štěpeny vazby mezi monosacharidovými jednotkami složitějších cukrů. Vzniká tak směs glukózy a fruktózy (Obr. 1) [7].



Obrázek 1 Hydrolytické štěpení sacharózy enzymem invertáza [7]

Enzymy současně štěpí také různé škroby a další proteiny, zároveň s tím vzrůstá celková kyselost medu. Výsledky enzymatické činnosti zahrnují také pokles obsahu vody. Hotový med, který je již určen k dlouhodobému uskladnění včely zavíčkují v buňce plástu pomocí vosku [4].

Voda je zároveň odčerpávána díky odpařování. Včely dokážou dokonale klimatizovat své obydlí. Aktivní výměna vzduchu, využití velkého povrchu a úprava teploty napomáhají odpařování vody z otevřených buněk obsahujících nektar [4]. V průběhu zpracování zároveň vytváří úlové včely v nektaru malé vzduchové bublinky, díky kterým se zvětšuje povrch, odkud se voda může odpařovat [6].

2.2.4 Získávání medu

Proces získání medu od včel se také někdy nazývá medobraní. S původním sběrem medu od divokých včel má dnešní moderní včelařství málo společného. Med se sbíral i s celými plásty a poté se z nich získával rozlámáním a přeceděním. Dnes je ale med odebírán šetrnějšími metodami. Průlom v chovu včel přišel v roce 1865, kdy moravský rodák a vysloužilý major c.k. armády František Hruschka, přišel s nápadem získávat med z plástů pomocí odstředivé síly v takzvaném medometu. Je to zpravidla válcová nádoba, do které se buď to podle vodorovné, nebo podle svislé osy umístí jednotlivé rámkové plásty s narušenými víčky buněk. Odvíčkování se provádí širokou vidličkou, nebo pomocí speciálního nože. Koš s umístěnými rámkami se otáčí a med je odstředivou silou vyháněn z buněk. Vytočený med v sobě ale obsahuje kousky vosku z narušených víček a množství vzduchových bublin. Následuje proto proces vyčeření a někdy také filtrace přes hrubé síto [4].

Správný čas, kdy je med v plástech hotový a může se stáčet, se kontroluje odhadem podle hustoty, nebo se změří jeho index lomu pomocí ručního refraktometru, kterým se stanoví obsah sušiny. Zralý med by měl obsahovat nad 80 % sušiny. [4].

2.3 Členění medu

Existuje několik kritérií, podle kterých lze med kategorizovat a zařadit do určitých skupin. Nejčastěji se používá dělení podle druhu včel, podle botanického a geografického původu, nebo způsobu získání a následného zpracování medu [4].

Členění do skupin má svůj význam pro označování medu na etiketách obalů a je také upravováno legislativou. Producent je ze zákona povinen označit med podle jeho původu a podle způsobu jeho získání. U medů vytočených, lisovaných, nebo vykapávaných nemusí být tento způsob získání uveden a stačí produkt označit jen jako med. Na uvážení producenta dále

může být na obalu uveden konkrétní region, odkud med pochází, botanický původ, nebo další specifika, která medu přidávají na kvalitě [1].

2.3.1 Členění podle producenta medu

Existuje více druhů hmyzu, které jsou schopny produkce medu, mezi ty nejvýznamnější se však řadí včely. V Evropě se vyskytuje pouze jediný druh, kterým je včela medonosná (*Apis mellifera*). Ve světě jsou pak známé různé další druhy včel, například v Indii se vyskytuje druh včely indické (*Apis cerana*), nebo v Jižní Americe je známý poněkud kuriózní druh bezžihadlové včely rodu *Trigona* [4, 6].

2.3.2 Členění podle rostlinného původu

Základní rozdělení medu na úrovni rostlinného původu je med nektarový, neboli květový a medovicový, neboli lesní. Zatímco nektarový med, jak už název napovídá, pochází z nektaru produkovaného rostlinami, medovicové medy mají svůj původ v tekutině zvané medovice. Existují druhy stejnokřídlého hmyzu, které se živí mízou z cévních svazků rostlin. Nejčastěji lípy, javory, buky, jedle, smrky, či borovice. Míza z vodivého pletiva obsahuje větší množství cukrů, než by bylo pro daného strážníka potřeba a proto přebytečné sacharidy vylučuje z těla ven. Na větvích stromů tak zůstávají malé kapičky medovice, které jsou včely také schopny sbírat a využít je stejným způsobem jako nektar z květů. Medovicový med se tak svým složením poměrně liší od nektarového medu. Svůj podíl na tom mají jednak látky původem ze zažívacího traktu stejnokřídlých, ale také fakt, že původní nektar pochází z lesních dřevin. Obsahuje více rostlinných barviv, minerálních látek a složitějších cukrů a mívá obecně tmavší barvu [4]. Nejsnazším způsobem, jak rozlišit, zda se jedná o med nektarový nebo medovicový, je měření vodivosti [4, 6]

V našich podmínkách vznikají převážně medy smíšené. Může se ale stát, že v okolí úlu bude převažovat jeden zdroj potravy a včely se budou soustředit jen na něj. V tom případě mohou vznikat jednodruhové neboli monoflorní medy. Určit typ jednodruhového medu je ale poměrně složité. Naskýtá se možnost pozorovat množství pylových zrn, která jsou v medu obsažena, což ale není zcela jednoznačné. Některé rostliny totiž produkují více pylu než jiné. Určování botanického původu medu pomocí pylových zrn se nazývá mellisopalynologie a jedná se o komplexní obor, který vyžaduje mnoho zkušeností s pozorováním tvarů a typů pylových zrn i řadu dalších biologických a ekologických znalostí. [7].

Tabulka 1 Charakteristika některých vybraných jednodruhových medů [2, 4, 8]

Původ medu	Charakteristika	Největší producenti
Akát	Nejsvětlejší med na světě, někdy až s nádechem do žlutozelená, málo tihne ke krystalizaci	Bulharsko, Maďarsko, Rumunsko, Kanada, Čína
Lípa	Světle žlutý, lehce nazelenalý, s výraznou vůní po lipových květech	USA, Kanada, Francie, Španělsko
Jetel	Jeden z nejprodávanějších medů ve světě	USA, Kanada, západní Evropa, Austrálie, Nový Zéland, Argentina
Řepka	Světlý, velmi rychle krystalizuje	Evropa
Pampeliška	Jasně žlutý, mívá trpkou chuť, na trhu se často objevuje jeho náhražka, která je však pouze cukrovým sirupem svařeným s květy pampelišek	Evropa

Tabulka 1 Charakteristika některých vybraných jednodruhových medů [2, 4, 8] - pokračování

Původ medu	Charakteristika	Největší producenti
Vřes	Výjimečný med, disponuje výrazně vyšším obsahem proteinů, což má za následek jeho gelovitou konzistenci, nelze ho plástů vykapat, je nutné ho z buněk vytlačit	Skotsko, Wales, Irsko
Pohanka	Disponuje kořeněným aroma a někdy až hořkou chutí. Bývá velmi tmavý	Čína, Japonsko, Polsko, Kanada
Kaštan	Med se silným aroma a lehce nahořklou chutí. Bývá poměrně odolný vůči krystalizaci. Jedná se spíše o med tmavší barvy	Albánie, Čína, Turecko, Itálie
Pomerančové květy	Obvykle se jedná o směs nektarů sesbíraných z různých citrusových kětů. Aroma si vzdáleně ponechává ovocný nádech. Starší medy tmavnou a krystalizují	Itálie, Španělsko, Mexiko, Francie, USA

2.3.3 Členění podle způsobu získání, nebo obchodní úpravy

Legislativa dále uvádí, do jakých skupin se rozděluje med podle toho, jakým způsobem byl získán, nebo jak byl med dále upraven. Údaj o jeho zařazení do některé z následujících skupin musí být uveden na obalu. Výjimkou jsou vytočené, lisované a vykapané medy, které lze označit pouze jako med [1].

Tabulka 2 Definice druhů medu podle způsobu získání, nebo obchodní úpravy [1]

Členění	Charakteristika
Plástečkový med	Med, který je zatím uložen v plástu, dosud z něho nebyl odebrán.
Vytočený med	Med, který byl z odvíčkovaných plástů získán pomocí odstředování.
Vykapaný med	Med, který byl z odvíčkovaných plástů získán bez použití odstředivé síly, ale pouze volným vykapáním.
Lisovaný med	Med, který byl z plástů získán vylisováním. U tohoto způsobu je povoleno mírné zahřátí do 45 °.
Pastový med	Získaný med, který byl následně upraven do pastovité konzistence. Pastu tvoří velké množství jemných krystalků.
Filtrovaný med	Med, který byl po jeho získání následně zfiltrován za účelem odstranění cizích anorganických, i organických látek. Současně s tím dochází i k významným ztrátám pylu.
Pekařský med	Je také jinak nazýván jako průmyslový. Jedná se o med určený výhradně pro průmyslové použití a jako složka jiných potravin. Takový med může disponovat cizí příchutí, nebo pachem. Mohl projít intenzivním záhřevem a toleruje se u něho začínající kvašení

2.4 Složení medu

Med obsahuje široké spektrum různých chemických látek, přičemž dodnes nebyly všechny identifikovány. Nepomáhá tomu ani fakt, že složení medu se může částečně měnit podle přírodních podmínek jeho vzniku. Na základě těchto faktů lze říci, že každý med je originální. Rostliny produkují velmi složité organické látky, které se do medu dostávají prostřednictvím

nektaru. Během zrání v plástu dochází k rozkladu některých původních látek a ke vzniku nových sloučenin. Řada látek tedy pochází již od rostlin, jiné vznikají během procesu tvorby medu vlivem působení včelích enzymů. Několik nutričních komponent je ale charakteristických pro všechny medy [4]. Běžný obsah některých vybraných sloučenin je uveden v následující tabulce (Tab. 3).

Tabulka 3 Průměrné látkové složení medu [g/100 g]

		květový med	medovicový med
voda		17,2	16,3
monosacharidy	glukóza	38,2	31,8
	fruktóza	31,3	26,1
discharidy	sacharóza	0,7	0,5
	ostatní	5,0	4,0
trisacharidy	melicitóza	<0,1	4,0
	erlóza	0,8	1,0
	ostatní	0,5	3,0
vyšší cukry		3,1	10,1
celkový cukr		79,7	80,5
minerální látky		0,2	0,9
aminokyseliny, proteiny		0,3	0,6

2.4.1 Voda

Obsah vody v medu je závislý na mnoha různých faktorech. Je ovlivněn rostlinným a geografickým původem nektaru, půdními a klimatickými podmínkami, ročním obdobím, ve kterém byl nektar sbírán, dobou zrání medu, manipulací během zpracování medu, ale také se mění s časem, nebo vlivem teplotních a dalších podmínek, ve kterých je med skladován [9].

Běžně se obsah vody v medu pohybuje mezi 13–25 %, optimálně 17 %. S klesajícím obsahem vody se zvyšuje viskozita medu, což má za následek vyšší tendence k tomu med zahřívát za účelem snadnějšího plnění do obalů. Naopak medy s obsahem vody nad 18 % se sice snáze zpracovávají, ale zase jsou náchylnější k fermentačním procesům, protože osmotický tlak cukru není dostatečně silný, aby zamezil růstu kvasinek. Voda v medu ovlivňuje také jeho další vlastnosti jako jsou barva, nebo chuť [9].

Přibližný obsah vody se stanovuje nejčastěji refraktometricky z obsahu sušiny. Klasicky se používá Abbeho refraktometr, který byl v dnešní době částečně nahrazen moderními digitálními refraktometry, ale vzhledem k jeho nižším cenám je stále populární [10].

Med je silně hygroskopická látka, a proto je třeba dbát na to, aby během jeho zrání, nebo uskladnění nedocházelo k pohlcování vzdušné vlhkosti. Med ponechaný ve volném prostoru nelze považovat za trvanlivý. Podmínkou jeho dlouhodobé uchovatelnosti je vhodná skladovací nádoba. [9].

2.4.1.1 Aktivita vody

Obsah vody v potravinách není kritériem trvanlivosti potravin, ale důležitějším faktorem je dostupnost vody využitelné pro mikroorganismy, kterou nazýváme aktivitou vody (a_w). Souvisí s interakcí vody a dalších složek potravin. Je dána podílem parciálního tlaku vodní páry nad potravinou a parciálního tlaku páry nad čistou vodou za stejné teploty.

Cukr obsažený v medu váže část vody, a proto ji činní nevyužitelnou pro růst mikroorganismů. Aktivita vody závisí také na složení cukrů. Krystalizací medu se opět mění podmínky a aktivita vody roste oproti medu v tekutém stavu. Jiná studie pozorovala, že květový

med má nižší hodnotu a_w než medovicový, ačkoli měly oba stejný celkový obsah vody. Ovšem významný rozdíl mezi hodnotami a_w jednodruhových medů pozorované nebyly.

Hodnoty a_w v medu se běžně pohybují v rozmezí 0,49 až 0,65. Minimální hodnota aktivity vody pro rozvoj bakterií je přibližně 0,90 a pro kvasinky 0,80. Plísním stačí 0,70. Nicméně na míru množení mikroorganismů mají kromě a_w vliv i další faktory jako jsou pH, teplota, nebo přístup vzduchu [9].

2.4.2 Cukry

Zjednodušeně lze říct, že med je přesyceným roztokem cukrů. Sacharidy tvoří kolem 95 % sušiny, tudíž mají zásadní vliv na charakteristické vlastnosti medu, jako jsou sladkost, viskozita, hygroskopicitata, nebo energetická hodnota. Tyto vlastnosti závisí na složení cukrů. Jejich vysoká koncentrace způsobuje vysoký osmotický tlak a med se tak stává nepříznivým médiem pro růst mikroorganismů [9].

Monosacharidy fruktóza společně s glukózou jsou hlavními složkami medu. Téměř ve všech typech medu fruktóza převažuje nad glukózou, ovšem známé jsou i výjimky jako například řepkový, nebo pampeliškový med, který obsahuje větší množství glukózy [9].

Včelí enzym invertáza, který je produkován jejich slinnými žlázami, je však schopný také tvořit nazpět nové komplexy cukrů z monosacharidových jednotek, z toho důvodu hlavní disacharid, který se v medu může vyskytovat je α -glykosylový derivát monosacharidu. Pravděpodobně se však vyskytuje ve formě trisacharidu až tetrasacharidu. Ostatní disacharidy a trisacharidy se mohou do medu dostat z medovice jako produkt mikroorganismů a jiných enzymů trávicího traktu stejnokřídlých [9].

Bylo pozorováno dalších více než 45 různých oligo- a polysacharidů, které se v medu mohou vyskytovat v menším množství od 5 do 15 %. Jsou jimi například maltóza, sacharóza, turanóza, trehalóza, isomaltóza, laktóza, rafinóza, a množství dalších. Z nich maltóza a sacharóza jsou nejdůležitějšími disacharidy medu. Vysoký obsah sacharózy může být ukazatelem nedozrálého medu, nebo umělého dokrmování včel. Melezitóza je trisacharid produkováný právě hmyzem tvořícím medovici. Některé cukry, například galaktóza, laktóza, nebo rafinóza jsou včelami nevyužitelné, protože nemají enzymy, díky kterým by byly schopny tyto cukry trávit. Někteří autoři tyto sacharidy označují dokonce za toxické pro včely [9].

Pozorování složení cukrů je další z možností, jak rozpoznat typ medu. Například vřesové medy jsou charakteristické přítomností erlózy a nigerózy, levandulový med je typický pro svůj vysoký obsah sacharózy a maltózy a avokádový med zase přítomností perseitolu. Obecně pak platí, že v porovnání s květovými medy, obsahují ty medovicové větší množství trisacharidů a dalších oligosacharidů [9].

Během uchovávání medu klesá obsah monosacharidů a roste množství oligosacharidů. Je to způsobeno činností enzymů a kysele katalyzovanou dehydratací hexos, nebo také Maillardovou reakcí. [9]. K této reakci dochází zejména při nevhodném zacházení, například zahříváním medu. Vyšší teploty vznik Maillardových produktů urychlují. Reakcí karbonylové skupiny redukujícího cukru s aminoskupinami dochází k tvorbě tzv. amadoriho produktů, které se postupně mění na různé pigmentové látky. Tyto látky mají na svědomí změnu barvy, vůně i chuti [11].

2.4.3 Proteiny

Proteiny obsažené v medu pocházejí jak ze slinných žláz včel, tak z rostlinného nektaru a pylu, nebo medovice. V medu bylo pozorováno okolo 20 různých proteinů s jinou než enzymatickou funkcí, které jsou společné pro všechny druhy medu. Jsou to různé albuminy, globuliny nebo nukleoproteiny. Obvykle se celkový obsah proteinů pohybuje mezi 0,1–0,5 %, avšak výjimkou

je opět vřesový med, který disponuje vyšším obsahem proteinů okolo 2 %. S vyšším obsahem proteinů v medu se snižuje povrchové napětí medu, což vede k velmi tuhé konzistenci a tendenci tvořit vzduchové bublinky. Delším skladováním, nebo přehřátím, medu stoupá celkový obsah proteinů [9].

2.4.4 Aminokyseliny

V medu bylo dosud pozorováno okolo 26 aminokyselin. Jsou to zejména základní kódované aminokyseliny. Aminokyseliny se do medu dostávají jak prostřednictvím včel, tak i od rostlin z nektaru a pylu. Převážná většina aminokyselin se však vyskytuje ve vázané formě. Volné aminokyseliny tvoří asi jen jednu pětinu celkového obsahu a jsou zodpovědné za mnohé z jeho vyzdvihovalých vlastností. Některé reakce během zpracování medu mohou vést ke snížení obsahu aminokyselin. Jednou z nich je například již zmíněná Maillardova reakce [9].

Nejhojnější aminokyselinou v medu je prolin. Tvoří 50–85 % celkového obsahu aminokyselin. Pochází zejména ze slinných žláz včel. Někteří považují množství prolinu v medu za kritérium zralosti medu. Optimálně by jeho množství mělo být vyšší než 200 mg/kg a pokud je jeho obsah nižší než 180 mg/kg, může to poukazovat na dokrmování včelstva sacharózou. Medovicové medy obsahují obecně vyšší množství prolinu než květové [9].

2.4.5 Enzymy

Některé z nejčastěji se vyskytujících enzymů v medu jsou diastáza, invertáza, a glukózaoxidáza. Ale může obsahovat také menší množství enzymů jako jsou kyselá fosfatáza, nebo kataláza. Převážná část těchto enzymů jsou produkty včelích žláz. Jejich účelem je přeměna nektaru v med. Některé enzymy, například zmíněná kataláza a kyselá fosfatáza, jsou rostlinného původu. Mohou být přítomny také některé enzymy mikrobiálního původu, které se do medu dostaly z medovice. Množství enzymů tedy závisí na původu nektaru. Z různých zdrojů pochází různé enzymy a zároveň jsou do nektaru včelami přidávány enzymy v určitém množství, závislejícím na obsahu cukru. Do nektaru s nízkou koncentrací cukru je třeba přidat větší množství enzymů. Naopak je-li obsah cukru v nektaru vysoký, není potřeba takové dávky enzymů a ve výsledném medu se jich tak vyskytuje méně [9].

Enzymy jsou poměrně termolabilní, což se může projevit při nevhodném skladování, či úpravách medu, například ztekucování medu v mikrovlákných zařízeních. Aktivita enzymu tak může sloužit k posuzování kvality medu, přičemž nejčastěji se provádí měření aktivity diastázy. K porovnání dat slouží *Tabulka 4* [4].

Tabulka 4 *Poločas poklesu aktivity diastázy po vystavení určité teplotě*

Teplota [°C]	Čas
10	35 let
20	4 roky
25	18 měsíců
30	7 měsíců
32	4 měsíce
35	3 měsíce
40	31 dní
50	5 dní
60	1 den
70	5 hodin
80	1 hodina

Diastáza

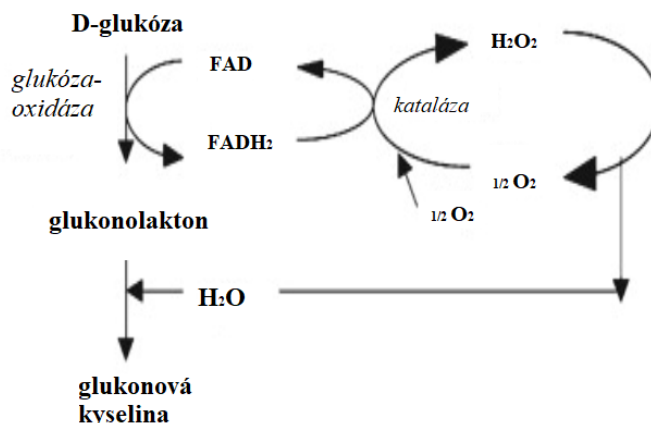
Diastáza, nebo také amyláza, je enzym, který, jak už název napovídá, je schopen štěpit škrob a jiné dextriny. Jelikož nektar neobsahuje škrob, jeho přítomnost v medu není zcela jasná. Vědci se ale domnívají že se uplatňuje při trávení pylu. Z enzymů přítomných v medu je diastáza nejvíce termorezistentní [9].

Invertáza

Jedním z nejdůležitějších enzymů je invertáza, která má na svědomí přeměnu nektaru na med. Hydrolyticky štěpí sacharózu na fruktózu a glukózu. Ovšem její transglykosidická aktivita může také za produkci nových oligosacharidů. Její činnost může být inhibována fruktózou, nebo zahřátím. Je citlivější na zahřívání než diastáza, a proto je vhodnější pro pozorování kvality medu. Množství invertázy se vyjadřuje pomocí Hardonova čísla (IN) nebo invertázy na kilogram (US). Pokud je množství větší než 10 IN (73,4 US), znamená to, že med je čerstvý a neprošel vysokými teplotami [9].

Glukóza-oxidáza

Tento enzym způsobuje oxidaci glukózy na glukonolakton, který se poté spontánně přeměňuje na glukonovou kyselinu za uvolnění malého množství peroxidu vodíku. Zvyšuje se tak celková kyselost medu a odolnost vůči mikroorganismům během zrání medu [9, 12].



Obrázek 2 Schéma přeměny glukózy na glukonovou kyselinu [12]

2.4.6 Organické kyseliny

Významný podíl na barvě, chuti a vůni medu mají také organické kyseliny. Zvyšují zároveň stabilitu a uchovatelnost medu a mají vliv i na další řadu jeho vlastností. Zvyšují jeho vodivost a snižují pH. Některé z nich jsou obsaženy již v nektaru, nebo medovici, ale drtivá většina z těchto kyselin vzniká až vlivem enzymatických procesů v průběhu zrání medu. Nesprávným skladováním mohou kvasinky začít proces kvašení, při kterém vzniká také kyselina octová. Její množství může poukazovat na pokročilý proces fermentace. V medu se vyskytuje široká škála organických kyselin, přičemž největší podíl v celkovém obsahu organických kyselin má glukonová kyselina (70–90 %) [4, 9].

2.4.7 Minerální látky

Med není řazen mezi potraviny bohaté na minerální látky. Jejich celkový obsah se u květových medů pohybuje mezi 0,02–0,3 %, ale u medovicových může dosáhnout až 1 %. Mezi důležité faktory ovlivňující množství minerálních látek v medu se řadí půdní a klimatické podmínky, od kterých se odvíjí původní složení nektaru. Přes kořeny se minerální látky dostávají z půdy do rostliny a odtud do nektaru a následně do pylu.

Mezi prvky s nejvyšším zastoupením v medu patří draslík, sodík, vápník, hořčík a fosfor, které se vyskytují převážně ve formě iontů. Méně pak jsou v medu zastoupené železo, měď, mangan, chlor a pouze ve stopovém množství se v medu vyskytují bor, síra, křemík a nikl. Prvkové složení je potenciálním ukazatelem botanické či geografické autenticity medu. Obecně platí, že tmavší med obsahuje více minerálních látek než světlý. Stejně tak medovicové medy lze identifikovat na základě obsahu minerálních látek, neboť s jejich zvyšujícím se obsahem roste konduktivita medu [9]. Běžný obsah minerálních látek v medu je uveden v Tab. 5[4].

Tabulka 5 *Obsah minerálních látek v medu [4]*

Prvek	mg/100g
draslík	10–470
fosfor	2–60
hořčík	0,7–13
měď	0,01–0,1
sodík	0,6–40
vápník	4–30
zinek	0,2–0,5
železo	1–3,4

2.4.8 Vitaminy

Hlavním zdrojem vitaminů v medu je pyl. V medu se vyskytuje jen opravdu malé množství tuků a z toho důvodu převažují vitaminy rozpustné ve vodě. Nejvýznamnější podíl mají v medu vitaminy skupiny B, ale obsahuje také malé množství (až 0,002 mg/100 g) vitamínu C, který svými antioxidantními účinky přispívá označování medy coby superpotravin s léčivými účinky. Vzhledem k jeho malému množství však nemůže být med považován za jeho hodnotný zdroj [4, 9].

2.4.9 Těkavé látky

Těkavé látky utvářejí sensorický profil medu. K tvorbě aroma se částečně přidávají také již zmiňované cukry, kyseliny, aminokyseliny, nebo různé deriváty fenolu. V medu bylo pozorováno více než 600 aromatických sloučenin s nízkou molekulovou hmotností, všechny ve velmi nízkých koncentracích. Jedná se o různé monoterpeny, terpeny, terpenoidy, norisoprenoidy, alkoholy, aldehydy a ketony, estery, mastné kyseliny a množství dalších. Jejich obsah závisí na prostředí, ve kterém med vzniká, nebo mohou být vedlejším produktem mikrobiální činnosti. Jiné látky, jako jsou furan, pyran a jejich deriváty, se zase v medu vyskytují jako důsledek Maillardovy reakce, pokud je med během jeho zpracování zahříván, nebo jsou nastaveny nevhodné teplotní podmínky jeho skladování. Přítomnost některých ostatních aromatických látek je důsledkem nežádoucí kontaminace z okolí, jiné jsou zase charakteristické pro daný typ medu. Například kaštanový med je typický obsahem 3-aminoacetofenonu, methyl anthranilát poukazuje na medy z citrusových květů a v medech z planiky bylo pozorováno vyšší množství izoforonu. Zastoupení těkavých látek v medu lze proto také využít při určování kvality, nebo původu medu [9].

2.4.10 Pigmenty

Pigmenty, mezi které patří zejména polyfenoly, karotenoidy, xantofyly a anthrocyaniny, jsou látky zodpovědné za zbarvení medu. Barvu dotvářejí v menší míře také cukry, minerální látky a aminokyseliny [9].

2.4.11 Lipidy

Obsah lipidů v medu dosahuje pouze okolo 0,04 %. Jedná se o triglyceridy, steroly, fosfolipidy a také obsahuje různé mastné kyseliny: palmová, olejová, stearová a linoleová. Jejich původ je pravděpodobně v mateří kašičce a jiných sekretů včelích žláz a do medu se dostávají až během zpracovávání nektaru uvnitř úlu [4, 9]

2.5 Fyzikálně-chemické vlastnosti medu

2.5.1 Barva

Barva medu se odvíjí od jeho složení, a tudíž zejména u jednodruhových medů můžeme pozorovat širokou škálu barevnosti. Odstíny se mohou pohybovat od téměř bezbarvé, nazelenalé až do tmavých červenohnědých barev. Nejvíce barvu ovlivňují pigmenty, částečně ale také minerální látky, cukry, aminokyseliny, nebo flavonoidy. Nejtmavší medy bývají obvykle medovicové, které vykazují vyšší obsah minerálů. Vědci upozorovali, že barva tmavých medů koreluje s obsahem železa, olova a kadmia, zatímco světlé zase odpovídají koncentracím hořčíku a hliníku [4, 9].

Barva tedy není ukazatelem kvality medu, ale spíše nám dává informaci o jeho původu. Avšak zahříváním medu může dojít k jeho ztmavnutí, v důsledku Maillardovy reakce, nebo karamelizace. Abychom podle barvy určovali, jak moc byl med nešetrným zacházením znehodnocen, museli bychom znát jeho původní barvu [4, 9].

Nejčastější způsoby určení barvy medu jsou založeny na vizuálním porovnávání vzorku s nějakou stupnicí, kterých existuje větší množství. Nejznámější z nich je pravděpodobně Pfundova stupnice. Ačkoliv byl přímo pro tyto účely sestaven tzv. Pfundův kolorimetr, jsou tyto metody stále poměrně nespolehlivé. Kolorimetr porovnává barvu vzorku medu s odstínem jantarového klínu. Barva se následně vyjadřuje v milimetrech, které odpovídají vzdálenosti, o jakou musí být klín posunut, aby došlo k barevné shodě. Toto jednoduché zařízení je stále využíváno pro své minimální náklady a rychlost stanovení. V dnešní době však jeho nevýhody, mezi které patří subjektivní posouzení odstínu, různé barevné odstíny medu, také omezení stupnice na 0–140 mm, vedly k vývoji nových modernějších metod určení barvy medu [13].

Tabulka 6 Přibližná barva medu, která odpovídá mm Pfundovy stupnice [14]

Barva	Pfundova stupnice [mm]
vodově bílá	<9
extra bílá	9–17
bílá	18–34
extra světlý jantar	35–50
světlý jantar	51–85
jantar	86–114
tmavý jantar	>1–4

Tabulka 7 Průměrné zbarvení medu podle Pfundovy stupnice některých jednodruhových medů [14]

Med	Pfund [mm]
citrusový	14
eukalyptový	58
vřesový	96

2.5.2 Elektrická vodivost

Elektrická vodivost je veličina popisující schopnost materiálu vést elektrický proud. Je to hlavní parametr určující původ medu. Na základě elektrické vodivosti určí včelař, zda se jedná o med květový, nebo medovicový. V České republice převážně vznikají smíšené medy, ale podle norem není možné uvést na obalu, že se jedná o med smíšený. Včelař tedy změří vodivost medu a pokud je hodnota nižší než 80 $\mu\text{S}/\text{cm}$ je med převážně květový, nad tuto hranici už se med označuje za medovicový. Měření probíhá pomocí konduktometru, kterým se určuje vodivost 20% roztoku medu [4].

Vodivost medu nejvýznamněji ovlivňuje přítomnost minerálních látek, ale také další látky obsažené v medu jako jsou organické kyseliny, různé proteiny, nebo také pylová zrnka [9].

2.5.3 Hustota

Hustota je úzce spjata s obsahem vody. Je ale zároveň ovlivněna teplotou. Stanovení probíhá pomocí refraktometru. Průměrná hustota medu při 20 °C se pohybuje mezi 1,4–1,44 g/ml [4, 9].

2.5.4 Hygroskopicitá

Jednou z nevýhodných vlastností medu je jeho hygroskopicitá. Je to schopnost přijímat vodu z okolního prostředí, především vzdušnou vlhkost. Míra absorpce vzdušné vlhkosti závisí na teplotě, koncentraci vodní páry a relativní vlhkosti. Pokud je med skladován ve špatně uzavřené nádobě, může med navázat takové množství vody, že začne kvasit [4, 9].

2.5.5 Viskozita a reologické vlastnosti

Viskozita medu je důležitým faktorem při jeho zpracování. Pokud je med příliš viskózní, je manipulace během jeho zpracování a plnění do spotřebitelských obalů mnohem obtížnější. Může docházet k tvorbě nežádoucích vzduchových bublin, které mohou způsobit nižší hmotnost obsahu v balení a podporovat kvasné procesy. Z toho důvodu někdy dochází ke snížení kvality medu během jeho plnění do spotřebitelských obalů, kdy výrobce med zahřívá za účelem usnadnění procesu balení. Viskozita medu závisí na množství faktorů jako jsou, obsah vody, teplota nebo poměr glukózy a fruktózy. Některé jednodruhové medy, které jsou obzvláště viskózní vykazují tzv. tixotropní chování, což znamená, že pokud je budeme míchat, jejich viskozita klesne. To platí například pro vřesový, nebo pohankový med, které patří mezi medy s nejvyšší viskozitou. Naopak mícháním eukalyptového nebo opunciového medu viskozita roste. Toto chování způsobuje přítomnost dextranů [4, 9].

Nízká hodnota povrchového napětí způsobuje, že med se snadno dostane do malých skulin. To pozdvihuje jeho využití v kosmetice, protože med vedle svých blahodárných účinků snadno proniká do pórů v pokožce [4].

2.5.6 Optická rotace

Každý opticky aktivní cukr je charakteristický úhlem, o který pootáčí rovinu polarizovaného světla. Med takové cukry obsahuje, a proto je schopen rovinu světla stáčet. Díky tomu lze z míry pootočení odvodit cukerné složení medu. Obecně platí, že vyšší obsah fruktózy má za následek stáčení světla doleva, a naopak méně fruktózy způsobí pravotočivost [9].

2.5.7 Kyselost

Celková kyselost se u medu obvykle neudává jako hodnota pH. Používají se pro to jednotky milivaly na kilogram (mval/kg), které ale nejsou přímo úměrné hodnotě pH. Kyselost způsobuje přítomnost organických kyseliny. Obvykle se hodnota u medu pohybuje rozmezí 10–36 mval/kg [1], což odpovídá pH přibližně 3,4–6,4 [9]. Medovicové medy obecně vykazují vyšší aciditu. Nízké hodnoty pH usnadňují antimikrobiální napadení medu. V EU se akceptuje až hodnota 50 mval/kg. Příčinou neobvykle zvýšené kyselosti může být kvašení medu [4, 9].

2.6 Kontrola kvality a falšování medu

Snad každou drahou surovinu na světě se někdo pokusil nahradit nějakou levnější variantou a med není výjimkou. Existují různé způsoby, jak med zfalšovat. Tím nejjednodušším a snadno odhalitelným způsobem je přidávání sacharózy do medu. Dále se pak falšuje med přikrmováním včelstev i přes léto cukrovým roztokem, často obohaceným o ovocné sirupy, nebo se med nahrazuje nějakým průmyslově vyrobeným analogem na bázi sacharózy či škrobu. Převážná část spotřebitelů upřednostňuje tekutý, nezkrytalizovaný med. Proto jsou zde také tendence co nejvíce oddálit dobu jeho zkrystalizování preventivním přehříváním, nebo zfiltrováním, čímž se sníží počet krystalických center, ale med je tak ochuzen o pylová zrna, jež jsou přirozenou a sensoricky významnou součástí jeho složení. Velká poptávka po tmavém medovicovém medu vedla také k pokusům o dobarvování. Nicméně všechny tyto zásahy snižují kvalitu medu, který má ty nejlepší vlastnosti v nedotčeném stavu. Existují proto normy, které přesně definují, jaký produkt lze označit za med [4].

V České republice se medem zabývá vyhláška č. 76/2001 Sb, která přesně definuje povolené označování medu podle způsobu jeho zpracování, nebo krajiny původu. Dále tato vyhláška říká, že z medu nesmí být odstraněna pylová zrna, pokud však nebylo nutné med filtrovat za účelem odstranění některých nežádoucích látek. Zároveň do medu nesmí být přidávána žádná jiná látka než další jiný med jiného druhu. Med nesmí vykazovat cizí pachy a příchutě, nesmí být zahříván na teplotu, která by inaktivovala přirozeně přítomné enzymy a nesmí být upravována jeho kyselost [1].

Dalším dokumentem, který upravuje kvalitu a dodržování postupů při zpracování potravin, a to včetně medu, je *Codex Alimentarius* (CA). Tato mezinárodní publikace má za cíl ochraňovat spotřebitele a prostřednictvím požadavků na potraviny usnadňovat mezinárodní obchod s potravinami. Nejedná se o normy s právní platností, ale jelikož jsou předpisy CA postaveny na základě vědeckých poznatků, jsou uznávané a v praxi hojně využívané [15]. Stejně jako výše uvedená vyhláška popisuje maximální povolená množství, nebo naopak minimální obsah látek v medu, upřesňuje označování a klasifikaci různých druhů, popisuje způsoby vzorkování a stanovení kvality medu a také zakazuje použití jakýchkoliv aditivních látek [16].

2.6.1 Kvalita medu

Sledování kvality medu zahrnuje informace o jeho původu, použití správných postupů během jeho zpracování, nebo podmínkách, za kterých byl med skladován. Kvalitu medu lze posuzovat podle mnohých kritérií. Jedná se o chemické složení, fyzikálně chemické vlastnosti medu, jako jsou například kyselost, elektrická vodivost, dále barva, chuť, textura, aktivita vybraných enzymů nebo také mikrobiální rozmanitost. Určení kvality je ztíženo rozmanitostí různých druhů medu. Medovicové medy se od květových liší jak složením, tak již zmiňovanými vlastnostmi [11]. Zároveň však díky těmto rozdílným vlastnostem můžeme od sebe různé typy medů odlišit. [10].

2.6.1.1 Aktivita enzymů

Ačkoliv se jedná o velmi trvanlivou potravinu, také stáří medu se projevuje na jeho kvalitě. Pro jeho určení lze využít přirozeně přítomné enzymy. Enzym diastáza je pro toto stanovení vhodným indikátorem. Pro pozorování jeho aktivity existují dvě metody, Shadeova metoda, která využívá škrob, jako substrát pro enzymatickou činnost a Phabasova metoda, která funguje na stejném principu, jen s tím rozdílem, že namísto škrobu, jehož kvalita může kolísat, využívá definovaný substrát. V obou případech následuje spektrofotometrické stanovení [10].

Druhým sledovaným enzymem je invertáza, která více vypovídá o tom, jak bylo s medem zacházeno. Je to enzym velmi citlivý na zvýšenou teplotu. Kvalitě medu pak odpovídá hodnota jeho aktivity [10].

2.6.1.2 Obsah HMF

Často zmiňovanou látkou v souvislosti s kvalitou medu je bezbarvá organická sloučenina 5-hydroxymethylfurfural (HMF). Tato látka je v nízkých koncentracích neškodná, ve vyšších ale vykazuje na lidský organismus toxické účinky [11]. HMF vzniká při kyselé katalyzované dehydrataci hexos. Tento proces je urychlen s rostoucí celkovou kyselostí medu a s obsahem vody a minerálních látek, tudíž v čerstvém medu není přítomen. Jeho obsah roste během delšího skladování, nebo v průběhu zpracování medu, kdy se med občas zahřívá, za účelem snížení viskozity a tendence ke krystalizaci. Obsah HMF je tak jedním z hlavních parametrů určení kvality a stáří medu. V EU jeho obsah nesmí překročit 40 mg/kg. Ovšem u dovezených medů, které pocházejí ze zemí tropického a subtropického pásu je akceptováno až 80 mg/kg, jelikož u těchto medů je HMF přirozenou složkou [4, 9].

Pro stanovení HMF v medu doporučuje IHC (International Honey Commission) tři metody. Dvě metody podle Whitea a podle Winklera založené na spektrofotometrickém měření, a jedna HPLC metoda. Všechny tři metody poskytují pouze malé rozdíly ve výsledných hodnotách [17].

2.6.1.3 Obsah aminokyselin

Dalším sledovaným parametrem pro určení kvality je množství aminokyseliny prolinu. Tato aminokyselina je v medu nejvíce zastoupena a její obsah se stářím medu neustále klesá. Jeho minimální obsah v medu je dán legislativou na 180 mg na kilogram [11]. Obsah prolinu se zjišťuje reakcí s ninhydrinem. Intenzita zabarvení vzniklého fialového komplexu, kterou stanovíme spektrofotometricky, odpovídá jeho množství ve vzorku [10]. Mimo kvality se podle obsahu prolinu určuje také stupeň zralosti medu [18].

2.6.1.4 Mikrobiální kontaminace

Kvalitu medu může snížit také různá mikrobiální kontaminace, u které rozlišujeme primární a sekundární. Primární nelze nijak významně ovlivnit. Pochází z prostředí úlu, z trávicího traktu včel, nebo z prachu, půdy, vzduchu, nebo z nektaru. Obvykle obsah těchto mikroorganismů s postupem zrání medu klesá. Většina z nich se neumí množit v prostředí s obsahem vody pod 20 %. Naopak sekundární kontaminace se týká pozdějšího zpracování medu. Tyto mikroorganismy se do medu dostávají například z nesterilního prostředí při plnění medu. Mikrobiální kontaminace se sleduje klasickou kultivací a následně se mikroorganismy analyzují pomocí PCR [18].

Nejproblematictější mikrobiální kontaminací medu je bakterie *Clostridium botulinum*. Přítomnost této bakterie v několika produktech v dřívějších dobách zapříčinila, že se med nedoporučuje podávat dětem do jednoho roku [18].

2.6.1.5 Kontaminace z obalu

Med se distribuuje v různých nádobách tradičně vyrobených ze skla, ale na trh se dostávají také plastové obaly, které mají tu výhodu, že jsou lehčí. U plastových obalů hrozí riziko kontaminace různými aditivami, které se do plastu přidávají za účelem lepšího zpracování. Jsou to různá změkčovadla, nebo látky zlepšující tepelnou odolnost. Existuje celá řada takovýchto látek, ale nejčastěji používané jsou různé estery ftalátu. Tyto látky nejsou k použitému polymeru vázány chemickou vazbou a mohou tak volně migrovat do potravin, kterou obal obsahuje. Jedná se často o látky karcinogenní, a proto je nutné jejich obsah v potravině sledovat. Jednou z možností je použití plynové chromatografie ve spojení s hmotnostním detektorem [19].

2.6.2 Botanický původ

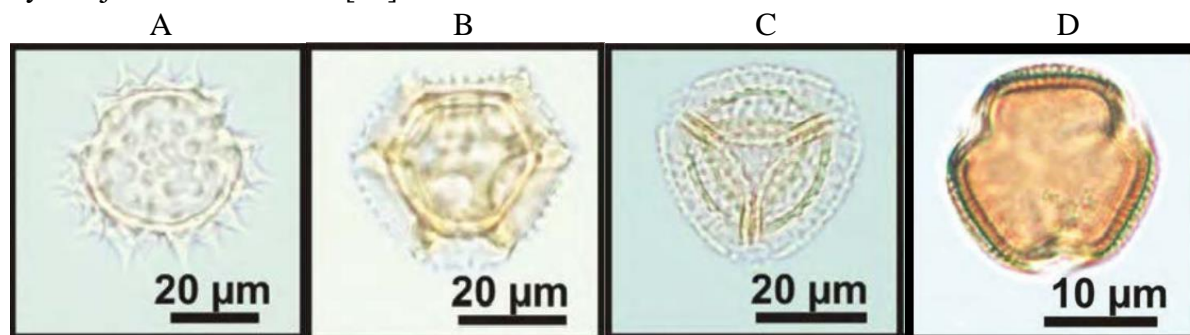
Určit přesný botanický původ je velmi obtížné. Dalo by se říct, že téměř nemožné. V okolí úlu bývá mnoho různých zdrojů potravy, které včela využívá. Existují metody, které alespoň dokážou stanovit převažující zdroj medu. Zaměřují se především na těkavé látky, bílkoviny, aminokyseliny, fenolické látky, organické kyseliny, cukry, ale také na minerální látky. Mezi tyto metody se řadí různé spektroskopické metody využívající fluorescenční, IR, NMR, nebo MS detektory, obvykle v kombinaci se separačními metodami. Dosud však nebyla stanovena žádná vyhláška pro používání těchto metod [11].

2.6.2.1 Pyl

Metoda použití pylu vyskytujícího se přirozeně v medu pro určení botanického původu medu se nazývá melissopalynologie. Jedná se o nejrychlejší a zároveň nejlevnější cestu k získání informací o rostlinném zdroji nektaru [20]. Kromě botanického původu lze pomocí této metody deklarovat jednodruhové medy, a to v případě, že více než 45 % pylu pochází z jedné rostliny [21]. Využitelnost této metody však závisí na schopnostech palynologa a efektivitě získání pylových zrn ze vzorku [20].

Začátky palynologie se datují do 20. století, kdy poprvé vědci zkoumali, zda lze na základě obsahu pylu v medu odhalit, o jaký typ se jedná. Na původní práce později navázaly další, které zkoumaly, kolik pylu se dostane z rostliny do medu během sběru nektaru včelami. Bylo zjištěno, že mezi jednotlivými druhy rostlin jsou obrovské rozdíly v obsahu pylu přeneseného do výsledného produktu. Nektar z různých rostlin totiž obsahuje různé množství pylu. Včely zároveň při požití nektaru s různou intenzitou snižují obsah pylu v nektaru. Zároveň bylo zjištěno, že množství odseparovaných pylových zrn závisí na druhu rostliny, ale také na tom, jakou vzdálenost včela uletí od zdroje nektaru do úlu. To vedlo později k dalším studiím na toto téma [20].

Postup pro získání pylu z medu není obtížný. Standardně se 10 g medu ředí 20 ml vody a směs se nechala centrifugovat při 2 500 otáčkách za minutu po dobu 5 minut. Pyl sedimentuje na dno zkumavky. Tento proces lze ještě zefektivnit použitím ethanolu jako rozpouštědla namísto vody. V medu se ale nachází poměrně malé množství pylových zrn. Nastává tedy problém, aby reprezentativní vzorek skutečně svým složením a poměrem množství pylových zrn odpovídal danému medu. Proto existují také jiné postupy. Například filtrace zředěného vzorku přes celulósový filtr s otvory velkými pár mikrometrů. Lze tak ze vzorku získat veškerý pyl, ale přichází s tím riziko ucpání filtru velkými molekulami sacharidů. Získaný pyl se následně pozoruje pod mikroskopem a porovnává se s již známými tvary pylu. Na světě se však odhaduje okolo 352 000 druhů rostlin, které jsou v květu využívány včelami jako zdroj nektaru. Existují pylové atlasy, které mohou pozorování usnadnit, přesto se však jedná o práci, která již vyžaduje větší zkušenosti [20].



Obrázek 3 Tvary některých pylových zrn [7]. A... slunečnice, B... pampeliška, C... jetel, D... bez

Palynologie si našla uplatnění také ve forenzních vědách. Konkrétně na Novém Zélandu je využívána při vyšetřování kriminálních činů. Pyl, který se snadno usazuje na površích, je často vázán konkrétním místem výskytu rostliny, od které pochází a zároveň určitým ročním obdobím, ve které ho rostlina produkuje. Může tak posloužit pro časovou a prostorovou orientaci během vyšetřování [22].

2.6.2.2 Další metody určení botanického původu

Tradiční využití pylových zrn pro určení botanického původu medu má plno nevýhod. Vyhodnocení totiž závisí na pozorovacích a posuzovacích schopnostech a znalostech analytika. Proto jsou využívány i jiné metody postavené na základě rozdílných fyzikálně chemických vlastnostech medu. Příklad sledovaných vlastností a příslušné postupy jsou uvedeny v následující tabulce [23].

Tabulka 8 Příklad sledovaných vlastností medu pro určení botanického původu, stručné postupy stanovení [23]

pH	měřeno přímo v 10% vodném roztoku
volná kyselost	Zředěný vzorek je titrován 10% vodným roztokem 0,05M NaOH.
laktonová kyselost	Zředěný vzorek titrován zpětnou titrací nadbytku přidaného NaOH kyselinou sírovou (0,025 M).
celková kyselost	Součet volné a laktonové kyselosti se nazývá celková kyselost. Hodnota se udává jako spotřeba NaOH v μl pro neutralizaci 1 kg medu.
aktivita diastázy	Využívá se Phabasovy metody. 1 g vzorku se rozpustí v 100 ml acetátového purfu, poté se 5 ml tohoto roztoku přenesse do zkumavky a nechá temperovat při 40 °C. Komerčně dostupná Phabasova tableta se přidá do obou zkumavek. Reakce je ukončena po 15 minutách přidáním 1 ml 0,5 M NaOH. Po zfiltrování je měřena absorbance při 620 nm.
obsah vody	Důkladná homogenizace vzorku a následné použití Abbeho refraktometru pro zjištění obsahu sušiny. Následuje výpočet.
specifická vodivost	V odměrné baňce je 20 g vzorku doplněno na 100 ml destilovanou vodou. Vodivost je měřena pomocí konduktometru.
obsah dextrózy, fruktózy	Pomocí HPLC v kombinaci s refraktometrickým detektorem.
barva	Měření pomocí porovnávání s barevnou stupnicí (Pfundovou).
specifická optická otáčivost	Vzorek je nejprve upraven ředěním a přidáním Carrezových roztoků, které se nechají působit přes noc. Následuje měření pomocí polarimetru.
obsah HMF	Naředěný roztok vzorku je aplikován na kolonu HPLC s UV detektorem.

Společně s analytickými metodami, např. LDA, nebo UNEQ je možné získat poměrně velmi přesné a selektivní modely pro určení botanického původu medu na základě vybraných fyzikálně-chemických vlastností [23].

Novou alternativou namísto ne zcela spolehlivé a zdlouhavé melissopalynologie je analýza medu pomocí neinvazivní a nedestruktivní Ramanovy spektroskopie. Jedná se o fyzikálně chemickou metodu, která využívá vibrační chemických vazeb a funkčních skupin vyvolané laserovým zářením. Pomocí různě převažujících vibračních režimů v Stokesově-Ramanově spektru lze od sebe rozlišit různé druhy medu. Tato metoda je výrazně citlivější pro rozlišování medů různého botanického původu než geografického [24].

2.6.3 Geografický původ

Na obalu medu je podle směrnice rady 2001/110/ES povinné uvést místo původu, přičemž je povoleno označit med podle potřeby jako „směs medů e zemí EU“, „směs medů ze zemí mimo EU“, nebo i „směs medů ze zemí EU a ze zemí mimo EU“ [1]. Pokud ale med pochází pouze

z jedné oblasti, nebo z populární lokality, lze na obalu uvést konkrétní region, což může zvýšit jeho hodnotu. Existují různé metody založené na rozdílném chemickém složení, nebo fyzikálně chemických vlastnostech [25]. Měří se pH, kyselost, enzymová aktivita diastázy... Všechna tato data se dále zpracovávají pomocí různých analytických metod. Například PCA, PLS, ANN, SIMCA, DA, CA ... obvykle se používá více těchto metod zároveň [26]. Nicméně určení přesného geografického původu u neznámého vzorku je téměř nemožné, z důvodu, že v Evropě neexistují žádné evidence charakteristik medů z jednotlivých lokalit [25].

Naskytá se možnost použití již zmiňované melissopalynologie [20]. Tato metoda však není vždy zcela postačující a přesná. Proto jsou vyvíjeny i jiné postupy. Měření fenolických látek pomocí HPLC, fenolických terpenoidů pomocí GC, nebo prvkové složení s ICP. Obvykle se tyto metody používají v kombinaci s hmotnostním detektorem [26].

Charakterizovat medy lze dále pomocí poměrování množství nejvíce obsažených prvků. V rámci projektu Evropské unie pro charakterizaci medů z poměru prvků C, H, N, a S z různých regionů bylo vypořádáno, že poměr uhlíkových a vodíkových izotopů odráží převážně množství srážek a klima dané oblasti, sírové izotopy souvisí s geologickým podložím a dusíkové izotopy jsou ovlivněny půdou, okolním prostředím a také užíváním hnojiv [25].

Další možností určování geografického původu je pomocí metody SCIRA (stable carbon isotope ratio analysis). Tato metoda je založena na sledování poměru izotopů uhlíku tvořících cukry a tvořících proteiny, které se v medu vyskytují. Botanický původ nemá na poměr izotopů nijak podstatný vliv. [25].

Posuzovat geografický původ medu lze také sledováním obsahu i ostatních prvků periodické tabulky s využitím chemometrie pro klasifikaci vzorků. Metoda shrnující tyto postupy se nazývá prvková metabolomika a kromě potravin má široké využití v mnoha dalších odvětvích jako jsou archeologie, nebo medicína [26].

Nejpoužívanějšími metodami pro stanovení obsahu minerálů v medu je skupina spektrofotometrických technik, kterými jsou plamenová emisní spektrometrie (F-AAS), nebo emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES). Také analytická metoda ICP-MS se ukázala jako velmi vhodná pro analýzu potravin, jelikož má poměrně nízký limit detekce a lze tak sledovat celé spektrum prvků. Analýzy různých typů potravin vyžadují sledování různých skupiny prvků. Příkladem mohou být lanthanoidy, které jsou vhodné pro sledování mléčných produktů [26, 27]. Poměr vybraných skupin prvků by mohl být v přímé souvislosti s vegetací, klimatickými podmínkami, složením půdy a obecně prostředím, ve kterém med vznikl. Díky tomu by na med mohlo být pohlíženo zároveň jako na ukazatel míry znečištění životního prostředí. Vysoký obsah rizikových prvků v medu, například některých těžkých kovů, může poukazovat na zvýšenou kontaminaci životního prostředí těmito látkami [27].

2.6.4 Falšování medu

Jak již bylo zmíněno, do medu není povoleno přidávat jakékoliv aditivní látky než jiný med. Přesto je nejčastěji odhaleným způsobem falšování medu přidání řepného, nebo třtinového cukru, a to v surové, nebo částečně hydrolyzované formě. Setkáváme se také s přidáváním invertního cukru, což je rovnocenná směs glukózy a fruktózy, nebo hydrolyzovaného škrobu, nebo glukózo-fruktózového sirupu. Absolutní náhradou přírodního produktu je umělý med, jehož příprava je různá. Jedná se například o zahřátý roztok sacharózy s kyselinou mléčnou, díky které dojde k hydrolyze na glukózu a fruktózu, a nakonec je přidána nějaká vonná složka pro docílení sensorických vlastností velmi podobných medu [28].

Falšování medu však kromě úpravy složení zahrnuje také podvody s falešným označením medu, ať už se jedná o geografický, nebo botanický původ [28].

Rozpoznání zfalšované potraviny úzce souvisí s existujícími analytickými metodami, které umí tyto podvody odhalit. Způsoby prověření autenticity dělíme na dvě skupiny podle sledovaného prvku. Jsou to cílená analýza, která se zaměřuje na konkrétní analyt ve vzorku, a necílená, která sleduje celé spektrum, nebo složení dané potraviny [29].

V analyzovaných vzorcích často hledáme tzv. markery, což jsou látky, které musí vykazovat vlastnosti, jaké jsou pro danou potravinu specifické, jejich obsah se během skladování a zpracovávání nemění a nesmí být ovlivněny klimatem, ročníkem, nebo jinými vnějšími vlastnostmi. Obsah těchto markerů v medu se pak porovnává s průměrným obsahem této látky v autentickém materiálu. Všechny nároky, které jsou na markery kladeny vedou k tomu, že ideální marker neexistuje, a proto hledáme více takových látek, které se alespoň přibližují ideálu a porovnáváme je všechny, abychom získali co nejpřesnější přehled o zkoumané potravine. Obvykle však nemáme příslušné databáze průměrných látek, a proto ne vždy můžeme takový přístup zvolit [29].

Způsoby pro odhalení doslazování medu jsou různé. Zpravidla však není možné zjistit dodatečný cukr refraktometricky. Za tímto účelem se používá celkový rozbor obsažených cukrů. Lze tak odhalit zvýšený obsah sacharózy. Rafinovanější způsoby jako je například použití glukózo-fruktóзовého sirupu už nelze tímto způsobem odhalit, ale možností je pozorovat látky spojené s výrobou tohoto sirupu. Při použití důkladně přečištěného sirupu však už musíme přistoupit k izotopovým metodám, ale ani tak není výsledek vždy dostatečný a v některých případech není falšovaný med odhalen. V poslední řadě se pak obrátíme na rozbor látek přirozeně se v medu vyskytujících jako jsou pyl, nebo typické těkavé látky [29].

Tabulka 9 *Některé vybrané způsoby falšování medu a častý postup při jejich odhalování [29]*

Způsob porušení kvality, nebo autenticity	Metoda/zařízení pro odhalení
nižší hmotnost v balení	váhy
zahřívání na příliš vysoké teploty	HPLC se spektrofotometickým detektorem; enzymové metody
záměna geografického původu	izotopové metody
záměna botanického původu	mikroskopie (melissopalynologie), GC, HPLC
přislazování	HPLC, izotopové metody

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem práce bylo zanalyzovat vzorky medu pomocí spektroskopických a separačních metod a najít tak souvislost mezi sledovanými parametry a geografickým, či botanickým původem medu. Byly změřeny obsahy hlavních cukrů fruktózy a glukózy, organických kyselin, makroprvků a mikroprvků, také byla stanovena sušina, titrační kyselost a vodivost.

3.1 Popis vzorků:

Pro měření bylo sesbíráno 26 vzorků medů, z toho 18 vzorků původem z různých regionů České republiky a 8 ze zahraničí. Některé medy byly poskytnuty přímo včelaři, některé byly zakoupeny v obchodě bez bližších informací o jejich původu. Mezi medy byly zastoupeny vzorky lesních, květových i některých jednodruhových medů. Vzorky byly uchovávány v temnu při pokojových teplotách. V následující tabulce je uveden seznam vzorků a jejich bližší popis.

Tabulka 10 Seznam zkoumaných vzorků a jejich charakterizace

Vzorek č.	Geografický původ	Botanický původ	Vzorek č.	Geografický původ	Botanický původ
1	Český les	květový	14	Domažlicko	lesní
2	Český les	lesní	15	Domažlicko	lesní
3	Domažlicko	lesní	16	Domažlicko	lesní
4	Domažlicko	květový	17	Domažlicko	květový
5	Břeclav	slunečnicový	18	Domažlicko	květový
6	Břeclav	slunečnicový	A	Pyreneje	akátový
7	Bulín	květový	B	Španělsko	květy citrusů
8	Plzeň - sever	květový	C	Egejské moře	borovicový
9	Slavkovský les	lesní	D	Mexiko	květový
10	Blansko	květový	E	Toskánsko	lesní
11	Blansko	květový	F	země mimo EU	květový, horský
12	Domažlicko	řepkový	G	země mimo EU	květy ovocných stromů
13	Domažlicko	květový	H	Velká Británie	vřesový

3.2 Laboratorní vybavení a přístroje

- Kádinky, nálevky, odměrné baňky (10, 25, 50, 100 ml), titrační baňky
- Odměrné válce, mikropipety
- Byrety
- Stříkačkové filtry
- Plastové zkumavky
- Varná deska
- Analytické váhy Entris, Santorius
- Skleněné vialky
- HPLC Agilent Infinity 1260 (Agilent technologies, USA) s ELSD detektorem
- Kapalinový chromatograf Methrom
- Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem Ulitma 2, HORIBA Scientific (Francie)
- Refraktometr Krüss ABBE (Německo)
- Stolní konduktometr Mettler Toledo SevenEasy

Tabulka 11 Parametry pro stanovení vybraných sacharidů metodou HPLC-ELSD

Přístroj	HPLC Agilent Infinity 1260
Kolona	Preval Carbohydrates ES RP-C18: (250 x 4,6 mm; 5 mm)
Mobilní fáze	Acetonitril:voda (75:25)
Objem nástřiku	10 ml
Průtok mobilní fáze	1,25 ml/min
Teplota	30 °C

Tabulka 12 Parametry pro stanovení organických kyselin metodou IC

Kolona	Metrosep Organic Acids - 250/7.8
Mobilní fáze	0,5 mmol/l H ₂ SO ₄ , 15% aceton
Průtok	0,5 ml/min
Tlak	5,5 Mpa
Teplota	35 °C
Detektor	Vodivostní (850 Professional IC 1)

Tabulka 13 Parametry pro prvkovou analýzu metodou ICP-OES

Čerpadlo	3-kanálová peristaltická pumpa
Zmlžovač	Typ Meinhard
Mlžná komora	Cyklonová
Generátor	Rádiová frekvence 40,68 MHz
Chladicí zařízení	GenCo pro chlazení cívky a generátoru
Odsávání	Přímé napojení na plazmovou komoru
Optický systém	Termoregulovatelný, ohnisková vzdálenost 1 m, optická mřížka s rozlišením 2400 g/mm, optické rozlišení < 5 pm pro 160 - 320 nm, a < 10 pm pro 320 - 800 nm
Vlnová délka	160 - 800 nm
Detekce	Dual PMT s HDD systémem
Příslušenství	Autosampler AS-500, zvlhčovač argonu

Tabulka 14 Nastavené podmínky měření na ICP-OES

Rychlost pumpy	15 ot./min
Příkon	1300 W
Plazmový plyn	13,5 l/min
Stínící plyn	0,2 l/min
Pomocný plyn (makroprvky)	0,8 l/min
Pomocný plyn (mikroprvky)	0,2 l/min
Integrační čas	0,5 s

Tabulka 15 Vlnové délky měření jednotlivých prvků na ICP-OES

Makroprvky:	λ [nm]
Ca	393,366
K	766,490
Mg	285,213

Tabulka 15 Vlnové délky měření jednotlivých prvků na ICP-OES – pokračování

Makroprvky:	λ [nm]
Na	588,995
P	214,914
Mikroprvky:	λ [nm]
Cu	327,396
Fe	259,940
Mn	257,610
Zn	206,191

3.3 Použité chemikálie

- Destilovaná voda
- Standardy sacharidů D-glukóza, D-fruktóza, Sacharóza
- Standardy organických kyselin
- Kyselina dusičná (67 %, Analytika)
- CRM – vodný kalibrační roztok CZ9092 MIX 012 při 20 °C $c = 1000 \pm 2$ mg/l pro Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn
- Standardy vybraných prvků
- Roztok hydroxidu sodného (0,1 M)
- Kyselina šťavelová
- Ethanolový roztok fenolftaleinu (1 %)

Tabulka 16 Přehled použitých standardů sacharidů pro HPLC

Sacharid	Čistota [%]	Výrobce	Země původu	CAS
D-glukóza	99,5	Sigma-Aldrich	Francie	50-99-7
D-fruktóza	100	Lach-ner	Česká republika	57-48-7
Sacharóza	99,5	Sigma-Aldrich	USA	57-50-1

Tabulka 17 Přehled použitých standardů organických kyselin pro IC

Standard	c [mg/l]/[%]	Výrobce	Země původu	CAS
Acetát	1 000 ± 4	Fluka Analytical	Švýcarsko	64-90-7
Malát	1 000 ± 4	Fluka Analytical	Švýcarsko	617-48-1
Sukcinát	1 000 ± 4	Fluka Analytical	Švýcarsko	110-15-6
Laktát	1 001 ± 6	Fluka Analytical	Švýcarsko	598-82-3
Citrát	1 000 ± 4	Fluka Analytical	Švýcarsko	77-92-9
Kyselina chinová	98%	Sigma Aldrich	Německo	77-95-2
Formiát	1 000 ± 4	Fluka Analytical	Švýcarsko	64-18-6

Tabulka 18 Přehled použitých standardů pro přípravu kalibračních roztoků k ICP-OES

Prvek	c [mg/l]	Původní látka	Matrix	Obchodní název	V [ml]
Ca	10 000 ± 19	Ca(NO ₃) ₂	HNO ₃ 2% (v/v)	Astasol	100
K	10 000 ± 20	KNO ₃	HNO ₃ 2% (v/v)	Astasol	100
Mg	10 000 ± 50	Mg 99,99%	HNO ₃ 2% (v/v)	Astasol	100

Tabulka 18 Přehled použitých standardů pro přípravu kalibračních roztoků k ICP-OES – pokračování

Prvek	c [mg/l]	Původní látka	Matrix	Obchodní název	V [ml]
Na	10 000 ± 20	NaNO ₃	HNO ₃ 2% (v/v)	Astasol	100
P	1 000 ± 2	NH ₄ H ₂ PO ₄	H ₂ SO ₄ 0,05% (v/v)	Astasol	500
Cu	1 000 ± 3	Cu 99,99%	HNO ₃ 2% (v/v)	Astasol	100
Fe	1 000 ± 4	Fe 99,99%	HNO ₃ 2% (v/v)	Astasol	100
Mn	1 000 ± 5	Mn 99,98%	HNO ₃ 2% (v/v)	Astasol	100
Zn	1 000 ± 6	Zn 99,99%	HNO ₃ 2% (v/v)	Astasol	100

3.4 Analýza vzorků medu

3.4.1 Stanovení sacharidů glukózy a fruktózy metodou HPLC-ELSD

Množství zhruba 1 g medu bylo naváženo do odměrné baňky na 100 ml s přesností na čtyři desetinná místa. Vzorek byl doplněn destilovanou vodou po značku a obsah baňky byl protřepán do rozpuštění medu. Roztoky byly zfiltrány přes stříkačkový filtr do jednorázových zkumavek. Dále byly zfiltrované roztoky 20x zředěny a množství 1 ml zředěného roztoku bylo pipetováno do skleněných vialek.

Pro měření byla připravena řada kalibračních roztoků glukózy, fruktózy a sacharózy o koncentracích 100, 200 a 400 mg/l. Měření probíhalo na kapalinovém chromatogramu Agilent Infinity 1260.

3.4.2 Stanovení obsahu organických kyselin metodou IC

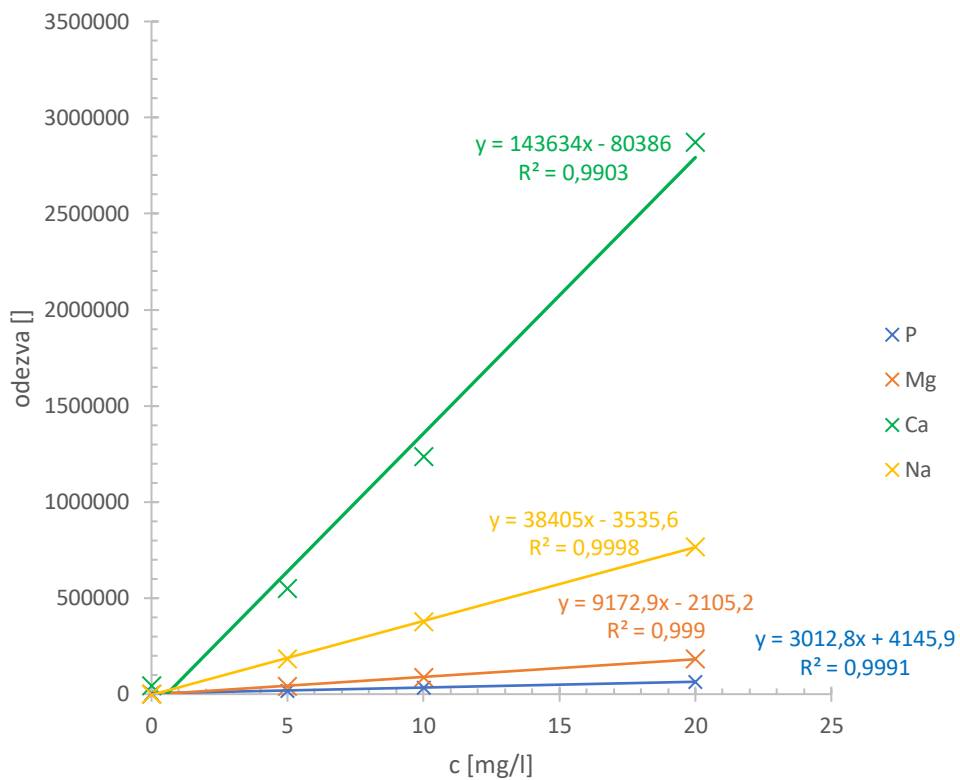
Pro měření obsahu organických kyselin byly použity stejné vzorky jako pro stanovení sacharidů pomocí HPLC-ELSD. Vzorky byly též zfiltrány přes stříkačkový filtr do jednorázových zkumavek a dále se už neředily. Přímo ve zkumavkách byly vzorky umístěny do vzorkovače.

Kromě zpracování vzorků bylo potřeba také připravit ze zásobních standardních roztoků kalibrační roztoky o známé koncentraci měřených organických kyselin. Všechny kyseliny byly připraveny v koncentraci 20 mg/l. Měření probíhalo pomocí kapalinového chromatografu Methrom.

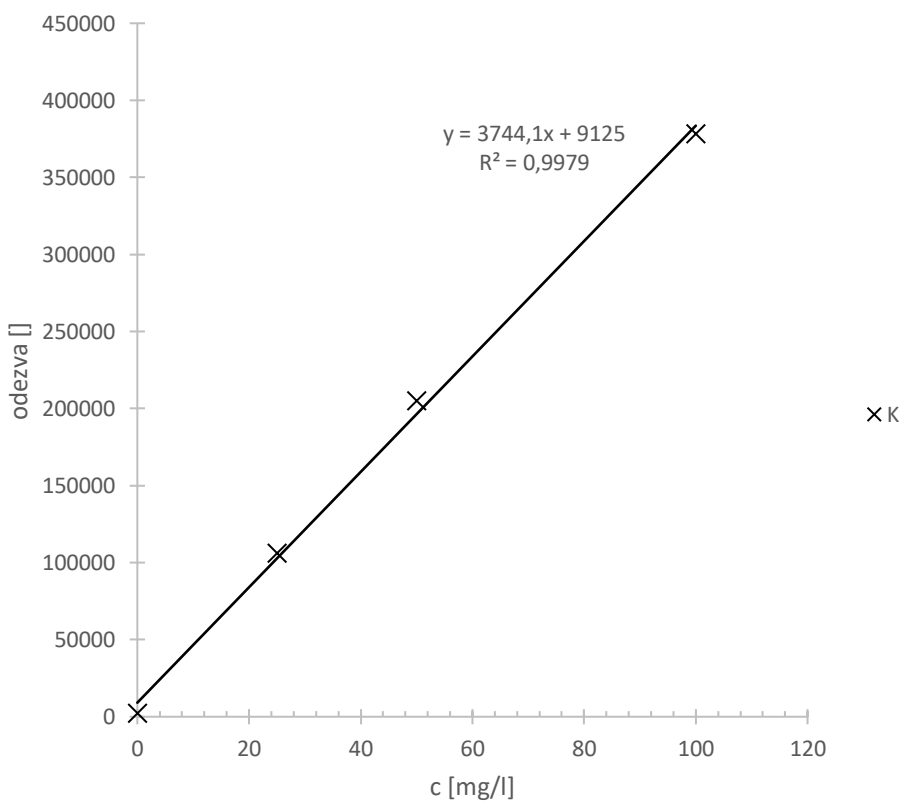
3.4.3 Stanovení obsahu vybraných prvků metodou ICP-OES

Na analytických vahách bylo naváženo přibližně 1,5 g vzorku medu a navážka byla zaznamenána s přesností na čtyři desetinná místa. Ke vzorku v kádince bylo přidáno 10 ml zředěné kyseliny dusičné HNO₃ (67 %) : destilovaná voda (50 : 50) a směs byla poté zahřívána na varné desce umístěné v digestoři po dobu 15 minut. Obsah v kádince byl kvantitativně přenesen do odměrné baňky na 25 ml a doplněn destilovanou vodou po rysku. Vzorky byly promíchány a zfiltrány přes stříkačkový filtr do jednorázových zkumavek. Zkumavky byly umístěny do vzorkovače.

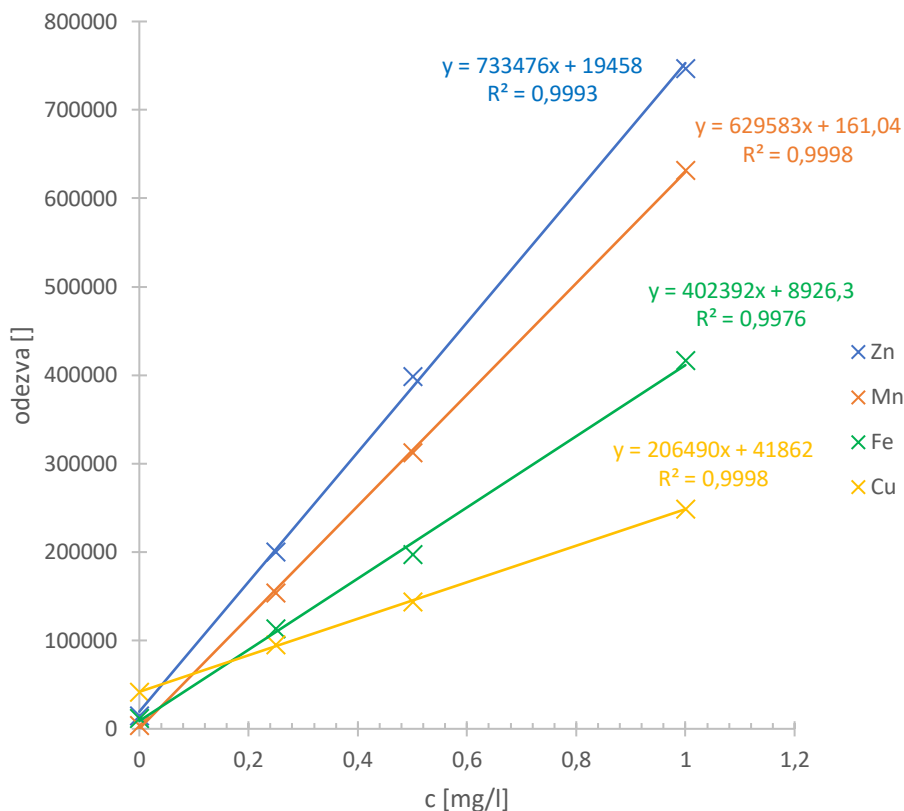
Před začátkem měření bylo také nutné připravit sadu kalibračních roztoků o určité koncentraci. Jako blank a zároveň ředící roztok zde sloužila směs HNO₃ (67 %) : destilovaná voda (50 : 50), která byla dále znovu 2,5 x zředěna, tak aby odpovídala koncentraci kyseliny dusičné v připravených roztocích vzorků. Kalibrační roztoky měřených makroprvků byly připraveny v koncentracích 5,10 a 20 mg/l pro P, Mg, Ca a Na a v koncentracích 25, 50 a 100 mg/l pro K. Kalibrační roztoky mikroprvků pak byly připraveny ze směsného standardního roztoku v koncentracích 0,25, 0,5 a 1 mg/l.



Obrázek 3 Kalibrační křivky makroprvků P, Mg, Ca, Na



Obrázek 4 Kalibrační křivka pro draslík



Obrázek 5 Kalibrační křivky mikroprvků Zn, Mn, Fe, Cu

Pro měření byl použit ICP-OES ULTIMA 2 HORIBA Scientific.

3.4.4 Refraktometrické stanovení sušiny

Malá část medu byla nanášena na styčnou plochu refraktometru a z osy byl odečten index lomu.

3.4.5 Stanovení kyselosti medu

Nejprve byla provedena standardizace roztoku hydroxidu sodného. Pro tento účel byl připraven standardní roztok kyseliny šťavelové.

$m_{\text{šťavelová k.}} = 0,630 \text{ g}$, $M_{\text{šťavelová k.}} = 126 \text{ g/mol}$, $V_{\text{NaOH}} = 9,7 \text{ ml}$

$$c_{\text{NaOH}} = 2 \cdot \frac{m_{\text{šťav.}}}{M_{\text{2H2O}} \cdot V_{\text{NaOH}}} \cdot F_{\text{zř.}} = 2 \cdot \frac{0,63}{126 \cdot 0,0097} \cdot \frac{10}{100} = 0,1031 \text{ mol/l}$$

Pro samotné stanovení bylo naváženo zhruba 10 g světlého medu, nebo 5 g tmavého medu s přesností na čtyři desetinná místa. Vzorek medu byl rozpuštěn v 75 ml destilované vody. K roztoku bylo přidáno 5 kapek roztoku fenolftaleinu a obsah titrační baňky byl titrován odměrným roztokem hydroxidu sodného do růžového zabarvení, které vydrželo minimálně po dobu 10 sekund. Spotřeba odměrného roztoku byla zaznamenána.

3.4.6 Měření vodivosti

Ze vzorků medu byly připraveny roztoky o koncentraci 20 %. Navážka byla vypočítána jako podíl $2000/4$ vynásobený obsahem sušiny. Výsledkem byla hmotnost medu v g potřebná pro přípravu 25 ml roztoku. Vzorky byly naváženy s přesností na 2 desetinná místa. V roztocích byla měřena vodivost pomocí stolního konduktometru. Výsledné hodnoty byly vyjádřeny v jednotkách $\mu\text{S/cm}$.

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Některé sledované parametry určují kvalitu medu a jsou u nich legislativou upraveny přípustné hodnoty. Pokud tyto parametry med nesplňuje, neměl by se správně dostat do prodeje. Mezi tyto ukazatele kvality patří součet obsahu fruktózy a glukózy, obsah sacharózy, obsah vody, kyselost, obsah HMF, obsah ve vodě nerozpustných látek, elektrická vodivost a aktivita diastázy [1]. V této práci byl sledován obsah glukózy a fruktózy, organických kyselin, mikro a makro prvků a dále byla stanovena vodivost, titrační kyselost a refraktometrická sušina. Naměřená data sloužila data k posouzení geografické autenticity medu, konkrétně zda se jedná o med původem z ČR nebo ze zahraničí.

4.1 Obsah glukózy a fruktózy

Vzorky byly analyzovány metodou HPLC s ELSD detektorem. Byl sledován obsah glukózy, fruktózy a také sacharózy, která podle vyhlášky nesmí svým obsahem v medu přesáhnout hranici 5 %. Tento požadavek splňovaly všechny vzorky. Legislativa dále říká, že součet hmotnostních procent fruktózy a glukózy má být minimálně 60 % u květových a 45 % u medovicových medů. Téměř u všech vzorků medu byla tato podmínka splněna, nebo byl obsah nižší o méně než jedno procento. Jediný vzorek, který požadavek nesplnil byl vřesový med, který se svojí hodnotou 39,48 % nespadá ani do kategorie medovicových medů. Jedná se však o výjimečný med, u kterého jsou jisté odchylky tolerovány.

Výsledky měření jsou uvedeny v Tab. 19. Kromě vzorků 13, A, C, E a H byl u všech medů naměřen vyšší obsah glukózy než fruktózy. Obsah fruktózy se pohyboval mezi hodnotami 239,67–464,20 mg/g a množství glukózy bylo stanoveno v rozmezí 153,43–619,00 mg/g.

Z jiných studií vyplívá, že obsah glukózy bývá u medu nižší než obsah fruktózy [30]. Vyšší obsah glukózy v medech může pocházet z příkrmování včel cukerným roztokem.

Tabulka 19 Koncentrace fruktózy a glukózy ve vzorcích medu

Vzorek č.	c _{FRU} [mg/g]	c _{GLU} [mg/g]	GLU : FRU	x _{celk.} [%]
1	335,00	527,00	1,57	86,20
2	356,07	486,84	1,37	84,29
3	297,00	419,00	1,41	71,60
4	337,00	459,00	1,36	79,60
5	258,00	396,00	1,53	65,40
6	338,90	439,65	1,30	77,86
7	307,68	471,35	1,53	77,90
8	276,33	434,08	1,57	71,04
9	286,56	422,58	1,47	70,91
10	389,06	537,01	1,38	92,61
11	296,00	359,54	1,21	65,55
12	308,89	619,00	2,00	92,79
13	464,20	441,59	0,95	90,58
14	378,63	610,28	1,61	98,89
15	296,43	390,16	1,32	68,66
16	268,06	326,34	1,22	59,44
17	293,24	442,80	1,51	73,60
18	242,37	350,99	1,45	59,34

Tabulka 19 Koncentrace fruktózy a glukózy ve vzorcích medu – pokračování

Vzorek č.	c FRU [mg/g]	c GLU [mg/g]	GLU : FRU	X celk. [%]
A	381,96	216,60	0,57	59,86
B	336,94	378,53	1,12	71,55
C	268,10	262,41	0,98	53,05
D	331,42	469,64	1,42	80,11
E	239,67	229,89	0,96	46,96
F	267,11	468,82	1,76	73,59
G	356,55	379,82	1,07	73,64
H	241,34	153,43	0,64	39,48

4.2 Obsah organických kyselin

Obsah organických kyselin byl sledován pomocí metody IC s vodivostním detektorem. Byly měřeny obsahy citrátu, malátu, sukcinátu, laktátu, acetátu a formiátu (Tab. 20).

Množství, nebo určité složení organických kyselin není přímo zařazeno mezi požadavky na fyzikálně-chemické vlastnosti medu, ale od jejich celkového množství se však odvíjí další vlastnosti medu, které už legislativa upravuje a jsou jimi vodivost, a titrační kyselost medu. Z rozmanitého složení organických kyselin dále vychází různé fyzikálně chemické a senzorycké vlastnosti medu, které jsou také diskutovaným znakem autenticity medů.

Organické kyseliny se do medu dostávají z několika různých zdrojů. Patří mezi ně enzymatická činnost sekretů slinných žláz včel, kterým jako matrice slouží přítomné sacharidy, nebo mohou pocházet přímo od původní rostliny a u medovicových medů je potenciálním zdrojem hmyz tvořící medovici. Dále mohou kyseliny pocházet z metabolických drah některých mikroorganismů, které s medem přišly do kontaktu. Z důvodu tolika rozdílných zdrojů a přítomnosti různých kyselin i rozmanitosti co do obsahu nemůže být jejich obsah přímým parametrem určujícím kvalitu medu. [31].

Obsah citrátu se pohyboval u některých vzorků pod limitem detekce až do maximální hodnoty 3,357 7 mg/g, přičemž nejvyšší naměřená hodnota je velmi vzdálená od ostatních. Odpovídá vzorku č. 16, což je vzorek lesního medu. Množství malátu se pohybovalo mezi 0,022 4–4,627 4 mg/g. Malát byla jediná ze sledovaných kyselin, jejíž obsah byl detekovatelný u všech vzorků. Medy s nejvyšším obsahem této kyseliny byly vzorky č. 16 (lesní) a H (vřesový). Obsah sukcinátu byl opět u některých vzorků pod limitem detekce a pohyboval se do hodnoty 2,205 2 mg/g. Nejvyšší hodnotu opět vykazoval lesní med. Zde konkrétně vzorek C (borovicový). Zajímavý z praktického hlediska může být obsah kyseliny octové. Vyšší množství kyseliny octové bylo pozorováno u vzorku č. 6 (slunečnicový) a mohlo by být ukazatelem začínajícího kvašení [4]. Pokud ze statistiky vyloučíme tento patrně poškozený vzorek, pohybovala se koncentrace kyseliny octové od mezí detekce až do hodnoty 5,950 2 mg/g. Podobně jako u kyseliny octové může být ukazatelem narušení vzorku kyselina mléčná, jejíž přítomnost je pravděpodobně způsobena bakteriemi mléčného kvašení, které se do medu dostávají přirozeně z trávicího traktu včel [32]. Koncentrace kyseliny mléčné je výrazně vyšší u vzorku E. Jedná se o medovicový med z Toskánska. V podobné studii sledující obsah organických kyselin byl taktéž zjištěn vyšší obsah kyseliny mléčné u jednoho z lesních medů. Kyselina mléčná by tak mohla pocházet převážně z trávicího traktu mízu sajícího hmyzu a mohla by tak být považována za parametr určující medovicový původ medu [32]. Výrazně vyšší koncentrace kyseliny mléčné byla pozorována ve vzorku H (vřesový). Jedná se o jeden z výjimečných medů, u kterých jsou různé odchylky tolerovány. U obsahu žádné z ostatních

kyselin se však tento vzorek výrazně nelišil od ostatních vzorků. Pokud by více souběžných stanovení vedlo k podobným výsledkům, mohl by se obsah mléčné kyseliny v budoucnu považovat za charakteristický znak vřesového medu. Po vyloučení těchto specifických medů se rozmezí naměřených koncentrací kyseliny mléčné pohybovalo od hodnot pod limitem detekce do nejvyšší hodnoty 5,519 9 mg/g. Obsah poslední sledované kyseliny mravenčí, se u více než poloviny vzorků pohyboval pod limitem detekce a nejvyšší hodnota 1,599 8 mg/g, byla naměřena u vzorku č. 2 (lesní med). Kyselina mravenčí se ze sledovaných kyselin vyskytovala v nejmenším množství.

Tabulka 20 Koncentrace organických kyselin ve vzorcích medu [mg/g]

Vzorek č.	X citrát	X malát	X sukcinát	X laktát	X acetát	X formiát
1	0,322 4	1,364 4	< LOD	< LOD	0,801 1	0,549 2
2	1,400 0	2,759 9	< LOD	0,734 4	0,907 6	1,599 8
3	1,183 2	2,060 9	0,974 2	0,734 0	1,290 6	< LOD
4	< LOD	1,390 3	< LOD	2,790 0	< LOD	0,513 9
5	1,537 9	1,008 4	< LOD	0,485 9	0,476 7	< LOD
6	1,304 5	0,912 6	0,079 5	1,890 6	11,520 9	< LOD
7	1,090 8	0,974 4	< LOD	0,850 2	0,905 0	< LOD
8	0,259 5	1,425 0	0,401 0	0,366 5	0,723 6	< LOD
9	1,240 7	2,366 1	0,835 2	0,303 2	0,844 3	< LOD
10	0,216 1	1,386 8	0,405 0	0,867 1	0,005 2	< LOD
11	1,937 8	2,789 1	1,488 5	0,432 0	1,813 1	0,480 7
12	< LOD	0,613 5	< LOD	0,186 7	0,592 4	0,335 4
13	0,195 3	0,804 9	< LOD	0,882 7	0,882 7	< LOD
14	0,270 6	2,076 3	< LOD	0,394 0	3,992 4	< LOD
15	1,116 1	2,687 9	1,139 7	0,367 8	1,810 2	0,231 4
16	3,357 7	3,357 7	1,981 1	1,663 4	5,950 2	< LOD
17	1,757 6	2,081 3	1,204 8	0,223 9	0,600 9	0,136 1
18	0,590 0	0,022 4	< LOD	0,000 5	0,002 8	0,201 3
A	< LOD	0,627 1	< LOD	0,433 4	0,433 4	< LOD
B	0,605 3	1,401 1	< LOD	0,408 8	0,208 3	< LOD
C	1,067 2	1,988 3	2,205 2	0,226 7	0,123 8	0,182 3
D	< LOD	0,933 1	< LOD	0,536 0	< LOD	< LOD
E	2,310 6	0,095 8	2,179 7	5,520 0	1,932 7	1,383 2
F	< LOD	1,405 6	< LOD	0,626 8	< LOD	< LOD
G	< LOD	1,327 0	< LOD	0,881 2	< LOD	< LOD
H	< LOD	4,627 4	1,047 1	29,123 5	0,599 4	1,355 9

4.3 Prvková analýza

Jednou z možností, jak se minerální látky dostávají do medu je přenos z okolního prostředí. Rostliny čerpají minerální látky z půdy a část se jich dostává také do nektaru, ze kterého je med vytvářen. Složení půdy tak může ovlivnit obsah prvků v medu. Dále může přítomnost některých prvků signalizovat znečištění prostředí, například pokud je v blízkosti místa vzniku medu umístěna nějaká průmyslová výroba [33]. Prvkové složení je tak potenciálním ukazatelem odkazující na místo vzniku medu.

Analýza prvků byla provedena pomocí metody ICP-OES. Obecným předpokladem je, že medovicové medy disponují vyššími obsahy prvků. Souvisí to s tím, že zdrojem lesních medů

je medovice, která tyto minerální látky obsahuje ve větším množství, a navíc může být obohacena látkami obsahujícími minerály prostřednictvím trávicího traktu mízu sajícího hmyzu. Naopak květový med má svůj původ v nektaru, který příliš mnoho minerálních látek neobsahuje [34]. Pravidlo vyššího obsahu minerálů u medovicových medů však platí spíše pro celkové množství a jednotlivé prvky mohou mít obsah různý.

Stanovení probíhalo ve dvou fázích. Nejprve byly změřeny obsahy makroprvků (Ca, K, Mg, Na, P), poté byly na přístroji nastaveny nové optimální podmínky a byly změřeny obsahy mikroprvků. Z naměřených dat pro makroprvky (Tab. 21) je patrné, že nejvíce zastoupeným prvkem v medu je draslík. Toto zjištění koreluje s jinými studiemi, a tabulkami průměrného složení medu. Předpokládá se, že důvodem je jeho přítomnost v rostlinných pletivech, která je vyšší, než u ostatních prvků [33]. Jeho množství se ve sledovaných vzorcích pohybovalo od 0,2126 mg/g do 4,214 4 mg/g. Nejvyšší hodnotu vykazoval vzorek medu E (lesní). Obsah vápníku se pohyboval v rozmezí 0,043 3–0,301 4 mg/g. Nejvyšší hodnota odpovídá vzorku medu H (vřesový) a druhý po něm je opět vzorek E. Hořčík se ve vzorcích vyskytoval v koncentracích od 0,011 9 mg/g do 0,156 2 mg/g. Tentokrát nejvyšší hodnotu vykazoval vzorek medu 11 (květový), ovšem vzorek E byl se svojí hodnotou 0,151 6 mg/g opět druhý co do obsahu hořčíku. Koncentrace sodíku se pohybovala v rozsahu 0,007 8–0,111 mg/g. Nejvyšší koncentraci sodíku vykazoval opět vzorek medu H (vřesový). Dalšími vzorky s vysokým obsahem sodíku byly E a C. Oba jsou to lesní medy a pocházejí ze zahraničí. Nejvyšší obsah sodíku z tuzemských medů vykazoval vzorek 17 (květový). Všechny ostatní vzorky z ČR se pohybovaly spíše v nižších koncentracích. Koncentrace fosforu byla stanovena v rozsahu 0,066 7–0,610 2 mg/g. Nejvyšší naměřený obsah byl opět pozorován u vzorku lesního medu E. Vzorek H (vřesový) se tentokrát pohyboval v nejnižších koncentracích. Konkrétně vykazoval druhou nejnižší koncentraci 0,068 7 mg/g.

Obecně je z naměřených dat patrné, že obsah prvků v medovicových medech je vyšší než v květových. Není to však pravidlem u každého z jednotlivých prvků ani jednotlivých vzorků. Diskutovaný vzorek E má velké zastoupení všech sledovaných prvků (Ca, K, Mg, Na, P), ale u ostatních medovicových medů tomu tak není a u některých prvků svým obsahem zapadají mezi květové medy. Naopak jedním ze vzorků s nejnižšími stanovenými obsahy prvků byl vzorek řepkového medu č. 12, což je v souladu s polskou studií, která pozorovala u řepkových medů jedny z nejnižších koncentrací prvků [34].

Tabulka 21 Koncentrace makroprvků ve vzorcích medu

Vzorek č.	x _{Ca} [mg/g]	x _K [mg/g]	x _{Mg} [mg/g]	x _{Na} [mg/g]	x _P [mg/g]
1	0,065 2	0,675 3	0,027 6	0,017 1	0,108 3
2	0,075 2	2,125 2	0,105 0	0,023 9	0,261 9
3	0,061 9	1,350 6	0,078 0	0,013 3	0,199 2
4	0,057 4	0,478 1	0,027 7	0,012 5	0,086 5
5	0,093 4	0,456 9	0,031 0	0,013 3	0,088 7
6	0,083 7	0,424 6	0,028 5	0,011 3	0,090 9
7	0,090 1	0,447 1	0,027 4	0,008 3	0,089 6
8	0,062 6	0,745 8	0,035 8	0,014 8	0,123 6
9	0,061 1	1,255 1	0,067 3	0,015 7	0,177 0
10	0,059 9	0,741 0	0,036 7	0,012 5	0,115 2
11	0,065 0	2,783 9	0,156 2	0,016 2	0,362 9
12	0,043 3	0,212 6	0,019 1	0,007 8	0,066 7

Tabulka 21 Koncentrace makroprvků ve vzorcích medu – pokračování

Vzorek č.	x_{Ca} [mg/g]	x_K [mg/g]	x_{Mg} [mg/g]	x_{Na} [mg/g]	x_P [mg/g]
13	0,055 8	0,252 8	0,022 0	0,013 8	0,076 7
14	0,084 3	1,218 6	0,059 9	0,027 1	0,181 0
15	0,072 7	2,183 6	0,117 3	0,021 3	0,304 2
16	0,078 3	2,475 9	0,147 8	0,024 6	0,343 3
17	0,073 1	2,162 5	0,113 8	0,030 3	0,310 7
18	0,060 9	1,136 6	0,061 2	0,014 1	0,164 0
A	0,065 7	0,258 0	0,011 9	0,017 4	0,072 8
B	0,101 6	0,403 0	0,016 0	0,019 4	0,081 3
C	0,148 7	2,576 6	0,075 4	0,066 8	0,291 9
D	0,078 1	0,514 4	0,016 2	0,015 6	0,075 0
E	0,260 5	4,214 4	0,151 6	0,041 2	0,610 2
F	0,080 1	0,488 2	0,014 0	0,015 2	0,071 2
G	0,086 0	0,422 6	0,019 0	0,013 5	0,079 2
H	0,301 4	2,450 3	0,077 3	0,111 0	0,068 7

Z mikroprvků byly sledovány Cu, Mn, Fe, Zn. Měď se ze sledovaných prvků vyskytovala ve vzorcích medů v nejnižších koncentracích. Její obsah se pohyboval v rozmezí 0,031 4–1,460 2 $\mu\text{g/g}$. Nejvyšší obsah byl naměřen u vzorku medu E (lesní). Z výsledků měření lze pozorovat, že ze sledovaných prvků je ve vzorcích nejvíce zastoupeno železo. Jeho obsah se pohyboval v rozmezí 0,464 4–13,400 5 $\mu\text{g/g}$, přičemž nejvyšší hodnota odpovídá vzorku medu 14 (lesní). Celkově se množství železa ve vzorcích medovicových medů pohyboval v průměru o něco výše než u květových. Z květových vzorků byl nejvyšší obsah železa naměřen ve vzorku vřesového medu H. Mangan byl ze sledovaných prvků po železu druhý nejobsáhlejší. Jeho množství se pohybovalo od 0,197 1 $\mu\text{g/g}$ do 20,447 1 $\mu\text{g/g}$. Nejvyšší naměřenou koncentraci manganu vykazoval vzorek medu H (vřesový), druhý po něm byl až vzorek 16 (lesní) s obsahem 11,791 9 $\mu\text{g/g}$. Množství zinku ve vzorcích bylo velmi variabilní. Nebylo pozorováno, že by u lesních vzorků byla koncentrace zinku výrazně vyšší. Několik květových medů vykazovalo vyšší obsah zinku než lesní medy. Obsah se pohyboval mezi 0,149 3 $\mu\text{g/g}$ až 3,380 3 $\mu\text{g/g}$, což je nevyšší naměřená koncentrace zinku ve vzorku medu 17 (květový). Z lesních medů obsahovaly nejvíce zinku vzorky 15 a 16.

Stejně jako u makroprvků, i zde byly jedny z nejnižších koncentrací pozorovány u vzorku 12 (řepkový). Mohlo by se tedy jednat o jeho charakteristický rys.

Tabulka 22 Koncentrace mikroprvků ve vzorcích medu

Vzorek č.	x_{Cu} [$\mu\text{g/g}$]	x_{Fe} [$\mu\text{g/g}$]	x_{Mn} [$\mu\text{g/g}$]	x_{Zn} [$\mu\text{g/g}$]
1	0,137 3	1,230 5	1,014 9	0,564 5
2	0,528 0	3,507 2	4,697 1	2,159 0
3	0,500 2	4,054 1	2,961 2	1,472 9
4	0,235 6	0,888 6	0,675 7	0,607 0
5	0,087 9	1,236 3	0,254 9	2,404 3
6	0,169 6	0,756 2	0,197 1	0,954 3
7	0,052 6	0,464 4	0,213 4	0,258 1
8	0,153 8	2,403 7	1,586 5	0,947 3
9	0,357 3	1,279 6	2,101 6	1,377 3

Tabulka 22 Koncentrace mikroprvků ve vzorcích medu – pokračování

Vzorek č.	x_{Cu} [μg/g]	x_{Fe} [μg/g]	x_{Mn} [μg/g]	x_{Zn} [μg/g]
10	0,270 1	0,704 6	1,713 8	0,746 8
11	0,536 2	2,427 3	7,142 9	3,085 2
12	0,044 9	1,890 4	0,440 7	0,149 3
13	0,031 4	2,027 8	0,540 4	0,297 2
14	0,369 0	13,400 5	3,896 1	1,570 8
15	0,802 1	8,374 7	6,970 9	2,441 3
16	0,764 7	5,769 9	11,791 9	2,446 0
17	0,634 0	2,828 8	6,858 3	3,380 3
18	0,518 6	1,216 2	3,313 6	0,897 0
A	0,655 7	2,748 7	0,228 3	0,965 2
B	0,479 9	4,613 3	0,353 5	1,433 4
C	0,791 1	4,273 3	0,723 3	1,107 3
D	0,409 4	2,458 5	0,385 6	0,505 8
E	1,460 2	4,798 0	2,731 9	1,235 9
F	0,363 3	1,338 3	0,255 4	0,613 5
G	0,334 1	3,742 9	0,282 7	1,164 9
H	0,875 5	5,479 7	20,447 3	1,306 7

4.4 Refraktometrické stanovení sušiny

Vlhkost medu je sice běžně stanovovaný parametr, který hovoří o kvalitě medu, ale jeho použití pro určení geografického, nebo botanického původu není příliš možné. Mnohem více závisí na období, ve kterém včely sbírají nektar než na původní rostlině [35]. Vlhkost je však důležitá pro udržení kvality medu. S vyšší vlhkostí roste riziko znehodnocení med, např. mikrobiální činností.

Pomocí refraktometru byl stanoven obsah sušiny ve vzorcích medu. Z obsahu sušiny lze po odečtení od 100 % zjistit vlhkost medu. Vlhkost kromě obsahu vody zahrnuje i obsah těkavých látek. Z toho důvodu není zcela adekvátní porovnávat naměřenou vlhkost s legislativním požadavkem, že obsah vody nesmí u medu přesáhnout 20 % [1]. Pro běžné účely je však použití refraktometru postačující. Například pokud včelař potřebuje zjistit, zda je už med vhodný ke stáčení, nebo pro určení navážky medu k přípravě 20% roztoku. V této koncentraci se totiž stanovuje vodivost medu.

Naměřená vlhkost se pohybovala od 16,22 % do 21,35 %. Přesah oproti maximálnímu přípustnému obsahu vody, který je stanoven na 20 % [1] lze připsat nesprávně kalibrovanému refraktometru, který mohl soustavně ukazovat nižší hodnoty indexu lomu. Dále tabulky, ze kterých byly odečteny obsahy sušiny jsou nejpřesnější při teplotě měření 20 °C, kdežto v laboratoři v den měření bylo okolo 24 °C. Na systematickou chybu měření také může poukazovat výsledek studie, která zkoumala vzorky českých slunečnicových medů a zjistila průměrnou vlhkost 16,6 % [30], kdežto průměrná vlhkost dvou slunečnicových vzorků (vzorky 5 a 6), 18,98 %, je o něco vyšší.

Jak již bylo řečeno, jedná se spíše o orientační stanovení. V případě nutnosti zjistit přesný obsah vody, bychom museli použít jinou metodu. Například Karl-Fisherovu titraci.

Tabulka 23 Obsah refraktometrické sušiny ve vzorcích medu

Vzorek č.	x sušina [% hm.]	x vlhkost [% hm.]
1	83,48	16,52
2	82,35	17,65
3	81,04	18,96
4	80,42	19,58
5	81,04	18,96
6	81,00	19,00
7	81,92	18,08
8	82,23	17,77
9	82,50	17,50
10	80,23	19,77
11	82,42	17,58
12	82,31	17,69
13	81,56	18,44
14	80,73	19,27
15	82,73	17,27
16	83,37	16,63
17	83,78	16,22
18	79,56	20,44
A	82,42	17,58
B	81,67	18,33
C	81,74	18,26
D	79,56	20,44
E	82,54	17,46
F	78,65	21,35
G	79,96	20,04
H	78,69	21,31

4.5 Kyselost medu

Ve vzorcích medu byla stanovena tzv. volná kyselost. Kromě volné kyselosti se stanovuje také laktonová kyselost a součet těchto dvou kyselostí se nazývá celková kyselost medu [36]. Kyselost medu byla stanovena volumetrickou titrační metodou. Ze spotřeby na navážku se kyselost v mekv/kg vypočítala podle následujícího vzorce (příklad výpočtu pro vzorek 1).

$$x = \frac{V_{NaOH}}{m} \cdot 10 \cdot 10 = \frac{1,24}{9,7423} \cdot 10 \cdot 10 = 12,70 \text{ mekv/kg}$$

Maximální přípustná kyselost medu je stanovena na hodnotu 50 mekv/kg. Pro pekařský med platí hranice 80 mekv/kg [1]. Žádný ze sledovaných vzorků tuto hranici nepřesáhl. Naměřená kyselost se pohybovala od hodnoty 8,37 mekv/kg, která odpovídá vzorku A (aktátový), do nejvyšší hodnoty 44,39 mekv/kg, kterou vykazoval vzorek 16 (lesní).

Titraci je nutno provádět v co nejkratší době po rozpuštění vzorku. Už zhruba po 120 sekundách se začínají v roztoku uvolňovat laktony, které kyselost navyšují [37]. Pro získání přesnějších výsledků by bylo vhodnější použít některou z automatizovaných titračních metod, která pracuje rychleji a zároveň s větší přesností. Je tedy možné, že naměřené výsledky jsou částečně zatíženy chybou, protože rozpouštění vzorku ve vodě trvalo o něco déle než

požadované 2 minuty. Tomuto tvrzení nahrává i fakt, že v jedné ze studií byla průměrná kyselost akátového medu 2,29 mekv/kg [35], což je zhruba 3,5 x menší než změřených 8,37 mekv/kg.

Kyselosti medu přispívají organické kyseliny, některé anorganické ionty, ale největší podíl na její tvorbě má kyselina glukonová, která vzniká z glukózy působením enzymu glukóza oxidázy. Statistická analýza však ukázala, že doba a podmínky skladování nemají žádný výrazný dopad na kyselost medu. Stejně tak krystalizace medu se podle studie na kyselosti nijak podstatně nepodepsala [36].

Tabulka 24 Stanovení kyselosti ve vzorcích medu

Vzorek č.	x [mekv/kg]	Vzorek č.	x [mekv/kg]
1	12,37	14	38,59
2	28,78	15	33,56
3	22,62	16	44,39
4	12,92	17	23,42
5	14,42	18	18,66
6	12,93	A	8,37
7	12,63	B	15,50
8	15,56	C	21,03
9	21,05	D	11,94
10	15,95	E	38,55
11	34,46	F	14,08
12	9,43	G	18,81
13	10,23	H	28,42

4.6 Vodivost medu

Pomocí stolního konduktometru byly změřeny vodivosti 20% roztoků medu. Vodivost medu je jedním z parametrů upravovaného legislativou. Podle vodivosti se řídí značení medu. Medy s vodivostí do 80 mS/m se označují jako květové, ty s vyšší vodivostí jako lesní. Ve vzorcích bylo pozorováno několik vzorků, které toto pravidlo nespĺňovaly. Z medů, které byly označeny jako lesní vykazoval vzorek 9 vodivost pouze 75,6 mS/m, což je nedostačující hodnota, aby mohl být označen za lesní med. Naopak u vzorků 11, 17 a H byla naměřena vodivost mnohem vyšší než hraničních 80 mS/m. Vřesový med jako výjimečný lze ponechat bez povšimnutí, oba další vzorky však s vodivostí, jakou vykazovaly, mohly být označeny za lesní. Ani jeden ze vzorků však nebyl čerpán z původního obalu, ale jednalo se o odebrané vzorky do menších skleniček. Případná předchozí kontaminace skla by mohlo být zdrojem této chyby. Na druhou stranu nárůst vodivosti je natolik vyšší, že je až toto tvrzení dost nepravděpodobné. Mohlo dojít pouze k nesprávnému označení včelařem, který předpokládal, že se jedná o květový med a označil med, aniž by změřil jeho vodivost. Dále u dvou vzorků medu 12 a 16 už bohužel nebylo dostatečné množství pro změření vodivosti.

Naměřené hodnoty se pohybovaly v rozsahu od 20,1 mS/m, což je vodivost, kterou vykazoval vzorek A (akátový), do nejvyšší hodnoty 244 mS/m, která byla naměřena u vzorku E (lesní). To odpovídá dřívějším zjištěním, že světlé medy, jako je například akátový, disponují nižšími vodivostmi a tmavé medy naopak [38]. Důvodem je, že nektar určitých rostlin obsahuje méně organických kyselin a minerálních látek, které kyselost v medu utváří [35]. Autoři studie [38] uvádí vodivost různých druhů medu v rozmezí od 8 do 199 mS/m, což souhlasí s výsledky získanými v této bakalářské práci.

Správnost měření a správné kalibrace přístroje lze usuzovat podle studie, ve které byla zjištěna průměrná vodivost slunečnicového medu z České republiky 43 mS/m [30], což se shoduje s průměrem vodivosti vzorků 5 a 6 (slunečnicový).

Ačkoliv u vzorku 12 nebylo možné vodivost změřit, můžeme předpokládat, že by byla velmi nízká. Jednalo se o vzorek řepkového medu, který má podobné hodnoty vodivosti jako akátový med [35]. Stejně tak by se dalo usuzovat podle obsahu prvků, který byl u tohoto medu jeden z nejnižších.

Tabulka 25 Stanovení vodivosti ve vzorcích medu

Vzorek č.	G [mS/m]	Vzorek č.	G [mS/m]
1	33,1	14	82,3
2	122,2	15	128,0
3	81,3	16	-
4	36,9	17	122,4
5	44,6	18	68,8
6	42,4	A	20,1
7	42,7	B	31,6
8	48,4	C	153,0
9	75,6	D	37,5
10	46,3	E	244,0
11	162,9	F	36,2
12	-	G	34,0
13	25,1	H	137,7

4.7 Statistické zpracování

Analýza dat byla provedena Tukeyho HSD testu vícenásobného porovnávání a metodou PCA. Do zpracování byla zahrnuta veškerá naměřená data. Cílem bylo nalézt společné vlastnosti českých a zahraničních medů, podle kterých by bylo možné tyto dvě skupiny medů oddělit a identifikovat. Jedinými parametry, které byly teoreticky použitelné pro oddělení českých medů od zahraničních byl obsah vápníku ($p=0,0077$), obsah mědi ($p=0,0334$) a obsah glukózy ($p=0,0119$).

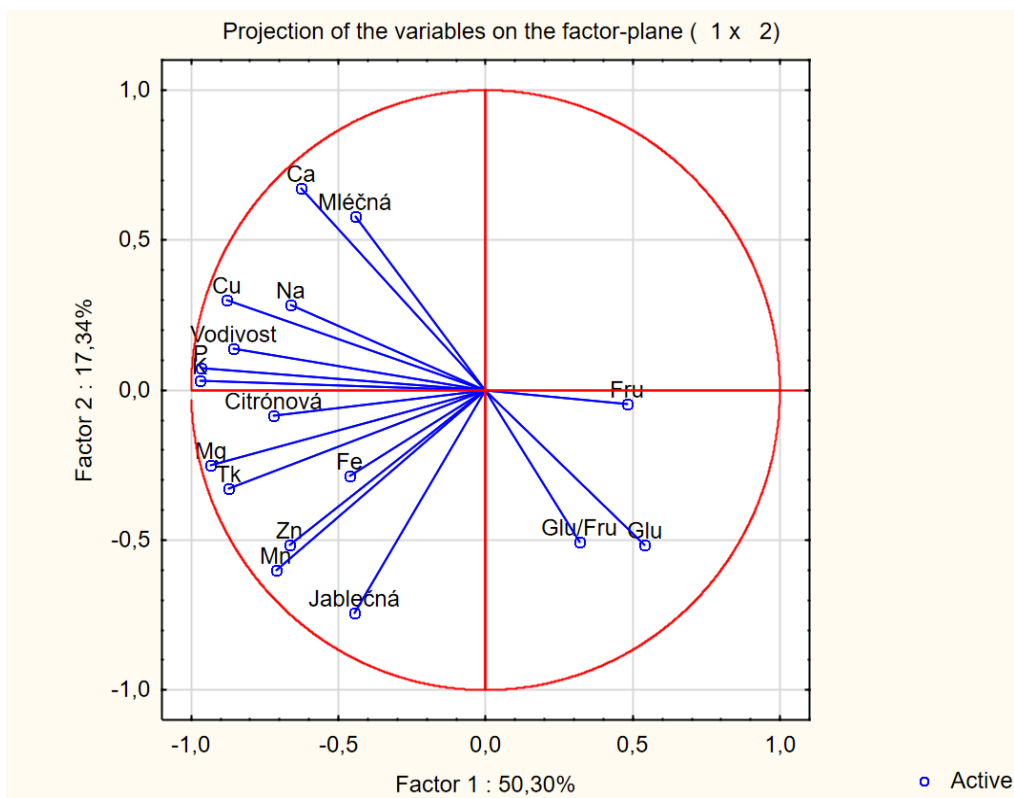
Prostřednictvím PCA lze také pozorovat korelace mezi jednotlivými naměřenými parametry (Tab. 26). Významná korelace byla pozorována mezi vodivostí a obsahy prvků, zejména draslíkem, hořčíkem a fosforem. Toto pozorování je v souladu s tím, že jsou to z velké části právě prvky v iontovém stavu, které u medu navyšují vodivost. Podobně jako vodivost korelovala s obsahy prvků také titrační kyselost, která ale navíc částečně vykazovala závislost také s obsahy některých organických kyselin. Nejvýznamnější byly korelace s jablečnou a citronovou kyselinou. Významná korelace byla také nalezena mezi obsahem jednotlivých makro a mikroprvků. Takto spolu nejvíce korelovaly obsahy fosforu a draslíku, fosforu a hořčíku, draslíku a hořčíku, z mikroprvků pak měď s hořčíkem a měď s fosforem. Zatímco makro prvky mohou reflektovat např. geologické poměry v dané lokalitě vzniku medu, mikro prvky jsou součástí různých enzymů, které se do medů dostávají z pylu a z rostlinných šťáv a míz dřevin.

Tabulka 26 *Vzájemné korelace naměřených parametrů*

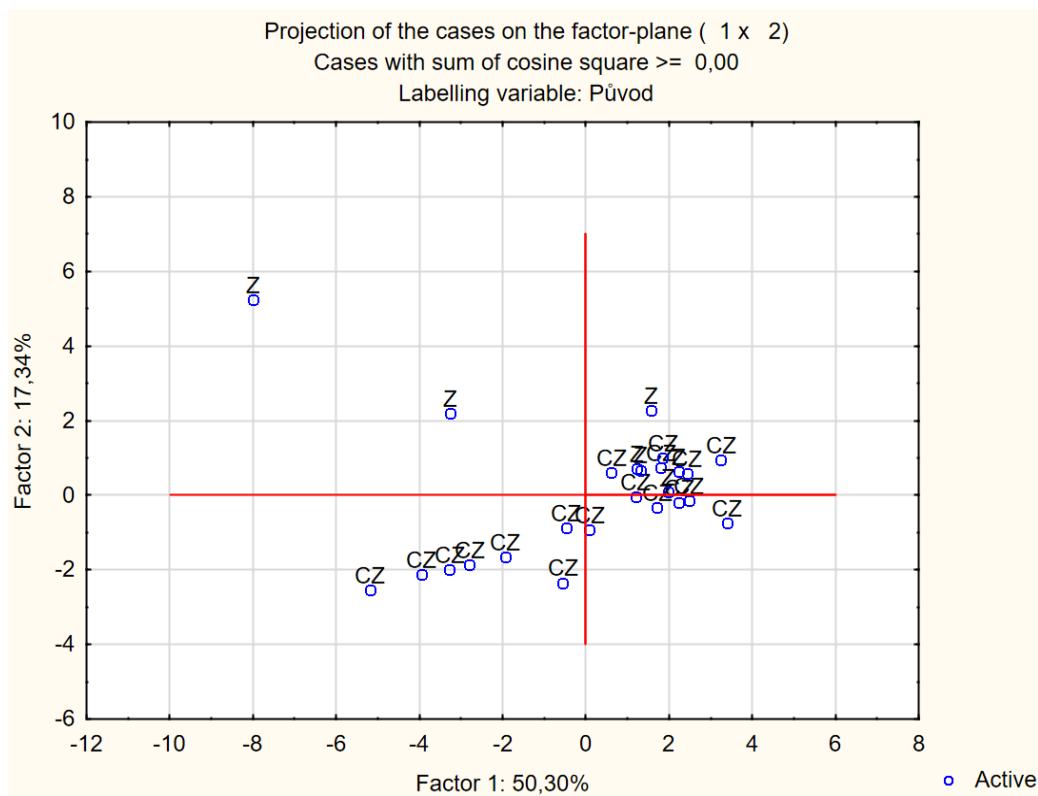
Parametr	Ca	K	Mg	Na	P	Cu	Fe	Mn	Zn
Ca	1,00	0,63	0,37	0,66	0,66	0,71	0,22	-0,04	0,05
K	0,63	1,00	0,94	0,68	0,99	0,85	0,37	0,66	0,58
Mg	0,37	0,94	1,00	0,46	0,93	0,72	0,37	0,85	0,73
Na	0,66	0,68	0,46	1,00	0,62	0,67	0,40	0,20	0,26
P	0,66	0,99	0,93	0,62	1,00	0,85	0,37	0,65	0,57
Cu	0,71	0,85	0,72	0,67	0,85	1,00	0,42	0,47	0,42
Fe	0,22	0,37	0,37	0,40	0,37	0,42	1,00	0,44	0,35
Mn	-0,04	0,66	0,85	0,20	0,65	0,47	0,44	1,00	0,76
Zn	0,05	0,58	0,73	0,26	0,57	0,42	0,35	0,76	1,00
Fru	-0,37	-0,47	-0,43	-0,28	-0,46	-0,41	0,07	-0,27	-0,30
Glu	-0,52	-0,46	-0,36	-0,47	-0,47	-0,68	0,02	-0,15	-0,26
Glu/Fru	-0,37	-0,25	-0,16	-0,37	-0,26	-0,49	-0,10	-0,01	-0,09
Tk	0,38	0,82	0,88	0,44	0,82	0,67	0,69	0,83	0,66
Malát	-0,24	0,40	0,56	0,21	0,33	0,16	0,40	0,71	0,66
Citrát	0,36	0,63	0,70	0,24	0,64	0,53	0,07	0,63	0,58
Laktát	0,71	0,44	0,31	0,20	0,52	0,49	0,01	0,02	-0,10
Vodivost	0,66	0,92	0,81	0,65	0,92	0,76	0,32	0,43	0,47

Parametr	Fru	Glu	Glu/Fru	Tk	Malát	Citrát	Laktát	Vodivost
Ca	-0,37	-0,52	-0,37	0,38	-0,24	0,36	0,71	0,66
K	-0,47	-0,46	-0,25	0,82	0,40	0,63	0,44	0,92
Mg	-0,43	-0,36	-0,16	0,88	0,56	0,70	0,31	0,81
Na	-0,28	-0,47	-0,37	0,44	0,21	0,24	0,20	0,65
P	-0,46	-0,47	-0,26	0,82	0,33	0,64	0,52	0,92
Cu	-0,41	-0,68	-0,49	0,67	0,16	0,53	0,49	0,76
Fe	0,07	0,02	-0,10	0,69	0,40	0,07	0,01	0,32
Mn	-0,27	-0,15	-0,01	0,83	0,71	0,63	0,02	0,43
Zn	-0,30	-0,26	-0,09	0,66	0,66	0,58	-0,10	0,47
Fru	1,00	0,35	-0,29	-0,31	-0,06	-0,50	-0,14	-0,45
Glu	0,35	1,00	0,79	-0,22	0,06	-0,45	-0,31	-0,35
Glu/Fru	-0,29	0,79	1,00	-0,11	0,06	-0,17	-0,29	-0,15
Tk	-0,31	-0,22	-0,11	1,00	0,61	0,61	0,30	0,67
Malát	-0,06	0,06	0,06	0,61	1,00	0,40	-0,26	0,21
Citrát	-0,50	-0,45	-0,17	0,61	0,40	1,00	0,46	0,45
Laktát	-0,14	-0,31	-0,29	0,30	-0,26	0,46	1,00	0,42
Vodivost	-0,45	-0,35	-0,15	0,67	0,21	0,45	0,42	1,00

Z veškerých naměřených dat byly vytvořeny diagramy znázorňující, jak na sobě závisí jednotlivé parametry a jak se od sebe liší jednotlivé vzorky z České republiky a zahraničí.



Obrázek 6 Diagram vzájemné závislosti měřených parametrů



Obrázek 7 Diagram vzájemné závislosti různých druhů medu na základě měřených parametrů

Na základě sledovaných parametrů se nepodařilo oddělit tuzemské medy od zahraničních. Do klastru českých medů se zamíchaly i zahraniční medy a některé vzorky byly dokonce zcela vzdálené hlavním klastrům a rušily tak celkové vyhodnocení. Pro lepší statistické vyhodnocení by bylo potřeba zahrnout do sledování více parametrů, nebo analyzovat více vzorků. Vhodnější by například bylo zkoumat větší množství medů pouze jednoho druhu z České republiky a ten samý druh medů ze zahraničí. Velké rozdíly ve složení mezi medy různého botanického původu totiž statistické zpracování výrazně narušují.

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo najít souvislosti mezi některými fyzikálně-chemickými a chemickými vlastnostmi vzorků tuzemských a zahraničních medů a pokusit se na základě těchto naměřených dat najít charakteristické ukazatele, pomocí kterých by bylo možné tyto dvě skupiny medů od sebe odlišit. S využitím statistických metod bylo prokázáno, že medy z ČR a ze zahraničí se od sebe významně liší v obsahu Cu, Ca a glukózy. Markantnější odlišení českých a zahraničních medů by bylo pravděpodobně možné až po provedení detailnější analýzy, například měření více prvků, individuálních sacharidů, nebo dalších fyzikálně-chemických vlastností. Dále by bylo potřeba se vyhnout medům z příhraničí, které mohou vzniknout na území dvou států a narušovat tak statistické vyhodnocení.

U sesbíraných vzorků byly sledovány tyto parametry: obsah glukózy a fruktózy, obsah organických kyselin, prvkové složení, refraktometrické stanovení sušiny, titrační kyselost a vodivost. Některé z výsledků měření byly zároveň diskutovány v souvislosti s předepsanými legislativními požadavky na kvalitu medu. Většina vzorků jen s pár výjimkami splňovala všechna nastavená pravidla pro uvádění medu na trh. Hlavní kuriozitou v téměř každém měření byl vřesový med, který se svými vlastnostmi významně lišil od ostatních medů a v mnoha měřeních vykazoval extrémní odlehle hodnoty. Je však zařazen do skupiny výjimečných medů, u kterých se jisté odchylky od povolených hodnot tolerují. Co se týče zařazení medu do kategorie lesních, nebo květových, bylo pozorováno u jednoho z českých medů, který byl označen jako lesní, nesplnění podmínky, že vodivost má být vyšší než 80 mS/m. Naopak dva vzorky českého medu, které byly označeny jako květové vykazovaly vodivost vyšší než 80 mS/m.

Problematika geografické i botanické autenticity medu je stále neuzavřené téma a v budoucnu by se mohla dále rozvíjet společně s rozvojem nových analytických metod.

6 SEZNAM ZDROJŮ:

- [1] Vyhláška č. 76/2003 Sb. Zákony pro lidi [online]. Zlín, 2021 [cit. 2021-01-30]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-76>
- [2] KNOLLER, Rasso. *Knížka o medu: med, vosk, pyl, mateří kašička, propolis, včelí jed*. Praha: Granit, 1996. ISBN 80-858-0543-X.
- [3] *The Honey Association* [online]. [cit. 2020-04-20]. dostupné z: [<https://www.honeyassociation.com/>](https://www.honeyassociation.com/)
- [4] TITĚRA, Dalibor. *Včelí produkty mýtů zbavené: med, vosk, pyl, mateří kašička, propolis, včelí jed*. Praha: Ve spolupráci s Českým svazem včelařů vyd. nakl. Brázda, 2006. ISBN 80-209-0347-X.
- [5] NICOLSON, Susan W., Robert W. THORNBURG, Maríia Teresa SANCHO a Ana PASCUAL-MATÉ. Nectar chemistry: A review. *Nectaries and Nectar* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007, 2007, **57**(1), 215-264 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1007/978-1-4020-5937-7_5. ISBN 978-1-4020-5936-0. ISSN 0021-8839. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4020-5937-7_5
- [6] Honey. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2020-04-21]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Honey>
- [7] TRUJILLO TOLEDO, Luis E., Duniesky MARTINEZ GARCÍA, Enrique PÉREZ CRUZ, Leonor M. RIVERA INTRIAGO, Jimmy Nuñez PÉREZ a José M. PAIS CHANFRAU. Fructosyltransferases and Invertases: Useful Enzymes in the Food and Feed Industries. *Enzymes in Food Biotechnology*. Elsevier, 2019, 2019, , 451-469. ISBN 9780128132807. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-813280-7.00026-8
- [8] *Honey Traveler: Everything in the world about honey* [online]. 2021 [cit. 2021-6-26]. Dostupné z: <https://www.honeytraveler.com/single-flower-honey>
- [9] MACHADO DE-MELO, Adriane Alexandre, Ligia Bicudo de ALMEIDA-MURADIAN, Maríia Teresa SANCHO a Ana PASCUAL-MATÉ. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research* [online]. 2017, **57**(1), 5-37 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1080/00218839.2017.1338444. ISSN 0021-8839. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2017.1338444>
- [10] HALOUZKA, Rostislav. *Vybrané metody chemické analýzy medu*. Olomouc, 2014. Diplomová práce. Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra biochemie.
- [11] KLIKAROVÁ, Jitka. Vývoj moderních analytických metod pro analýzu biologicky aktivních látek. Pardubice, 2020. Disertační práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra analytické chemie.
- [12] GOLDBERG, I. a J. S. ROKEM. Organic and Fatty Acid Production, Microbial. SCHAECHTER, Moselio. *Encyclopedia of microbiology*. 3rd ed. London: Academic, 2009, s. 421-442. ISBN 9780123739445
- [13] BODOR, Zsanett, Csilla BENEDEK, Ágnes URBIN, Dániel SZABÓ a László SIPOS. Colour of honey: can we trust the Pfund scale? – An alternative graphical tool covering the whole visible spectra. *LWT*. 2021, **149**. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2021.111859
- [14] Pfund scale. *Sizes* [online]. 2011 [cit. 2021-6-27]. Dostupné z: https://www.sizes.com/units/pfund_scale.htm

- [15] Codex Alimentarius. EAgrri Potraviny [online]. Ministerstvo zemědělství [cit. 2021-7-20]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/codex-alimentarius/>
- [16] Standard for Honey. Codex Alimentarius [online]. 2021, 2019 [cit. 2021-7-20]. Dostupné z: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B12-1981%252FCXS_012e.pdf
- [17] ZAPPALÀ, M., B. FALLICO, E. ARENA a A. VERZERA. Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. *Food Control* [online]. 2005, **16**(3), 273-277 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2004.03.006. ISSN 09567135. Dostupné z: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095671350400057X>>
- [18] PETROVÁ, J. TONKOVÁ, M. KAČÁNIOVÁ a M. KMEŤ. Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe: Mikrobiologická kvalita medu. Nitra: SPU, 2004, 383-385. ISBN 80-8069-488-6.
- [19] PEÑALVER, Rosa, Natalia ARROYO-MANZANARES, Natalia CAMPILLO a Pilar VIÑAS. Targeted and untargeted gas chromatography-mass spectrometry analysis of honey samples for determination of migrants from plastic packages. *Food Chemistry* [online]. 2021, **334** [cit. 2021-01-30]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127547
- [20] VAUGHN, Bryant. *Melissopalynology. Bee Culture: The Magazine of American Beekeeping* [online]. Medina, Ohio: Bee Culture, A.I. Root Company, 2018, 29.10.2018 [cit. 2021-01-27]. Dostupné z: <https://www.beeculture.com/melissopalynology/>
- [21] EBENEZER, Ige O., Modupe T. OLUGBENGA, F. BALESTRIERI, F. FABRETTI a D. MARINI. Pollen Characterisation of Honey Samples from North Central Nigeria. *Journal of Biological Sciences* [online]. 2009, **10**(1), 43-47 [cit. 2021-01-30]. ISSN 17273048. Dostupné z: doi:10.3923/jbs.2010.43.47
- [22] TAYLOR, B. a K.R. SKENE. Forensic palynology: Spatial and temporal considerations of spora deposition in forensic investigations. *Australian Journal of Forensic Sciences* [online]. 2003, **2**(35), 193-204 [cit. 2021-01-26]. ISSN 00450618. Dostupné z: doi:10.1080/00450610309410582
- [23] MARINI, F., A.L. MAGRÌ, F. BALESTRIERI, F. FABRETTI a D. MARINI. Supervised pattern recognition applied to the discrimination of the floral origin of six types of Italian honey samples. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2004, **515**(1), 117-125 [cit. 2021-01-30]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2004.01.013
- [24] GOODACRE, Royston, Branka S. RADOVIC a Elke ANKLAM. Progress toward the Rapid Nondestructive Assessment of the Floral Origin of European Honey Using Dispersive Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy* [online]. 2002, **56**(4), 521-527 [cit. 2021-01-27]. ISSN 0003-7028. Dostupné z: doi:10.1366/0003702021954980
- [25] KROPF, Urška, Terezija GOLOB, Marijan NEČEMER, Peter KUMP, Mojca KOROŠEC, Jasna BERTONCELJ a Nives OGRINC. Carbon and Nitrogen Natural Stable Isotopes in Slovene Honey: Adulteration and Botanical and Geographical Aspects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2010, **58**(24), 12794-12803 [cit. 2021-01-30]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf102940s

- [26] DRIVELOS, Spiros A., Georgios P. DANEZIS, Michał HALAGARDA, Stanisław POPEK a Constantinos A. GEORGIU. Geographical origin and botanical type honey authentication through elemental metabolomics via chemometrics. *Food Chemistry* [online]. 2021, 338 [cit. 2021-02-02]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127936
- [27] VOICA, Cezara, Andreea M. IORDACHE a Roxana E. IONETE. Multielemental characterization of honey using inductively coupled plasma mass spectrometry fused with chemometrics. *Journal of Mass Spectrometry*. 2020, **55**(7). ISSN 10765174. Dostupné z: doi:10.1002/jms.4512
- [28] KUKUROVÁ, Kristína, Jolana KAROVIČOVÁ a Zlatica KOHAJDOVÁ. Metódy identifikácie falšovania a autentifikácie medu. *Journal of Food and Nutrition Research* [online]. 2004, 43(1-2), 25-36 [cit. 2021-02-02]. ISSN 0231-9950. Dostupné z: <https://www.vup.sk/index.php?mainID=2&navID=36&version=1&volume=43&article=713>
- [29] Food hygiene and technology: ... Lenfeld's and Hökl's Days : sborník přednášek a posterů [online]. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2010- [cit. 2021-02-08]. ISBN 978-80-7305-828-9.
- [30] JUAN-BORRÁS, Marisol, Eva DOMENECH, Magdalenka HELLEBRANDOVA a Isabel ESCRICHE. Effect of country origin on physicochemical, sugar and volatile composition of acacia, sunflower and tilia honeys. *Food Research International*. 2014, **60**, 86-94. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2013.11.045
- [31] BRUGNEROTTO, Patricia, Fabiana DELLA BETTA, Luciano Valdemiro GONZAGA, Roseane FETT a Ana Carolina OLIVEIRA COSTA. A capillary electrophoresis method to determine aliphatic organic acids in bracatinga honeydew honey and floral honey. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2019, **82**, 86-94. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2019.103243
- [32] SERAGLIO, Siluana Katia Tischer, Greici BERGAMO, Patricia BRUGNEROTTO, Luciano Valdemiro GONZAGA, Roseane FETT a Ana Carolina Oliveira COSTA. Aliphatic organic acids as promising authenticity markers of bracatinga honeydew honey. *Food Chemistry*. 2021, **343**, 86-94. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.128449
- [33] LANJWANI, Muhammad Farooque, Fayaz Ahmed CHANNA, Patricia BRUGNEROTTO, Luciano Valdemiro GONZAGA, Roseane FETT a Ana Carolina Oliveira COSTA. Minerals content in different types of local and branded honey in Sindh, Pakistan. *Heliyon*. 2019, **5**(7), 86-94. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02042
- [34] MADEJCZYK, Maria, Danuta BARALKIEWICZ, Patricia BRUGNEROTTO, Luciano Valdemiro GONZAGA, Roseane FETT a Ana Carolina Oliveira COSTA. Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Analytica Chimica Acta*. 2008, **617**(1-2), 11-17. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2008.01.038

- [35] PAULIUC, Daniela, Paula CIURSĂ, Sorina ROPCIUC, Florina DRANCA, Mircea OROIAN a Ana Carolina Oliveira COSTA. Physicochemical parameters prediction and authentication of different monofloral honeys based on FTIR spectra. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021, **102**(1-2), 11-17. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2021.104021
- [36] CAVIA, María M., Miguel A. FERNÁNDEZ-MUIÑO, Sara R. ALONSO-TORRE, José F. HUIDOBRO, María T. SANCHO a Ana Carolina Oliveira COSTA. Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*. 2007, **100**(4), 1728-1733. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2005.10.019
- [37] Stanovení kyselosti medu. *Technologie a hygiena včelích produktů* [online]. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2015 [cit. 2021-7-21]. Dostupné z: <https://zdravevcely.webnode.cz/analyticke-metody/stanoveni-kyselosti-medu/>
- [38] ŽIVKOV BALOŠ, Milica, Nedad POPOV, Suzana VIDAKOVIC, Dragana LJUBOJEVIC PELIC, Milos PELIC, Željko MIHALJEV a Sandra JAKSIC. Electrical conductivity and acidity of honey. *Archiv veterinarske medicine*, 2018, **11**(1), 91-101.