

## PŮVODNÍ A METODICKÉ PRÁCE

### VYBRANÉ TĚKAVÉ MARKERY ČESKÝCH ŘEPKOVÝCH A LIPOVÝCH MEDŮ

ADÉLA GRÉGOVÁ<sup>a</sup>, VOJTĚCH KRUŽÍK<sup>a</sup>, THI  
QUYNH NHU NGUYEN<sup>a</sup>, MATEJ POSPIECH<sup>b</sup>,  
ZDEŇKA JAVŮRKOVÁ<sup>b</sup>, DALIBOR TITĚRA<sup>c</sup>  
a HELENA ČÍZKOVÁ<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-  
technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6,

<sup>b</sup> Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného půvo-  
du, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1,  
612 42 Brno, <sup>c</sup> Výzkumný ústav včelařský, s. r. o., Dol 94,  
252 66 Mázovice

Helena.Cizkova@vscht.cz

Došlo 14.4.21, přijato 7.7.21.

Klíčová slova: lipový, řepkový, vícedruhový, český med,  
těkavé látky, pylová analýza, GC/MS

#### Úvod

V České republice je med definován vyhláškou č. 76/2003 Sb. jako potravina přírodního sacharidového charakteru produkovaná včelami (*Apis mellifera*)<sup>1</sup>. Med je přírodní produkt, do něhož nesmí být přidávány, s výjimkou jiného druhu medu, žádné jiné látky včetně přídatných látek. Je vytvářen včelami buď z nektaru květů rostlin (med květový – nektarový), nebo z medovice (med medovicový pocházející z výměšků hmyzu *Hemiptera*)<sup>1</sup>. Jedná se o sladidlo, které se svým složením a vlastnostmi liší zejména podle nektarového nebo medovicového zdroje (botanický původ snůšky), ale také na základě lokality jeho produkce (geografický původ), klimatických podmínek v dané sezóně, způsobu zpracování či individuálního vlivu včelaře<sup>2</sup>. Hlavními složkami medu jsou glukosa, fruktosa a další minoritní cukry, dále med obsahuje aminokyseliny, proteiny, enzymy, vitaminy, minerální látky, polyfenolové sloučeniny či organické kyseliny<sup>3</sup>.

V tuzemských podmínkách se ve většině případů setkáváme se smíšenými květovými medy a nejběžnějšími květovými jednodruhovými medy jsou zejména medy řepkové a dále pak lipové a akátové; žádané jsou i medy medovicové<sup>4,5</sup>. S ohledem na skutečnost, že v podmínkách České republiky není možno čistě jednodruhové medy vyprodukovat, označují někteří autoři tyto medy jako květové druhové.

K senzorickým vlastnostem medu významnou měrou přispívají těkavé látky pocházející buď z nektaru rostlin, nebo vznikající metabolickou činností včel či jako produkty při zpracování, resp. skladování medu<sup>6</sup>. Těkavé látky jsou obvykle analyzovány za účelem stanovení botanického a geografického původu medu, zjištění kritických selhání při jeho zpracování (např. přehřátí) a skladování a zhodnocení v medu obsažených látek.

Profil těkavých látek je do jisté míry charakteristický pro medy určitého botanického druhu, avšak data uvedená v různých literárních zdrojích se liší (tab. I) ať již kvůli přirozené variabilitě diskutované výše, nebo vzhledem k použití různých izolačních a chromatografických podmínek jejich stanovení.

Cílem této studie bylo odlišit od sebe řepkové, lipové a smíšené české medy pomocí cílené analýzy vybraných těkavých látek (markerů) úzce propojených s jejich charakteristickými senzorickými vlastnostmi.

#### Experimentální část

##### Použité chemikálie a standardy

Benzofenon  $\geq 99\%$ , 2-methyl-3-heptanon 99%, 6-undekanon (analytický standard), benzaldehyd  $\geq 99,5\%$ , 2-fenylethylalkohol (2-fenylethan-1-ol)  $\geq 99,0\%$ , linalool 97%, linalool oxid  $\geq 97\%$  (směs izomerů), 2-fenylacetaldehyd  $\geq 95\%$ , 3-methylbutannitril 98%, *p*-cymen  $\geq 98\%$ , nonanová kyselina  $\geq 97\%$ , karvaktrol 99% (přírodní), C5/C6/C7/C8 analytický standard (směs alkanů o koncentracích (hm. %): 21,3 pentan, 23,4 hexan, 25,5 n-heptan, 29,8 n-oktan), C8-C20 analytický standard (roztok o koncentraci 40 mg l<sup>-1</sup> každého alkanu v hexanu), Kaiserova glycerinová želatina (všechny výše uvedené látky byly od firmy Sigma-Aldrich) a methanol p.a. (Lach-Ner).

##### Vzorky medů

Experimenty byly prováděny na souboru vzorků ( $n = 36$ ) autentických čerstvých medů z let 2019 a 2020 pocházejících z území České republiky od lokálních včelařů. Z každého roku byly analyzovány 3 skupiny medů, každá po 6 vzorcích: medy řepkové, lipové a smíšené. Původně plánované zařazení skupiny akátových medů nebylo uskutečněno, protože během sezony 2019–2020 nebylo možno zajistit tento typ medu v potřebné druhové čistotě<sup>16</sup>. Po vytočení medů z plástů pomocí medometu Logar trade d. o. o. (typ LTR4S) byly vzorky skladovány ve vzorkovnicích při teplotě 20 °C a analyzovány do 6 měsíců od jejich sběru.

Tabulka I

Dominantní těkavé sloučeniny vybraných druhových medů

Botanický druh medu	Názvy látek	Lit.
Řepkový	furfural, benzylalkohol, 2-methylbutylalkohol, 3-methylbutylalkohol, <i>p</i> -cymen-8-ol	7
	benzaldehyd, 3-methylbutannitril, 2-fenylethylalkohol, nonanová kyselina, hotrienol	8
	2-methylbutanová kyselina, furfural, benzaldehyd, octová kyselina, 2-fenylethylalkohol	9
Lipový	ethylester octové kyseliny, furfural, karvakrol, aceton, hotrienol	10
	<i>p</i> -cymenen, methylstyren, furfural, <i>p</i> -methylacetofenon, 8- <i>p</i> -methen-1,2-diol	11
	8- <i>p</i> -menthen-1,2-diol, <i>p</i> -cymenen, karvakrol, 2-fenylethylalkohol, 2-( <i>p</i> -methoxyfenyl)ethanol	12
Medovicový	acetonitril, methyl-2-buten-1-ol, <i>n</i> -hexanol, 1-propyn, 2-furanmethylalkohol	13
	nonan, 1-nonanol, ethylester dekanové kyseliny, oktanal, <i>cis</i> -5-methyl-4-nonen	14
	nonanal, 1-nonanol, furfural, ethylester nonanové kyseliny, dekanal	15

### Příprava standardů pro chromatografickou analýzu

Byl připraven zásobní roztok 3 vnitřních standardů (IS; benzofenon, 2-methyl-3-heptanon a 6-undekanon) v methanolu o výsledné koncentraci každého standardu 0,01 g l<sup>-1</sup>. Dále byl připraven zásobní směsný roztok 12 standardů: 3 IS, benzaldehyd, 2-fenylethylalkohol, linalool, 2-fenylacetaldehyd, *p*-cymenen, nonanová kyselina a karvakrol v methanolu o výsledné koncentraci každého standardu 0,01 g l<sup>-1</sup>, linalool oxid (0,1 g l<sup>-1</sup>) a 3-methylbutannitril (1 g l<sup>-1</sup>) v methanolu. Zásobní roztoky standardů byly uchovány ve skleněných odměrných baňkách do 10 °C po maximální dobu 3 měsíců. Ze zásobního směsného roztoku standardů bylo přidáno 20 μl do 4 ml destilované vody v 10ml vialce. Ze zásobních komerčně dostupných standardů *n*-alkanů bylo přidáno bez úpravy 0,2 μl (C5-C8) a 1 μl (C8-C20) přímo do prázdné 10ml vialky.

### Příprava vzorků medů pro chromatografickou analýzu

30 g medu bylo smíseno s 10 ml destilované vody v plastové vzorkovnici s víčkem; následně byly z tohoto roztoku medu odpipetovány 4 ml do vialky a bylo přidáno 20 μl zásobního roztoku 3 IS (cit.<sup>17</sup>). Vzorky byly analyzovány vždy 3krát.

S cílem sledování průběžné stability GC/MS systému a kontroly opakovatelnosti analýz byl do každého vzorku medu přidáván roztok 3 IS a do sekvence byl každý cca 20. nástřik zařazován paralelně směsný roztok standardů a každý cca 30. nástřik také standardy alkanů.

### Pylová analýza vzorků medů

Pylová analýza byla provedena v souladu s postupem schváleným IHC (International Honey Commission)<sup>18</sup>. Vzorky byly montovány (uzavírány mezi krycí a podložní sklo) glycerinovou želatinou. Pylový profil byl hodnocen na snímcích získaných snímáním v mikroskopu Eclipse Ci-L (Nikon, JPN) při zvětšení 100× až 400×. Mikroskopické

ká skla byla automaticky snímána na náhodně generovaných pozicích pomocí motorizovaného stolku Proscan III (Prior, USA). Zorná pole byla snímána v pěti úrovních ostrosti kamerou DFK 23U274 (Imaging Source, GER), které byly následně sloučeny do obrazu s rozšířenou hloubkou ostrosti. Zorná pole byla snímána tak, aby soubor snímků obsahoval nejméně 300 pylových zrn pro jeden vzorek medu. Pro všechny vzorky medů byly připraveny a analyzovány dva samostatné preparáty. Pro následné stanovení těkavých látek byly vybrány vzorky medů na základě relativního procentuálního zastoupení pylových zrn: lípa minimálně 6 %, řepka minimálně 70 %, smíšené medy maximálně 1 % lípy a současně maximálně 7 % řepky (limitace pro smíšené medy byla nastavena za účelem eliminace vlivu dvou sledovaných druhů).

### Stanovení elektrické vodivosti vzorků medů

Elektrická vodivost byla stanovena konduktometricky (konduktometr Multi 9310 IDS, WTW; elektroda IDS Tetra Con 925) metodou podle IHC (cit.<sup>19</sup>).

### Analýza těkavých látek metodou HS-SPME-GC/MS

Metoda stanovení těkavých látek byla upravena na základě podmínek publikovaných v literatuře<sup>17,20</sup>. GC/MS analýza byla provedena na plynovém chromatografu 7890A Agilent Technologies spojeném s hmotnostním detektorem 5975C Agilent Technologies. Byla použita kapilární kolona HP-5MS, 30 m × 0,25 mm I. D., tloušťka filmu 0,25 μm. Teplotní gradient začínal na teplotě 40 °C (výdrž 3 min), následoval nárůst teploty rychlostí 3 °C min<sup>-1</sup> do 160 °C (výdrž 0 min) a další nárůst teploty rychlostí 10 °C min<sup>-1</sup> do 250 °C. Teplota injektoru (Ultra Inert Straight SPME Liner, Agilent) byla 220 °C. Jako nosný plyn bylo použito helium 4.8 o průtoku 0,7 ml min<sup>-1</sup>. Pro MS byla použita elektronová ionizace s ionizační energií 70 eV, s teplotou iontového zdroje 230 °C a kvadrupólového analyzátoru 290 °C, s měřicím hmotnostním rozsahem *m/z* 50–550. Pro izolaci analytů ze vzorků byla využita metoda HS-SPME (head space-solid phase micro-

extraction) pomocí vlákna DVB/CAR/PDMS, 50/30  $\mu\text{m}$  (Supelco) za následujících podmínek: pre-inkubační čas 20 min, extrakce 40 min při teplotě 60  $^{\circ}\text{C}$  a rychlosti míchání 250 rpm. V nástřikovém prostoru (v inletu) byly analyty z SPME vlákna desorbovány při teplotě 220  $^{\circ}\text{C}$  po dobu 3 min a nástřikovány v režimu split 1:1, který zajišťoval dobrou citlivost a přijatelný tvar píků v rozsahu celého chromatogramu. Chromatogramy byly vyhodnoceny programem HP Chemstation (Agilent Technologies) a zpracovány cílenou analýzou. Devět vybraných sloučenin bylo identifikováno na základě srovnání spekter s NIST knihovnou hmotnostních spekter (NIST 14) a pomocí retenčních indexů (RI) a kvantifikováno na základě ploch píků („full scan“ snímání; RTE integrátor).

### Statistická analýza

Získané výsledky pro vzorky medů (prezentované jako průměrné hodnoty ploch vždy z 2 různých měření  $\pm$  standardní odchylka, SD) byly statisticky zpracovány. Pro stanovení rozdílů mezi 3 skupinami vzorků byla aplikována jednofaktorová analýza rozptylu ANOVA následovaná *t*-testem s korekcí *p*-hodnot metodou podle Holma a Bonferroniho pomocí nástroje analýzy dat v programu Excel 2016 (cit.<sup>21</sup>). Následně byla data (plochy píků standardizovaných na plochu benzofenonu, IS) zpracována vícerozměrnými statistickými metodami PCA (analýza hlavních komponent) a LDA (lineární diskriminační analýza) programem Statistica 13.5.0 (cit.<sup>22</sup>).

## Výsledky a diskuse

Kontrola kvality a stability měření těkavých látek a možnost zpětného zhodnocení výsledků

Pro zajištění porovnatelnosti výsledků byl do každého vzorku přidáván roztok 3 IS, jejichž retenční indexy pokrývaly první polovinu (2-methyl-3-heptanon,  $t_{\text{R}} = 12,7$  min, RI = 936), střed (6-undekanon,  $t_{\text{R}} = 29,3$  min, RI = 1270) a druhou polovinu (benzofenon,  $t_{\text{R}} = 44,0$  min, RI = 1624) 62minutového chromatogramu. Do sekvence byl zařazován směsný roztok standardů a dané výsledky byly průběžně vyhodnocovány a zpracovávány statisticky (PCA) s cílem sledování průběžné kvality a stability měření a samotného GC/MS systému. V rámci ověření metody byla stanovena opakovatelnost (O) a mezilaboratorní přesnost (intralaboratory precision, IP) pro tyto těkavé látky:

benzaldehyd (O, 0,8 %; IP, 2,2 %) a benzofenon (O, 7 %; IP, 10,5 %).

### Základní laboratorní rozbor českých medů

Nejprve byl na základě relativní četnosti hlavních druhů pylových zrn (tab. II) vybrán soubor 36 vzorků medů od lokálních včelařů, následně bylo přiřazení k botanickému druhu potvrzeno stanovením elektrické vodivosti. Výsledky pylové analýzy testovaných vzorků odpovídaly v Evropě obvyklým hodnotám pro daný botanický druh (řepkový med je uvažován od 60 % do 92 % a lipový med v rozsahu od 1 % do 56 % relativního zastoupení pylových zrn daného botanického druhu)<sup>5</sup>. Hodnoty zjištěné pro námi analyzované lipové medy se pohybovaly ve spodní polovině, tj. částečně na rozmezí se smíšenými medy. Kromě pylových zrn řepky a lípy se v analyzovaných vzorcích prokázala významná přítomnost pylů rostlin i jiných botanických druhů, například pyl pyločárných rostlin jetele, ostružiny, ovocných stromů, svazenky a nektarodárných rostlin pelyňku či pomněnky.

Elektrická vodivost medu je přímo úměrná obsahu minerálních látek v medu a slouží (jako do určité míry umělá hranice) pro rozlišení květových a medovicových medů. V rámci tří skupin vzorků vykazovaly nejnižší elektrickou vodivost medy řepkové (16,2–41,9  $\text{mS m}^{-1}$ ), smíšené medy byly podle očekávání velmi variabilní (35,9–140,3  $\text{mS m}^{-1}$ ) a vzhledem k tomu, že lípa je jak nektarodárným, tak i medovicodárným rostlinným druhem, byla u vzorků lipových medů zjištěna elektrická vodivost (22,4–82,0  $\text{mS m}^{-1}$ ). Horní hranice je již na pomezí květových a medovicových medů (tab. II).

Výsledky měření těkavých látek souboru českých medů

Profil těkavých látek medu je všeobecně považován za velmi bohatý (literární zdroje uvádějí stovky látek přispívajících k charakteristické vůni a chuti medu)<sup>3,20</sup> a může být vyhodnocován buď metodou necílené analýzy, nebo cílené analýzy individuálních látek. V předložené práci bylo využito cílené analýzy, která umožňuje rychlé zpracování dat a konfirmaci a kvantifikaci analytů. Na základě studia literárních zdrojů bylo nejprve zvoleno devět klíčových těkavých látek jako markerů botanického původu typických pro nejběžnější rostlinné druhy na území České republiky. Jednalo se o následující druhově charakteristické sloučeniny (tab. I) pro řepku (3-methylbutannitril,

Tabulka II  
Základní laboratorní rozbor medu

Parametr	Řepka [ <i>n</i> = 12]		Lípa [ <i>n</i> = 12]		Smíšený [ <i>n</i> = 12]	
	průměr	SD	průměr	SD	průměr	SD
Relativní zastoupení pylových zrn řepky, %	76	8	–	–	2	2
Relativní zastoupení pylových zrn lípy, %	–	–	16	11	0	0
Elektrická vodivost, $\text{mS m}^{-1}$	24	7	59	19	74	27

Tabulka III

Průměry ploch píků 9 vybraných těkavých látek vyhodnocené pro tři sledované skupiny medů

Název sloučeniny	RI	Řepka [ <i>n</i> = 12]		Lípa [ <i>n</i> = 12]		Smíšený [ <i>n</i> = 12]	
		průměr ploch × 10 <sup>6</sup>	SD × 10 <sup>6</sup>	průměr ploch × 10 <sup>6</sup>	SD × 10 <sup>6</sup>	průměr ploch × 10 <sup>6</sup>	SD × 10 <sup>6</sup>
3-Methylbutannitril	730	< 0,10 <sup>a</sup>	0,10	< 0,10 <sup>a</sup>	0,10	< 0,10 <sup>a</sup>	0,10
Benzaldehyd	960	18,35 <sup>a</sup>	14,09	8,80 <sup>a</sup>	10,06	19,52 <sup>a</sup>	14,49
2-Fenylacetaldehyd	1 042	0,27 <sup>a</sup>	0,14	0,36 <sup>a</sup>	0,30	1,63 <sup>a</sup>	2,26
Linalool oxid	1 084	< 0,10 <sup>a</sup>	< 0,10	0,25 <sup>a</sup>	0,61	0,17 <sup>a</sup>	0,24
<i>p</i> -Cymenen	1 087	0,66 <sup>a</sup>	0,64	85,83 <sup>b</sup>	84,21	20,93 <sup>a</sup>	36,02
Linalool	1 096	0,13 <sup>a</sup>	0,10	0,26 <sup>a</sup>	0,40	0,54 <sup>a</sup>	0,70
2-Fenylethylalkohol	1 106	2,53 <sup>a</sup>	0,98	1,15 <sup>b</sup>	0,65	1,63 <sup>ab</sup>	1,07
Nonanová kyselina	1 269	0,16 <sup>a</sup>	0,11	0,24 <sup>ac</sup>	0,27	0,48 <sup>bc</sup>	0,37
Karvakrol	1 294	< 0,10 <sup>a</sup>	0,10	3,16 <sup>b</sup>	2,94	0,86 <sup>c</sup>	1,21

<sup>a,b,c</sup> Různá písmena v horním indexu (a, b, c) označují významný rozdíl mezi vzorky dle metody ANOVA následované *t*-testem s korekcí *p*-hodnot metodou podle Holma a Bonferroniho.

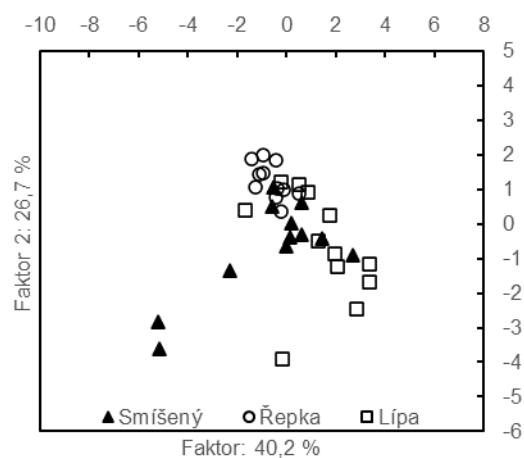
nonanová kyselina, benzaldehyd)<sup>7–9</sup>, lípu (*p*-cymenen, karvakrol)<sup>10–12</sup>, pro medovicové medy a med obecně (2-fenylacetaldehyd, 2-fenylethylalkohol, β-linalool, linalool oxid). S ohledem na matriční efekt a bez použití izotopově značených standardů by byla kvantifikace 9 vybraných těkavých látek zatížena vysokou nejistotou, a proto byl pro interpretaci výsledků zvolen přístup porovnání ploch píků těkavých látek mezi sebou; vyslovené závěry jsou platné pouze pro nastavené izolační a přístrojové podmínky.

Při srovnání výsledků rozboru těkavých látek jednotlivých skupin vzorků medů (tab. III) bylo zjištěno, že lipové medy měly oproti řepkovým znatelně bohatší profil i plochy 9 vybraných těkavých látek, které byly u tohoto botanického druhu medu v průměru 5krát vyšší, což bylo způsobeno majoritním zastoupením *p*-cymenenu ve skupině vzorků druhových lipových medů. Smíšené medy byly co do obsahu těkavých látek velmi variabilní. Nejvyšší zastoupení *p*-cymenenu a karvakrolu bylo stanoveno u skupiny medů lipových a vykazovalo statisticky významné rozdíly od ostatních druhů medů (*p* < 0,017). Statisticky významný rozdíl byl nalezen také pro 2-fenylethylalkohol při srovnání výsledků pro skupinu druhových medů řepkových (pro tyto medy bylo stanoveno jeho nejvyšší zastoupení) a lipových (*p* < 0,017).

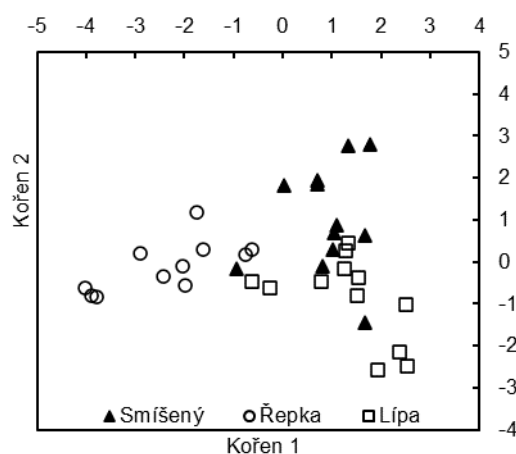
PCA byla aplikována s cílem získání přehledu o variabilitě zastoupení těkavých látek a potenciálním rozdělení vzorků medů podle jejich botanického původu; jako proměnné byly využity průměrné plochy 9 vybraných těkavých látek vztažené za účelem standardizace na průměrnou plochu nejvíce stabilního vnitřního standardu benzofenonu. Tři zcela odlehle vzorky (obr. 1) jsou ze skupiny smíšených medů, ve kterých podle pylové analýzy převažují následující botanické druhy: pelyněk (29 %), svazenka (19 %) a ovocné stromy (29 %). Čtvrtý odlehlý případ byl na základě předcházejícího laboratorního rozboru kategori-

zován jako lipový med (zastoupení lipových zrn 6 %), jeho atypické zastoupení těkavých látek je v tomto případě možno vysvětlit výskytem dalších výrazně senzorycky aktivních botanických druhů, jako jsou jetel (45 %) a ostružiny (12 %). PCA (obr. 1) poskytla poměrně slabou separaci dat, tj. shluky medů podle jejich odlišného botanického původu nejsou dostatečně oddělené. Je však možné pozorovat mírné odlišení medů lipových od řepkových. První dvě hlavní komponenty činily přibližně 66,9 % z celkového rozptylu.

Lineární diskriminační analýza (obr. 2) byla použita pro ověření možnosti klasifikovat vzorky medů na základě 9 vytipovaných těkavých látek. Princip této metody spočívá v nalezení takové lineární kombinace původních proměnných, které zajistí co největší variabilitu mezi třídami a naopak co nejmenší variabilitu uvnitř těchto tříd. Vzorky



Obr. 1. PCA analyzovaných vzorků medů



Obr. 2. LDA analyzovaných vzorků medů

medů byly rozděleny do tří předem definovaných tříd: medy řepkové, lipové a smíšené. Na obr. 2 je znázorněna projekce všech vzorků medů ve dvourozměrném prostoru, který je vytvořen pomocí prvních dvou diskriminačních funkcí (určeny jako statisticky významné). Na tomto diagramu lze vidět tři seskupení vzorků, z nichž každé odpovídá danému druhu medu. První diskriminační funkce rozlišuje především skupinu řepkových a lipových medů. Pro výběr nejvýznamnějších proměnných tohoto diskriminačního modelu byla zvolena kroková metoda. Na základě posouzení  $p$ -hodnoty, Wilkova ( $\lambda$ ) a Fischerova ( $F$ ) testovacího kritéria byly nalezeny 2 statisticky významné sloučeniny, které nejvíce přispívají k rozdělení vzorků do tříd. V souladu s výsledky  $t$ -testu bylo potvrzeno, že největší příspěvek k rozdělení vzorků poskytuje 2-fenylethylalkohol ( $p < 0,001$ ;  $F = 20,29$ ;  $\lambda = 0,39$ ) a karvakrol ( $p = 0,021$ ;  $F = 4,42$ ;  $\lambda = 0,21$ ). Celkově je správně klasifikováno 81 % vzorků, konkrétně v jednotlivých skupinách: řepkové medy 92 %, lipové medy 75 % a smíšené medy 75 %.

## Závěr

Výsledky této studie prokázaly, že české lipové medy se od řepkových a smíšených medů odlišují vyšším zastoupením  $p$ -cymenu a karvakrolu. Oproti tomu řepkové medy jsou charakterizovány poměrně jednoduchým chromatografickým záznamem a celkově nízkými plochami píku sledovaných sloučenin. Klasifikace vzorků podle botanického původu s využitím vícerozměrných statistických metod byla pouze středně úspěšná. Lze předpokládat, že profil těkavých látek byl významně ovlivněn smíšeným charakterem testovaných lipových i řepkových medů, jak vyplývá i z přítomnosti pylových zrn jiných botanických druhů.

Výzkum byl financován z projektu QK1920344: Ověření autenticity medu pomocí analýzy pylových zrn (Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017–2025, ZEMĚ).

## LITERATURA

1. Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony, ve znění vyhlášky č. 148/2015 Sb. Sbirka zákonů 2003, částka 32, str. 2470.
2. Kaškonienė V., Venskutonis P. R., Čeksteryte V.: LWT – Food Sci. Technol. 43, 5 (2010).
3. Bogdanov S.: *The Honey Book: Honey Composition*. [https://www.academia.edu/5616849/Composition\\_of\\_honey#:~:text=Composition%20of%20honey%20The%20Honey%20Boo](https://www.academia.edu/5616849/Composition_of_honey#:~:text=Composition%20of%20honey%20The%20Honey%20Boo), staženo 1. 7. 2021.
4. Švamberk V.: <https://www.vcelarskenoviny.cz/index.php/joomla-page/15-vceli-produkty/13-druhy-medu-na-ceskem-a-evropskem-trhu>, staženo 16. 2. 2021.
5. Persano Oddo L., Piro R.: *Apidologie* 35, S38 (2004).
6. Manyi-Loh Ch. E., Ndip R. N., Clarke A. M.: *Int. J. Mol. Sci.* 12, 12 (2011).
7. Wardencki W., Chmiel T., Dymerski T., Biernacka P., Plutowska B.: *Ecol. Chem. Eng.* 16, 3 (2009).
8. Kružik V., Grégrová A., Ziková A., Čížková H.: *J. Food Nutr. Res.* 58, 4 (2019).
9. Siegmund B., Urdl K., Jurek A., Leitner E.: *J. Agric. Food Chem.* 66, 10 (2018).
10. Juan-Borrás M., Domenech E., Hellebrandova M., Escriche I.: *Food Res. Int.* 60, 86 (2014).
11. Plutowska B., Chmiel T., Dymerski T., Wardencki W.: *Food Chem.* 126, 3 (2011).
12. Piasenzotto L., Gracco L., Conte L.: *J. Sci. Food Agric.* 83, 10 (2003).
13. Lušić D., Koprivnjak O., Čurić D., Sabatini A. G., Conte L. S.: *Food Technol. Biotechnol.* 45, 2 (2007).
14. Karabagias I. K., Dimitriou E., Halatsi E., Nikolaou C.: *J. Food Chem. Nanotechnol.* 3, 3 (2017).
15. Karabagias I. K., Nikolaou C., Karabagias V. K.: *Eur. Food Res. Technol.* 245, 1 (2019).
16. Pospiech M. a 11 spoluautorů: *Appl. Sci.* 11, 4989 (2021).
17. Alissandrakis E.: *Food Chem.* 100, 1 (2007).
18. Von Der Ohe W., Persano Oddo L., Piana M. L., Morlot M., Martin P.: *Apidologie* 35, 1 (2004).
19. Bogdanov S.: *Harmonised methods of the International Honey Commission*. International Honey Commission (IHC), 1-62 (2002). <https://ihc-platform/net/ihcmethods2009.pdf>, staženo 1. 7. 2021.
20. Kaškonienė N.: *Food Chem.* 111, 4 (2008).
21. Microsoft Corporation (2016). Microsoft Excel, version 2016. <https://www.microsoft.com/cs-cz/download/details.aspx?id=54986>, staženo 16. 2. 2021.
22. TIBCO Software, Inc. (2018). TIBCO STATISTICA (data analysis software system), version 13.5.0. <https://docs.tibco.com/products/tibco-statistica-13-5-0>, staženo 16. 2. 2021.

**A. Grégrová<sup>a</sup>, V. Kružík<sup>a</sup>, T. Q. N. Nguyen<sup>a</sup>, M. Pospiech<sup>b</sup>, Z. Javůrková<sup>b</sup>, D. Titěra<sup>c</sup>, and H. Čížková<sup>a</sup>** (<sup>a</sup>*Department of Food Preservation, University of Chemistry and Technology, Prague,* <sup>b</sup>*Department of Plant Origin Foodstuffs Hygiene and Technology, University of Veterinary Sciences Brno,* <sup>c</sup>*Bee Research Institute, Dol, Mázlovice*): **Selected Volatile Markers of Czech Rape and Lime honeys**

The aim of our study was to distinguish between unifloral Czech honeys using target analysis of selected volatile substances. Firstly, 36 honey samples were divided on the basis of relative percentage representation of pollen grains in the particular botanical species into 3 groups: lime (minimum 6%), rape (minimum 70%) and multifloral honeys. Subsequently, nine key volatile substances typical of common plant species in the Czech Republic were selected as markers of botanical origin and evaluated by means of target analysis. It was found out that the lime

honeys differed from the rape honeys mainly by a larger representation of *p*-cymenene and carvacrol and by a smaller representation of 2-phenylethanol; the multifloral honeys were, as expected, very variable in terms of the content of the volatile substances. Linear discriminant analysis indicated 81% accuracy in the classification of honeys according to their botanical origin. Of the 9 studied substances, 2-phenylethanol and carvacrol made a major contribution to sample discrimination.

**Keywords:** rape, lime, multifloral, Czech honey, volatile compounds, pollen analysis, GC/MS

*Acknowledgements*

*This research was funded by grant QK1920344: Assessment of honey authenticity by pollen grain analysis (Applied Research Program of the Ministry of Agriculture for 2017–2025, ZEMĚ).*