

Posouzení vybraných parametrů v různých druzích medu

Bc. Jiřina Navrátilová, DiS.



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Jiřina Navrátilová, DiS.**
Osobní číslo: **T21489**
Studijní program: **N0721A210004 Technologie potravin**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Posouzení vybraných parametrů v různých druzích medu**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část
Stručná charakteristika medu a legislativní požadavky na med.
Popis tvorby a získávání medu.
Popis analytických metod pro posouzení vlastností medu.
II. Praktická část
Popis metod vybraných parametrů medu.
Praktické stanovení vybraných parametrů.
Posouzení získaných výsledků s literaturou a vyvození závěrů.

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] MACHADO DE-MELO, Adriane Alexandre, Ligia Bicudo de ALMEIDA-MURADIAN, María Teresa SANCHO a Ana PASCUAL-MATÉ, 2018. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*. 57(1), 5-37. ISSN 0021-8839. Dostupné z: doi:10.1080/00218839.2017.1338444
- [2] NAILA, Aishath, Steve H. FLINT, A.Z. SULAIMAN, Azilah AJIT a Zuben WEEDS, 2018. Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants. *Food Control*. 90, 152-165. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2018.02.027
- [3] PASCUAL-MATÉ, Ana, Sandra M OSÉS, Miguel A FERNÁNDEZ-MUIÑO a M Teresa SANCHO, 2018. Methods of analysis of honey. *Journal of Apicultural Research*. 57(1), 38-74

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jana Šenkýřová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání diplomové práce: **12. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Teoretická část charakterizuje med, legislativní požadavky na med, popisuje tvorbu medu včelami a způsob získávání medu. Jsou zde také popsány metody využívané pro posouzení vlastností medu. Byly provedeny analýzy vybraných vzorků medů – obsah vody v medu refraktometricky, stanovení měrné elektrické vodivosti neboli konduktivita, titrační a aktivní kyselost, stanovení obsahu fruktózy a glukózy polarimetricky a kapalinovou chromatografií a stanovení úhlu otočení roviny polarizovaného světla.

Klíčová slova: med, voda, konduktivita, titrační kyselost, stanovení obsahu glukózy a fruktózy, stanovení prolinu.

ABSTRACT

The theoretical part characterizes honey, legislative requirements for honey, describes the production of honey by bees and the method of obtaining honey. The methods used to assess the properties of honey are also described here. Analyzes of selected honey samples were carried out - water content in honey by refractometry, determination of specific electrical conductivity or conductivity, titration and active acidity, determination of fructose and glucose content by polarimetry and liquid chromatography and determination of the angle of rotation of the plane of polarized light.

Keywords: honey, water, conductivity, titration and active acidity, determination of glucose and fructose content, determination of proline.

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce, Ing. Janě Šenkýřové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a čas, který mi věnovala.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA MEDU A LEGISLATIVNÍ POŽADAVKY NA MED	11
1.1 CHARAKTERISTIKA MEDU.....	11
1.1.1 Chemické složení medu	12
1.1.2 Fyzikální vlastnosti medu.....	15
1.2 LEGISLATIVNÍ POŽADAVKY NA MED	17
1.2.1 Vyhláška 76/2003 Sb.	17
1.2.2 Včelařská norma Český med.....	20
1.2.3 Označování medu.....	21
2 POPIS TVORBY A ZÍSKÁVÁNÍ MEDU	23
2.1 TVORBA MEDU VČELAMI.....	23
2.2 ZÍSKÁVÁNÍ MEDU	24
3 POPIS ANALYTICKÝCH METOD PRO POSOUZENÍ VLASTNOSTÍ MEDU.....	27
3.1 STANOVENÍ OBSAHU VODY.....	27
3.2 STANOVENÍ ELEKTRICKÉ VODIVOSTI	27
3.3 STANOVENÍ TITRAČNÍ KYSELOSTI A PH	28
3.4 STANOVENÍ SPECIFICKÉ ROTACE	28
3.5 STANOVENÍ OBSAHU CUKRŮ.....	28
3.5.1 Stanovení redukcujících cukrů podle Lana a Eynona.....	28
3.5.2 Stanovení sacharózy dle Lana a Eynona	29
3.5.3 Stanovení sacharidů chromatografickými metodami.....	29
3.6 STANOVENÍ PROLINU A OSTATNÍCH AMINOKYSELIN	29
3.7 STANOVENÍ VE VODĚ NEROZPUSTNÝCH PEVNÝCH LÁTEK.....	29
3.8 STANOVENÍ HYDROXYMETHYLFURFURALU.....	29
3.8.1 Stanovení hydroxymethylfurfuralu metodou podle Whitea.....	30
3.8.2 Stanovení hydroxymethylfurfuralu metodou podle Winklera.....	30
3.8.3 Stanovení hydroxymethylfurfuralu kapalinovou chromatografií.....	30
3.9 STANOVENÍ AKTIVITY DIASTÁZY PODLE SCHADEHO	30
3.10 PYLOVÁ ANALÝZA MEDU	31
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	32
4 CÍL PRÁCE	33
5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....	34
5.1 VZORKY MEDU K ANALÝZE	34

6	METODIKA PRÁCE.....	37
6.1	FYZIKÁLNĚ CHEMICKÁ ANALÝZA	37
6.1.1	Stanovení obsahu vody.....	37
6.1.2	Stanovení elektrické vodivosti	37
6.1.3	Stanovení titrační kyselosti	38
6.1.4	Stanovení aktivní kyselosti – pH.....	38
6.1.5	Polarimetrické stanovení	39
6.1.6	Stanovení obsahu glukózy a fruktózy HPLC metodou s RI detekcí.....	39
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	41
7.1	STANOVENÍ OBSAHU VODY.....	41
7.2	STANOVENÍ ELEKTRICKÉ VODIVOSTI	43
7.3	STANOVENÍ TITRAČNÍ KYSELOSTI.....	45
7.4	STANOVENÍ AKTIVNÍ KYSELOSTI – PH	46
7.5	POLARIMETRICKÉ STANOVENÍ.....	48
7.6	STANOVENÍ OBSAHU FRUKTÓZY A GLUKÓZY.....	49
7.6.1	Stanovení obsahu fruktózy a glukózy polarimetricky.....	49
7.6.2	Stanovení obsahu fruktózy a glukózy kapalinovou chromatografií s RI detekcí	51
	ZÁVĚR	55
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	57
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	65
	SEZNAM OBRÁZKŮ	66
	SEZNAM TABULEK.....	67
	SEZNAM PŘÍLOH.....	68

ÚVOD

Med patří mezi nejdůležitější a nejznámější včelí produkty a lidmi je využíván již od pradávna nejen ke slazení, ale také k péči o tělo i pleť a v neposlední řadě jako přírodní lék. Med je definován jako zahuštěný vodný roztok, který je složen převážně z jednoduchých cukrů. Je vyráběn včelami z nektaru a medovice a zároveň jej včely obohacují o významné biologicky aktivní látky rostlinného a živočišného původu.

Nejhojněji zastoupenými sacharidy v medu jsou glukóza a fruktóza. Je tedy lehce stravitelným, za to vydatným zdrojem energie a živin. Obsahuje také celou řadu nejrůznějších aminokyselin, včetně esenciálních, dále živočišné bílkoviny, které do medu vnáší včely ze svých hltnových žláz a rostlinných bílkovin, pocházejících z pylu rostlin. V medu se nacházejí také důležité enzymy, vitamíny, minerální látky, organické kyseliny, aromatické látky a barviva.

Med byl od pradávna hojně využíván v lidovém léčitelství, k léčení nejrůznějších potíží a neduhů. V současné době se lidé začínají k těmto přírodním produktům vracet a využívat jejich léčivé účinky. Med je velmi účinným pomocníkem při léčbě vysokého krevního tlaku a onemocnění srdce, jeho užívání také přináší pozitivní efekt při léčbě žaludečních a dvanácterníkových vředů. Díky vysokému obsahu antioxidantů dokáže med zabránit nadměrné tvorbě cholesterolu, který je nebezpečný tím, že se usazuje na vnitřní straně tepen a žil a způsobuje jejich kornatění.

Tato diplomová práce se zabývá fyzikálně chemickou analýzou různých vzorků medů, květových a medovicových, zakoupených v tržní síti a také medů přímo od včelaře. Vzorky medů byly podrobeny rutinním analýzám, které jsou využívány například při určení celkové kvality medu, a také zda medy odpovídají daným legislativním parametrům.

U vzorků medů byl stanoven obsah vody refraktometrem, měrná elektrická vodivost pomocí konduktometru, obsah volných kyselin alkalimetrickou titrací, aktivní kyselost pomocí pH metru, obsah fruktózy a glukózy kapalinovou chromatografií s refraktometrickým detektorem a také optická otáčivost polarimetrem.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA MEDU A LEGISLATIVNÍ POŽADAVKY NA MED

1.1 Charakteristika medu

Med je nutričně hodnotná a vyvážená potravina přírodního původu, využívaná po staletí jako sladidlo a rychlý zdroj energie, vytvářená společenstvím včel (*Apis mellifera*), které sbírají sladké šťávy rostlin – nektar, nebo tzv. medovici, což je sladká tekutina nacházející se na listí a jehličí různých druhů stromů [1].

V závislosti na původu lze rozlišit dva druhy medovice, a to medovici rostlinného původu, která je produkována stromy zejména v tropických a subtropických oblastech. Dřeviny díky vysoké teplotě a vlhkosti vypuzují na povrch přebytečnou mizu, která je následně využita včelami k tvorbě medovice, a dále medovici živočišného původu, kterou produkuje drobný stejnokřídlý hmyz (mšice a červci) živící se šťávou z rostlinných pletiv. Přebytek cukrů z rostlinných míz následně vylučují trávicí soustavou na listy a jehličí, kde je sbírán včelami a přetvářen na med [2].



Obrázek 1 Tvorba medovice [3]

Podle Codex Alimentarius je med definován jako přírodní sladká látka, produkována včelami z nektaru rostlin nebo ze sekretů rostlin, a také z výměšků hmyzu nacházejícího se na rostlinách a listech dřevin, kterou včely sbírají a svými specifickými látkami přetváří a ukládají, dehydratují a skladují v plástvích, kde med zraje [4].

1.1.1 Chemické složení medu

Med je, co se složení týká přesycený cukerný roztok, ve kterém tvoří sacharidy až 95 % sušiny, další složkou je voda, minerální látky, enzymy, organické kyseliny, aminokyseliny, vitamíny, hormonální látky, barviva a vonné látky.

Téměř ve všech druzích medu je hlavní sacharidickou složkou fruktóza (32 - 44 %), s výjimkou řepkového a pampeliškového medu, kde je převažujícím sacharidem glukóza (23 - 38%) [1].

Med dále obsahuje i sacharózu, jejíž obsah v medu by měl být 1 - 10 %. Vysoké hodnoty sacharózy mají souvislost s botanickým původem medu, ukazují i na nezralost medu a také mohou být důkazem falšování medu – včely jsou uměle dokrmovány cukerným roztokem. V medu se nacházejí i vyšší cukry, zhruba 1 - 10 %.

Cukerné složení medu se v průběhu skladování neustále mění vlivem působení enzymů a teploty. Přírodním fyzikálním procesem je krystalizace neboli cukernatění medu. Med při tomto procesu neztrácí své výživové hodnoty a svou celkovou hodnotu, protože krystalizace je naopak známkou pravosti medu. Velmi brzy krystalizují medy s vyšším obsahem glukózy – květové medy, naopak později krystalizují medy s vyšším obsahem fruktózy, což jsou medovicové medy [5,6].

Další významnou složkou medu je voda, jejíž obsah bývá nejčastěji mezi 15 – 21 % a ovlivňuje některé vlastnosti medu – například barvu, viskozitu, chuť a hustotu. Obsah vody závisí na botanickém původu medu, úrovni zralosti v úlu, technice zpracování a způsobu skladování a je jedním z fyzikálně chemických parametrů, které určují kvalitu medu. Obecně se včelař řídí pravidlem, že vhodná vlhkost medu nastává, když je med v plástvích zavíčován voskem. Optimální vlhkost je mezi 17 – 18 % vody. Při nižším obsahu vody než 17 % je med obtížně zpracovatelný, naopak při více než 18 % vody med může začít kvasit, protože vyšší obsah vody snižuje osmotický tlak, který už nedokáže bránit pomnožení osmotolerantních kvasinek [7].

V medu se také nachází organické kyseliny, zejména kyselina glukonová, vznikající z glukózy enzymatickou oxidací, obsažena v medu spíše ve formě laktonu, kyselina citronová, jantarová, jablečná, v menší míře kyselina octová, mravenčí, máselná, mléčná, šťavelová a glykolová. Obsah těchto kyselin v medu je přibližně 0,1 - 0,5 % a závisí na mnoha faktorech – zeměpisném původu, enviromentálních a zeměpisných podmínkách. Zvýšený obsah organických kyselin v medu může být indikátorem aerobní nebo anaerobní

fermentace, tedy kvašení medu. Obsah kyselin ovlivňuje pH medu, které se obvykle pohybuje v rozmezí 3,9 – 4,0. U květových medu je obvyklé pH 3,4, tedy nižší, naopak medovicové medy mohou dosáhnout pH kolem 6,1 [8,9].

Proteiny v medu pocházejí jednak ze slinných žláz včel, a také z rostlin – nektar, medovice, pyl. V medu bylo prokázáno přibližně 20 různých neenzymatických proteinů – albuminů, globulinů, proteáz a nukleoproteinů. Celkový obsah bílkovin v medu je asi 0,1 - 0,5 %, s výjimkou vřesového medu, kde je obsah bílkovin 1 – 2 %. Vyšší obsah bílkovin je z technologického hlediska nežádoucí, snižuje povrchové napětí medu a dochází k pění a vzniku vzduchových bublin [1].

Aminokyseliny se v medu nacházejí v množství 0,1 – 0,5 %, převládající aminokyselinou je prolin, který je sekretem hltanových žláz dělnic, dále kyselina glutamová, alanin, fenylalanin, tyrosin, leucin, isoleucin. Obsah prolinu pozvolna klesá při nevhodném skladování za vysokých teplot – dochází pravděpodobně k reakci s cukry, případně s hydroxymethylfurfurem (dále v textu HMF). Aminokyseliny jsou nejvíce obsaženy v medech medovicových a výrazně se podílejí na jejich chuti [9].

Med přirozeně obsahuje některé enzymy (0,1 – 0,6 %), které jsou produkovány slinnými (hypofaryngeálními) žlázami včel nebo se nacházejí v nektaru, medovici či pylu. Včely tyto enzymy přidávají zejména z důvodu dokončení procesu zrání medu. Mezi nejdůležitější enzymy patří diastáza, invertáza a glukózooxidáza. V medu se nachází i další enzymy, například fosfatáza, kataláza a β -glukosidáza. Aktivita diastázy je důležitým kvalitativním parametrem, bývá využívána jako marker při stanovení čerstvosti nebo tepelného poškození medu. Invertáza (α -glukosidáza) je velmi důležitým enzymem, protože dokáže přeměnit nektar a medovici na med tím, že hydrolyzuje sacharózu na glukózu a fruktózu. Aktivita tohoto enzymu je zachována i po vytočení medu a během skladování. Glukózooxidáza vytváří z glukózy kyselinu glukonovou a peroxid vodíku, který je zodpovědný za mikrobiální rezistenci medu. Tato reakce probíhá rychleji v nezralém medu uvnitř úlu než v suchých medech. Vytvořený peroxid vodíku tedy chrání med před bakteriálním rozkladem, dokud nedosáhne takové koncentrace sacharidů, aby bylo dosaženo potlačení růstu nežádoucích mikroorganismů v důsledku jejich osmotického tlaku. Mezi další neméně důležité enzymy patří kataláza a fosfatáza, které se v medu vyskytují v menší míře. Kataláza štěpí peroxid vodíku produkovaný glukózooxidázou na vodu a kyslík. Aktivita fosfatázy je závislá na pH medu, čím je vyšší pH, tím je vyšší aktivita fosfatázy. Skladováním naopak dochází k poklesu aktivity fosfatázy [10,1].

Minerální látky jsou v medu zastoupené poměrně v malém množství. V květových medech se nacházejí v množství 0,02 – 0,3 %, zatímco v medovicových medech může jejich obsah dosáhnout až 1 %. Obsah minerálních látek je ovlivněn klimatickými podmínkami, geografickou oblastí a také chemickým složením nektaru, protože jsou rostlinami absorbovány ve formě solí rozpuštěných ve vodě, dostávají se do mízy, která je vypuzována z rostliny [1].

Mezi nejvýznamnější látky nacházející se v medu patří draslík, sodík, vápník a hořčík. Prvky zastoupené v menším množství jsou železo, měď, mangan, chlor a ve stopovém množství fosfor, síra, křemík a nikl. V medu z okrajových městských oblastí, blízkosti průmyslových oblastí a velkých dopravních infrastruktur lze detekovat v medu stopy olova, kadmia a arsenu [11].

Vitamíny se v medu vyskytují ve velmi malém množství, výživově prakticky zanedbatelném. Jsou zde zastoupeny vitamíny rozpustné ve vodě, nejvíce je zastoupen vitamín C v množství 2 mg/100 g, který má antioxidační účinky. V některých druzích medu se dají detekovat i vitamíny skupiny B – thiamin, riboflavin, kyselina nikotinová, kyselina panthotenová, biotin a kyselina listová [1].

Ostatní složky medu:

Aromatické sloučeniny - v medu bylo prokázáno více než 600 různých nízkomolekulárních sloučenin ve velmi malých koncentracích. Tyto těkavé a polotěkavé látky jsou zodpovědné za aroma a chuťové vlastnosti. Do skupiny těchto látek patří terpeny, terpenoidy, alkoholy, ketony, aldehydy, estery, uhlovodíky a cyklické sloučeniny. Všechny aromatické látky pocházejí z botanického zdroje.

Fenolické sloučeniny medu patří do skupiny sekundárních rostlinných metabolitů, produkovaných jako ochrana před oxidačním stresem přenášeném pomocí nektaru do medu. Dělí se na dvě skupiny látek – fenolové kyseliny a flavonoidy [5].

Barviva – většina barviv je rostlinného původu, řadí se mezi flavonoidy a zástupci jsou rutin a kvercetin. Tato barviva přecházejí z medných a pylových zásob do vosku, a z vosku následně zpět do medu. V medu se nachází také melanoidní barviva vznikající z aminokyseliny tyrozinu, hnědá barviva vzniklá Maillardovou reakcí.

Hormonální látky pocházející pravděpodobně z pylu – acetylcholin a adrenalin

Tukové látky jsou obsaženy ve velmi malém množství – především estery cholesterolu, triglyceridy, volné mastné kyseliny a volný cholesterol [9].

HMF - jeho množství v medu představuje jedno z nejdůležitějších kritérií kvality medu. Jeho zvýšené množství svědčí o několikanásobném a nešetrném zahřátí medu. V čistém stavu se jedná o bezbarvou krystalickou látku, která na vzduchu hnědne a reaguje s ostatními složkami medu za vzniku žlutohnědých barviv [12].

Mikroorganismy v medu – v medu se nachází ve většině případů pouze běžné mikroorganismy z vnějšího prostředí, jejichž množství je ukazatelem hygienické úrovně při zpracování medu. Problém způsobují osmofilní kvasinky, které se pomnožují při zvýšeném množství vody a sníženém osmotickém tlaku. Med může být v ojedinělých případech kontaminován spory *Clostridium botulinum*, které se běžně nachází ve vnějším prostředí, zejména v prachu, tyto bakterie způsobují tzv. kojenecký botulismus, proto není odborníky doporučováno podávat med dětem mladším jednoho roku [1,13].

Přírodní toxické látky v medu – jejich zdrojem jsou zejména rostliny rodu *Rhododendron* a *Azalea*, jejichž rostlinné toxiny, například andromedotoxin nebo andromedol se mohou přenést do medu vyráběného z jejich nektaru. Zajímavé je, že tento med může být toxický pro člověka, ale pro včely a jejich larvy je neškodný. Med sbíraný v oblastech, kde se pěstuje opiový mák má údajně narkotické účinky [14].

1.1.2 Fyzikální vlastnosti medu

Viskozita medu je velmi důležitým technologickým parametrem ovlivňující tok medu během celého procesu získávání medu – od medobraní, čerpání, čerání, cezení, filtraci až po plnění medu do obalů. Viskozita je nejdůležitější reologická vlastnost medu a závisí na několika faktorech, zejména na teplotě, obsahu vody a chemickém složení. Pomocí hodnoty viskozity lze klasifikovat různé vzorky medu dle jejich botanického původu [15,16].

Barva medu přechází od vodojasného zbarvení akátových medů přes jantarové až do velmi tmavě hnědé barvy u medovicových medů. Závisí zejména na botanickém původu medu, délce skladování a podmínkách zpracování. Je také důležitou vlastností, která ovlivňuje spotřebitele při výběru medu. Udává se stupnicí dle Pfunda v rozsahu od 0 do 114 a udává se v milimetrech.

Color Name	Pfund Scale, Millimeters
Water White	<9
Extra White	9-17
White	18-34
Extra Light Amber	35-50
Light Amber	51-85
Amber	86-114
Dark Amber	>114

Obrázek 2 Stupnice barevnosti dle Pfunda [17]

Elektrická vodivost závisí na množství minerálních látek v medu a liší se dle botanického původu. Vodivost se stanovuje ve 20% roztoku medu konduktometricky. Květové medy mají vodivost nižší, protože obsahují méně minerálních látek než medy medovicové, které dosahují vyšších hodnot [18].

Hodnota elektrické vodivosti pro květové a medovicové medy je stanovena vyhláškou 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony.

Index lomu světla se využívá ke stanovení obsahu vody v medu měřením lomu světla ve vrstvě medu přístrojem zvaným refraktometr. Všechna refraktometrická měření jsou závislá na teplotě, proto mají mít vzorky teplotu 20 °C.

Hygroskopicitu je jev, kdy dochází k přijímání vlhkosti z okolního prostředí medem, pokud není vhodně uskladněn. V medu se objevují bublinky plynu vytvořeného kvasinkami a dochází k vytlačování medu ze sklenice. Je důležité uchovávat med v suchém prostředí, ve vhodných obalech a dobře uzavřený [19].

Krystalizace medu je přirozený proces. Nejprve se med zakalí, což je způsobeno narůstáním malé vrstvičky krystalů cukrů, jejichž krystalizační jádro je tvořeno například pylovými zrny. Dochází k postupnému zvětšování krystalů a med houstne a postupně ztuhne na pevnou hmotu. Nejrychleji a nejintenzivněji krystalizují medy řepkové. Výjimkou v oblasti krystalizace je med akátový, který může vydržet tekutý i dva roky. Proces

krystalizace začíná tzv. nukleací, v této fázi začíná med houstnout a pozvolna se tvoří krystalizační centra. Následně začíná med tvořit viditelné krystaly v celé sklenici, tuhne a mění se i jeho barva. Krystalizační proces je ovlivněn složením a původem medu, obsahem pylových zrn a jiných přirozených krystalků a důležitým faktorem, kterým je teplota [6].

Specifické teplo medu je udáváno v rozmezí 2,3 – 3,0 kJ/kg/K pro tekutý med a 3 kJ/kg/K pro jemně krystalický med [19].

1.2 Legislativní požadavky na med

Mezi nejvýznamnější legislativní předpisy evropského společenství patří směrnice Rady 2001/110/ES ze dne 20. prosince 2001 o medu. Tato směrnice je transponována do národních předpisů, tedy vyhlášky 76/2003 Sb., proto je v dále v textu zmiňována především tato vyhláška. Akceptovanou normou je Codex Alimentarius Standard for Honey, vydaný v roce 1981, vytvořený WHO a FAO.

V České republice jsou kromě výše zmíněné vyhlášky 76/2003 Sb. významné zákony č.110/1997 Sb. o potravinách v platném znění, zákon č.166/1999 Sb. o veterinární péči v platném znění, zákon č.326/2004 Sb. o rostlinolékařské péči v platném znění a norma Český med, kterou vydal Český svaz včelařů pro své členy aby bylo možné zhodnotit kvalitu medu na území České republiky.

1.2.1 Vyhláška 76/2003 Sb.

Legislativní požadavky na med jsou v České republice stanoveny vyhláškou 76/2003 Sb., která stanovuje požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek, směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony v platném znění.

„Medem je potravinu 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 sbírají, přetvářejí, kombinují se svými specifickými látkami, uskladňují a nechávají dehydratovat a zrát v plástech“ [20].

Med se dle výše uvedené vyhlášky člení:

1. Podle původu:
 - květový

- medovicový
- 2. Podle způsobu získávání nebo obchodní úpravy
 - vytočený med
 - plástečkový med
 - lisovaný med
 - vykapaný med
 - med s plástečky
 - filtrovaný med
 - pastový med
 - pekařský med

Požadavky na jakost medu dané vyhláškou 76/2003 Sb.

1. do medu nesmí být přidány žádné jiné látky včetně přídatných látek, s výjimkou medu jiného druhu
2. z medu nesmí být odstraněn pyl ani jiná specifická součást medu, s výjimkou případů, kdy tomu při odstraňování organických a anorganických látek nelze zabránit, zejména při procesu filtrace
3. med, s výjimkou pekařského (průmyslového) medu nesmí:
 - mít jakékoliv cizí příchutě a pachy
 - začít kvasit nebo pěníť
 - být zahřát do takové míry, že jsou jeho přirozené enzymy významně inaktivovány nebo zničeny
 - být u něj uměle změněna kyselost [20]

Smyslové požadavky na med dle vyhlášky 76/2003 Sb.:

Tabulka č.1 Smyslové požadavky na med [19]

Med	Konzistence a vzhled	Barva	Chuť
květový	mírně až silně viskózní, tekutý, částečně až plně krystalický	vodově čistá až s nazelenalým nádechem, slabě žlutá až zlatavě žlutá	výrazně sladká až škrablavá
medovicový	mírně až silně viskózní, tekutý, částečně až plně krystalický	tmavohnědá s nádechem do červenohněda	sladká, případně kořeněná až mírně škrablavá

Tabulka č.2 Fyzikální a chemické požadavky na med [19]

Požadavek	Druh medu		
	květový	medovicový	pekařský
součet obsahů glukózy a fruktózy (% hmot. nejméně)	60,0	45,0	-
obsah sacharózy (% hmot. nejvýše)	5,0 *akát 10,0	5,0	-
obsah vody (% hmot. nejvýše)	20,0	20,0	23,0
kyselost (mekv/kg nejvýše)	50,0	50,0	80,0
hydroxymethylfurfural (mg/kg nejvýše)	40,0	40,0	-
obsah ve vodě nerozpustných látek (% hmot. nejvýše)	0,10	0,10	-
elektrická vodivost (mS/m)	nejvýše 80,0	nejméně 80,0	-
aktivita diastázy (stupňů podle Schadeho nejméně)	8,0	8,0	-

1.2.2 Včelařská norma Český med

Med, který je produkován v českých zemích v souladu se základními pravidly zpracování medu a chovu včelstev, dosahuje významně vyšší kvality, než je dáno vyhláškou 76/2003 Sb. Aby bylo možné zhodnotit kvalitu medu vyprodukovaného na území České republiky, vydal Český svaz včelařů pro své členy normu jakosti Český med pro spotřebitelská balení.

Označení Český med podle výše uvedené normy jakosti nelze použít pro med filtrovaný a med pekařský – průmyslový.

Pro získání a zpracování medu vyšší kvality, který svými fyzikálními a chemickými požadavky odpovídá výše uvedené normě je nutné dodržet tyto zásady:

- při prvním vytáčení v sezoně se do medu nesmí v nadměrném množství dostat zimní zpracované cukerné zásoby, popřípadě zbytky podnecování včelstev cukrem v bezsnůškovém období v průběhu celé sezony
- medné plásty jsou odebírány při obsahu vody pod 19 %, plásty u květových medů musí být alespoň z jedné třetiny zavíčkované, sladina nesmí stříkat ven z nezavíčkované části
- při zpracování – ztekucování medu nesmí být med ohřát na více než 50 °C po dobu delší než 24 hodin.
- obsah sacharózy u akátového medu se měří nejdříve dva měsíce po jeho skladování při teplotě 18 – 22 °C

Požadavky na med:

Výše uvedená Včelařská norma je oproti vyhlášce 76/2003 Sb. přísnější v obsahu vody, sacharózy a HMF v medu.

- obsah sacharózy nejvýše 5 % u všech druhů medu
- obsah vody nejvýše 18 % u všech druhů medu
- obsah hydroxymethylfurfuralu nejvýše 20 mg/kg u všech druhů medu

Doplňující kritéria:

- med má geografický původ na území České republiky a je bez jakékoliv příměsi jiného medu

- medovicový med lze označit jako Český med jen tehdy, pokud vykazuje kladnou polarizaci před i po inverzi [21].

1.2.3 Označování medu

Kromě údajů uvedených v zákoně a v prováděcím právním předpisu se med na etiketě označuje:

- podle jeho původu a podle způsobu jeho získávání nebo obchodní úpravy. V případě, že se jedná o vytočený, lisovaný nebo vykapávaný med, nemusí být uveden původ, způsob získávání a obchodní úprava a výrobek lze označit jen jako med
- zemí původu, kde byl med získán. Pokud se jedná o směs medů pocházejících z více zemí Evropské unie nebo ze třetích zemí, lze názvy zemí původu nahradit jedním z následujících označení:
 - směs medů ze zemí EU
 - směs medů ze zemí mimo EU
 - směs medů ze zemí EU a ze zemí mimo EU
- označení medu (výjimku tvoří filtrovaný a pekařský med) může být doplněno následujícími údaji:
 - regionálním, územním nebo místním označením původu, pokud tedy výrobek pochází zcela z uvedeného zdroje původu
 - ve vztahu k původnímu medu názvem „jednodruhový“ nebo „smíšený“
 - druhem rostlin, z nichž pochází, pokud výrobek pochází zcela nebo převážně z uvedeného druhu a má odpovídající organoleptické, mikroskopické a fyzikálně-chemické charakteristiky
 - specifickými kritérii jeho jakosti
- pekařský a filtrovaný med kromě údajů uvedených v zákoně a prováděcím právním předpisu se na přepravních nádobách, obalech a obchodních dokladech označí slovy „pekařský med“ nebo „průmyslový med“ a „filtrovaný med“. Pokud je pekařský nebo filtrovaný med přidán do jiného druhu medu, označí se směs těchto medů jako „med pekařský“ nebo „med filtrovaný“

- pekařský (průmyslový) med musí být na všech obalech označen v blízkosti názvu údajem, že je tento med určen na vaření, pečení nebo jiné zpracování
- pokud je pekařský (průmyslový) med použit jako složka potraviny, může být v názvu této potraviny použit termín „med“ namísto termínu „pekařský med“ nebo „průmyslový med“, ale v seznamu složek se vždy uvede název „pekařský med“ nebo „průmyslový med“ [20].

2 POPIS TVORBY A ZÍSKÁVÁNÍ MEDU

2.1 Tvorba medu včelami

Proces vzniku medu je velmi složitý, je závislý na včelstvu jako celku. Včely velmi často tvoří med, pyl a propolis bez transformace, složení včelích produktů je tedy přímo závislé na složení původního rostlinného zdroje. Celý proces začínají včely létavky, které přinášejí do úlu v medném váčku sladkou šťávu, tzv. sladinu. V úlu tuto předávají sladinu úlovým včelám, čímž je zařazena do koloběhu potravy v rámci celého včelstva. Při předávání sladiny dochází k jejímu obohacování o výměšky hltanových žláz létavek. Tento proces se v úlu ještě několikrát zopakuje, než je sladina jako řídký med uložena do buňky plástu.

Při tomto procesu probíhá celá řada fyzikálně chemických změn:

- obohacení sladiny o látky, které pocházejí z hltanových a pyskových žláz dělnic. Konkrétně enzymy – invertáza, diastáza a glukózooxidáza, aminokyseliny, především prolin a dalšími látkami jako jsou tuky, vitaminy skupiny B ve stopových množstvích.
- biochemické změny, při kterých dochází ke štěpení disacharidů a vyšších cukrů na monosacharidy.
- fyzikální změny, které zahrnují zejména odpaření nadměrné vlhkosti, zahuštění a zakoncentrování. Procesem zahuštění se dosáhne vysokého osmotického tlaku, čímž se zabrání množení mikroorganismů a med je zakonzervován. Proces zahušťování probíhá tak, že úlové včely vyvrhují sladinu na sosák, který zůstává složený v sosákové jámě. Ze sosákové jámy se vyklání jen distální část sosáku a mezi touto částí a zbytkem sosáku zůstává kapka zachycena. Včela roztáhne kusadla a tím se přední část sosáku posune dopředu a dolů a současně se objeví kapka nektaru v předústní dutině. Při postupném oddalování a přitahování spodní části sosáku zpět se objevuje velká kapka, která nakonec vyplňuje celou oblast mezi bází a koncem ústních ústrojí. Včela vtáhne celou kapku zase zpět do medného váčku, kdy pracuje i česlo, které vychytává část pylových zrn ze sladiny a posouvá je do žaludku pomocí chloupků na svých chloupkách. Tato činnost je včelou opakována přibližně 20 minut do zahuštění na obsah vody 28 – 32 %. Takto částečně zpracovaná sladina je zavěšována na horní okraj stěny buňky a následně dále včelami zpracovávána. Teprve po dokonalém zahuštění je med včelami opět přemísťován, buňky jsou

naplněny až po okraj a zavíčkované pomocí víček z vosku. Zralý med se pozná tak, že je dobře zavíčkován a nevystříkne ani při prudkém trnutí plástem.



Obrázek 3 plástový med [22]

Včela musí navštívit přibližně sto květů, aby naplnila medný váček. Pro vytvoření 1 kg medu musí včela do úlu nanosit asi tři litry nektaru [23,24].

2.2 Získávání medu

Získávání medu se nazývá medobraní a včelař k němu přistupuje na konci jedné snůšky, například po odkvětu řepky nejlépe brzy ráno nebo ve dnech bez snůšky. Večer by plásty neměly být odebírány, protože po celém dni v počasí příhodném pro pastvu bývá med ještě nezralý a mohl by začít kvasit z důvodu vysokého obsahu vody.

Než dojde ke sklizni medu, musí se včelař přesvědčit, jestli je med zralý a obsah vody se pohybuje v rozmezí 15-17 %. Provádí se zkouška vystříknutím, a to tím způsobem, že se plást drží vodorovně v ruce a nechá se prudce poklesnout. Pokud med nevystříkne, je zralý a připraven ke sklizni. Zároveň platí pravidlo, že plást je přibližně ze $\frac{3}{4}$ zavíčkován. Obsah vody je možné stanovit také refraktometricky.

Po odebrání plástů z úlu probíhá odvíčkování. Je to proces, při kterém se pomocí odvíčkovacích vidličky podeberou a zvednou víčka, aby mohl med vytéct. Následuje vytáčení medu v medometu. Medomet je mechanické zařízení z nerezového materiálu, které vynalezl Franz von Hruschka v létě roku 1865 pro vytáčení medu z včelích plástů pomocí odstředivé síly. Medometry jsou konstruovány na ruční nebo elektrický pohon, a podle uspořádání pláství existují medometry tangenciální, zvrtné nebo radiální [25].



Obrázek 4 Medomet ruční tangenciální [26]



Obrázek 5 Medomet radiální [27]

Dalším významným krokem po stočení medu je cezení. Vytočený med obsahuje drobné částičky vosku a jiných nečistot, které zachytíme pomocí síta. Čerstvě vytočený a zcezený med by měl několik dní stát v uzavřené nádobě, z důvodu stoupání bublinek na povrch medu a tvorby pěny, která se každých 24 hodin sbírá. Následuje plnění medu do nádob, nejčastěji uzavíratelných sklenic nebo kbelíků.

Med je nutné skladovat na suchém a tmavém místě bez jakýchkoliv pachů v uzavíratelných nádobách určených k uchovávání potravin [25].

Med je silně hygroskopický, má tedy tendenci přijímat vzdušnou vlhkost. Pokud by byl skladován ve špatně uzavíratelných a nevhodných nádobách, přijímal by vlhkost ze vzduchu, zvýšil by se obsah vody a med by začal kvasit [1].

Pokud proces kvašení započne, nelze jej jakýmkoliv způsobem zastavit. Takový med není vhodný ke konzumaci a včelaři jej využívají k výrobě medoviny. Zkvašený med lze poznat pohledem, kdy se ve sklenici nad medem nachází velmi tekutá vrstva, a dále po otevření čichem – med kysele zapáchá a pokud by konzument i přesto med ochutnal, bude jeho chuť kyselá [7].



Obrázek 6 Zkvašený med [28]

Nejvhodnější teplota pro skladování medu je kolem 15°C. Celý proces medobraní by měl probíhat v hygienicky nezávadných podmínkách, počínaje čistotou zařízení a nástrojů, vhodným oblečením včelaře až po důsledné mytí rukou při přechodu z méně čisté činnosti na práci čistou [25].

3 POPIS ANALYTICKÝCH METOD PRO POSOUZENÍ VLASTNOSTÍ MEDU

Po celá staletí je včelí med využíván nejen jako potravina, ale také jako léčivý a preventivní prostředek proti nejrůznějším onemocněním, mezi které například patří rakoviny prsu a děložního čípku, rakovina tlustého střeva, diabetes 2. typu, steatóza jater, osteoporóza nebo také chřipka. Včelí med by proto měl splňovat určité parametry kvality. Mezi základní parametry analytických stanovení medu patří pylová analýza, stanovení obsahu vody, elektrické vodivosti, pH, stanovení volných kyselin, obsah prolinu, HMF a aktivita diastázy. U medu se stanovují i další parametry, například barva a obsah fenolů [29].

3.1 Stanovení obsahu vody

Obsah vody v medu je důležitým fyzikálně chemickým parametrem, určujícím trvanlivost medu a pohybuje se v rozmezí 13-25 %. Souvisí s botanickým a geografickým původem, klimatickými podmínkami a podmínkami při zpracování a následném skladování [30].

Obsah vody stanovený legislativně vyhláškou 76/2003 Sb. nesmí překročit 20 % [20].

U medů s vysokým obsahem vody, tedy více než 20 % dochází často ke kvašení, naopak u medu s obsahem vody pod 15 % ke krystalizaci. Standartní metodou využívanou ke zjišťování obsahu vody je metoda refraktometrická, která je jednoduchá a snadno reprodukovatelná. Pro měření obsahu vody v medu se využívá Abbeho nebo digitální refraktometr. Index lomu se měří při teplotě 20 °C nebo 40 °C a procento vlhkosti se vyhodnocuje pomocí empirického vzorce nebo převodní tabulky [30].

Refraktometrická měření jsou založena na měření indexu lomu a jsou využívána k ověření čistoty látek. Každá látka je chemickým individuem a má přesně definovanou hodnotu indexu lomu. S přítomností i stopového množství nečistot dochází ke zvyšování hodnoty indexu lomu. Významná je také závislost indexu lomu na teplotě, kdy index lomu se stoupající teplotou klesá, proto je nutné při měření dodržovat předepsanou teplotu [31].

3.2 Stanovení elektrické vodivosti

Elektrická vodivost je fyzikální veličina, která závisí na obsahu minerálních látek v medu a liší se v závislosti na botanických a geografických podmínkách. Vodivost se měří přístrojem zvaným konduktometr ve 20% roztoku medu v destilované vodě při teplotě 20 °C [32].

Pomocí vodivosti lze rozlišit, zda je med květového nebo medovicového původu. Květové medy mají maximální hodnotu elektrické vodivosti 80 mS/m, medovicové zpravidla dosahují hodnoty 80 – 130 mS/m, protože mají vyšší obsah minerálních látek. Hodnoty elektrické vodivosti jsou dané vyhláškou 76/2003 Sb. [20].

3.3 Stanovení titrační kyselosti a pH

Stanovení volných kyselin v medu se provádí alkalimetrickou titrací odměrným roztokem hydroxidu sodného (NaOH) na acidobazický indikátor fenolftalein. Vyjadřuje se jako miliekvivalent kyseliny na 100 gramů medu.

pH vyjadřuje celkovou kyselost medu, která je v průměru 3,9 – 4,0. Kyselejší jsou medy nektarové, dosahují hodnoty pH až 3,4, zatímco medy medovicové, kde působí tlumivě vysoký obsah minerálních látek dosahují hodnoty 6,1 [18].

3.4 Stanovení specifické rotace

Optická otáčivost je schopnost některých látek stáčet rovinu polarizovaného světla. Specifická optická otáčivost $[\alpha]_D^{20}$ látky v roztoku je úhel otočení a rovina polarizovaného světla, vyjádřený ve stupních při vlnové délce D (linie sodíkového světla), měřený v roztoku zkoušené látky při 20 °C, vypočtený pro vrstvu o tloušťce 1 decimetr, obsahující 1 g/ml látky [4].

Úhel otáčení se měří pomocí polarimetru, přičemž vzorek musí být zcela čirý. U květových medů převládá fruktóza, která je levotočivá, naopak u medů medovicových převažuje glukóza, která stáčí rovinu polarizovaného světla doprava, je tedy pravotočivá. Smíšené medy mají různou polarizaci, záleží na tom, zda převažuje glukóza či fruktóza [33].

3.5 Stanovení obsahu cukrů

3.5.1 Stanovení redukujících cukrů podle Lana a Eynona

Množství redukujících cukrů v medu se zjistí oxidoredukční titrací za použití Fehlingova roztoku a methylenové modři jako indikátoru. Vroucí alkalický roztok měďnaté soli je titrován medovým roztokem až do zmizení zabarvení titrovaného roztoku za vzniku oxidu měďnatého (Cu_2O) [34].

3.5.2 Stanovení sacharózy dle Lana a Eynona

Walkerova inverzní metoda tvoří základ této metody. Zjišťuje se obsah redukujících cukrů před inverzí a veškerých cukrů po inverzi, pomocí oxidoredukční titrační metody na indikátor methylenovou modř. Z rozdílu se vypočítá obsah sacharózy vynásobením faktorem 0,95 [34].

3.5.3 Stanovení sacharidů chromatografickými metodami

Chromatografické metody se využívají ke stanovení fruktózy, glukózy, sacharózy, turanózy a maltózy v medu. Roztok cukru je zfiltrován a jeho obsah se stanoví pomocí HPLC (High Pressure Liquid Chromatography) s RI (Refractive Index) detekcí. Píky na chromatogramu jsou identifikovány na základě retenčních časů jednotlivých standardních cukrů a je vyhodnocena výška a plocha píku v porovnání se standardy [4].

3.6 Stanovení prolinu a ostatních aminokyselin

Nejvíce zastoupenou aminokyselinou v medu je prolin. Z celkového zastoupení aminokyselin obsažených v medu zaujímá 50 – 85 %. Obsah prolinu jednak poukazuje na botanický původ medu a dále je využíván k odhadu antioxidační aktivity medu. Kromě prolinu je v medu zastoupeno dalších 26 aminokyselin, jejichž obsah závisí zejména na původu medu. Ke stanovení obsahu aminokyselin se využívá kapalinová chromatografie [35].

3.7 Stanovení ve vodě nerozpustných pevných látek

Obsah pevných látek ve vodě nerozpustných se stanovuje vázkovou metodou [34].

3.8 Stanovení hydroxymethylfurfuralu

HMF patří mezi jeden z nejdůležitějších v medu stanovovaných parametrů. Vzniká buď dehydratací glukózy a fruktózy v kyselém prostředí nebo jako důsledek Maillardovy reakce. Podmínky pro vznik HMF jsou v medu velmi příznivé, med má vysoký obsah cukrů a nízkou hodnotu pH. HMF se v čerstvém medu téměř nevyskytuje, jeho koncentrace se zvyšuje v průběhu skladování v závislosti zejména na skladovacích podmínkách. Vysoký obsah HMF je také známkou zahřátí medu na vysokou teplotu a tím dochází ke snížení biologické hodnoty medu a ke znehodnocení celé řady látek, hlavně přítomných enzymů. Dále může zvýšený obsah poukazovat na falšování medu přidávkem invertního cukru nebo škrobového

sirupu. Limitní hodnotou stanovenou vyhláškou 76/2003 Sb. kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony je hodnota 40 mg/kg, která odpovídá zahřátí medu na 70 °C po dobu 5 hodin.

IHC (International Honey Commission) popisuje 3 metody stanovení množství HMF. Metody podle Whitea a podle Winklera jsou metody spektrofotometrické, široce využívané při rutinní analýze stejně jako třetí HPLC metoda [36].

3.8.1 Stanovení hydroxymethylfurfuralu metodou podle Whitea

Metoda stanovení podle Whitea je založená na měření UV absorbance HMF při vlnové délce 284 nm. V této vlnové délce je určen rozdíl mezi absorbancí čirého roztoku medu a totožným roztokem medu s přidaným množstvím hydrogensířičitanu z důvodu zabránění rušivého efektu jiných komponentů. Obsah HMF je vypočten po odečtení absorbance pozadí při vlnové délce 336 nm [4].

3.8.2 Stanovení hydroxymethylfurfuralu metodou podle Winklera

Principem metody stanovení podle Winklera je reakce zkoušeného roztoku medu s *p*-toluidinem a kyselinou barbiturovou, za vzniku červenohnědě zbarvené sloučeniny vhodné ke spektrofotometrickému stanovení [34].

3.8.3 Stanovení hydroxymethylfurfuralu kapalinovou chromatografií

Nejpřesnější metodou pro stanovení HMF je metoda HPLC, pomocí které lze detekovat i velmi malé množství HMF [36].

Stanovované vzorky medu se rozpustí v destilované vodě, jsou zfiltrány a vstřikovány do proudu rozpouštědla, tzv. mobilní fáze, která je složena z vody (90 %), methanolu (10 %) a kyseliny octové (1 %). Tato směs proudí přes kolonu naplněnou separačním médiem tzv. stacionární fází, kde dochází k oddělení komponent vzorku procesem diferenciální migrace. Chromatogramy jsou vyhodnocovány při vlnové délce 285 nm [36].

3.9 Stanovení aktivity diastázy podle Schadeho

Stanovení diastázové aktivity patří mezi důležité parametry stanovované v medu a je indikátorem čerstvosti a kvality medu. Snížená aktivita může jednak indikovat starý med, ale také může ukazovat na nešetrné zacházení s medem a jeho poškození a případně

na falšování medu přísadkou cukerných sirupů. Diastázová aktivita medu je dána legislativně a musí dosahovat nejméně hodnoty 8 Schadeho stupnice. Pokud med tyto parametry nesplňuje, nesmí být prodáván k přímé konzumaci. Výjimkou je pekařský med, který toto kritérium splňovat nemusí, protože je určen k pečení a vaření, nikoliv k přímé konzumaci [37,38].

Princip Schadeho metody:

Jednotky diastatické aktivity (Goethovy jednotky) jsou definovány jako množství enzymu, které může přeměnit 0,01 g škrobu za 1 hodinu při teplotě 40 °C za podmínek daných metodou do konečného bodu. Výsledky jsou přepočítány v Goethových (Schadeho) jednotkách na gram medu. Standardní roztok škrobu je schopen tvořit s jodem barvu určité intenzity pomocí enzymu ze vzorku. Spektrofotometricky je proměřováno klesání modrého zbarvení v daných intervalech [36,38].

3.10 Pylová analýza medu

Pylová analýza medu (mellisopalynologie) je důležitým nástrojem pro určení geografického a botanického původu medu. Každý botanický druh rostliny má jedinečné pylové zrno, podle kterého lze správnými technikami určit botanický a geografický původ medu. Analýza pylu v medu probíhá podle přesně daných laboratorních postupů. Pylová zrna jsou identifikována na úrovni čeledi rostlin, rodu a někdy je také identifikován také druh. Klasifikace jednotlivých taxonů probíhá na základě velikosti, tvaru a charakteristického zbarvení pylových zrn. Hodnotitelé využívají k určení druhu pylu tzv. pylové atlasy.

Ve světě jsou k pylové analýze využívány dvě metody – metoda centrifugační, která se využívá pro kvalitativní analýzy a je založena na naředění vzorku destilovanou vodou a ethanolem, opakovaném odstředění a zkoumání pevného zbytku zafixovaném na sklíčku pod mikroskopem. Pro kvantitativní analýzu je využívána metoda založená na vakuové filtraci naředěného vzorku medu přes membránový filtr, který je následně vysušen a nanesen na podložní sklo a mikroskopován za využití imerzního oleje. Počítá se nejméně 500 pylových zrn a vyšetření probíhá světelným mikroskopem při zvětšení 400 – 1000x [39,40].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce byla fyzikálně chemická analýza vybraných vzorků medu, které byly následně využity v laboratorních cvičeních.

V teoretické části práce byl charakterizován med, legislativní požadavky, které musí med splňovat, byl popsán proces tvorby a získávání medu včelami, od sběru až po zpracování v úle a finální získávání medu, dále byly popsány analytické metody pro posouzení vlastností medu.

V praktické části byly popsány metody pro stanovení vybraných parametrů medu, prakticky byly stanoveny analýzy: obsah vody v medu refraktometricky, měrná elektrická vodivost neboli konduktivita, titrační a aktivní kyselost, stanovení obsahu cukrů polarimetricky a kapalinovou chromatografií. Získané výsledky byly vyhodnoceny a porovnány s literárními zdroji.

5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

V diplomové práci bylo analyzováno 10 vzorků různých druhů medů od soukromých včelařů i z tržní sítě. Vzorky byly analyzovány v laboratořích fakulty technologické a skladovány za předepsaných podmínek v temnu a v pevně uzavřených sklenicích bez přístupu vzduchu.

5.1 Vzorky medu k analýze

Tabulka č. 3 Analyzované druhy medu

Vzorek	Druh medu	Dodavatel	Země původu
1.	Akátový med BIO	Bihophar	Rumunsko, Maďarsko, Německo
2.	Med květový	včelař	Česká republika, Podivice
3.	Med květový mix	Medokomerc s.r.o.	Ze zemí EU a zemí mimo EU
4.	Pohankový med	Včelapro s.r.o.	Ze zemí EU a zemí mimo EU
5.	Pekařský med	MEDAS s.r.o.	Ze zemí EU a zemí mimo EU
6.	Řepkový med	Ami Honey Sp. z o.o.	Polsko
7.	Smišený med	Medokomerc s.r.o.	Ze zemí EU a zemí mimo EU
8.	Pastovaný med	včelař	Česká republika, Myslejovice
9.	Med lesní včelař	včelař	Česká republika, Podivice
10.	Med lesní	Medokomerc s.r.o	Ze zemí EU a zemí mimo EU

- Akátový med BIO**, původem z Rumunska, Maďarska, Německa. Udaná minimální trvanlivost do 6/2023. Med byl zakoupen v tržní síti.
- Květový med včelař**, původem z České republiky, obec Podivice. Med byl vyprodukován v roce 2020 a pochází od místního včelaře.
- Med květový mix**, původem ze zemí EU a ze zemí mimo EU. Minimální trvanlivost do 11/2024. Med byl zakoupen v tržní síti.
- Květový pohankový med**, původem ze zemí EU a ze zemí mimo EU. Minimální trvanlivost do 9/2023. Med byl zakoupen v tržní síti.

5. **Pekařský med**, původ ze zemí EU a ze zemí mimo EU. Minimální trvanlivost do 9/2025. Med byl zakoupen v tržní síti.
6. **Řepkový med**, původem z Polska. Minimální trvanlivost nebyla na obale uvedena. Med byl zakoupen v tržní síti.
7. **Smíšený med**, původem z České republiky, smíšený med květový a med z jehličnatých a smíšených lesů. Minimální trvanlivost 11/2024. Med byl zakoupen v tržní síti.
8. **Pastovaný květový med**, původem z České republiky, obec Myslejovice. Med byl zpastován v roce 2019 a pochází od místní včelařky.
9. **Med lesní včelař**, původem z České republiky, obec Podivice. Med byl vyprodukován v roce 2020 a pochází od místního včelaře.
10. **Med lesní**, původem ze zemí: Česká republika, Argentina, Ukrajina, Mexiko, Uruguay, Španělsko, Tanzánie. Minimální trvanlivost do 12/2024. Med byl zakoupen v tržní síti.

5.2 Použité přístroje a pomůcky

- digitální refraktometr Mettler Toledo
- analytické váhy Sartorius
- konduktometr Mettler Toledo
- byreta
- pH metr Foodcare, HI 99161
- polarimetr Krüss P 3001/P3002 RS
- HPLC s RI detekcí
- laboratorní sklo a pomůcky

5.3 Použité chemikálie

- roztok hydroxidu sodného (NaOH), o koncentraci 0,1011 mol/l
- fenolftalein
- Carrez I

- Carrez II

6 METODIKA PRÁCE

U deseti vzorků různých medů (akátový, květový od včelaře, květový mix, pohankový, pekařský, řepkový, smíšený, pastovaný, lesní od včelaře, lesní med zakoupený v tržní síti) byly provedeny základní fyzikálně chemické analýzy:

- stanovení obsahu vody
- stanovení elektrické vodivosti konduktometricky
- stanovení obsahu volných kyselin titračně
- stanovení pH
- stanovení obsahu cukrů polarimetricky a HPLC metodou
- stanovení součtu fruktózy a glukózy a jejich poměru výpočtem

6.1 Fyzikálně chemická analýza

Před provedením vybraných fyzikálně chemických analýz byly zkrystalizované medy šetrně rozpuštěny ve vodní lázni při teplotě nepřesahující 45 °C.

6.1.1 Stanovení obsahu vody

Stanovení vody v medu je jedním z nejdůležitějších kvalitativních parametrů. Pokud je obsah vody v medu vyšší než 20 %, může med s velkou pravděpodobností začít kvasit.

Postup:

Vzorek medu byl pomocí plastové lžičky nanesen na měřicí destičku refraktometru a byla odečtena naměřená hodnota indexu lomu s přesností na 4 desetinná místa, ke které byl v tabulce přiřazen odpovídající obsah vody uvedený v %. Stanovení bylo provedeno třikrát a z výsledků byl vypočítán aritmetický průměr stanovená směrodatná odchylka.

6.1.2 Stanovení elektrické vodivosti

Elektrická vodivost patří mezi rutinní stanovení při analýzách medu. Jako jediný z hodnocených parametrů její hodnota neurčuje kvalitu medu, ale vypovídá o botanickém druhu medu. Podle naměřených hodnot elektrické vodivosti lze určit, zda se jedná o med květový nebo med medovicový. Závisí také na množství minerálních látek v medu, čím je vyšší obsah minerálních látek, tím je vyšší vodivost. Elektrická vodivost u květových

nektarových medů je maximálně 80 mS/m, u medovicových medů je tato hodnota minimálně 80 mS/m [41].

Postup:

Do kádinky bylo na analytických vahách naváženo 20 gramů medu. Med byl rozpuštěn v destilované vodě a kvantitativně přenesen do 100 ml odměrné baňky a doplněn po rysku. Roztok byl vytemperován na 20°C. Po promíchání bylo přelito 40 ml připraveného 20 % roztoku medu do kádinky, kam byla ponořena vodivostní cela konduktometru a odečtena hodnota vodivosti v jednotkách $\mu\text{/cm}$. Měření každého vzorku bylo provedeno pětkrát, byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka, následně byly hodnoty převedeny na jednotky mS/m.

6.1.3 Stanovení titrační kyselosti

Stanovením titrační kyselosti medu lze podle obsahu volných kyselin odhadnout, zda v medu probíhá proces kvašení či nikoliv.

Postup:

Do titračních baněk bylo na analytických vahách naváženo 5 gramů vzorku, přidáno 75 ml destilované vody a rozmícháno tyčinkou do úplného rozpuštění medu. Poté bylo přidáno 5 kapek indikátoru fenolftaleinu a vzorek byl titrován odměrným roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,1011 mol/l do růžového zbarvení, které vydrží po dobu 10 sekund.

Titrace musela být provedena co nejrychleji, protože postupem času dochází ve vzorku k uvolňování laktonů a tedy ke zvýšení obsahu kyselin.

Výsledná kyselost byla vyjádřena jako miliekvivalent kyseliny na 100 gramů medu. Výsledek byl vyjádřen jako spotřeba odměrného roztoku NaOH, která byla při navážce 10 gramů medu vynásobena deseti. Titrace byla u každého vzorku provedena dvakrát, z čehož byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

6.1.4 Stanovení aktivní kyselosti – pH

Měření aktivní kyselosti bylo provedeno vpichovým pH metrem Foodcare, HI 99161 přímo ve vzorcích medu. Na displeji byla odečtena naměřená hodnota pH. Měření jednotlivých vzorků bylo provedeno třikrát, z uvedených výsledů byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

6.1.5 Polarimetrické stanovení

Med má schopnost optické rotace, tedy stáčení roviny polarizovaného světla. Specifická optická rotace do značné míry závisí na typech cukrů obsažených v medu a jejich relativních poměrech a v neposlední řadě také na koncentraci jednotlivých cukrů. Květové medy jsou levotočivé, v důsledku převažujícího obsahu fruktózy, která má schopnost stáčet rovinu polarizovaného světla doleva, zatímco medy medovicové jsou pravotočivé z důvodu převažujícího množství glukózy, která stáčí rovinu polarizovaného světla doprava [42].

Postup:

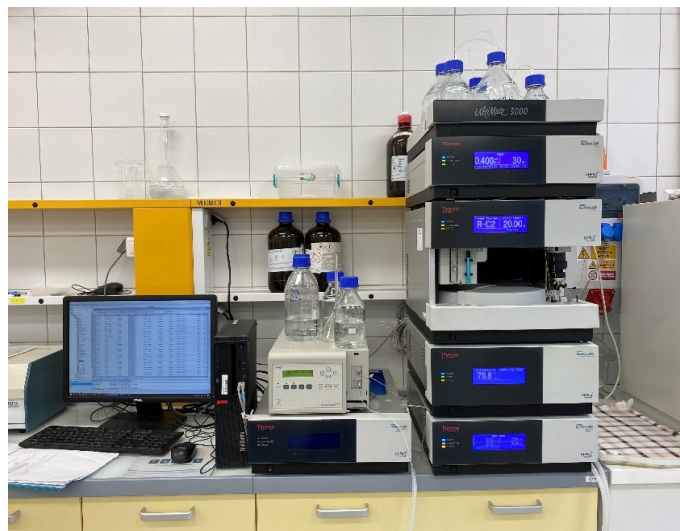
Do kádinek o objemu 100 ml bylo naváženo 12 gramů medu (toto množství odpovídá 10 gramům suché substance), rozpuštěno v destilované vodě a následně bylo přidáno 10 ml Carrez I, následovalo míchání po dobu 30 sekund. Poté bylo přidáno 10 ml Carrez II a roztok byl 30 s promíchán a kvantitativně převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Po 24 hodinách byl roztok přefiltrován a naplněn do polarimetrické trubice a odečten naměřený úhel rotace. Měření každého vzorku bylo provedeno třikrát, následně byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

6.1.6 Stanovení obsahu glukózy a fruktózy HPLC metodou s RI detekcí

Stanovení obsahu glukózy a fruktózy v medu patří mezi důležitá stanovení při fyzikálně chemickém hodnocení medu. Součet obsahů glukózy a fruktózy je ukotven v legislativě a tento požadavek je nutné dodržet. Složení a obsah cukrů v medu závisí na jeho botanickém a geografickém původu, počasí a podmínkách skladování [45].

Postup:

Obsah glukózy a fruktózy v medu byl stanoven kapalinovou chromatografií s RI detekcí. Jako mobilní fáze byla použita deionizovaná voda. Program na stanovení výše uvedených sacharidů trval 15 minut, analýza probíhala při 80°C. Vzorky byly připraveny navážením 1 gramu medu do 100 ml odměrné baňky, rozpuštěny v destilované vodě a po rozpuštění doplněny po rysku. Následně byly připravené roztoky medu přefiltrovány přes filtry o rozměru 0,22 µm do vialek o objemu 1,5 ml a vloženy do zásobníku vzorků připravených k analýze. Ke stanovení byla využita kolona Rezex RCM – Monosaccharide Ca⁺², o rozměrech 100x7,8 mm. Každý vzorek byl změřen dvakrát, vyhodnocen a z výsledků obsahů fruktózy a glukózy byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka.



Obrázek 7 HPLC s RI detekcí

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

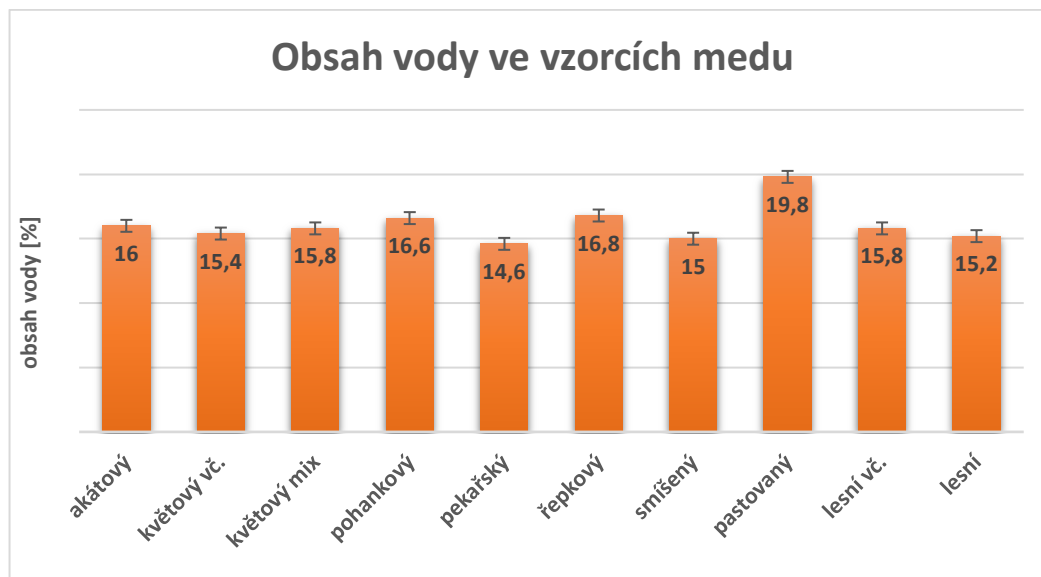
K analýzám bylo použito 10 vzorků medů, 7 květových a 2 lesní medy a dále vzorek květového pastovaného medu. Tři z uvedených medů pocházely přímo od včelaře, ostatní medy byly zakoupeny v tržní síti.

U vzorků medů byly provedeny následující fyzikálně chemické analýzy:

- stanovení obsahu vody
- stanovení elektrické vodivosti
- stanovení titrační a aktivní kyselosti
- stanovení optické otáčivosti
- stanovení obsahu fruktózy a glukózy metodou HPLC s RI detekcí

7.1 Stanovení obsahu vody

Obsah vody byl ve vzorcích medu stanoven digitálním refraktometrem. Každý vzorek byl proměřen celkem třikrát. K naměřené hodnotě indexu lomu byl přiřazen odpovídající obsah vody z tabulky vytvořené IHC Honey – tzv. mezinárodní komisí pro med. Vyhláškou 76/2003 Sb. je daný obsah vody maximálně 20 %, norma Český med je přísnější, povoluje maximální obsah vody 18 %. Pokud je obsah vody vyšší, mohou se v medu snadno množit osmofilní kvasinky a v medu se rozběhne proces kvašení a med je tímto procesem znehodnocen. Na obrázku číslo 8 byl graficky vyhodnocen refraktometricky stanovený obsah vody v analyzovaných vzorcích medu.



Obrázek 8 Obsah vody ve vzorcích medu

Všechny analyzované vzorky medu splňovaly požadavky na obsah vody daný vyhláškou 76/2003 Sb., a to nejvýše 20 % hmot. vody v medu květovém i medovicovém.

Normě Český med, která připouští maximální obsah vody 18 %, nevyhověl med pastovaný, u kterého byl stanoven obsah vody 19,80 %. U tohoto medu z důvodu vyššího obsahu vody může započít proces kvašení, způsobený pomnožením osmofilních kvasinek v medu a tím dojde k sensorickému znehodnocení medu.

Nejnižší obsah vody byl stanoven v medu pekařském, a to 14,6 %. Tento med vyhovuje vyhlášce 76/2003 Sb., která povoluje obsah vody v pekařském medu až do 23 %. Dle normy Český med nelze označit pekařský med jako český med, i když má obsah vody nižší než 18 %, protože není určen k přímé konzumaci ale pouze jako přísada do potravin.

V ostatních vzorcích medů byl obsah vody stanoven v rozmezí 15,0 – 16,8 %, což vyhovuje Normě Český med, a lze konstatovat, že v medu nejsou vhodné podmínky k započnutí procesu kvašení z důvodu nízkého obsahu vody. Podobné hodnoty v českých medech stanovil Tkáč et al. (2022) [46].

Podle Kunové a spol. (2015) by mohl být zvýšený obsah vody v pastovaném medu způsoben rychlým vytočením ještě nezralého medu, kdy nebyly plástve dostatečně zavičkovány, tedy med nedosáhl požadovaného stupně zralosti již v úlu. Vliv má také období sklizně, zejména jarní období [47].

První jarní medy bývají často zpracovány pastováním, nejčastěji med řepkový a květový, protože zejména na jaře je naráz velké množství snůšky a včely rychle víčkují.

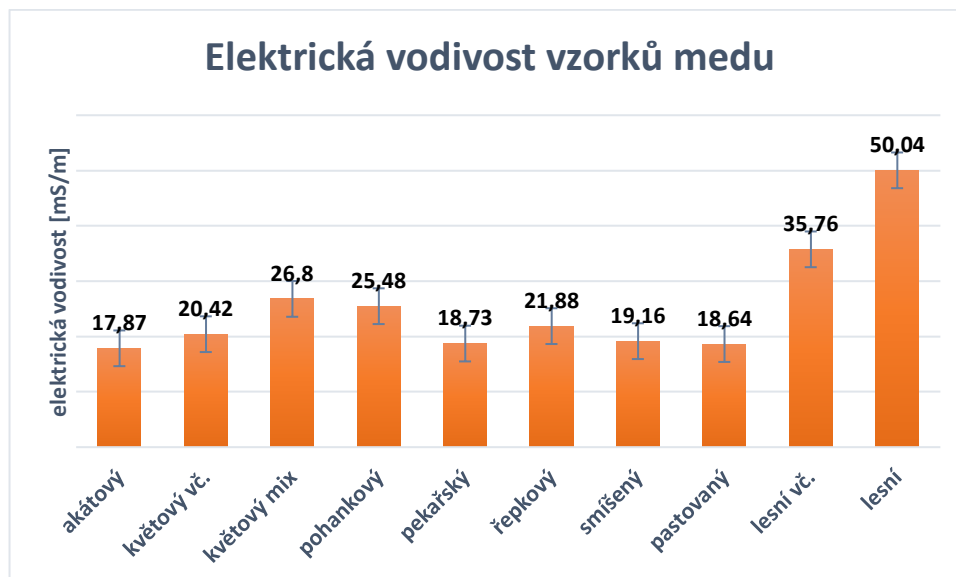
Pastování je v podstatě procesem řízené krystalizace, kdy musí krystalky dosahovat velikosti pod 10 μm , čehož se dosahuje občasným promícháním vytočeného medu [48]. Proces zpracování medu nemá na obsah vody žádný vliv, protože jde v podstatě jen o fyzikální proces beze změny vlastností medu.

Vyšší obsah vody v pastovaném medu může být také způsoben delší dobou a způsobem skladování, jak uvádí Veselý (2013) ve své publikaci. Tento med byl zpastován v roce 2019 a dlouhodobě skladován. Med je silně hygroskopický a pohlcuje vzdušnou vlhkost z prostředí, proto mohl být zvýšený obsah vody způsoben i tímto faktorem. Vyšší obsah vody může vést ke krystalizaci, nad zkrystalizovaným obsahem se vytvoří tenká vrstva tekutého medu a tím je podpořen rozvoj osmofilních mikroorganismů, které jsou zodpovědné za fermentaci a negativně ovlivňují senzorické a nutriční vlastnosti medu a tím také jeho trvanlivost [49].

Dle Bogdanova (2004) je obsah vody důležitým jakostním parametrem, který ovlivňuje trvanlivost a jakost medu. Obsah vody v medu však může být v průběhu zpracování upraven, a to například sušením medu v sušárnách, proto mohl být obsah vlhkosti v pekařském medu ovlivněn i třeba procesem sušení [50].

7.2 Stanovení elektrické vodivosti

Elektrická vodivost neboli konduktivita byla proměřena u 20% roztoku vzorku daného medu. Měření bylo provedeno pětkrát. Hodnota elektrické vodivosti je dána legislativně – vyhláškou 76/2003 Sb. Pokud je dosaženo hodnoty do 80 mS/m lze med označit jako květový, hodnot nad 80 mS/m dosahují medy medovicové. Získané hodnoty elektrické vodivosti byly graficky vyhodnoceny na obrázku číslo 9.



Obrázek 9 Elektrická vodivost vzorků medu

Výsledné hodnoty elektrické vodivosti květových medů odpovídají vyhlášce 76/2003 Sb.. Nejvyšších hodnot dosáhly med lesní, a to 50,04 mS/m, který byl zakoupen v tržní síti a med lesní od soukromého včelaře, u kterého byla stanovena hodnota 35,76 mS/m. U medů, které byly označeny jako lesní, byly očekávány hodnoty elektrické vodivosti odpovídající medům medovicovým, a to více než 80 mS/m. Na etiketě lesního medu zakoupeného v tržní síti bylo zjištěno, že se jedná o směs medů květových a medovicových, čemuž odpovídá i hodnota elektrické vodivosti. Med od soukromého včelaře byl také s největší pravděpodobností směsí medů květových a medovicových, protože i v lese kvetou ve větší míře také nejrůznější keře, například maliníky, kde mohly včely med nasbírat a smíchat s medem medovicovým.

Naopak nejnižší hodnoty vykazuje med akátový a to 17,87 mS/m, pastovaný 18,64 mS/m a med pekařský s hodnotou 18,73 mS/m. Medy nektarové, tedy květové mají nižší elektrickou vodivost, protože nektar sbíraný včelami z květů má nižší obsah minerálních látek než medovice sbíraná včelami v lese, kde má půda vyšší obsah minerálních látek.

Podle Majewske (2019) a Šarice (2008) je hodnota elektrické vodivosti úzce spojena s obsahem minerálních látek, je závislá na botanickém původu medu, čemuž odpovídají výše vyhodnocené výsledky [51,52].

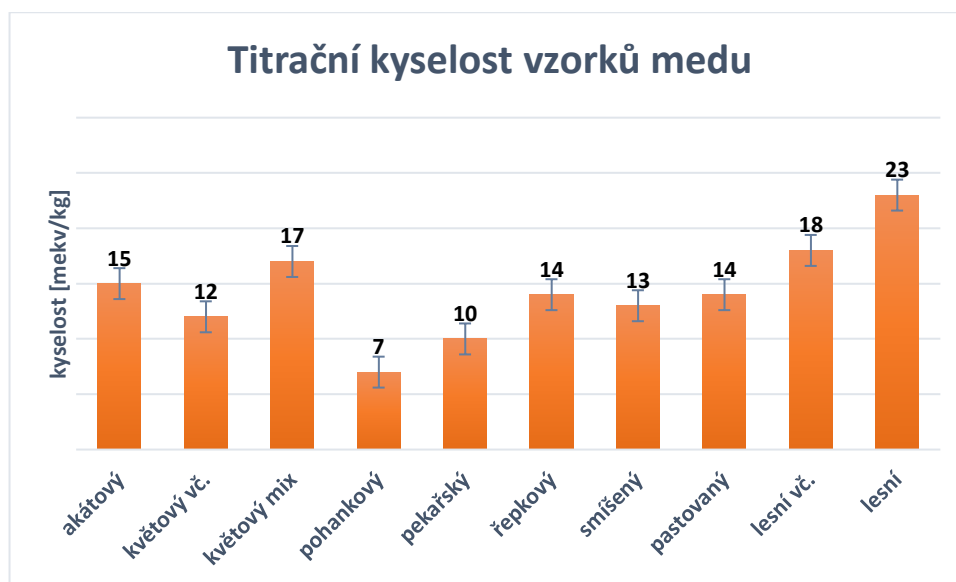
Bogdanov et al. (2014) konstatoval, že z hodnot elektrické vodivosti nelze vyvodit, zda se jedná o kvalitní med či nikoliv, slouží k určení, zda se jedná o med květový či medovicový [50].

Podle Popeka (2002) mají květové medy nižší obsah minerálních látek a díky tomu i nižší hodnotu elektrické vodivosti, což potvrzují i naměřené hodnoty elektrické vodivosti u květových medů [53].

7.3 Stanovení titrační kyselosti

Stanovení obsahu volných kyselin v medu je využíváno ke zjištění, zda v medu není nadbytek volných kyselin a med nezačíná kvasit.

Titrační kyselost vzorků byla stanovena alkalimetrickou titrací na indikátor fenolftalein. Stanovení bylo provedeno dvakrát u každého vzorku. Z výsledků byl vypočítán aritmetický průměr a stanovena směrodatná odchylka. Získané hodnoty titrační kyselosti u analyzovaných vzorků medů jsou zobrazeny na obrázku číslo 10.



Obrázek 10 Titrační kyselost vzorků medu

Všechny analyzované vzorky vyhověly vyhlášce 76/2003 Sb., která povoluje kyselost nejvýše 50,0 mekv/kg u květových a medovicových medů, nejvýše 80 mekv/kg u medu pekařského. U žádného vzorku tedy nebyla zjištěna počínající fermentace. Nejvyšší hodnoty 23 mekv/kg dosáhl med lesní, ale i přesto byl stanovený obsah volných kyselin nízký, nebyl tedy indikován počínající proces kvašení. Nejnižší hodnota titrační kyselosti byla stanovena u medu pohankového, a to 7 mekv/kg. U vzorku pohankového medu byl stanoven velmi nízký obsah volných kyselin, proces kvašení je tedy v tomto vzorku tímto stanovením téměř

vylouen. U ostatních vzorků medu byl stanoven obsah volných kyselin v množství 10 - 18 mekv/kg, tyto hodnoty neukazují na probíhající či počínající proces kvašení, protože stanovený obsah volných kyselin dosahuje nižších hodnot.

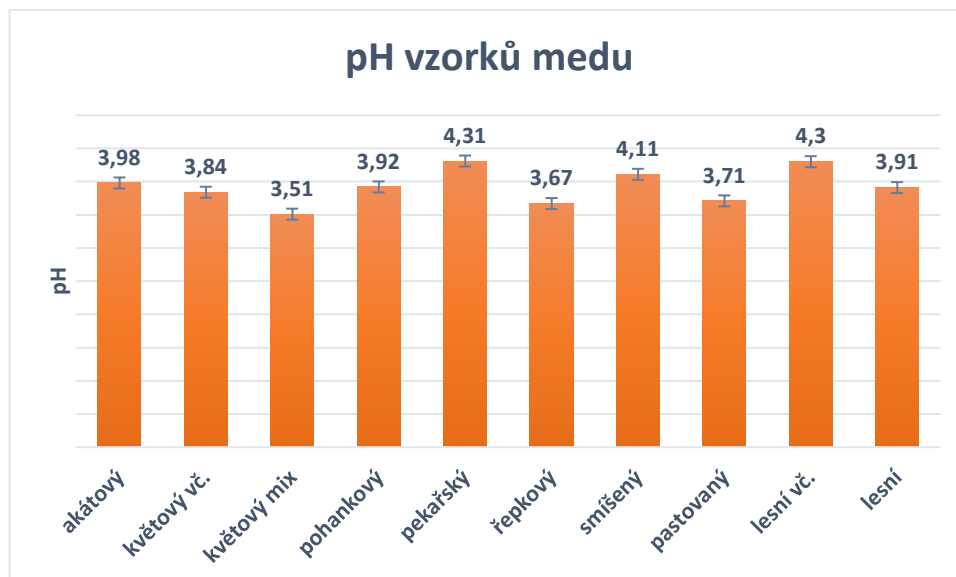
Podle Přídala (2005) jde ale o parametr, jehož interpretace není úplně jednoznačná, protože část kyselin, nacházejících se v medu, je původu rostlinného a část vzniká enzymatickou oxidací enzymu glukózooxidáza, kterou do medu přidávají včely dělnice. Množství přidané glukózooxidázy je různé, stejně jako množství vzniklé kyseliny glukonové, která výrazně mění a ovlivňuje kyselost medu. Může tedy dojít k mylnému dojmu, že med začíná kvasit. Naopak má med pufrční schopnost, která může znesnadnit zjištění počínajícího kvašení [54].

Podle Pauliuc (2021) je titrační kyselost parametrem, který indikuje počínající proces kvašení medu. Přirozená kyselost medu se zvyšuje nejen počátečním kvašením medu, ale i zráním a skladováním medu. Hodnota kyselosti související s kyselinami přirozeně přítomnými v medu se liší v závislosti na včelách, které nektar zpracovávají a také na druhu květinového zdroje [55].

Podle Ratiu (2019) je možné, že tmavé medovicové medy podléhají fermentaci rychleji, protože u nich byla stanovena vyšší hodnota titrační kyselosti, tedy vyšší obsah volných kyselin. Naopak medy světlé mají hodnoty kyselosti nižší, tedy je v nich přítomno menší množství kyselin, což by mohlo být částečně potvrzeno výše uvedenými výsledky, protože oba lesní medy měly obsah volných kyselin o něco málo vyšší než medy květové. Tyto lesní medy vyhodnoceny díky hodnotě elektrické vodivosti jako medy smíšené, čemuž částečně odpovídají i výsledky stanovení obsahu volných kyselin a toto tvrzení [56].

7.4 Stanovení aktivní kyselosti – pH

Hodnota pH byla proměřena u každého z deseti analyzovaných vzorků medu vždy třikrát. Z hodnot byl vypočítán aritmetický průměr a vyhodnocena směrodatná odchylka. Stanovené výsledné hodnoty pH byly vyhodnoceny a zpracovány do grafu zobrazeném na obrázku číslo 11.



Obrázek 11 Stanovené hodnoty pH u medů

Vyhláška 76/2003 Sb. ani norma Český med nestanovují hodnotu pH, která musí být dodržena.

Výsledné hodnoty pH analyzovaných vzorků medu se pohybují v rozmezí 3,51 – 4,31.

Nejvyšší hodnota pH 4,31 byla stanovena u medu pekařského. Stanovená hodnota pH je v oblasti, která není příznivá pro růst a množení většiny mikroorganismů, v medu by tedy neměly probíhat mikrobiologicky nežádoucí změny, zejména proces kvašení. Nejnižší hodnota pH byla stanovena u medu květového mix, a to 3,51, pravděpodobnost nežádoucích mikrobiologických změn je v tomto případě u analyzovaného vzorku medu velmi malá.

Podle da Silva (2016) rozmezí pH 3,2 – 4,5 spolu s přirozenou kyselostí medu brání růstu mikroorganismů, protože ideální rozmezí pH pro růst mikroorganismů je přibližně 7,2 – 7,4. Vyšší hodnota pH může také ukazovat na falšování medu například škrobovým sirupem, který díky vysokému obsahu fruktózy pH zvyšuje [57].

Dobřinášová (2022) ve své publikaci uvádí, že hodnoty pH jsou důležitým kritériem při získávání a skladování medu, protože mohou ovlivnit texturu a stabilitu medu. pH je důležitým ukazatelem v medu, protože může ovlivňovat růst mikroorganismů v medu a tím i celkovou stabilitu a odolnost [58].

Sereia (2017) uvádí, že hodnoty pH závisí na botanickém zdroji, pH nektaru sbíraném včelami, půdě, koncentraci kyselin a minerálů – zejména vápníku, sodíku, draslíku a dalších složkách popela [59].

7.5 Polarimetrické stanovení

Tabulka č. 4 Stanovení optické otáčivosti vzorků medu

VZOREK MEDU	$[\alpha]_{20}^D$
1. akátový	$-12,1 \pm 0,1$
2. květový včelař	$-13,6 \pm 0,0$
3. květový mix	$-16,5 \pm 0,0$
4. pohankový	$-19,8 \pm 0,1$
5. pekařský	$-18,4 \pm 0,1$
6. řepkový	$-15,2 \pm 0,1$
7. smíšený	$-17,5 \pm 0,1$
8. pastovaný	$-11,8 \pm 0,0$
9. lesní včelař	$-8,1 \pm 0,2$
10. lesní	$-11,3 \pm 0,1$

Hodnota optické otáčivosti medu není legislativně dána ani vyhláškou 76/2003 Sb. ani normou Český med.

Výsledné hodnoty analyzovaných vzorků medu uvedených v tabulce číslo 4 byly stanoveny v záporných hodnotách v rozmezí -8,1 až -19,8, stáčejí tedy rovinu polarizovaného světla doleva. Všechny analyzované vzorky byly vyhodnoceny jako medy květové, protože medy medovicové vykazují pravotočivost, stáčejí tedy rovinu polarizovaného světla doprava.

Nejvyšší hodnotu $[\alpha]_{20}^D$ vykazuje med pohankový, a to -19,8. Tento med obsahuje pravděpodobně nejvyšší podíl fruktózy, která stáčí rovinu polarizovaného světla doleva. Naopak nejnižší hodnotu optické otáčivosti vykazuje med lesní od soukromého včelaře - 8,1. Tato hodnota by mohla vypovídat o tom, že obsah fruktózy ve vzorku medu obsahuje v převaze levotočivou fruktózu, ale v mnohem menším zastoupení než v medu pohankovém.

U lesního medu zakoupeného v tržní síti byla stanovena specifická optická otáčivost - 11,3, což odpovídá medu květovému. Jak již bylo diskutováno výše u stanovení elektrické vodivosti v podkapitole 7.2, tento vzorek medu je na obalu označen jako smíšený – květový s příměsí medovice, čemuž odpovídá i stanovená hodnota.

U žádného z analyzovaných vzorků nebyla stanovena kladná hodnota specifické optické otáčivosti, žádný z analyzovaných vzorků nebyl tedy vyhodnocen jako med medovicový, i když lesní med od soukromého včelaře vykazoval hodnotu nejnižší hodnotu – 8,1, což svědčí o jen nepatrné převaze levotočivé fruktózy.

Serrano (2019) ve své publikaci uvedl, že med je schopen otáčet rovinu polarizovaného světla a získaná hodnota specifické optické rotace závisí na poměru cukrů v medu, především na poměru glukózy a fruktózy. Každý sacharid vykazuje jiný úhel natočení polarizovaného světla, tedy specifickou optickou rotaci. Obecně platí, že květové medy jsou levotočivé, protože převažujícím sacharidem v těchto medech je fruktóza, která stáčí rovinu polarizovaného světla doleva a medovicové nebo medy falšované cukernými roztoky vykazují pravotočivost díky vyššímu obsahu glukózy, která stáčí rovinu polarizovaného světla doprava. Medy květové tedy vykazují záporné hodnoty specifické optické rotace a medy medovicové naopak hodnoty kladné. Tyto rozdíly závisí také na rozdílných spektrech květových a medovicových medů. Medovicové medy obsahují větší množství oligosacharidů, zejména melecitózy a rafinózy, které v květových medech chybí [60].

Dimins (2008) uvedl, že stanovení specifické optické rotace není úplně vhodné využít k identifikaci druhů medu. Všechny květové medy vykazují záporné hodnoty optické rotace [61].

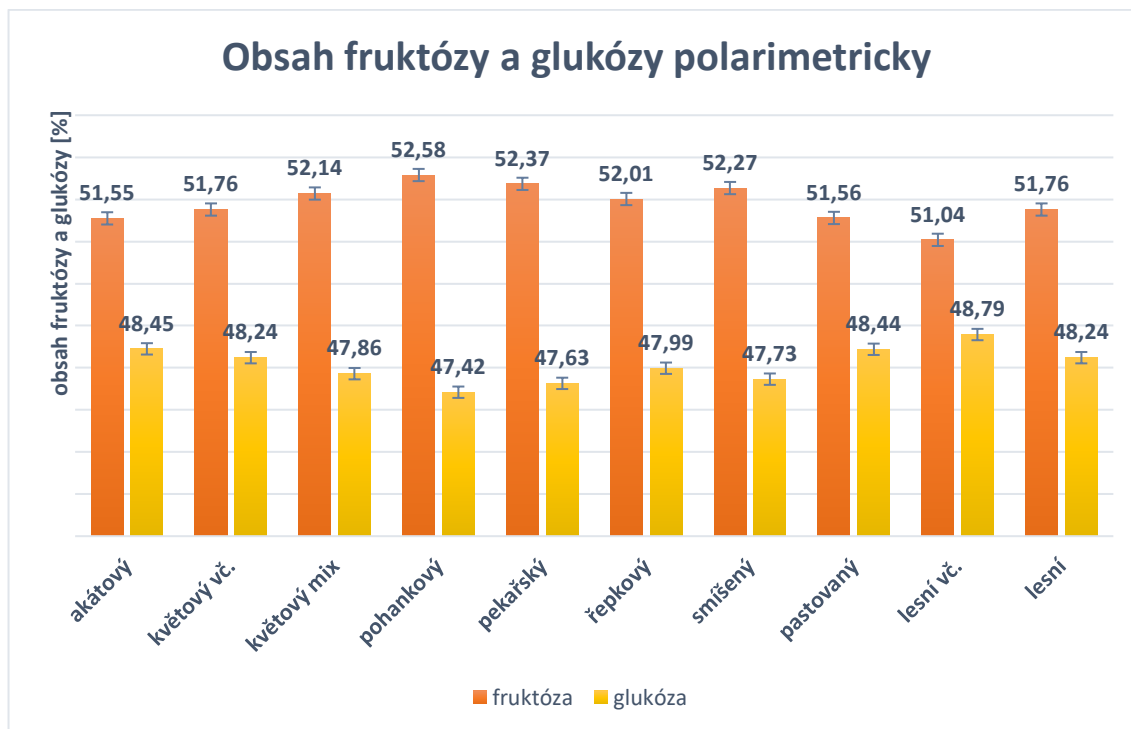
Podobné hodnoty při stanovení specifické optické otáčivosti u květových medů dosáhli i Přidal a Vorlová (2002) [62].

7.6 Stanovení obsahu fruktózy a glukózy

Obsah fruktózy a glukózy v analyzovaných vzorcích medů byl stanoven dvěma způsoby, a to polarimetricky a kapalinovou chromatografií s RI detekcí.

7.6.1 Stanovení obsahu fruktózy a glukózy polarimetricky

Obsah fruktózy a glukózy byl stanoven experimentálně výpočtem, kdy byl nejprve zjištěn úhel natočení polarizovaného světla daného vzorku medu a následně proveden výpočet. U každého vzorku byl úhel natočení polarizovaného světla proměřen třikrát. Z výsledných hodnot obsahu fruktózy a glukózy byl vypočítán aritmetický průměr a stanovena směrodatná odchylka. Na obrázku číslo 12 se nachází výsledky experimentálního výpočtu stanovení fruktózy a glukózy v jednotlivých vzorcích medu.



Obrázek 12 Obsah glukózy a fruktózy polarimetricky

Experimentálním výpočtem byl vyhodnocen nejvyšší obsah fruktózy 52,58 % u vzorku pohankového medu, s čímž souvisí i stanovení optické otáčivosti polarizovaného světla v kapitole 7.5, kdy byl u vzorku pohankového medu stanoven nejvyšší úhel optické otáčivosti. Nejnižší obsah fruktózy 51,04 % byl stanoven u vzorku lesního medu od včelaře, což koresponduje s výsledky v kapitole 7.5, kde byla u tohoto vzorku medu stanovena nejnižší hodnota optické otáčivosti. U tohoto vzorku byl stanoven nejvyšší obsah glukózy 48,78 %, která stáčí rovinu polarizovaného světla doprava, což je typické pro medy medovicové. O vzorku lesního medu od včelaře lze prohlásit, že je podle vyhodnocených výsledků medem květovým s menším podílem medovice. Nejnižší obsah glukózy byl naopak stanoven u medu pohankového 47,42 %, kde je převažujícím cukrem fruktóza, což opět souvisí se stanovením úhlu natočení roviny polarizovaného světla v kapitole 7.5.

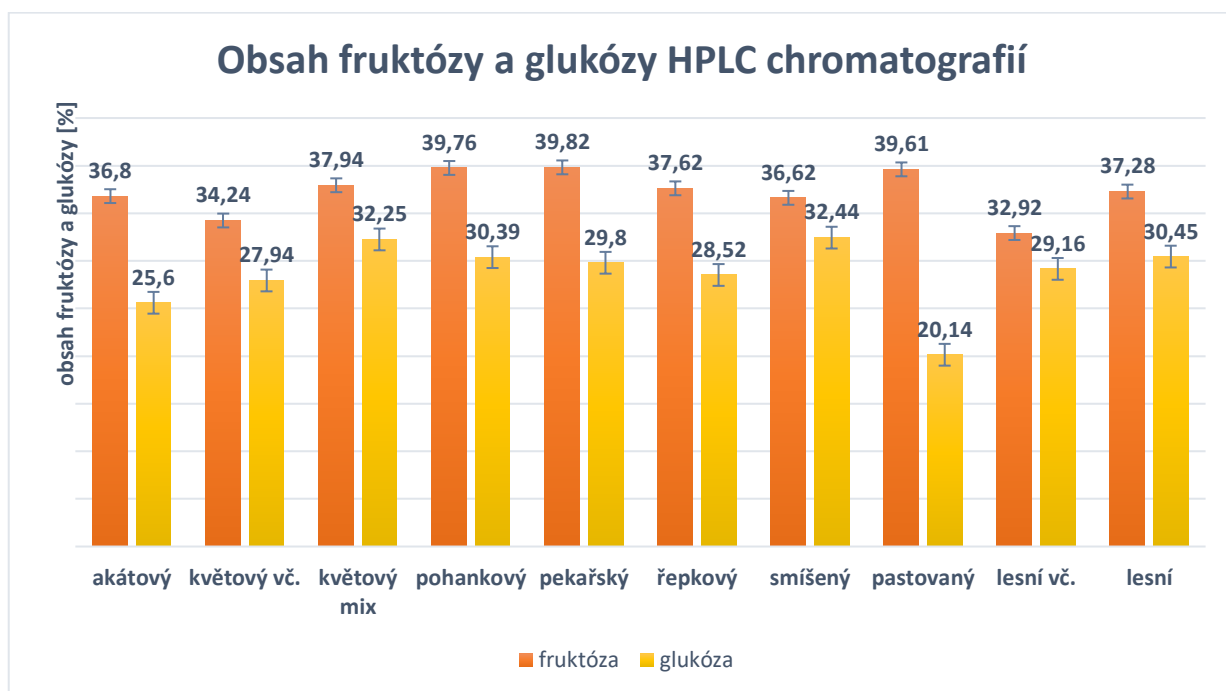
Z uvedených výsledků analyzovaných vzorků medů vyplývá, že obsah fruktózy převažuje nad obsahem glukózy, a z toho lze usuzovat, že se jedná o medy květové.

Liu (2021) ve své publikaci uvádí, že při výpočtu specifické optické rotace by mělo být bráno v úvahu, že se ve sledovaných roztocích nenachází pouze jeden enantiomer – fruktóza, ale je zde ve větším množství přítomen i enantiomer glukózy, roztok je tedy složen ze směsi enantiomerů. Pro tuto směs byl vypočítán procentní poměr obsahu fruktózy a glukózy,

pomocí hodnoty specifické optické rotace získané z polarimetrie ku hodnotě specifické optické rotace čistého enantiomeru [63].

7.6.2 Stanovení obsahu fruktózy a glukózy kapalinovou chromatografií s RI detekcí

Obsah fruktózy a glukózy v analyzovaných vzorcích medu byl stanoven kapalinovou chromatografií s refraktometrickým detektorem indexu lomu. Stanovení bylo provedeno u každého vzorku medu dvakrát. Z hodnot byl vypočítán aritmetický průměr a stanovena směrodatná odchylka. Výsledky zastoupení fruktózy a glukózy v analyzovaných vzorcích medu jsou znázorněny na obrázku číslo 13.



Obrázek 13 Obsah fruktózy a glukózy HPLC chromatografií

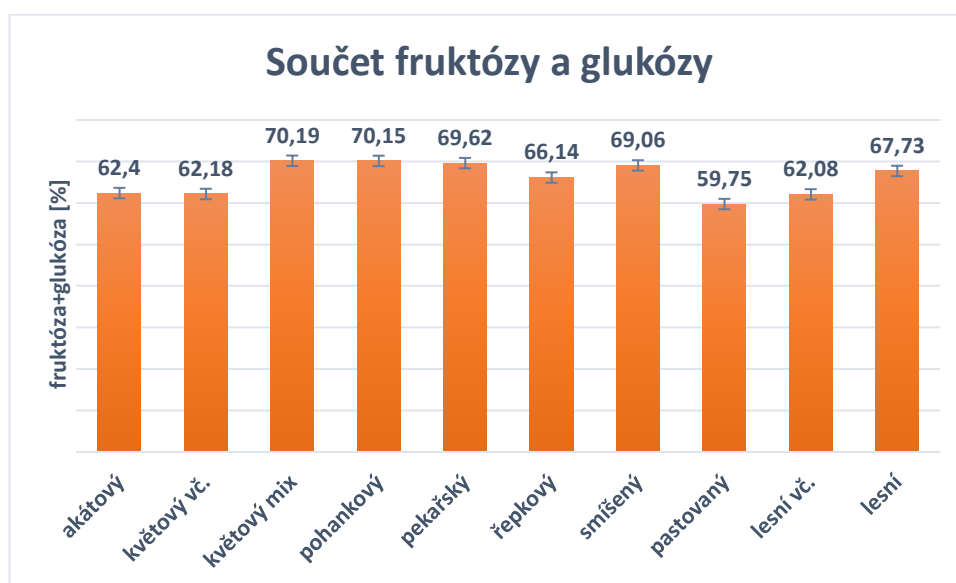
V analyzovaných vzorcích medu byl stanoven obsah fruktózy v rozmezí 32,92 – 39,82 % a obsah glukózy v rozmezí 20,14 – 32,44 %. Nejnižší obsah fruktózy byl stanoven v lesním medu od včelaře, a naopak nejvyšší hodnota obsahu fruktózy byla stanovena u medu pekařského a pohankového. Nejnižší hodnotu obsahu glukózy vykazoval med pastovaný, a naopak nejvyšší hodnotu vykazoval med smíšený. Ve všech vzorcích byl zjištěn vyšší obsah fruktózy než glukózy, což je charakteristické pro přírodní květový med.

Alghamdi (2020) ve své publikaci uvádí, že stanovení obsahu cukrů v medu je využíváno zejména k rozlišení čistého medu od medu falšovaného nejrůznějšími cukernými roztoky.

V květových medech obvykle platí pravidlo, že převažuje fruktóza (přibližně 40 %) nad glukózou (přibližně 30 %). Tyto poměry se mohou změnit v závislosti na teplotě a době skladování [64].

Součet fruktózy a glukózy

Zastoupení fruktózy a glukózy v medu je legislativně vymezeno vyhláškou 76/2003 Sb.. Výsledné hodnoty obsahu cukrů stanovených pomocí kapalinové chromatografie s RI detekcí uvedené v kapitole 7.6.2 na obrázku číslo 13 v jednotlivých vzorcích medu byly sečteny a součet těchto hodnot je znázorněn na obrázku číslo 14.



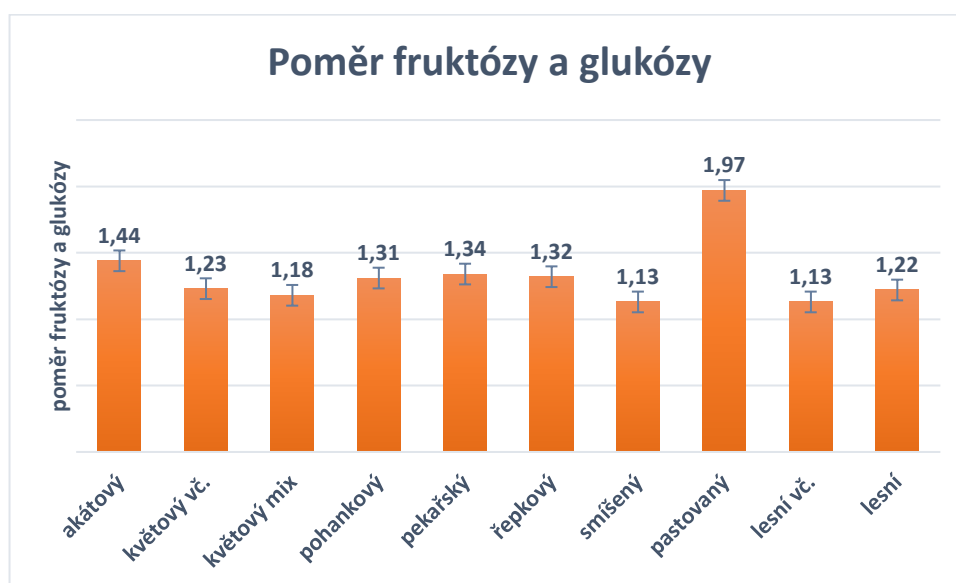
Obrázek 14 Součet fruktózy a glukózy

Součet glukózy a fruktózy v medu je dán vyhláškou 76/2003 Sb. a musí být minimálně 60 % (60 g/100 g). U analyzovaných vzorků medu byl stanoven součet fruktózy a glukózy v rozmezí 62,08 – 70,19 %, což je v souladu s vyhláškou 76/2003 Sb. Vyhlášece nevyhověl med pastovaný, u kterého byl stanoven součet glukózy a fruktózy pouze 59,75 %. Při chromatografické analýze pastovaného medu mohlo dojít k chybě při měření či přípravě vzorku analyzovaného medu a z tohoto důvodu je součet obsahů fruktózy a glukózy nižší než stanovuje norma. Nejvyšší obsah fruktózy a glukózy měl med květový mix a med pohankový. Veselý (2003) ve své publikaci uvádí, že je sledován obsah redukujících cukrů, kam patří nejen fruktóza a glukóza, ale i maltóza, která nebyla ve vzorcích stanovena. Hodnota součtu fruktózy a glukózy je jen o 0,25 % nižší, než je stanovená norma. Je tedy

možné, že se v medu nachází určité množství maltózy a kritérium obsah redukujících cukrů daný vyhláškou 76/2003 Sb. by mohlo být stanovením obsahu maltózy splněno [48].

Poměr fruktózy a glukózy

Poměr fruktózy a glukózy v medu ovlivňuje tendenci medu ke krystalizaci. U analyzovaných vzorků medu byl tento poměr vypočítán z hodnot obsahu fruktózy a glukózy získaných ze stanovení výše uvedených cukrů kapalinovou chromatografií s RI detekcí v kapitole 7.6.2. Obsah fruktózy byl vydělen obsahem glukózy a výsledek byl vyhodnocen grafem znázorněným na obrázku číslo 15.



Obrázek 15 Poměr fruktózy a glukózy

Poměr fruktózy ku glukóze v analyzovaných vzorcích medu byl stanoven v rozmezí 1,13 - 1,97. Hodnoty 1,13 vykazoval med smíšený a med od včelaře označený jako lesní, který byl ve výše uvedených výsledcích vyhodnocen jako med květový s příměsí medovice. Tyto hodnoty značí tendence medu k rychlé krystalizaci. Tento med byl původně z velké části zkrystalizován a před analýzou byl rozehríván ve vodní lázni při odpovídající teplotě, stejně tak i med smíšený. Nejvyšší hodnotu vykazoval med pastovaný, který dle výše uvedených teorií nevykazuje tendenci krystalizovat, protože již byl zpracován procesem pastování.

Velmi důležitým kritériem, které souvisí s krystalizací medu je poměr fruktózy a glukózy v medu. Veselý, 2003 [49] uvádí poměr fruktózy a glukózy u medů v rozmezí 1 – 1,3,

s výjimkou medu akátového, vřesového a medu z kaštanovníku setého, které mají tento poměr vyšší než 1,3. Medovicové medy obsahují oproti nektarovým medům vyšší obsah složitějších cukrů, proto mají menší obsah cukrů redukujících.

Kirs a kol. (2011) uvádí rozsah poměru fruktózy v rozmezí přibližně kolem 1,0 pro medy nektarové a 1,5 – 2,0 pro medy medovicové [65].

Ma (2016) ve své publikaci uvedl, že poměr fruktózy a glukózy ovlivňuje tendenci medů ke krystalizaci. Obecně platí, že poměr fruktózy a glukózy v medu může být výrazně ovlivněn druhem a místem jeho původu [66].

Tossi (2004) uvedl, že hodnota poměru fruktózy ku glukóze menší než 1,14 indikuje rychlou krystalizaci medu, zatímco hodnota poměru fruktózy ku glukóze vyšší než 1,58 nevykazuje žádnou tendenci ke krystalizaci [67].

Podobné výsledky poměru fruktózy a glukózy, které byly stanoveny u výše uvedených vzorků medu akátového a květového uvádí Krauze (1991) [68].

ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo stanovení vybraných parametrů v různých vzorcích medu. Tyto výsledky budou využity jako podklad k vytvoření nové náplně pro výuku.

Analýze bylo podrobena celkem deset vzorků různých medů, které byly zakoupeny v tržní síti nebo pocházely přímo od včelaře. Fyzikálně chemickými analýzami byl stanoven obsah vody, měrná elektrická vodivost neboli konduktivita, obsah volných kyselin, aktivní kyselost, úhel natočení roviny polarizovaného světla, obsah fruktózy a glukózy polarimetricky a kapalinovou chromatografií.

Obsah vody v analyzovaných vzorcích medu byl stanoven v rozmezí 14,6 - 19,8 %, nejnižší hodnoty dosáhl med pekařský a nejvyšší hodnota byla stanovena u medu pastovaného. Všechny testované medy splnily legislativní požadavky na obsah v medu daný vyhláškou 76/2003 Sb. Normě Český med nevyhověl jen med pastovaný, ostatní medy normě vyhověly.

Měrná elektrická vodivost byla stanovena v rozmezí 17,87 – 50,04 mS/m. Nejnižší hodnoty dosáhl med akátový a nejvyšší hodnota byla naměřena u medu lesního zakoupeného v tržní síti. Všechny analyzované vzorky byly podle vyhlášky 76/2003 Sb. vyhodnoceny jako medy květové.

Obsah volných kyselin v analyzovaných vzorcích medu byl stanoven titračně, v rozmezí 7 - 23 mekv/kg. Nejnižší hodnota obsahu volných kyselin byla u medu pohankového, naopak nejvyšší hodnoty dosáhl med lesní, zakoupený v tržní síti. Všechny stanovené výsledné hodnoty obsahu volných kyselin vyhověly vyhlášce 76/2003 Sb.

Aktivní kyselost neboli pH bylo stanoveno v rozmezí 3,51 – 4,31. Nejnižší hodnota byla stanovena u medu květového mix, naopak nejvyšší u medu pekařského. Hodnota pH u medu není legislativně stanovena.

Výsledné hodnoty úhlu natočení roviny polarizovaného světla analyzovaných vzorků medu byly stanoveny v záporných hodnotách v rozmezí -8,1 až -19,8, nejnižší hodnoty dosáhl med lesní od soukromého včelaře, nejvyšší hodnoty bylo dosaženo u medu pohankového. Tyto hodnoty nejsou legislativně vymezeny.

V analyzovaných vzorcích medu byl stanoven obsah fruktózy v rozmezí 32,92 – 39,82 % a obsah glukózy v rozmezí 20,14 – 32,44 %. Nejnižší obsah fruktózy byl stanoven v lesním medu od včelaře, a naopak nejvyšší hodnota obsahu fruktózy byla stanovena u medu

pekařského a pohankového. Nejnižší hodnotu obsahu glukózy vykazoval med pastovaný, a naopak nejvyšší hodnotu vykazoval med smíšený. Obsah jednotlivých cukrů není legislativně vymezen, legislativou je dán součet obsahu fruktózy a glukózy. Tomuto požadavku vyhověly všechny vzorky medu s výjimkou medu pastovaného.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. MACHADO DE-MELO, Adriane Alexandre, Ligia Bicudo de ALMEIDA-MURADIAN, María Teresa SANCHO a Ana PASCUAL-MATÉ. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research* [online]. 2018, 57(1), 5-37 [cit. 2022-10-24]. ISSN 0021-8839. Dostupné z: doi:10.1080/00218839.2017.1338444
2. *Maes honey blog* [online]. Spain [cit. 2022-10-24]. Dostupné z: <https://www.maeshoney.com/en/honeydew/>
3. Mšice vytvářející medovici. In: *www.pleva.cz* [online]. [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: <https://www.pleva.cz/advisor/co-je-to-vlastne-med>
4. *REVISED CODEX STANDARD FOR HONEY CODEX STAN 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001)* [online]. [cit. 2022-10-25]. Dostupné z: <https://www.ihc-platform.net/codex2001.pdf>
5. SANTOS-BUELGA, Celestino a Ana M. GONZÁLEZ-PARAMÁS. Chemical Composition of Honey. In: ALVAREZ-SUAREZ, José M, ed. *Bee Products - Chemical and Biological Properties* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2017, 2017-06-27, s. 43-82 [cit. 2022-10-25]. ISBN 978-3-319-59688-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-59689-1_3
6. Krystalizace medu. *Pleva.cz* [online]. [cit. 2022-10-25]. Dostupné z: <https://www.pleva.cz/a/krystalizace-medu-proc-med-cukernati>
7. DA SILVA, Priscila Missio, Cony GAUCHE, Luciano Valdemiro GONZAGA, Ana Carolina Oliveira COSTA a Roseane FETT, 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry* [online]. 196, 309-323 [cit. 2022-10-27]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.09.051
8. KEKE, Anete a Ingmars CINKMANIS. *Determination of organic acids in honey samples from Latvian market by high-performance liquid chromatography* [online]. In: . 2019-12-12, s. 229-233 [cit. 2022-10-28]. Dostupné z: doi:10.22616/rrd.25.2019.034
9. Technologie a hygiena včelích produktů: 2015. In: *Zdravevcely.webnode.cz* [online]. [cit. 2022-10-28]. Dostupné z: <https://zdravevcely.webnode.cz/vceli-produkty/med/chemicke-slozeni-medu2/>

10. VOLDŘICH, M., A. RAJCHL, H. ČÍŽKOVÁ a P. CUHRA. Detection of Foreign Enzyme Addition into the Adulterated Honey. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2009, **27**(Special 1), S280-S282 [cit. 2022-10-28]. ISSN 12121800. Dostupné z: doi:10.17221/1066-CJFS
11. LANJWANI, Muhammad Farooque a Fayaz Ahmed CHANNA. Minerals content in different types of local and branded honey in Sindh, Pakistan. *Heliyon* [online]. 2019, **5**(7) [cit. 2022-10-29]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02042
12. SHAPLA, Ummay Mahfuza, Md. SOLAYMAN, Nadia ALAM, Md. Ibrahim KHALIL a Siew Hua GAN. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal* [online]. 2018, **12**(1) [cit. 2022-10-29]. ISSN 1752-153X. Dostupné z: doi:10.1186/s13065-018-0408-3
13. Med a kojenecký botulismus. *Bezpecnostpotravin.cz* [online]. 27.5.2010 [cit. 2022-10-29]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/med-a-kojenecky-botulismus.aspx>
14. ISLAM, Md. Nazmul, Md. Ibrahim KHALIL, Md. Asiful ISLAM a Siew Hua GAN. Toxic compounds in honey. *Journal of Applied Toxicology* [online]. 2014, **34**(7), 733-742 [cit. 2022-10-29]. ISSN 0260437X. Dostupné z: doi:10.1002/jat.2952
15. APARNA, A.R. a D. RAJALAKSHMI. Honey—its characteristics, sensory aspects, and applications. *Food Reviews International* [online]. 1999, **15**(4), 455-471 [cit. 2023-01-30]. ISSN 8755-9129. Dostupné z: doi:10.1080/87559129909541199
16. NAYIK, Gulzar Ahmad, B.N. DAR a Vikas NANDA. Rheological behavior of high altitude Indian honey varieties as affected by temperature. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* [online]. 2018, **17**(3), 323-329 [cit. 2023-01-30]. ISSN 1658077X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jssas.2016.07.003
17. Pfund Scale. In: *Www.hoeysource.com* [online]. [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: <https://www.hoeysource.com/honey-varieties-grades/>
18. PASCUAL-MATÉ, Ana, Sandra M OSÉS, Miguel A FERNÁNDEZ-MUIÑO a M Teresa SANCHO. Methods of analysis of honey. *Journal of Apicultural*

- Research* [online]. 2018, **57**(1), 38-74 [cit. 2023-01-30]. ISSN 0021-8839. Dostupné z: doi:10.1080/00218839.2017.1411178
19. TITĚRA, Dalibor, 2017. *Včelí produkty mýtů zbavené: med, vosk, pyl, mateří kašička, propolis, včelí jed*. Vydání třetí. Praha: Nakladatelství Brázda. ISBN 978-80-209-0424-9.
20. Vyhláška č. 76/2003 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony, 2015. *Zakonyprolidi.cz* [online]. [cit. 2022-11-01]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-76>
21. *Svazová norma ČESKÝ MED* [online], 1999. [cit. 2022-11-02]. Dostupné z: <https://www.vcelarstvi.cz/dokumenty-cms/smernicemed.pdf>
22. Plástový med. In: *www.domacimed.cz* [online]. [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: <https://www.domacimed.cz/plastovy-med>
23. PŘIDAL, Antonín, 2003. *Včelí produkty*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 80-7157-717-0.
24. OLATUBOSUN, T, B OLUWALE a M ILORI. Economic Evaluation of Smallholder Honey Production Technologies in Southwestern Nigeria. *British Journal of Economics, Management & Trade* [online]. 2016, **15**(2), 1-17 [cit. 2023-02-03]. ISSN 2278098X. Dostupné z: doi:10.9734/BJEMT/2016/27838
25. BIENEFELD, Kaspar. *Včelařství krok za krokem: pro milovníky krásného koníčka*. Praha: Víkend, 2006. ISBN 80-86891-30-5.
26. Medomet nerezový tangenciální. In: *www.malavelkafarma.cz* [online]. [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: https://www.malavelkafarma.cz/product/medometry_-vosk-a-potreby-pro-vcelare/medomet-nerezovy-r_-t_-tangencialni-na-4/164
27. Medomet radiální. In: *www.apidomia.cz* [online]. [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: <https://www.apidomia.cz/product/medomet-radialni-4524-148/>
28. Zkvašený med. In: *www.domacimed.cz* [online]. [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: <https://www.domacimed.cz/zkvaseny-med>
29. PUŚCION-JAKUBIK, Anna, Maria Halina BORAWSKA a Katarzyna SOCHA, 2020. Modern Methods for Assessing the Quality of Bee Honey and Botanical Origin

- Identification. *Foods* [online]. **9**(8) [cit. 2023-02-06]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9081028
30. BICUDO DE ALMEIDA-MURADIAN, Ligia, Ortrud MONIKA BARTH, Vincent DIETEMANN, et al., 2020. Standard methods for *Apis mellifera* honey research. *Journal of Apicultural Research* [online]. **59**(3), 1-62 [cit. 2023-02-18]. ISSN 0021-8839. Dostupné z: doi:10.1080/00218839.2020.1738135
31. KADLEC, Karel, Miloš KMÍNEK a Pavel KADLEC, 2015. *Měření a řízení v potravinářských a biotechnologických výrobcích: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing. Monografie (Key Publishing). ISBN isbn978-80-7418-232-7.
32. ŽIVKOV BALOŠ, Milica, Nenad POPOV, Suzana VIDAKOVIĆ, Dragana LJUBOJEVIĆ PELIĆ, Miloš PELIĆ, Željko MIHALJEV a Sandra JAKŠIĆ. Electrical conductivity and acidity of honey. *Archives of Veterinary Medicine* [online]. 2018, **11**(1), 91-101 [cit. 2023-02-19]. ISSN 2683-4138. Dostupné z: doi:10.46784/e-avm.v11i1.20
33. PŘIDAL, Antonín. *Vznik, získávání, zpracování a kontrola medu: odborný kurz : další vzdělávání pedagogických pracovníků Středních odborných škol*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2013. ISBN 978-80-7375-737-3
34. VORLOVÁ, Lenka, 2002. *Med: souborná analýza*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, Fakulta veterinární hygieny a ekologie. ISBN 80-7305-450-7.
35. NOOR, A, M MAHMUD, A AHMAD a R A ARFAH, 2019. Amino acids characterization of forest honeys from some area of South Sulawesi. *Journal of Physics: Conference Series* [online]. **1341**(3) [cit. 2023-02-24]. ISSN 1742-6588. Dostupné z: doi:10.1088/1742-6596/1341/3/032029
36. ZAPPALÀ, M., B. FALLICO, E. ARENA a A. VERZERA, 2005. Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. *Food Control* [online]. **16**(3), 273-277 [cit. 2023-02-24]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2004.03.006
37. SAKAČ, Nikola a Milan SAK-BOSNAR, 2012. A rapid method for the determination of honey diastase activity. *Talanta* [online]. **93**, 135-138 [cit. 2023-02-25]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2012.01.063

38. PERSANO ODDO, L., E. BALDI a M. ACCORTI. Diastatic activity in some unifloral honeys. *Apidologie* [online]. 1990, **21**(1), 17-24 [cit. 2023-02-26]. ISSN 0044-8435. Dostupné z: doi:10.1051/apido:19900103
39. Petersen, Stephen & Bryant, Vaughn. (2011). The study of Pollen and its role in the honey market. *American Bee Journal*. 151. 591-594.
40. doc. MVDr. Pospiech, Ph.D Matej, doc. Ing. Štarha, Ph.D. Pavel, doc. Ing. Bednář, Ph.D. Josef, doc. Čížková, Ph.D. Helena, Ing. Hrabec, Ph.D. Pavel, Ing. Kružík, Ph.D. Vojtěch, Mgr. Javůrková, Ph.D. Zdeňka, Ing. Titěra, DrSc. Dalibor, 2021. *Metodika semiautomatického stanovení pylového profilu – melissopalynologická analýza medu*. Brno. ISBN: 978-80-7305-858-6.
41. KAŠKONIENĖ, V., P.R. VENSKUTONIS a V. ČEKSTERYTĖ, 2010. Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. *LWT - Food Science and Technology* [online]. **43**(5), 801-807 [cit. 2023-05-01]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2010.01.007
42. DINKOV, Dinko, 2003. A scientific note on the specific optical rotation of three honey types from Bulgaria. *Apidologie* [online]. **34**(3), 319-320 [cit. 2023-05-01]. ISSN 0044-8435. Dostupné z: doi:10.1051/apido:2003017
43. TRUZZI, Cristina, Anna ANNIBALDI, Silvia ILLUMINATI, Carolina FINALE a Giuseppe SCARPONI, 2014. Determination of proline in honey: Comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology. *Food Chemistry* [online]. **150**, 477-481 [cit. 2023-05-01]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2013.11.003
44. PITA-CALVO, Consuelo, María Esther GUERRA-RODRÍGUEZ a Manuel VÁZQUEZ, 2017. Analytical Methods Used in the Quality Control of Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **65**(4), 690-703 [cit. 2023-05-01]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.6b04776
45. CWIKOVÁ, Olga, Hana PAVLÍKOVÁ a Alena ANSORGOVÁ, 2015. Detection of honey adulteration using HPLC method. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences* [online]. **9**(1), 388-392 [cit. 2023-05-01]. ISSN 1337-0960. Dostupné z: doi:10.5219/499

46. TKÁČ, Matej, Lenka VORLOVÁ, Ivana BORKOVCOVÁ a Jozef GOLIAN, 2022. Physicochemical and bioactive characterization of beekeeper and market honeys. *Emirates Journal of Food and Agriculture* [online]. [cit. 2023-04-04]. ISSN 2079-0538. Dostupné z: doi:10.9755/ejfa.2022.v34.i4.2851
47. KUNOVÁ, Simona, Miroslava KAČÁNIOVÁ, Peter HAŠČÍK a Juraj ČUBOŇ. MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL QUALITY OF SLOVAK AND EUROPEAN HONEY. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences* [online]. 2015, 4(special 1 (Microbiology)), 41-44 [cit. 2023-04-04]. ISSN 1338-5178. Dostupné z: doi:10.15414/jmbfs.2015.4.special1.41-44
48. Cesta k lepší kvalitě medu. *Moderní včelař*. 2016, 2016(4), str.30.
49. VESELÝ, Vladimír, 2003. *Včelařství*. Vyd. 3. Praha: Brázda. ISBN 978-80-209-0399-0.
50. BOGDANOV, Stefan, Kaspar RUOFF a Livia PERSANO ODDO, 2004. Physicochemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie* [online]. 35(Suppl. 1), S4-S17 [cit. 2023-04-04]. ISSN 0044-8435. Dostupné z: doi:10.1051/apido:2004047
51. MAJEWSKA, Ewa, Beata DRUŽYŇSKA a Rafał WOŁOSIAK, 2019. Determination of the botanical origin of honeybee honeys based on the analysis of their selected physicochemical parameters coupled with chemometric assays. *Food Science and Biotechnology* [online]. 28(5), 1307-1314 [cit. 2023-04-05]. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-019-00598-5
52. ŠARIĆ, Goran & Matkovic, Domagoj & Hruskar, Mirjana & Vahčić, Nada. (2008). Characterisation and Classification of Croatian Honey by Physicochemical Parameters. *Food Technology and Biotechnology*. 46. 355-367.
53. POPEK, S, 2002. A procedure to identify a honey type. *Food Chemistry* [online]. 79(3), 401-406 [cit. 2023-04-05]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(02)00391-6
54. ING. PŘIDAL, Antonín Ph.D., 2005. Naším vstupem do EU se změnilo hodnocení a zkoušení medu. Norma český med je nadále zárukou kvality. *Moderní včelař* [online]. 2005,1[cit. 2023-04-07]. Dostupné z: <http://mendelu.apridal.cz/text/c013c.pdf>

55. PAULIUC, Daniela, Mircea OROIAN a Paula CIURȘĂ, 2021. Organic acids content, sugars content and physicochemical parameters of Romanian acacia honey. *Ukrainian Food Journal* [online]. **2021**(10), 158-170 [cit. 2023-04-07]. Dostupné z: doi:10.24263/2304-974X-2021-10-1-14
56. RATIU, Ileana Andreea, Hossam AL-SUOD, Małgorzata BUKOWSKA, Magdalena LIGOR a Bogusław BUSZEWSKI, 2020. Correlation Study of Honey Regarding their Physicochemical Properties and Sugars and Cyclitols Content. *Molecules* [online]. **25**(1) [cit. 2023-04-07]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25010034
57. DA SILVA, Priscila Missio, Cony GAUCHE, Luciano Valdemiro GONZAGA, Ana Carolina Oliveira COSTA a Roseane FETT, 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry* [online]. **196**, 309-323 [cit. 2023-04-08]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.09.051
58. DOBRINAS, Simona, Alina SOCEANU, Semaghiul BIRGHILA, Corina BIRGHILA, Nicoleta MATEI, Viorica POPESCU a Luminita Mihaela CONSTANDA, 2022. Chemical Analysis and Quality Assessment of Honey Obtained from Different Sources. *Processes* [online]. **10**(12) [cit. 2023-04-08]. ISSN 2227-9717. Dostupné z: doi:10.3390/pr10122554
59. SEREIA, Maria Josiane, Paulo Henrique MARÇO, Marcia Regina Geraldo PERDONCINI, Rejane Stubs PARPINELLI, Erica Gomes DE LIMA a Fernando Antonio ANJO, 2017. Techniques for the Evaluation of Physicochemical Quality and Bioactive Compounds in Honey. In: TOLEDO, Vagner de Alencar Arnaut de, ed. *Honey Analysis* [online]. InTech, 2017-03-15 [cit. 2023-04-08]. ISBN 978-953-51-2879-3. Dostupné z: doi:10.5772/66839
60. SERRANO, Salud, Inmaculada RODRÍGUEZ, Rosa MORENO a Francisco RINCÓN, 2019. Detection of key factors affecting specific optical rotation determination in honey. *CyTA - Journal of Food* [online]. **17**(1), 574-580 [cit. 2023-04-13]. ISSN 1947-6337. Dostupné z: doi:10.1080/19476337.2019.1620338
61. DIMINS, Fredijs, et al. Content of carbohydrates and specific rotation angle of honey. In: *3rd Baltic Conference on Food Science and Technology. Conference Proceedings FOODBALT 2008*. 2008. p. 121-125.

62. Pridal, Antonin & VORLOVÁ, L.. (2002). Honey and its physical parameters. *Czech Journal of Animal Science*. 10.
63. LIU, Xin. Optical Activity. In: <https://chem.libretexts.org/?readerView> [online]. Kwantlen Polytechnic University [cit. 2023-04-17]. Dostupné z: <https://chem.libretexts.org/@go/page/359589>
64. ALGHAMDI, Budour A., Elham Shasho ALSHUMRANI, Muneerah Saad Bin SAEED, et al., 2020. Analysis of sugar composition and pesticides using HPLC and GC–MS techniques in honey samples collected from Saudi Arabian markets. *Saudi Journal of Biological Sciences* [online]. **27**(12), 3720-3726 [cit. 2023-04-14]. ISSN 1319562X. Dostupné z: doi:10.1016/j.sjbs.2020.08.018
65. KIRS, Evelin, Raili PALL, Kaie MARTVERK a Katrin LAOS, 2011. Physicochemical and melissopalynological characterization of Estonian summer honeys. *Procedia Food Science* [online]. **1**, 616-624 [cit. 2023-04-16]. ISSN 2211601X. Dostupné z: doi:10.1016/j.profoo.2011.09.093
66. MA, Yun, Bing ZHANG, Hongyan LI, Yulu LI, Jiangning HU, Jing LI, Hongming WANG a Zeyuan DENG, 2016. Chemical and molecular dynamics analysis of crystallization properties of honey. *International Journal of Food Properties* [online]. **20**(4), 725-733 [cit. 2023-04-16]. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942912.2016.1178282
67. TOSI, E.A., E. RÉ, H. LUCERO a L. BULACIO, 2004. Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *LWT - Food Science and Technology* [online]. **37**(6), 669-678 [cit. 2023-04-16]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2004.02.005
68. KRAUZE, Alina, 1991. SUGAR SPECTRUM OF POLISH NECTAR AND HONEYDEW HONEY. *Acta Alimentaria Polonica* [online]. **1991**(2), 109-117 [cit.2023-04-16].ISSN 0137-1495. Dostupné z: agro.icm.edu.pl/agro/element/bwmeta1.element.agro-d073b64c-b179-43b4-877a-90272ce0a11b

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

° C	stupeň Celsia
pH	z anglického jazyka, power of hydrogen
mg/100g	miligramy na 100 gramů
kJ/kg/K	kilojoul na kilogram na Kelvin
WHO	World Health Organisation – světová zdravotnická organizace
FAO	Food and Agriculture Organisation – organizace pro výživu a zemědělství
mekv/kg	miliekvivalent na kilogram
mS/m	milisiemens na metr
g/ml	gram na mililitr
HPLC	high-performance liquid chromatography – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
RI	refractive index detector – refraktometrický detektor
HMF	hydroxymethylfurfural
mg/kg	miligram na kilogram
UV	Ultraviolet - ultrafialové
nm	nanometr
g	gram
mol/l	mol na litr
ml	mililitr
M	molární
HCl	kyselina chlorovodíková
µm	mikrometr
mm	milimetr
% hmot.	hmotnostní procenta

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Tvorba medovice [3]	11
Obrázek 2 Stupnice barevnosti dle Pfunda [17]	16
Obrázek 3 Plástový med [22].....	24
Obrázek 4 Medomet ruční tangenciální [26]	25
Obrázek 5 Medomet radiální [27].....	25
Obrázek 6 Zkvašený med [28].....	26
Obrázek 7 HPLC s RI detekcí.....	40
Obrázek 8 Obsah vody ve vzorcích medu	42
Obrázek 9 Elektrická vodivost vzorků medu.....	44
Obrázek 10 Titrační kyselost vzorků medu.....	45
Obrázek 11 Stanovené hodnoty pH u medů	47
Obrázek 12 Obsah glukózy a fruktózy polarimetricky	50
Obrázek 13 Obsah fruktózy a glukózy HPLC chromatografií.....	51
Obrázek 14 Součet fruktózy a glukózy.....	52
Obrázek 15 Poměr fruktózy a glukózy	53

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Smyslové požadavky na med.....	19
Tab. 2. Fyzikální a chemické požadavky na med.....	19
Tab. 3. Analyzované druhy medu.....	34
Tab. 4. Stanovení optické otáčivosti vzorků medu.....	48

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Analyzované vzorky medu

PŘÍLOHA P I: VZORKY ANALYZOVANÝCH MEDŮ

