Analiza sastava šećera HPLC metodom u uzorcima meda s područja Hrvatske

Barkijević, Mateja

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:669149

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Ekološka poljoprivreda i agroturizam

Mateja Barkijević

ANALIZA SASTAVA ŠEĆERA HPLC METODOM U UZORCIMA MEDA S PODRUČJA HRVATSKE

DIPLOMSKI RAD

Mentor: Prof. dr. sc. Dragan Bubalo

Neposredni voditelj: Doc. dr. sc. Lidija Svečnjak

Zagreb, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Mateja Barkijević**, JMBAG 0178079787, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

ANALIZA SASTAVA ŠEĆERA HPLC METODOM U UZORCIMA MEDA S PODRUČJA HRVATSKE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta / studentice

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana _____ s ocjenom _____ pred Povjerenstvom u sastavu:

1. Prof. dr. sc. Dragan Bubalo _____
2. Izv. prof.dr.sc. Marija Bujan _____
3. Doc. dr. sc. Daniel Matulić_____

ZAHVALA

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Draganu Bubalu na ukazanom povjerenju, pomoći prilikom odabira teme i izradi diplomskog rada. Veliko hvala doc. dr. sc. Lidiji Svečnjak bez koje bi sve bilo nezamislivo: hvala na uputama, utrošenom vremenu, trudu, pojašnjavanju tematike i vodstvu tijekom cjelokupne aktivnosti vezane uz diplomski rad.

Nadalje, zahvaljujem članovima Odjela za zdravstvenu ispravnost i kvalitetu hrane i predmeta opće uporabe sa Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, a naročito dipl. ing. Maji Budeč i dr. sc. Dariu Lasiću na pojašnjavanju rada kromatografskog sustava, na prikazu analize i pripreme uzoraka te na pomoći oko prezentiranja rezultata.

Zahvaljujem svojoj obitelji, roditeljima i sestrama, koji su mi omogućili školovanje, poticali i podržavali me tijekom cijelog života. Hvala vam što ste me „gurali naprijed“ čak i kad nisam htjela.

Posljednja, ali ne i manje bitna zahvala ide Tvrtku koji mi predstavlja najveći oslonac i podršku tijekom cijelog studija. Hvala na neiscrpnoj vjeri i potpori koje su mi davale snagu kad mi je najviše trebalo.

Sažetak

Šećeri su glavne sastavnice meda i čine 95-99% suhe tvari. Fruktoza i glukoza su dominantni šećeri i čine oko 85-95% ukupnih šećera u medu. Sastav i količina glavnih šećera u medu (fruktoza, glukoza, saharoza) mogu pomoći pri utvrđivanju botaničkog podrijetla meda. Međutim, i drugi šećeri koji su prisutni u znatno manjem udjelu mogu biti korisni za utvrđivanje botaničkog podrijetla. Cilj je ovog istraživanja bio utvrditi sastav šećera u različitim vrstama meda te usporediti sastav šećera između nektarnih vrsta meda i medljikovaca. Istraživanje je provedeno na 268 uzoraka uniflornog (bagrem, kesten, lipa, kadulja, amorfa, smilje, vrijes, vrisak, mandarina) i multiflornog meda (cvjetni i livadni) te na uzorcima medljikovaca. Utvrđivanje sastava šećera (fruktoze, glukoze, saharoze, turanoze i maltoze) provedeno je metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (HPLC). Također, provedene su analize fizikalno-kemijskih parametara (udio vode, električna provodnost i pH vrijednost) te peludna i senzorska analiza sa ciljem utvrđivanja botaničkog podrijetla ispitivanih uzoraka meda. U analiziranim uzorcima srednje vrijednosti udjela fruktoze kretale su se od 27,59 do 59,25 g/100 g, glukoze od 18,17 do 38,24 g/100 g, saharoze od 0 do 1,2 g/100 g, turanoze od 0,32 do 2,68 g/100 g i maltoze od 0 do 2,7 g/100 g meda. Uspoređujući rezultate udjela šećera ispitanih vrsta meda utvrđeno je da monosaharidi fruktoza i glukoza čine najveći udio šećera, a vrijednosti njihova zbroja kretale su se od 45,76 do 96,19 g/100 g. Najviša prosječna vrijednost fruktoze utvrđena je u uzorcima meda od smilja (42,51 g/100 g), a glukoze u uzorcima meda od mandarine (32,11 g/100 g), dok je najniža prosječna vrijednost fruktoze utvrđena u uzorcima medljikovaca (33,74 g/100 g), a glukoze u uzorcima kestenova meda (22,96 g/100 g). Disaharidi turanoza i maltoza utvrđeni su u znantno manjim količinama u svim ispitanim uzorcima, dok saharoza nije utvrđena u uzorcima meda od vriska i multiflornom medu.

Ključne riječi: sastav šećera, HPLC, vrste meda, fizikalno-kemijski parametri, peludna analiza, senzorska analiza

Summary

Sugars are the main components of honey and make 95-99% dry matter of honey. Fructose and glucose are dominant sugars and make about 85-95% of the total sugar in the honey. The composition and quantity of the main sugars in honey (fructose, glucose, sucrose) can help in determining the botanical origin of honey. However, other sugars that are present in much smaller proportion may be useful for determining the botanical origin. The aim of the research was to determine the composition of sugar in different types of honey and to compare the composition of sugars between blossom types of honey and honeydew. The study was conducted on 268 samples of unifloral (black locust, sweet chestnut, lime, sage, mandarin, heath, false indigo, winter savory, immortelle) and multifloral types of honey (floral and meadow) and on samples of honeydew. Determination of sugar composition (fructose, glucose, sucrose, turanose and maltose) was performed by high performance liquid chromatography (HPLC). Physical-chemical parameters (water content, electrical conductivity and pH value) with pollen and sensory analysis were also performed to determine the botanical origin of honey samples. In the analyzed samples, the mean fructose content ranged from 27,59 to 59,25 g/100 g, glucose from 18,17 to 38,24 g/100 g, sucrose from 0 to 1,2 g/100 g, turanose from 0,32 to 2,68 g/100 g and maltose from 0 to 2,7 g/100 g of honey. By comparing the results of the sugar content of the examined honey types, it has been found that monosaccharides fructose and glucose represent the largest portion of sugar, and the value of their sum ranged from 45,76 to 96,19 g/100 g. The highest average fructose value was found in samples of immortelle honey (42,51 g/100 g), and glucose in mandarin honey samples (32,11 g/100 g), while the smallest average fructose value was found in honeydew samples (33,74 g/100 g), and glucose in sweet chestnut honey samples (22,96 g/100 g). Disaccharides turanose and maltose were found in significantly smaller quantities in all examined samples, while sucrose was not found on samples of winter savory and multifloral honey.

Keywords: sugar composition, HPLC, honey types, physico-chemical parameters, pollen analysis, sensory analysis

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED LITERATURE 2
   2.1. Definicija i vrste meda 2
   2.2. Kemijski sastav meda 3
   2.3. Zakonska regulativa 4
   2.4. Šećeri u medu 5
      2.4.1. Fruktoza 6
      2.4.2. Glukoza 7
      2.4.3. Saharoza 8
      2.4.4. Turanoza 9
      2.4.5. Maltoza 9
   2.5. Kromatografija 10
      2.5.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) 11
   2.6. Primjena HPLC metode u istraživanju meda 12
      2.6.1. Pregled istraživanja meda s područja RH 16
3. MATERIJALI I METODE 19
   3.1. Uzorkovanje 19
   3.2. Određivanje botaničkog podrijetla meda 19
      3.2.1. Melisopalinološka analiza 19
      3.2.2. Analiza fizikalno-kemijskih parametara 19
      3.2.3. Senzorska analiza 20
   3.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC) 21
      3.3.1. Priprema radnog standarda i kalibracija 21
      3.3.2. Priprema uzoraka 21
      3.3.3. Mjerenje 23
4. REZULTATI I RASPRAVA 24
   4.1. Analiza uzoraka meda klasičnim analitičkim metodama 24
      4.1.1. Melisopalinološka analiza 25
      4.1.2. Fizikalno-kemijske analize 26
   4.2. Sastav šećera 30
      4.2.1. Komparativna analiza sastava šećera 35
5. ZAKLJUČAK 45
6. LITERATURA 46
7. ŽIVOTOPIS 52

1. UVOD

Med je najstarije prirodno sladilo poznato ljudskom rodu. Nastaje sinergijskim djelovanjem biljaka i pčela, ali i drugih kukaca pod odgovarajućim klimatskim i zemljopisnim uvjetima. Svaki uzorak meda predstavlja prirodni unikat jer niti jedan uzorak meda nije kemijski istovjetan nekom drugom uzorku. Prema kemijskim, fizikalnim i senzorskim svojstvima med je vrlo raznolik i bogat proizvod. Ipak, poznato je da je med zapravo prezasićena vodena otopina šećera koji čine najveći udio u sastavu meda. Šećeri čine med slatkim i hranjivim, ali i utječu na njegove fizikalne odlike poput kristalizacije, viskoznosti, gustoće i higroskopnosti te na mikrobiološku stabilnost meda. Šećeri su jedni od glavnih kriterija kakvoće meda, a granične vrijednosti njihova udjela u medu propisane su zakonskom regulativom. Osim toga, šećeri imaju bitnu ulogu u otkrivanju botaničkog podrijetla meda, kao i raznih patvorina meda. Upravo zbog brojnih uloga koje šećeri imaju u medu, predmet su brojnih istraživanja, od utjecaja količine šećera na određene karakteristike meda, do utvrđivanja botaničkog podrijetla, kao i razlika u kemijskom sastavu različitih vrsta meda. Za određivanje botaničkog podrijetla meda šećeri se ne mogu koristiti kao samostalni faktor identifikacije, jer kod pojedinih vrsta meda može doći do preklapanja sastava šećera, stoga se uvijek moraju kombinirati s drugim fizikalno-kemijskim parametrima.

Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi sastav šećera u različitim vrstama meda metodom tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti te usporediti sastav šećera između nektarnih vrsta meda i medljikovaca prikupljenih s područja Hrvatske.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Definicija i vrste meda

Med je prirodni slatki proizvod kojeg medonosne pčele (*Apis mellifera*) stvaraju skupljajući nektar medonosnih biljaka ili sekrete živih dijelova biljaka ili pak izlučevine kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka. Pčele nektar, sekrete ili izlučevine sakupljaju, dodaju im vlastite izlučevine te ga pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja (Pravilnik o medu, NN 53/2015).

Postoje dvije osnovne podjele meda: prema podrijetlu i prema načinu proizvodnje, odnosno obliku prezentiranja meda. Ovisno o paši, razlikuju se cvjetni ili nektarni med te medljikovac ili medun. Nektarni med nastaje od nektara medonosnog bilja kojeg pčele skupljaju, pohranjuju u medni mjehur, a zatim i u stanice saća. Također, razlikuju se dvije glavne vrste nektarnog meda obzirom na pašu: uniflorni i multiflorni, ovisno o tome koja vrsta nektara i u kojoj količini u njemu prevladava (Vahčić i Matković, 2009). Medljikovci nastaju od medne rose, slatke tvari na listovima crnogoričnog ili bjelogoričnog drveća za koju su zaslužni određeni kukci. U povoljnim godinama različite vrste kukaca (najznačajnije u pčelarstvu su lisne i štitaste uši) uz pomoć tankog i dugačkog rila sišu biljne sokove koji pod pritiskom kolaju u sitastim cijevima biljaka. Biljni sok kojim se ti kukci hrane sadrži dosta suhe tvari i bogat je ugljikohidratima. Dio šećera lisne i štitaste uši iskoriste, a prerađeni ostatak izlučuju u obliku malih kapljica koje nazivamo medna rosa ili medljika (Kezić i sur., 2012).

Prema načinu proizvodnje postoji sedam različitih vrsta meda: med u saću, med s dijelovima saća, cijeđeni, vrcani, prešani, filtrirani te kremasti med. Najčešći oblik meda na tržištu je vrcani med dobiven vrcanjem otklopljenog nezaležanog saća. Med u saću se prodaje u poklopljenom svježe izgrađenom saću bez legla. Med s dijelovima saća je vrcani med u kojega su uronjeni dijelovi meda u saću (Kezić i sur., 2012). Cijeđeni med se proizvodi ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla, dok se prešani med dobije prešanjem saća bez legla. Filtriranom medu se nakon vrcanja uklanjaju strane anorganske ili organske tvari što dovodi do smanjenja količine peludi u medu. Kremasti med nastaje polaganim miješanjem svježe izvrcanog meda sve dok se ne postigne željena kremasta konzistencija (Vahčić i Matković, 2009).

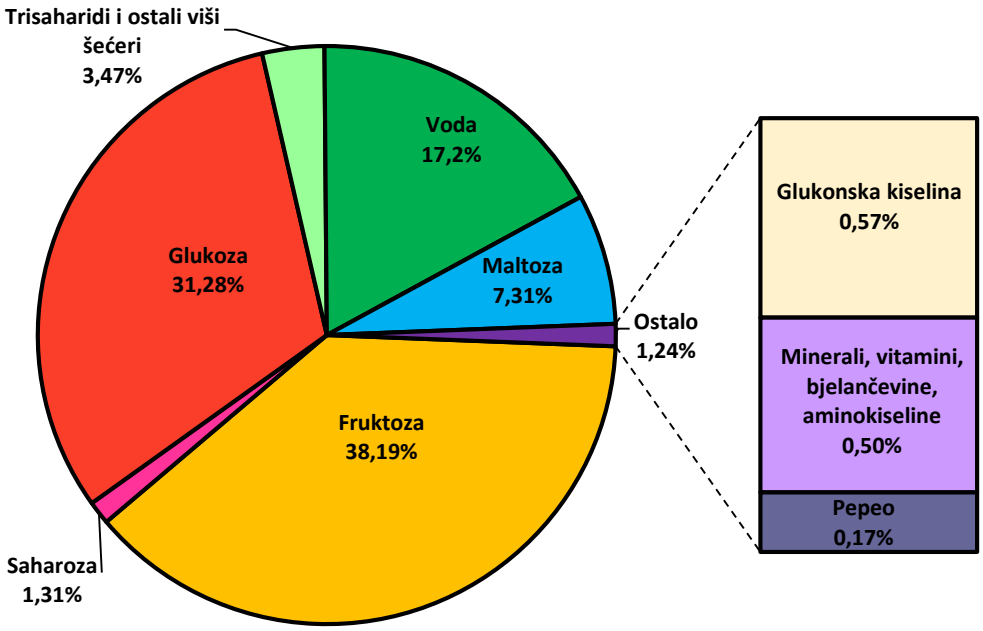
Uzimajući u obzir različito podrijetlo, različite vrste meda imaju i drugačija svojstva. Tako je nektarni med većinom svijetlije boje i slađeg okusa, niže pH vrijednosti te sadrži manje mineralnih tvari, dok je medljikovac obično tamnijih nijansi, manje sladak, s većim

sadržajem mineralnih tvari te s višom pH vrijednošću. Osim podrijetla, na razliku fizikalno-kemijskih karakteristika meda utječu i klimatski uvjeti, pasmina pčela, ali i sposobnost pčelara, odnosno način dorade i skladištenja meda (Kaškoniene i Venskutonis, 2010).

2.2. Kemijski sastav meda

Med je prema svom kemijskom sastavu vrlo složena smjesa sastavljena od preko 70 različitih tvari. Neke od tih tvari potječu od medonosnih biljaka, neke dodaju pčele, dok neke nastaju prilikom dozrijevanja meda u saću (Krell, 1996). Svaka vrsta meda ima jedinstven kemijski sastav koji nikada nije isti čak ni ako potječe od istih medonosnih biljaka, jer na njega utječu različiti sezonski, klimatski i zemljopisni uvjeti, kao i kombinacije biljnih vrsta. Iz tih je razloga teško standardizirati kemijski sastav meda (Tewari i Irudayaraj, 2004). Kemijski sastav meda te njegova boja i okus razlikuju se ovisno o botaničkom i zemljopisnom podrijetlu meda (Persano Oddo i Piro, 2004).

Iako je kemijski sastav meda raznolik i jedinstven za svaki uzorak meda, u osnovi u njega ulaze: šećeri, voda, organske kiseline, mineralne tvari, bjelančevine, vitamini, enzimi i lipidi.



Grafikon 1: Prikaz prosječnog kemijskog sastava meda (prema Tewari i Irudayaraj, 2004)

Prema Tewari i Irudayaraj (2004), prosječan uzorak meda (Grafikon 1) sadrži: 38,19% fruktoze, 31,28% glukoze, 17,2% vode, 7,31% maltoze, 1,31% saharoze, 3,47% trisaharida i ostalih viših šećera, 0,5% minerala, vitamina, bjelančevina, aminokiselina, 0,57 % glukonske kiseline i 0,17 % pepela. Dakle, najveći udio u sastavu meda zauzimaju šećeri i voda. Ostale

komponente (organske kiseline, aminokiseline, enzimi, vitamini, flavonoidi i dr.) prisutne su u malim količinama i svojim udjelom ne doprinose značajno ukupnom sastavu meda, ali su vrlo značajni za senzorska svojstva meda poput boje, okusa i mirisa.

Svaki sastojak meda, ili skupine pojedinih sastojaka, odgovorni su za razlike između pojedinih vrsta meda. Tako primjerice, organske kiseline u medu, u koje se ubrajaju glukonska, mliječna, piroglutaminska, limunska, octena i dr., upotpunjuju okus meda te utječu na mikrobiološku stabilnost meda, odnosno, protumikrobni učinak meda (Kezić i sur., 2012; Vahčić i Matković, 2009).

2.3. Zakonska regulativa

Visoki zahtjevi tržišta kao i cijena proizvodnje meda, čine med podložnim patvorenju (najčešće s invertnim šećernim sirupom) i lažnom označavanju botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda (Madas i sur., 2012). Stoga su, u svrhu zaštite zdravlja potrošača i određivanja kakvoće meda, doneseni kriteriji za određivanje kakvoće, kao i standardne metode kojima se ti kriteriji određuju. Šećeri su u medu, zbog svog udjela u sastavu i utjecaja na fizikalno-kemijske karakteristike, važan kriterij kakvoće meda. Iz tog su razloga sastavni dio međunarodnih i nacionalnih zakonskih regulativa o kakvoći meda.

Codex Alimentarius služi kao osnova za mnoge nacionalne norme i propise za hranu. Predstavlja zbirku međunarodnih standarda za hranu te smjernica i kodova dobre prakse, sa ciljem zaštite zdravlja potrošača i osiguranja postupaka u trgovini hranom. Republika Hrvatska je članica Komisije Codex Alimentariusa (CAC) od 1994. godine, a Hrvatski zavod za norme je Codexova kontaktna točka za Republiku Hrvatsku. Codex Alimentarius (Codex Standards 12-1981, 2001) propisuje kriterije kakvoće (fizikalno-kemijski parametri, količinu kontaminanata), higijenske uvjete, nazivlje i označavanje meda, kao i metode uzorkovanja i analize sastava i kvalitete meda. Prema Codex Standards 12-1981 (2001) zbroj fruktoze i glukoze u medu ne smije biti manji od 60 g/100 g, osim kod medljikovaca kod kojih ne smije biti manji od 45 g/100 g meda. Udio saharoze u medu ne smije biti veći od 5 g/100 g, s izuzetkom nekoliko vrsta meda među kojima je i med od *Citrus* spp. i bagremov med u kojima je najveća dopuštena količina saharoze 10 g/100 g meda. Za utvrđivanje zbroja fruktoze i glukoze, kao i za utvrđivanje saharoze u medu koristi se HPLC metoda prema IHC metodologiji, osim za utvrđivanje dodanog šećera u med gdje je propisana AOAC metodologija.

Međunarodna komisija za med (IHC) osnovana je 1990. godine kako bi propisala svjetske norme za med. Sve moderne metode analize meda zajednički su testirane i

sastavljene te danas predstavljaju međunarodno standardizirane analitičke metode (*Harmonised Methods of the International Honey Commission* (IHC), 2009). AOAC International (*Association of Official Analytical Chemists*) je globalno priznata, neovisna i neprofitna udruga i organizacija osnovana 1884. godine. Razvija i objavljuje međunarodno priznate standardizirane metode kemijskih analiza sa ciljem promicanja trgovine, poboljšavanja zdravlja i sigurnosti, kao i povjerenja u rezultate analiza.

Osim Codex Alimentarius-om, kriteriji kakvoće meda određeni su i Europskom direktivom Vijeća 2001/110/EZ, 2002, koja propisuje granične vrijednosti za svaki parametar kakvoće. Hrvatski Pravilnik o medu (NN 53/15) usklađen je s tom Europskom direktivom Vijeća te određuje najveće, odnosno, najmanje dopuštene količine šećera u medu, tj. njihove granične vrijednosti. Ukupan zbroj fruktoze i glukoze u medu mora biti veći od 60 g/100 g meda, osim kod medljikovca te mješavine cvjetnog meda i medljikovca kada zbroj fruktoze i glukoze može biti najmanje 45 g/100 g meda. Udio saharoze u medu je također veoma bitan i može iznositi najviše 5 g/100 g meda, osim kod: bagrema (*Robinia pseudoacacia*), lucerne (*Medicago sativa*), Banksie menziesii, slatkovine (*Hedysarum* spp.), eukaliptusa (*Eucalyptus camadulensis*), *Eucryphia lucida*, *Eucryphia milliganii*, agruma (*Citrus* spp.) kada je njegov limit 10 g/100 g meda te 15 g/100 g meda za med od lavande (*Lavandula* spp.) i boražine (*Borago officinalis*) (Pravilnik o medu, NN 53/15; EC Direktiva 2001/110, 2002).

2.4. Šećeri u medu

Kao što je prikazano na Grafikonu 1, najveći udio u kemijskom sastavu meda pripada šećerima i vodi. Iz toga proizlazi da med predstavlja koncentriranu vodenu otopinu šećera, prije svega monosaharida fruktoze i glukoze, zatim i di- i trisaharida. Prema Bogdanov i sur. (2004) šećeri su glavni sastojci meda i čine oko 95% suhe tvari meda. Sastav šećera u medu ovisi o nektaru koji su pčele prikupile te o regionalnim klimatskim uvjetima (Anjos i sur., 2015).

Šećeri ne čine med samo slatkim i energetski vrijednim proizvodom, nego utječu i na važna fizikalna svojstva poput gustoće, viskoznosti, higroskopnosti, sklonosti kristalizaciji, ljepljivosti i dr.

Prema istraživanju koje su Yun Ma i sur. (2016) proveli na tekućim, kristaliziranim i polukristaliziranim uzorcima meda, kristalizirani i polukristalizirani uzorci su imali znatno veći udio glukoze, čak 43,3 i 37,9 g/100 g, za razliku od nekristaliziranih uzoraka, čija je prosječna vrijednost glukoze iznosila 26,4 g/100 g. To je samo jedan pokazatelj kako udio šećera može utjecati na određeno fizikalno svojstvo meda.

Analiza sastava šećera u medu, u kombinaciji s određenim fizikalno-kemijskim parametrima, korisna je za određivanje botaničkog podrijetla meda (Bentabol Manzanares i sur., 2011; Kaškoniene i Venskutonis, 2010; Victorita i sur., 2008). Utvrđeno je kako je relativna količina fruktoze i glukoze korisna za klasifikaciju nektarnog meda, kao i omjer fruktoze i glukoze te omjer glukoze i vode (Persano Oddo i Piro, 2004). Prema Kaškoniene i Venskutonis (2010) sastav šećera uz određeni udio peludnih zrnaca iste biljne vrste može biti pouzdani indikator botaničkog podrijetla meda.

Omjer fruktoze i glukoze (F/G) karakterističan je za pojedine vrste meda i u većini slučajeva je veći od 1,0 (Krell, 1996). Kao bogati fruktozom ističu se med od bagrema i kestena (F/G 1,5-1,7), dok su jedne od rijetkih vrsta meda s većim udjelom glukoze, med uljane repice i maslačka (Kezić i sur, 2012).

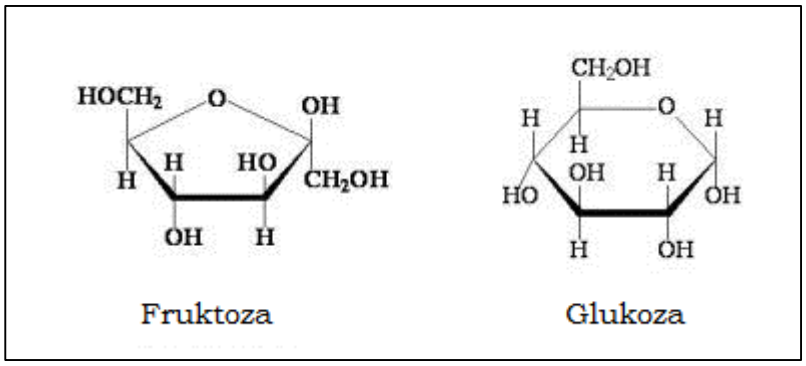
Između sastava šećera nektarnog meda i medljikovaca postoji značajna razlika. Prema Bogdanov i sur. (2004) medljikovci imaju veću koncentraciju oligosaharida i to najvećim dijelom trisaharida melecitoze i rafinoze, koji se uobičajeno ne nalaze u nektarnom medu.

Disaharidi, trisaharidi i oligosaharidi također su prisutni u medu, ali u manjem udjelu. Od disaharida u medu pronađeni su: saharoza (0,4-10,1%), maltoza (0,5-2,8%), izomaltoza (0,5-1,5%), nigeroza (0,2-1,0%), turanoza (0,5-1,5%), kobioza, laminoriboza, α- i β-trehaloza (<0,5%), gentiobioza, maltuloza i izomaltuloza melibioza (<0,5%), a od oligosaharida: erloza (<3,5%), melecitoza (1,4-11,0%), α- i β-izomaltozilglukoza, maltotrioza, kestoza, panoza, centoza, izopanoza i rafinoza (<1%) te izomaltotetroza i izomaltopentoza (Sanz i sur., 2004). Većina se ovih ugljikohidrata ne nalazi u nektaru, već u medu nastaju djelovanjem pčelinjih enzima ili organskih kiselina (Vahčić i Matković, 2009).

2.4.1. Fruktoza

Fruktoza ($C_6H_{12}O_6$) je jednostavan monosaharid. Otkrio ju je francuski kemičar Augustin-Pierre Dubrunfaut 1847.godine. Fruktoza ili voćni šećer je ketoheksoza: šećer sa šest atoma ugljika i keto funkcionalnom skupinom. Glukoza i fruktoza imaju istu molekulsku formulu ($C_6H_{12}O_6$), ali različitu strukturu (Slika 1). Prije se fruktoza nazivala i levuloza jer zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u lijevo. Čista fruktoza je bijele boje, u krutom stanju kristalne strukture i bez mirisa. Okusom je najslađa od svih šećera. U kristalnom obliku dva je puta slađa od glukoze te čak 1,73 puta slađa od saharoze. Ako je fruktoza povezana glikozidnom vezom s glukozom nastaje disaharid saharoza. Polimerizacijom fruktoze nastaje polisaharid inulin (Pine, 1984).

Nalazimo je u medu, voću, grožđu, cvijeću, bobicama i većini korjenastog povrća. Fruktoza u medu može biti prisutna kao monosaharid i/ili kao sastavni dio disaharida, trisaharida i viših šećera. U medu je fruktoza količinski najzastupljeniji šećer (prosječno 39,1 %), te med čini oko 1,5 puta slađim od konzumnog šećera (Vahčić i Matković, 2009). Odnos fruktoze i glukoze u medu utječe i na brzinu kristalizacije: ukoliko u medu ima više fruktoze nego glukoze kristalizacija se odvija sporije, a nastali kristali su krupni i nepravilni (Svečnjak, 2015). Tijekom kristalizacije fruktoza ostaje u tekućem obliku i čini tanak sloj oko nastalih kristala glukoze (Vahčić i Matković, 2009).



Slika 1: Strukturne formule monosaharida u medu: fruktoze i glukoze

(Izvor: Erejuwa i sur., 2012)

2.4.2. Glukoza

Glukoza ($C_6H_{12}O_6$) je jednostavan šećer koji pripada skupini monosaharida. Najčešći je ugljikohidrat u biljnome i životinjskom tkivu, u kojem se glukoza nalazi slobodna ili u sastavu disaharida (saharozi, maltozi i laktozi) i polisaharida (škrobu, glikogenu, celulozi). Glukoza je aldoheksoza. Prema broju ugljikovih atoma u molekuli glukoza je heksoza, a prema funkcionalnoj skupini aldoza. Prikaz strukturne formule glukoze nalazi se na Slici 1. Drugi nazivi za glukozu su dekstroza, grožđani šećer, krvni šećer. Dekstroza je stari naziv za glukozu jer zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u desno. Grožđani šećer se naziva jer se glukoza nalazi u grožđu, a krvni šećer jer se nalazi u krvi.

Biljke sintetiziraju glukozu procesom fotosinteze te je pohranjuju u polimernom obliku kao škrob. U prirodi postoje dva ciklička oblika glukoze: α-D-glukopiranoza i β-D-glukopiranoza. Ta su dva ciklička oblika u ravnoteži, tj. oni mogu prijeći jedan u drugi preko aldehidnog oblika (Amić, 2008). Oba se ciklička oblika nalaze u prirodnim polisaharidima. U celulozi, najčešćoj molekuli u prirodi, jedinice β-glukoze povezane su β-1,4-glikozidnim

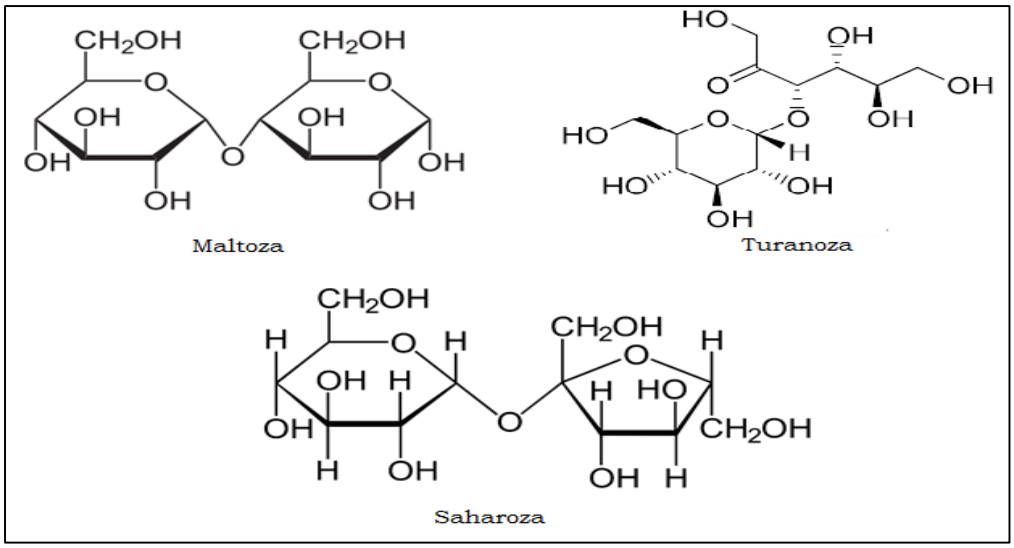
vezama, dok su u glikogenu i škrobu molekule α-glukoze vezane α-1,4-glikozidnim vezama, a na mjestima grananja polimera i α-1,6-glikozidnim vezama.

U medu se glukoza može nalaziti u obliku monosaharida ili kao sastavni dio disaharida i viših šećera. Udio glukoze, kao i fruktoze i vode, važan je za kristalizaciju u kojoj glukoza gubi vodu i prelazi u kristalni oblik. Omjer glukoze i vode u medu je veoma bitan jer se pomoću njega može predvidjeti sklonost kristalizaciji (Vahčić i Matković, 2009). Vrste meda čiji je omjer glukoze i vode > 2,1 su sklonije bržoj kristalizaciji, dok su vrste meda s omjerom < 1,7 sklonije dužem zadržavanju tekućeg oblika. Nadalje, vrste meda koje sadrže više glukoze u odnosu na fruktozu kristaliziraju brže i s finijim kristalima (Svečnjak, 2015).

2.4.3. Saharoza

Saharoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$) je disaharid u kojem su α-D-glukoza i β-D-fruktoza povezane glikozidnom vezom preko svojih anomernih ugljikovih atoma. Strukturna formula saharoze prikazana je na Slici 2. Saharoza nema slobodnih poluacetalnih skupina ni poluketalnih skupina, stoga ne može stvarati otvoreni aldehidni niti ketonski oblik. Iz tog je razloga saharoza nereducirajući šećer i ne pokazuje mutarotaciju (Pine, 1984). Drugi naziv joj je konzumni šećer. Saharoza je bijele boje, slatkog okusa. Pri temperaturi od 160 ^{o}C tali se bez promjene u bistru tekućinu, a daljnjim se zagrijavanjem razlaže u smeđe obojen karamel. Najrasprostranjeniji je disaharid u biljnom svijetu. Zbog dobre topljivosti u vodi, saharoza se lako transportira staničnim sokovima biljaka. Općenito se nalazi u svim biljnim dijelovima: u malim količinama u lišću i sjemenkama, a najviše u plodovima. Saharoza je široko rasprostranjena u prirodi, a industrijski se proizvodi iz šećerne repe i šećerne trske (Amić, 2008).

Vodene otopine saharoze zakreću ravninu polarizirane svjetlosti u desno. Na tom se svojstvu temelje optičke metode određivanja koncentracije šećera u vodenim otopinama. Djelovanjem kiselina ili enzima invertaze molekula saharoze hidrolitički se cijepa na sastavne dijelove: glukozu i fruktozu, a dobivena se smjesa naziva invertni šećer. Med je prirodni invertni šećer u kojem se saharoza nalazi slobodna u obliku disaharida te kao sastavni dio viših saharida. Određivanje saharoze u medu važno je kako bi se utvrdilo eventualno patvorenje meda, hranjenje pčela šećerom (saharozom) ili direktno dodavanje šećera u med (Vahčić i Matković, 2009).



Slika 2: Prikaz strukturnih formula maltoze, turanoze i saharoze

(Izvor: Erejuwa i sur., 2012; Kim i sur., 2016)

2.4.4. Turanoza

Turanoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$) je disaharid sastavljen od molekule glukoze i fruktoze. U prirodi se javlja kao D-izomer. Reducirajući je šećer, sistemskog imena α-D-glukopiranozil-(1,3)-α-D-fruktofuranoza s ketozom za funkcionalnu skupinu. Turanoza nastaje djelomičnom hidrolizom trisaharida melecitoze (Pine, 1984). Strukturna formula turanoze prikazana je na Slici 2. Analog je saharoze i ne podliježe metabolizmu viših biljaka. Brojne vrste bakterija i gljiva koriste turanozu kao izvor ugljika. U medu se nalazi slobodna u obliku disaharida te u sastavu trisaharida melecitoze i viših saharida.

2.4.5. Maltoza

Maltoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$) je disaharid sastavljen od dvije molekule α-D-glukoze povezane α-1,4-glikozidnom vezom. Strukturna formula maltoze prikazana je na Slici 2. Drugi naziv maltoze je sladni šećer. Izomer maltoze je izomaltoza u kojoj su dvije molekule glukoze povezane α-1,6-glikozidnom vezom. U prirodi se rijetko nalazi u slobodnom stanju. Glavni izvor maltoze je škrob. Maltoza nastaje nepotpunom hidrolizom škroba (dekstrina) pomoću enzima α-amilaze ili dijastaze. Reducirajući je šećer jer sadrži slobodnu aldehidnu skupinu koja se može oksidirati u karboksilnu skupinu (Amić, 2008). Maltoza je važan i lako probavljiv dijetetski proizvod. Bitna je u proizvodnji piva koje se proizvodi iz slada (po kojem je i dobila ime), hmelja i vode.

Maltoza se u medu nalazi slobodna u obliku disaharida ili kao sastavni dio viših saharida. Glavni šećeri koji medu daju slatkoću su fruktoza, glukoza, saharoza i maltoza. Kod uspoređivanja slatkoće pojedinih proizvoda koristi se ljestvica u kojoj saharoza služi kao standard pa stoga ima relativnu slatkoću 1,0. S druge strane, D-fruktoza ima relativnu slatkoću 1,7; D-glukoza 0,7, dok relativna slatkoća maltoze iznosi tek 0,3 (Vahčić i Matković, 2009).

2.5. Kromatografija

Ocem kromatografije smatra se ruski botaničar i biokemičar M. Tswet koji je u razdoblju od 1901. do 1906. godine objavio niz radova o metodi kromatografije u analizi biljnih pigmenata (Hrvatska enciklopedija, 2000). Kasnije se naziv kromatografija počeo primjenjivati za sve postupke odijeljivanja u kojima se smjese razdjeljuju između pokretne i nepokretne faze. Danas kromatografija predstavlja skupinu fizikalno-kemijskih metoda za analitičko i preparativno razdvajanje sastojaka iz smjese.

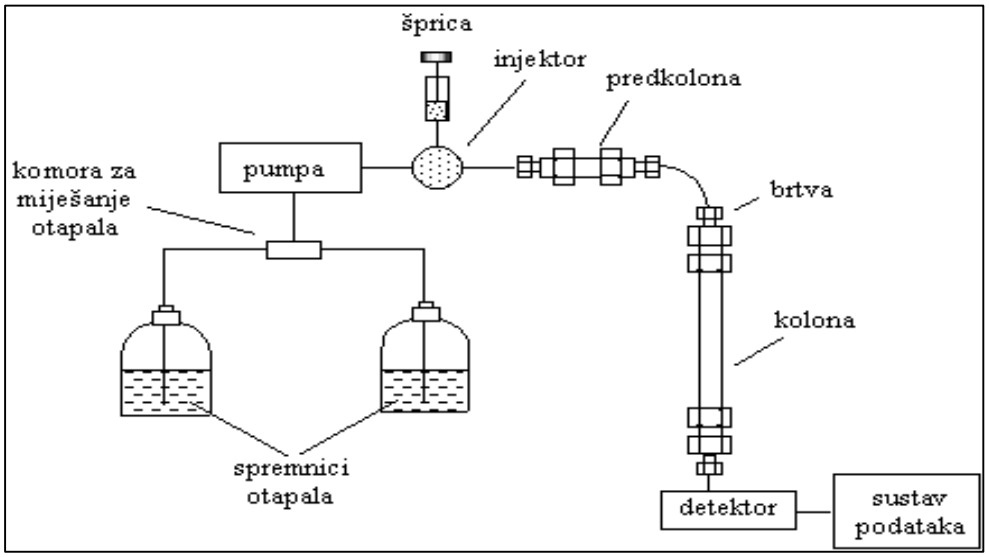
Kromatografske metode se dijele na više načina s obzirom na pojedina svojstva. Najčešće su tri podjele: prema agregatnom stanju pokretne faze, prema načinu izvedbe i prema fizikalno-kemijskim procesima. Glavna podjela je prema načinu izvedbe i to na plošnu kromatografiju i kromatografiju na stupcu (kolonska kromatografija).

Odvajanje sastojaka kromatografskim metodama temelji se na odjeljivanju sastojaka neke smjese između pokretne i nepokretne faze. Pokretna faza može biti tekućina, plin ili superkritični fluid, dok nepokretna faza može biti kruta ili tekuća. Uzorak otopljen u pokretnoj fazi kreće se preko nepokretne faze. Proces kromatografskih odjeljivanja sastojaka u smjesi se temelji na uspostavi ravnoteže između nepokretne faze velike površine i pokretne faze koja prelazi preko nepokretne faze. Ravnoteža, koja se narušava gibanjem pokretne faze, ovisi o svojstvima distribuiranih tvari te o svojstvima obje faze. Zbog specifične interakcije različitih spojeva s nepokretnom i pokretnom fazom, različiti spojevi putuju različitim brzinama i tako se odjeljuju. Sam proces odjeljivanja se zasniva na sljedećim načelima: adsorpciji, razdjeljenju, difuziji, ionskoj izmjeni, kiralnosti i dr. (Luterotti, 2009). Na uspješnost kromatografije (osim prirode tvari, pokretne i nepokretne faze) utječu: brzina pokretne faze, temperatura sustava, omjer mase tvari koja se odjeljuje i nepokretne faze, veličina i oblik čestica sorbensa (nepokretna faza) i dr.

2.5.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)

HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) je vrsta tekućinske razdijelne kromatografije koja se danas koristi kao kromatografija obrnutih faza u 75% primjena. Uspješno se koristi za odjeljivanje te kvalitativno i kvantitativno određivanje različitih organskih spojeva u kapljevitoj fazi. Njezine izvanredne separacijske sposobnosti, svestranost, tehnološka unaprijeđenost čine je široko korištenom u razvojno-istraživačkim i kontrolno-analitičkim laboratorijima (Sutlović i sur., 2011).

Osnovni dijelovi HPLC kromatografskog sustava su: spremnici otapala, komore za miješanje otapala pokretne faze, pumpa i odplinjač (degazer), kolona, sustav za unošenje uzoraka (injektor), detektor, sustav za obradu podataka i po mogućnosti predkolona (Slika 3).



Slika 3: Shematski prikaz HPLC kromatografa (Izvor: Luterotti, 2009)

Otapala (eluensi) koja služe kao pokretna faza trebaju biti visoke čistoće i oslobođena otopljenih plinova ili suspendiranih čestica. Koriste se uobičajena otapala, čista ili u kombinaciji (voda, metanol, organska otapala). Pumpa koja ubacuje otapala u kolonu mora zadovoljavati stroge uvjete: visok tlak, širok raspon i brzinu protoka, rad stalnom brzinom bez pulsiranja zraka te otpornost na koroziju izazvanu različitim otapalima (Ivaniš, 2012). Visoki tlak omogućuje uporabu kolona s manjim promjerom čestica nepokretne faze (3-5 μm) čime se poboljšava razdjeljivanje komponenata i skraćuje vrijeme analize.

Uzorak (analit) se unosi u pokretnu fazu preko sustava za injektiranje. U današnje vrijeme se koristi automatsko uzorkovanje koje omogućuje unošenje različitih volumena te pojednostavljuje rukovanje i smanjuje pogreške koje mogu nastati ručnim uvođenjem uzorka.

U koloni se odvija proces razdvajanja. Najčešće je obložena cjevčicom od nehrđajućeg čelika, duljine 30 do 300 mm, a unutarnjeg promjera od 2 do 8 mm (najčešće 4,6 mm), punjena česticama veličine 5 ili 10 μm (Luterotti, 2009). Kako bi se poboljšao proces razdvajanja cijeli sustav se može i grijati, većinom do temperature od 60 °C jer bi više temperature mogle potaknuti razgradnju nepokretne faze ili hlapljenje pokretne faze (Sutlović i sur., 2011). Izbor nepokretne faze ovisi o prirodi ispitivanog uzorka, o ravnoteži kromatografskog procesa te o vrsti veze koja nastaje između ispitivanog uzorka i kromatografske podloge. Najčešće se upotrebljava polarni anorganski sorbens silikagel $SiO_2 \cdot H_2O$ koji se može upotrijebiti za gotovo sva odjeljivanja zbog velikog kapaciteta i velikog broja primjenjivih oblika (Ivaniš, 2012).

Detektori mjere promjene određene fizikalne veličine koju uzrokuje prolaz ispitivane tvari kroz mjerno-protočnu ćeliju detektora. Detektori mogu pratiti značajke pokretne faze (indeks loma ili vodljivost) ili značajke otopljene tvari (apsorpcija, fluorescencija i sl.). Bitno je da detektor ima visoku osjetljivost, brz odaziv te da je neosjetljiv na promjenu vrste otapala, protoka i temperature, da se može podesiti i optimizirati za različite spojeve i da je pouzdan i jednostavan za rukovanje (Aljinović, 2015).

HPLC se koristi za odjeljivanja i određivanja polarnih i nepolarnih spojeva u farmaceutskoj, biokemijskoj, forenzičkoj, kliničkoj i industrijskoj praksi. Npr. važna je primjena HPLC u ispitivanjima hrane, zraka, industrijskih procesnih i drugih otpadnih tekućina na prisutnost i sadržaj štetnih tvari (Aljinović, 2015).

2.6. Primjena HPLC metode u istraživanju meda

Za određivanje udjela i sastava šećera u medu, danas se koriste međunarodno propisane standardizirane analitičke metode (*Harmonised Methods of the International Honey Commission* - IHC, 2009). Prema IHC metodologiji postoje nespecifične i specifične metode za određivanje udjela i sastava šećera u medu. Nespecifičnim metodama mogu se mjeriti sadržaji reducirajućih šećera, prije svega fruktoze i glukoze, ali i sadržaj saharoze u medu pomoću Fehling-ove metode. Preciznost ove metode je prihvatljiva za monosaharide, ali ne i za saharozu. U specifične metode ubraja se: tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), plinska kromatografija (GC) i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti s pulsnom amperometričnom detekcijom (*High-performance Liquid Chromatography with Pulsed Amperometric Detection*). Tim specifičnim metodama može se odrediti sadržaj fruktoze, glukoze i saharoze. Ostali šećeri, primjerice izomaltoza, erloza, melecitoza također se mogu odrediti ovim metodama (koristeći odgovarajuće standarde), što može biti od velikog

značaja za specifične ciljeve istraživanja i analize. Metoda HPLC pokazala je najmanje međulaboratorijske varijacije te se stoga smatra najpreciznijom metodom za određivanje udjela šećera u medu.

Rybak i Szczesna (2003) proveli su istraživanje u kojem su određivali udjele šećera u multiflornim uzorcima meda koristeći različite kolone za HPLC, a rezultati se nisu značajno razlikovali.

Arias i sur. (2003) proveli su istraživanje oligosaharida u medu koji su izdvojeni iz smjese bogate monosaharidima. Predloženom metodom mogu se otkriti oligosaharidi u koncentracijama od 0,005 %. Prema provedenoj analizi najbolje rezultate su dobili upotrebom pufera čija je pH vrijednost od 2,4 do 2,8 te temperature u HPLC sustavu pri 50°C i korištenjem acetonitrila kao jakog otapala.

Tewari i Irudayaraj (2004) koristili su HPLC sustav za provjeru rezultata. Naime, oni su prvi koristili infracrveni spektar meda (infracrvena spektroskopija) za određivanje udjela šećera u medu. Dobiveni rezultati spektroskopskih analiza nisu se značajno razlikovali od rezultata dobivenih tekućinskom kromatografijom te su utvrdili da se i IR spektroskopija može primijeniti kao analitički alat za determinaciju šećera u medu.

Najveće i najopsežnije istraživanje koje je obuhvćalo analizu fizikalno-kemijskih parametara, melisopalinoloških i senzorskih svojstava, kao i specifičnih karakteristika važnih za raspoznavanje pojedinih vrsta meda, proveli su Persano Oddo i Piro (2004). Istraživanje je obuhvatilo 6 719 uzoraka meda iz 21 zemlje s područja Europe, a pritom je opisano 15 glavnih europskih uniflornih vrsta meda.

Devillers i sur. (2004) također su proveli opsežno istraživanje klasifikacije unifloralnih vrsta meda na 469 uzoraka 7 različitih vrsta meda. Istraživanje je uključivalo mjerenje 13 fizikalno-kemijskih parametara meda. Diskriminacijski model primjenjen u istraživanju uključivao je električnu provodnost, pH vrijednost, ukupnu kiselost, udio fruktoze, glukoze i rafinoze te se pokazao kao izvrstan model za utvrđivanje botaničkog podrijetla meda.

Bogdanov i sur. (2004) dali su pregled svih fizikalno-kemijskih parametara i metoda za karakterizaciju uniflornih vrsta meda.

Ruoff (2006) je istražio 144 uzorka multiflornih i uniflornih vrsta meda te medljikovaca koristeći spektroskopiju u srednjem infracrvenom dijelu spektra s Fourierovom transformacijom (FT-MIR) i HPLC metodu. Uspoređivanjem rezultata navedenih metoda, zaključio je kako HPLC, koja je referentna metoda za određivanje šećera, nema zadovoljavajuću mjernu preciznost za manje zastupljene šećere. Kao razlog je naveo

nedovoljni kapacitet razdvajanja manje zastupljenih šećera (disaharidi i trisaharidi) iz kompleksnog sustava šećera u medu.

Nadalje, Ruoff i sur. (2007) proveli su istraživanje na 693 uzorka meda (6 vrsta uniflornog meda te medljikovaca i multiflornih uzoraka). Koristili su dva profila s različitim skupovima mjerenja i uspoređivali ih s rezultatima prema istraživanju koje su proveli Persano Oddo i Piro (2004). Prvi profil mjerenja uključivao je samo fizikalno-kemijske parametre, dok je drugi profil uključivao relativne udjele peludnih zrnaca specifičnih za pojedinu vrstu meda. Lošiji rezultati za određivanje uniflornih vrsta meda dobiveni su drugim profilom, dok su se rezultati određivanja multiflornog meda poboljšali korištenjem drugog profila. Zbog toga smatraju da peludna analiza i analiza fizikalnih i kemijskih parametara treba biti uključena u profil za određivanje botaničkog podrijetla meda.

Victorita i sur. (2008) analizirali su sastav šećera u medljikovcima. Istraživanje su proveli na nektarnim uzorcima meda, medljikovcima i kombinaciji nektarnog meda i medljikovca. Prema rezultatima, uzorci nektarnog meda sadržavali su najveće količine monosaharida i najmanje disaharida i trisaharida, za razliku od medljikovaca koji su sadržavali manje monosaharida, a više disaharida i trisaharida, dok su se uzorci kombinacija nektarnog meda i medljikovaca po sastavu šećera nalazili između nektarnih uzoraka meda i medljikovaca.

Ciappini i sur. (2008) su analizirali 50 uzoraka multiflornih i uniflornih vrsta meda i ustanovili su da nije bilo značajnih razlika u sastavu šećera između multiflornih i uniflornih vrsta meda.

Kadar i sur. (2010) analizirali su fizikalno-kemijska svojstva bagremovog, lipovog i suncokretovog meda različitog zemljopisnog podrijetla te su zaključili da ona mogu utjecati na određena svojstva meda, između ostaloga i na udio i sastav šećera.

Ouchemoukh i sur. (2010) su analizirali 50 uzoraka meda: 25 multiflornih i 25 uniflornih vrsta meda te razlike u sastavu šećera, kao i drugih parametara. Ustanovili su da nije bilo značajnih razlika u sastavu šećera između multiflornih i nektarnih vrsta meda.

Waś i sur. (2011) proveli su istraživanje na 53 uzorka meda od lipe peludnom analizom, ispitivanjem fizikalno-kemijskih svojstava te senzorskom analizom. Rezultati su pokazali veliku varijabilnost analiziranih parametara, između ostalog, mali udio saharoze i izomaltoze, te veće udjele maltoze, turanoze i trehaloze.

Aboud i sur. (2011) vršili su analizu odlika sicilijanskih vrsta meda, a među njima i meda od vrijesa (*Erica* spp.), meda od agruma (*Citrus* spp.), kestenova meda te medljikovaca i multiflornih uzoraka meda.

Prema istraživanju koje su proveli Bentabol Manzanares i sur. (2011) na 77 uzoraka meda od kojih su 53 bila nektarnog podrijetla, a 24 uzorka medljikovci, ustanovili su da postoje značajne razlike između medljikovaca i nektarnog meda. Uzorci medljikovaca imali su veću pH vrijednost, veću kiselost, električnu provodnost, kao i veće vrijednosti prolina, dijastaze, invertaze. U tom je istraživanju također utvrđeno kako medljikovci imaju veći udio fruktoze, maltoze, trehaloze i izomaltoze te niže vrijednosti udjela glukoze, saharoze, turanoze i melecitoze u odnosu na analizirane nektarne vrste meda. Slične su rezultate i zaključke iznijeli Poyrazoglu i sur. (2012) koji su istraživanje proveli na 30 uzoraka nektranih vrsta meda, multiflornog meda i medljikovaca.

Madas i sur. (2012) koristili su udio šećera i njihove međusobne omjere za provjeru botaničkog podrijetla bagremovog meda. Rezultati su pokazali da su u najvećem udjelu monosaharidi fruktoza i glukoza, dok su od disaharida u najvećoj količini pronađeni šećeri maltoza i turanoza.

Sastav šećera bagremovog i lipovog meda te meda od heljde analizirali su Kowalski i sur. (2013). Najveće količine fruktoze i maltoze ustanovili su u uzorcima bagremovog meda, najveći udio glukoze u uzorcima lipovog meda, dok je najviše saharoze utvrđeno u uzorcima meda od heljde. Zaključili su da vrijednost maltoze uz optičku rotaciju može poslužiti za razlikovanje ove tri vrste meda.

Gašić i sur. (2014) objavili su rad o fitokemijskim otiscima lipovog meda. Analizirali su i udio šećera u uzorcima. Pronašli su šest disaharida i četiri trisaharida, od kojih su saharoza i maltoza činile najveći udio u istraživanom medu. Prema njihovim rezultatima udio saharoze u 27 uzoraka meda se kretao od 3,07 do 9,89 g/100 g, dok se udio maltoze kretao od 0,22 do 1,80 g/100 g.

Anjos i sur. (2015) analizirali su 26 uzoraka multiflornih i 37 uzoraka uniflornih vrsta portugalskog meda koristeći infracrvenu spektroskopiju (FTIR-ATR). Rezultate su uspoređivali s rezultatima HPLC metode. Zaključili su da je FTIR-ATR dobra metoda za kvantifikaciju šećera u medu te da se lako može prilagoditi i poslužiti kao rutinska metoda.

Can i sur. (2015) istražili su 62 uzorka turskog meda među kojima su bili uzorci bagremovog, kestenovog, lipovog meda te multiflornog meda i medljikovaca. Prema rezultatima najveći udio šećera činili su monosaharidi, saharoza je detektirana na malom broju uzoraka, a maltoza je u gotovo svim uzorcima bila ispod 1%. Nayik i sur. (2016) proveli su istraživanje u kojem su analizirali razlike između multiflornih i uniflornih vrsta meda te između medljikovaca i nektarnog meda. Zaključili su kako je udio fruktoze bio najveći u

multiflornim, a najmanji u uzorcima medljikovaca, dok je udio maltoze i saharoze bio najmanji u medljikovcima, a najveći u multiflornim uzorcima meda.

Yun Ma i sur. (2016) koristili su HPLC za analiziranje vrste i količine šećera u medu dajući uvid u sastav šećera kristaliziranog i nekristaliziranog meda, a samim time potvrdili teorije o utjecaju sastava i količine glukoze na kristalizaciju meda.

Rodriguez-Flores i sur. (2016) analizirali su 41 uzorak kestenovog meda koji je bio prikupljen tijekom četiri uzastopne godine. U uzorcima je bilo malo disaharida, od kojih je najveći udio činila maltoza (1,1%).

2.6.1. Pregled istraživanja meda s područja RH

Do sada su vršena brojna istraživanja hrvatskih vrsta meda za određivanje botaničkog podrijetla, a koja su uključivala melisopalinološku analizu i karakterizaciju meda prema fizikalno-kemijskim parametrima.

Kenjerić i sur. (2006) proveli su prvo relevantno istraživanje meda od kadulje. Istraživanje je obuhvatilo 84 uzorka meda koji su bili prikupljani od 1999. do 2005.godine. Na prikupljenim je uzorcima bila provedena melisopalinološka i senzorska analiza, kao i analiza određenih fizikalno-kemijskih parametara. U starijim uzorcima sastav šećera bio je određivan titrimetrijski, a u novijim uzorcima HPLC analizom.

Primorac i sur. (2008) istraživali su multiflorni med s područja hrvatskog priobalja pomoću melisopalinološke analize i fizikalno-kemijskih parametara. Određivali su udio vode, električnu provodnost, pH vrijednost, kiselost, aktivnost dijastaze i invertaze, količinu prolina i sadržaj HMF-a, kao i sastav šećera koji su određivali HPLC metodom. Ovim radom dali su uvid u peludni spektar i kemijski sastav multiflornog meda. Prema njihovim rezultatima prosječna vrijednost fruktoze iznosila je 45,26 g/100 g, glukoze 30,41 g/100 g, dok je prosječna vrijednost maltoze (2,45 g/100 g) bila veća od prosječne vrijednosti saharoze (1,92 g/100 g).

Šarić i sur. (2008) proveli su najopsežnije istraživanje meda s područja Hrvatske. Istraživanje je obuhvaćalo 254 uzorka meda koji su podijeljeni u 8 vrsta: med od bagrema, kadulje, kestena, agruma, medljikovce, livadni med, planinsko-livadni med i cvjetni med. Analizirali su njihove fizikalno-kemijske parametre poput udjela vode, električne provodnosti, udjela reducirajućih šećera i saharoze, aktivnost dijastaze i invertaze, dajući važne podatke o navedenim vrstama meda. Međutim, određene karakteristike poput udjela vode te količine reducirajućih šećera i saharoze izvršene su prema AOAC standardima, dok su ostale fizikalno-kemijske karakteristike bile provedene prema IHC metodama. Međutim, u svom

istraživanju navode hrvatski kestenov med čije je botaničko podrijetlo *Aesculus hippocastanum* (divlji kesten), od kojeg nije moguće proizvesti med, pa se pretpostavlja kako je zapravo riječ o medu pitomog kestena (*Castanea sativa*) jer u istraživanju nije provedena peludna analiza niti bilo koja druga provjera sa ciljem utvrđivanja botaničkog podrijetla, već je analiziranim uzorcima meda pripisano botaničko podrijetlo koje su „utvrdili“ sami pčelari. Stoga je vjerodostojnost rezultata u spomenutom istraživanju upitna.

Primorac i sur. (2009) proveli su analizu hrvatskih medljikovaca i njihovu usporedbu s makedonskim medljikovcima. Prema njihovim podatcima makedonski su medljikovci imali veću električnu provodnost i veći udio fruktoze i glukoze u odnosu na hrvatske uzorke medljikovaca koji su sadržavali veći udio maltoze.

Jerković i sur. (2009) objavili su jedan od rijetkih radova o medu amorfe (*Amorpha fruticosa*) u kojem su istraživali isparljive spojeve i njihovu potencijalnu ulogu u utvrđivanju botaničkog podrijetla meda. Analizirali su četiri uzorka meda, a osim analize isparljivih spojeva bila je provedena melisopalinološka analiza, kao i utvrđivanje električne provodnosti i udjela vode.

Primorac i sur. (2011) proveli su istraživanje koje je obuhvatilo 75 uzoraka meda i to 41 uzorak meda od kadulje te 17 uzoraka bagremova i 17 uzoraka kestenova meda s područja Hrvatske. Analizirali su specifičnu rotaciju i sastav ugljikohidrata. Ustanovili su da su uzorci meda od kadulje sadržavali najveći udio glukoze te najmanje saharoze i maltoze, dok je kestenov med sadržavao najviše fruktoze, saharoze i maltoze. Također, Primorac i sur. (2013) proveli su istraživanje i na medu od vriska (*Satureja montana*), gdje su određivali udio vode, električnu provodnost, pH vrijednost, slobodnu kiselost, udio ugljikohidrata, aktivnost dijastaze i udio HMF-a. Na uzorcima vriskova meda istraživanje su proveli Malenica Staver i sur. (2014), a istraživali su antioksidativno, genotoksično i antiproliferativno djelovanje.

Gašić i sur. (2015) proveli su istraživanje na 18 uzoraka meda od kadulje s područja Republike Hrvatske s naglaskom na kemijske markere kojima bi se moglo utvrđivati njihovo botaničko podrijetlo. Rezultati su pokazali da bi fenolni spojevi, ugljikohidrati i minerali (naročito veći sadržaj bora i kalija te turanoze i kemferola) mogli poslužiti kao biokemijski markeri za utvrđivanje botaničkog, ali i zemljopisnog podrijetla (sjevero-istočna jadranska obala i Dalmacija) meda od kadulje.

Jerković i sur. (2015) proveli su istraživanje antioksidativnog kapaciteta i kemijskog sastava meda od vriska (*Satureja montana*). Istraživanje je vršeno na 8 uzoraka hrvatskog meda od vriska u cilju pronalaska kemijskih markera. Sastav šećera se nije analizirao jer je vršena analiza isparljivih spojeva.

Svečnjak i sur. (2015) objavili su istraživanje vršeno na 632 uzorka meda s područja Hrvatske. Uzorke su analizirali melisopalinološkom analizom i fizikalno-kemijskim parametrima, a koristili su infracrvenu spektroskopiju. Od ukupnog broja uzoraka, 506 ih je pripadalo uniflornim vrstama meda, a 67 uzoraka identificirano je kao multiflorni med i 59 uzoraka kao medljikovci. Istraživanje je pokazalo da spektroskopska analiza u kombinaciji s kemometrijskim modeliranjem omogućuje brzu i jednostavnu identifikaciju botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda.

Cjelokupni pregled istraživanja ukazuje na razlike u sastavu šećera u pojedinim vrstama meda, kao i oprečnih rezultata (npr. u nekim istraživanjima nisu vidljive značajne razlike u sastavu šećera nektarnih vrsta meda i medljikovaca, dok su druga istraživanja polučila značajne razlike). Takvi podatci mogu biti rezultat različitog zemljopisnog podrijetla meda jer su u navedenom pregledu literature obuhvaćena istraživanja meda iz različitih zemalja. Osim toga, pregledom navedenih istraživanja može se zaključiti kako je HPLC uobičajena i često korištena metoda za utvrđivanje sastava šećera, koja se svejedno može razlikovati korištenjem različitih detektora i/ili kolona. Iz tog je razloga uspoređivanje rezultata oligosaharida teže usporedivo ukoliko se isti procjenjuju različitim HPLC metodama radi različitih razina odvajanja i osjetljivosti (Bogdanov i sur., 2004). Osim toga, Ruoff (2006) je naveo kako HPLC metoda ne pruža zadovoljavajuću mjernu preciznost za manje zastupljene šećere zbog nedovoljnog kapaciteta razdvajanja manje zastupljenih šećera. Pregledom istraživanja o medu s područja Hrvatske može se zaključiti kako je sastav šećera u medu nedovoljno istražen, a samo neznatne vrste meda istražene HPLC metodom. Većina istraživanja provedena je na malom broju uzoraka, a raritetne vrste meda, poput meda od kadulje, smilja, amorfe, vrijesa i vriska, gotovo su neistražene ili su u začetku. Stoga se ovim radom, uz određivanje sastava šećera i njihove razlike, željelo doprinijeti istraživanju meda s područja Hrvatske i predstaviti sastav šećera raritetnih vrsta meda.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Uzorkovanje

Za potrebe ovog istraživanja prikupljeno je 300 uzoraka različitih vrsta meda. Uzorci su prikupljeni izravno od pčelara u razdoblju od 2010. do 2014. godine s područja četrnaest županija RH (Bjelovarsko-bilogorska županija, Dubrovačko-neretvanska županija, Istarska županija, Karlovačka županija, Krapinsko-zagorska županija, Ličko-senjska županija, Međimurska županija, Požeško-slavonska županija, Primorsko-goranska županija, Sisačko-moslavačka županija, Splitsko-dalmatinska županija, Šibensko-kninska županija, Virovitičko-podravska županija i Zagrebačka županija). Uzorci su čuvani u tamnom prostoru na sobnoj temperaturi. Prije analize, uzorci koji su kristalizirali podvrgnuti su dekristalizaciji zagrijavanjem na 38°C u dekristalizatoru.

Na prikupljenim uzorcima meda provedena je melisopalinološka analiza, analiza fizikalno-kemijskih parametara, senzorska analiza, kao i HPLC analiza šećera.

3.2. Određivanje botaničkog podrijetla meda

Kako bi se utvrdilo botaničko podrijetlo, prikupljeni su uzorci meda bili podvrgnuti melisopalinološkoj i senzorskoj analizi te analizi određenih fizikalno-kemijskih parametara.

3.2.1. Melisopalinološka analiza

Melisopalinološka analiza služi za identifikaciju i kvantifikaciju peludnih zrnaca u medu. Provedena je u skladu s međunarodno standardiziranom metodom (Von der Ohe i sur., 2004).

3.2.2. Analiza fizikalno-kemijskih parametara

Utvrđivanje fizikalno-kemijskih parametara u prikupljenim uzorcima meda provedeno je sukladno metodama propisanim Pravilnikom o medu (NN 53/2015) i sukladno europskoj legislativi (Codex Standards 12-1981, 2001; EU Council directive 2001/110/EC, 2002) te standardiziranim metodama propisanim od strane Međunarodne komisije za med (IHC, 2009). Na prikupljenim uzorcima meda analizirani su sljedeći parametri: udio vode, električna provodnost i pH vrijednost meda.

3.2.2.1. Određivanje udjela vode

Udio vode u uzorcima meda utvrđen je standardnom refraktometrijskom metodom (AOAC 969.38) te mjerenjem indeksa loma natrijeve D-linije (λ=589,29 nm) pomoću

optičkog refraktometra (Karl-Zeiss) s mjernim područjem 1300-1700. Površina prizme refraktometra prekrivena je s 1 g uzorka meda, a vrijednost indeksa loma je očitana nakon 1 minute. Očitanje udjela vode vršeno je temeljem propisane tablice s vrijednostima refrakcijskog indeksa.

3.2.2.2. Određivanje električne provodnosti

Za određivanje električne provodnosti propisana je standardizirana konduktometrijska metoda. Za pripremu mjerne otopine potrebno je 20 g suhe tvari meda i destilirana voda. Prije pripreme otopine utvrđen je udio suhe tvari u pojedinom uzorku meda, kako bi prema vrijednosti suhe tvari bila izračunata potrebna količina meda i destilirane vode. Korišten je višerazinski konduktometar HI 8733 s rasponom mjerenja od 0,00 do 19,99 mS/cm i rezolucijom od 0,01 mS/cm. Konduktometrijska elektroda bila je uronjena u pripremljenu otopinu, a vrijednost je očitana na zaslonu konduktometra i izražena u mS/cm.

3.2.2.3. Određivanje pH vrijednosti

Određivanje pH vrijednosti uzoraka meda bila je provedena standardnom poteniciometrijskom metodom. U 75 mL destilirane vode bilo je otopljeno 10 g uzorka meda. Zatim je u pripremljenu otopinu bila uronjena potenciometrijska elektroda te očitana pH vrijednost sa zaslona pH-metra. Utvrđivanje pH vrijednost bilo je provedeno digitalnim pH metrom Mettler Toledo 220 kalibriranim na dvije kalibracijske točke (pH 4 i pH 9).

3.2.3. Senzorska analiza

Prikupljeni su uzorci meda bili podvrgnuti procjeni organoleptičkih svojstava koja su obuhvaćala sljedeće parametre: boju, miris, okus, čistoću i bistrinu. Senzorska analiza navedenih svojstava provedena je u skladu s Pravilnikom o ocjenjivanju meda Republike Hrvatske i prema međunarodno predloženoj metodologiji (Persano Oddo i sur., 1995; Piana i sur., 2004). Tročlani ocjenjivački tim educiran za prepoznavanje senzorskog profila karakterističnog za određene vrste uniflornog meda je proveo analizu. Od parametara bio je ocjenjivan vizualni izgled, koji je uključivao boju i bistrinu meda, zatim miris (punoću, intenzitet i njegovu postojanost) te okus meda sa svojom punoćom, skladnošću i postojanošću. Ocjene (od 1 do 5) navedenih svojstava upisivane su u propisane ocjenjivačke obrasce.

3.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)

Analiza prikupljenih uzoraka meda HPLC metodom bila je provedena u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, na Odjelu za zdravstvenu ispravnost i kvalitetu hrane i predmeta opće uporabe, u laboratoriju za Kemijske analize hrane. Analiza je bila provedena prema vlastitoj metodi (SOP-89-054) koja je na Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ u uporabi od 2006.godine. Korišten je Shimadzu LC-10 kromatograf s RI detektorom, automatskim uzorkivačem, sustavom za degaziranje i sustavom za obradu podataka. Kao analitička kolona bila je korištena Zorbax Carbohydrate veličine 4,6 · 250 mm, a kao mobilna faza bila je korištena otopina acetonitrila i vode u omjeru 80 : 20 s protokom mobilne faze 0,8 mL/min. Volumen analiziranih uzoraka bio je konstantan i iznosio 50 μL, a vrijeme eluiranja trajalo je 30 minuta. Od ostale opreme bile su korištene: odmjerne tikvice od 50 mL, trbušaste pipete od 2, 5 i 10 mL, stakleni cilindar od 100 mL, ultrazvučna kupelj, membranski filteri s veličinom pora ≤ 0,45 μm te vaga s mogućnošću očitanja ≤ 0,1 mg i bočice za HPLC (viale).

3.3.1. Priprema radnog standarda i kalibracija

U odmjernu je tikvicu od 100 mL odvagano približno 1,5 g fruktoze, 1,5 g glukoze i 0,5 g saharoze. Zatim je dodano 50 mL destilirane vode i izvršeno homogeniziranje dok se odvagani šećeri nisu otopili. Nakon otapanja šećera u vodi, tikvice su bile nadopunjene acetonitrilom. Udjeli pojedinih ugljikohidrata u tako pripremljenom radnom standardu odgovarali su sastavu otopine prosječnog uzorka meda.

Kalibracija je bila provedena metodom vanjskog standarda uz pomoć kalibracijskog pravca. U tu je svrhu prethodno određena površina pikova za ≥ 3 različite koncentracije analita te ≥ 3 ponavljanja za svaku koncentracijsku razinu.

3.3.2. Priprema uzoraka

Priprema uzoraka za analizu je bila provedena u srpnju i studenom 2015.godine. Svaki drugi dan pripremljeno je po 30 uzoraka meda. Svakom je uzorku bila određena oznaka koja je prepisivana na sve epruvete i bočice koje su korištene u pripremi uzoraka za daljnju analizu. Na kraju svakog dana pripremljeni uzorci spremani su u viale do HPLC analize.



Slika 4: Prikaz homogenizacije, pipetiranja i vaganja uzoraka meda

(Izvor: Barkijević, 2016.)

Svaki uzorak meda prvotno je bio dobro promiješan - homogeniziran, a uzorci koji su potpuno ili djelomično kristalizirali u razdoblju od prikupljanja do pripreme za analizu, bili su podvrgnuti dekristalizaciji na 38 °C kako bi ponovno bili tekući i jednostavni za rukovanje. Nakon homogenizacije, pomoću Pasteur-ove pipete pažljivo je pipetiran dio uzorka i prenesen u odmjernu tikvicu od 50 mL. Na preciznoj vagi odvagano je oko 1 gram meda. Taj proces pripreme uzoraka prikazan je na slici 4. Odvage svakog uzorka zapisivane su u laboratorijski dnevnik.



Slika 5: Dodavanja destilirane vode, laganog miješanja tikvice, otapanja meda i

dodavanja acetonitrila (Izvor: Barkijević, 2016)

Nakon vaganja i zapisivanja odvage, u odmjernu tikvicu u kojoj se nalazi odvagani dio uzorka dodano je 25 mL destilirane vode. Kako bi se med brže i bolje otopio u vodi sadržaj tikvice je bio pažljivo promiješan. Nakon što je med bio otopljen u destiliranoj vodi, dobivenoj otopini dodan je acetonitril do oznake tikvice. Sadržaj tikvice je ponovno lagano promiješan radi bolje homogenizacije. Ovaj dio pripreme uzorka prikazan je na slici 5.

Nakon homogenizacije, sadržaj tikvice je bio filtriran, kako bi nečistoće bile uklonjene, a pripremljena otopina uzorka spremna za HPLC analizu. Za filtraciju su bile korištene plastične injekcije i membranski filtri s veličinom pora ≤ 0,45 µm. Zatim je otopina uz pomoć injekcije i filtra bila prebačena u bočice za HPLC (viale). Ovako pripremljeni uzorci bili su spremni za analizu. Prikaz završnog dijela pripreme uzoraka za HPLC nalazi se na Slici 6. S obzirom da uzorci nisu analizirali odmah nakon pripreme, viale su spremane u plastičnoj posudici i čuvane na -18°C sve do analize koja je provedena u siječnju i veljači 2016.godine.



Slika 6: Prikaz dobivene otopine, filtra, šprica i viala te pripremljenih uzoraka za analizu (Izvor: Barkijević, 2016)

3.3.3. Mjerenje

Pripremljeni je uzorak mikrolitarskom špricom za kromatografsku analizu bio ubačen u instrument. Prije početka rada i tijekom mjerenja provodeni su propisani postupci kako bi se instrument pripremio i kontrolirao tijekom mjerenja.

Prisutnost traženih šećera u otopini uzorka utvrđena je usporedbom retencijskih vremena analita koji se nalaze u uzorku s retencijskim vremenom prethodno pripremljenih standardnih otopina. Očitana koncentracija šećera bila je preračunata u masenu koncentraciju šećera u medu prema sljedećoj formuli:

$$\gamma UH = \frac{c\ kp\ \cdot\ V\ tikvice}{m\ meda}$$

γUH- izračunata masena koncentracija šećera u medu (g/kg)

c kp- očitana koncentracija šećera (g/L)

V tikvice- volumen tikvice pripremljenog uzorka (mL)

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Analiza uzoraka meda klasičnim analitičkim metodama

Od ukupno 300 prikupljenih uzoraka meda, 268 uzoraka je podvrgnuto daljnjoj analizi sastava šećera. Četiri uzorka su izuzeta iz analize zbog previsokog udjela vode, koji je bio veći od 20%, dok je u 28 uzoraka zbroj fruktoze i glukoze bio manji od 60 g/100 g meda te su također izlučeni jer nisu zadovoljavali kriterije propisane Pravnikom o medu (NN 53/15).

Tablica 1: Raspodjela analiziranih uzoraka meda prema botaničkom podrijetlu

Vrsta meda	**Broj prikupljenih uzoraka**	**Broj analiziranih uzoraka**
Amorfa *(Amorpha fruticosa)*	29	29
Bagrem *(Robinia pseudoacacia)*	41	39
Kadulja *(Salvia officinalis)*	54	54
Kesten *(Castanea sativa)*	42	24
Lipa *(Tilia* spp.*)*	35	31
Mandarina *(Citrus unshiu)*	9	7
Smilje *(Helichrysum italicum)*	6	6
Vrijes (*Erica* spp.)	14	14
Vrisak (*Satureja montana)*	7	6
Multiflorni (cvjetni i livadni med)	34	30
Medljikovci	29	28
Ukupno	**300**	**268**

U Tablici 1. prikazan je broj prikupljenih uzorka prema vrsti meda koja je utvrđena temeljem skupnih rezultata melisopalinološke i senzorske analize te analize fizikalno-kemijskih parametara. Analizirani uzorci su prema navedenim rezultatima klasificirani u 9 vrsta uniflornog meda, multiflorni med i medljikovac. Određene vrste meda, poput meda od mandarine, smilja, vrijeska i vriska zastupljene su u manjem broju zbog relativno male površine na kojima su prisutne navedene medonosne biljke i upravo zbog toga se smatraju raritetnim vrstama meda. Med od amorfe se također smatra raritetnim medom, ali je

prikupljen veći broj uzoraka na područjima Sisačko-moslavačke te dijelom Brodsko-posavske županije gdje je ova biljna vrsta raširena.

Velik broj uzoraka meda od kadulje, koji se također ubraja u raritetne vrste, možemo zahvaliti velikoj rasprostranjenosti kadulje diljem naše jadranske regije. Prema Gašić i sur. (2015) zbog duge tradicije pčelarstva, sjeverni dio jadranske regije poznat je po medu od kadulje (*S. officinalis*) koji ima široku primjenu u narodnoj medicini. Trinajstić (1992) navodi kako je kadulja član ilirsko-jadranske endemske biljne skupine pa je i med od kadulje vezan uz ovo područje.

4.1.1. Melisopalinološka analiza

Pelud nastaje u prašnicima cvijeta i sastoji se od živog dijela i vanjskog omotača. Peludna zrnca su sitna, ali vrlo bogata bjelančevinama, mineralima i vitamnima, te kao takva predstavljaju važnu hranidbenu namirnicu pčela. Prilikom skupljanja nektara pčele dolaze u kontakt i sa prašnicima te peludna zrnca dospiju u nekar i medni mjehur, a nakon prerade i u med (Kezić i sur, 2012). Iz tog razloga se peludna zrnca koriste za utvrđivanje botaničkog podrijetla meda.

Analizom melisopalinoloških podataka utvrđen je stupanj zastupljene peludi u prikupljenim uzorcima meda. Peludna zrnca određene biljne vrste razvrstana su prema udjelu u netopljivom sedimentu te su identificirana i na osnovu njihovog udjela uzroci su svrstani u odgovarajuću vrstu meda. Za identifikaciju peludnih zrnaca korištena je interna zbirka referentnih uzoraka peludnih zrnaca Zavoda za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta. Peludnom je analizom utvrđena uniflornost prema minimalnim udjelima peludnih zrnaca sukladno Pravilniku o kakvoći uniflornog meda (NN 122/09).

Svaki uzorak meda sadržavao je minimalno propisani udio peludi prikazan u Tablici 2. Uniflorne vrste meda koje nisu obuhvaćene nacionalnim propisima (med od amorfe, vrijesa i smilja) identificirane su kao med od navedene biljne vrste ukoliko su uzorci sadržavali >45% peludnih zrnaca iste biljne vrste.

Tablica 2: Najmanji udio peludnih zrnaca navedenih biljnih vrsta potreban za određivanje botaničkog podrijetla meda za navedene biljne vrste (Izvor: NN 53/15)

Naziv biljne vrste	**Udio peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu**
Pitomi kesten (*Castanea sativa Mill*.)	85%
Lipa (*Tilia* spp.)	25% (10%*)
Bagrem (*Robinia pseudoacacia* L.)	20%
Vrijesak (*Calluna vulgaris* L.)	20%
Vrisak, Primorski vrijesak (*Satureja montana* L.)	20%
Kadulja (*Salvia officinalis* L.)	15% (10%*)
Agrumi (*Citrus* spp.)	10% (5%*)

*uz karakteristična senzorska svojstva meda za određenu biljnu vrstu (miris, okus, boja)

4.1.2. Fizikalno-kemijske analize

4.1.2.1. Udio vode

Voda je, nakon šećera, drugi najzastupljeniji sastojak meda. Sadržaj vode važan je čimbenik jer utječe na kakvoću i čuvanje meda. Niže vrijednosti udjela vode mogu otežati vrcanje i doradu meda, dok previsoki udio vode može potaknuti fermentaciju meda. Udio se vode u medu kreće od 14 do 20% (Bogdanov i sur., 2004). Zbog higroskopnosti meda, udio vode nije stalan nego se mijenja za vrijeme čuvanja meda ovisno o relativnoj vlažnosti zraka u okolini. Jedan je od kriterija kakvoće i stabilnosti meda (higroskopnost, fermentacija i kristalizacija), ali nema utjecaja na određivanje botaničkog niti zemljopisnog podrijetla meda (Krell, 1996). Prema Pravilniku o medu (NN 53/15) najveći dopušteni udio vode u medu je 20%, s izuzetkom meda od vrijesa *(Calluna vulgaris*) koji može sadržavati najviše 23% vode u medu. Uzorci koji su sadržavali više od 20% vode izlučeni su iz daljnjih analiza jer nisu zadovoljavali propisane kriterije kakvoće. U analiziranim uzorcima meda prosječan udio vode iznosio je 16,40%, a kretao se od 13,8% do 19,9% (Tablica 3).

Tablica 3: Deskriptivna statistika udijela vode u analiziranim uzorcima meda

Vrsta meda	**Broj uzoraka**	**Udio vode**			
		$\bar{x}$	**Min**	**Max**	**SD**
Amorfa	29	16,9	15,6	18,8	0,83
Bagrem	39	15,88	14,6	17,7	0,87
Kadulja	54	16,30	14,4	19,1	0,93
Kesten	24	16,06	14,2	18,6	1,16
Lipa	31	16,65	14,8	18,6	1,01
Mandarina	7	16,26	14,6	17,4	0,88
Smilje	6	16,83	15,0	18,6	1,46
Vrijes	14	16,79	15,2	18,4	0,95
Vrisak	6	17,85	15,8	19,9	1,73
Multiflorni	30	16,33	14,6	18,6	1,05
Medljikovci	28	16,34	13,8	18,5	1,03
Ukupno	**268**	**16,40**	**15,6**	**19,9**	**1,06**

4.1.2.2. Električna provodnost

Električna provodnost je svojstvo neke tvari da može provoditi električnu struju. U medu su za ovo svojstvo zaslužne disocirane kiseline i minerali u ionskom obliku. Medljikovci sadrže više minerala od nektarnog meda, pa zbog toga medljikovci u pravilu imaju veće vrijednosti električne provodnosti. Vrijednosti električne provodnosti ovise o botaničkom podrijetlu meda, a kreću se između 0,06 i 2,17 mS/cm (Persano Oddo i Piro, 2004). Vrijednost električne provodnosti je najvažniji fizikalno-kemijski parametar za razlikovanje nektarnih vrsta meda od medljikovca, kao i za razlikovanje vrsta uniflornog meda (Svečnjak i sur., 2015; Bogdanov i sur., 2004). Prema Pravilniku o medu (NN 53/15) vrijednosti za električnu provodnost medljikovca i kestenovog meda treba biti iznad 0,8 mS/cm, dok za ostale vrste meda treba biti manja od 0,8 mS/cm, uz izuzetak meda od: planike (*Arbutus unedo*), vrijesa (*Erica* spp.), eukaliptusa (*Eucalyptus* spp.), lipe (*Tilia* spp.), vrijeska (*Calluna vulgaris),* manuke (*Leptospermum scoparium*) i čajevca (*Melaleuca* spp.). Vrijednosti električne provodnosti analiziranih uzoraka meda (Tablica 4) kretale su se u okvirima vrijednosti utvrđenih za većinu uniflornih vrsta meda u dostupnoj literaturi

(Svečnjak i sur., 2015; Primorac i sur., 2013; Jerković i sur., 2009; Primorac i sur., 2008; Kenjerić i sur., 2006; Persano Oddo i Piro, 2004).

Tablica 4: Deskriptivna statistika električne provodnosti u analiziranim uzorcima meda

Vrsta meda	**N**	**Električna provodnost (mS/cm)**				**Podaci iz literature**		
		$\bar{x}$	**Min**	**Max**	**SD**	$\bar{x}$	**Min**	**Max**
Amorfa	29	0,21	0,14	0,35	0,06	0,22	0,14	0,35*
Bagrem	39	0,16	0,12	0,23	0,03	0,16	0,09	0,23
Kadulja	54	0,36	0,21	1,57	0,19	0,30	0,15	0,52**
Kesten	24	1,26	0,86	1,79	0,25	1,38	0,86	1,91
Lipa	31	0,70	0,5	0,95	0,13	0,62	0,37	0,87
Mandarina	7	0,26	0,22	0,42	0,07	0,19	0,11	0,31
Smilje	6	0,45	0,37	0,49	0,05	0,45	0,37	0,49*
Vrijes	14	0,69	0,47	0,83	0,13	0,70	0,50	0,85
Vrisak	6	0,29	0,21	0,44	0,08	0,25	0,16	0,46***
Multiflorni	30	0,49	0,31	0,79	0,15	0,45	0,14	0,87****
Medljikovci	28	1,22	0,82	1,61	0,25	1,20	0,85	2,17
Ukupno	**268**	**0,55**	**0,12**	**1,79**	**0,41**	**0,56**	**0,09**	**1,91**

*podaci iz Svečnjak i sur. (2015); **podaci iz Kenjerić i sur. (2006); ***podaci iz Primorac i sur. (2013); ****podaci iz Primorac i sur. (2008); ostali podaci iz Persano Oddo i Piro (2004)

Prosječne vrijednosti električne provodnosti analiziranih uzoraka slične su prosječnim vrijednostima izmjerenim na istim vrstama meda, uz male iznimke za med od lipe i med od mandarine. Raspon električne provodnosti uzoraka meda od lipe kretali su se od 0,5 do 0,95 mS/cm s prosječnom vrijednošću 0,70 mS/cm, dok se u literaturi navodi raspon od 0,37 do 0,87 mS/cm s prosječnom vrijednošću od 0,62 mS/cm (Persano Oddo i Piro, 2004).

Također, razlika je utvrđena i za med od mandarine jer se raspon vrijednosti u istraživanim uzorcima kretao od 0,22 do 0,42 mS/cm sa srednjom vrijednosti od 0,26 mS/cm, dok se u literaturi navodi raspon od 0,11 do 0,31 mS/cm i srednja vrijednost 0,19 mS/cm (Persano Oddo i Piro, 2004).

Karakteristike meda od amorfe i meda od smilja slabo su istražene. Srednja vrijednost, kao i raspon električne provodnosti meda od amorfe, te meda od smilja u skladu su s vrijednostima iz dostupne literature (Svečnjak i sur., 2015). Jerković i sur. (2009) navode raspon električne provodnosti na uzorcima meda od amorfe (0,20-0,24 mS/cm). Između

rezultata navedenog istraživanja i vrijednosti utvrđenih ovim istraživanjem (0,14-0,35 mS/cm) postoji neznatna razlika koja se može pripisati razlici u broju analiziranih uzoraka (u navedenoj literaturi analizirana su samo četiri uzorka meda od amorfe, dok je u ovom radu analizirano dvadeset i devet uzoraka meda od amorfe).

Prosječna vrijednost električne provodnosti meda od vriska (0,29 mS/cm) u skladu je s prosječnom vrijednošću (0,25 mS/cm) prema Primorac i sur. (2008). Srednja vrijednost električne provodnosti izmjerene u multiflornim uzorcima meda (0,49 mS/cm) sukladna je srednjoj vrijednosti iz literature (0,45 mS/cm), dok su rasponi električne provodnosti različiti: 0,31-0,79 mS/cm i 0,14-0,87 mS/cm prema literaturi (Primorac i sur., 2008). Svečnjak (2015) u svom radu također iznosi vrijednosti električne provodnosti multiflornog meda, a kreću se u rasponu od 0,23-0,95 mS/cm, s prosječnom vrijednošću 0,56 mS/cm, te se razlikuju od dobivenih rezultata. Izmjerene vrijednosti električne provodnosti u uzorcima medljikovaca u skladu su s vrijednostima iz literature jer je u analiziranim uzorcima utvrđena srednja vrijednost iznosila 1,22 mS/cm, a 1,20 mS/cm prema literaturi (Persano Oddo i Piro, 2004).

4.1.2.3. pH vrijednost

Gotovo svaka vrsta meda je kisela. pH vrijednost za nektarne vrste meda kreće se u rasponu od 3,3 do 4,6 uz poneke iznimke (primjerice kestenov med ima relativno visoku pH vrijednost koja iznosi oko 5 do 6). Kod medljikovaca pH vrijednost je viša nego kod nektarnih vrsta meda zbog većeg udjela mineralnih tvari i kreće se između 4,5 do 6,5 (Kezić i sur., 2012). Rezultati određivanja pH vrijednosti u analiziranim uzorcima prikazani su u Tablici 5. Prosječna pH vrijednost svih uzoraka iznosila je 4,16, a kretala se od 3,48 (izmjerena na uzorku meda od vriska) do 5,63 (izmjerena na uzorku medljikovca). Dobivene pH vrijednosti u skladu su s dostupnom literaturom (Svečnjak i sur., 2015; Primorac i sur., 2013; Primorac i sur., 2008; Kenjerić i sur., 2006; Persano Oddo i Piro, 2004) uz male iznimke. Izmjerena prosječna pH vrijednost na uzorcima kestenovog meda 4,94, niža je u odnosu na prosječnu vrijednost iz literature 5,30 (Persano Oddo i Piro, 2004). Na uzorcima meda od lipe prosječna pH vrijednost iznosi 4,25, dok se u literaturi navodi pH vrijednost 4,40 (Persano Oddo i Piro, 2004). Također, izmjeren prosjek pH vrijednosti za med od vriska (3,58) niži je od srednje vrijednosti (3,77) prema Primorac i sur. (2013). Prosječna izmjerena pH vrijednost, kao i rasponi pH vrijednosti, u uzorcima multiflornog meda malo su niže u odnosu na vrijednosti u dostupnoj literaturi (Primorac i sur., 2008). Svečnjak (2015) u svom radu također iznosi podatke o pH vrijednosti multiflornog meda, a kreću se u rasponu od 3,54-5,24 s prosječnom vrijednošću 3,99 te su u skladu dobivenim rezultatima. U izmjerenim pH

vrijednostima medljikovaca također su uočena mala odstupanja u odnosu na vrijednosti prema Persano Oddo i Piro (2004). Prosječna izmjerena pH vrijednost na analiziranim uzorcima medljikovaca iznosila je 4,93, dok su Persano Oddo i Piro (2004) utvrdili prosječno višu pH vrijednost od 5,10. Razlike se mogu pripisati i različitom zemljopisnom i botaničkom podrijetlu analiziranih uzoraka.

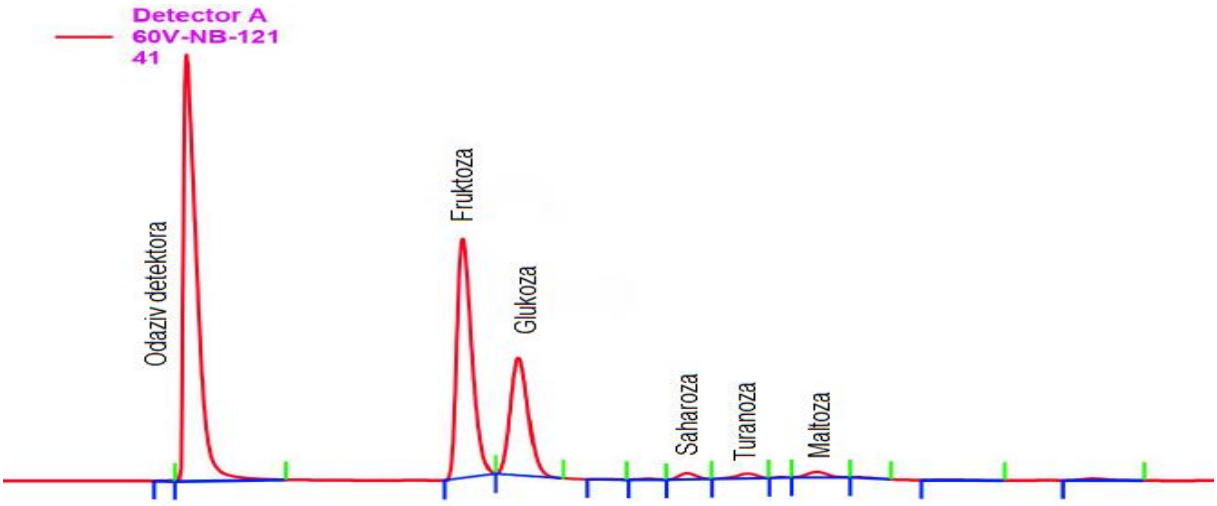
Tablica 5: Deskriptivna statistika pH vrijednosti u analiziranim uzorcima meda

Vrsta meda	**N**	**pH vrijednost**				**Podaci iz literature**		
		$\bar{x}$	**Min**	**Max**	**SD**	$\bar{x}$	**Min**	**Max**
Amorfa	29	3,66	3,49	3,9	0,11	3,63	3,29	3,90*
Bagrem	39	3,94	3,66	4,27	0,14	3,90	3,70	4,20
Kadulja	54	4,05	3,77	4,81	0,18	4,10	3,67	4,49**
Kesten	24	4,94	4,24	5,61	0,34	5,30	4,5	6,30
Lipa	31	4,25	3,8	4,96	0,27	4,40	3,9	5,0
Mandarina	7	3,83	3,73	3,94	0,08	3,80	3,3	4,20
Smilje	6	3,89	3,7	4,05	0,15	3,89	3,70	4,05*
Vrijes	14	4,17	3,72	4,39	0,16	4,20	3,9	4,7
Vrisak	6	3,58	3,48	3,82	0,13	3,77	3,45	4,21***
Multiflorni	30	3,95	3,57	4,44	0,18	4,19	3,74	5,12****
Medljikovci	28	4,93	4,29	5,63	0,41	5,10	4,4	5,7
Ukupno	**268**	**4,16**	**3,48**	**5,63**	**0,47**	**4,21**	**3,29**	**6,30**

*podaci iz Svečnjak i sur. (2015); **podaci iz Kenjerić i sur. (2006); ***podaci iz Primorac i sur. (2013); ****podaci iz Primorac i sur. (2008), ostali podaci iz Persano Oddo i Piro (2004)

4.2. Sastav šećera

Za svaki uzorak meda očitane su koncentracije utvrđenih šećera koje su prikazane na kromatogramima. Kromatogram uzorka meda od vrijesa prikazan je na Grafikonu 2 na kojem je vidljiv pik odaziva detektora, fruktoze i glukoze, a zatim i slabiji pikovi saharoze, turanoze i maltoze.



Grafikon 2: Primjer kromatograma uzorka meda od vrijesa s pikovima analiziranih šećera

U svim uzorcima utvrđene su i očitane fruktoza i glukoza u vrijednostima koje su u skladu s vrstom meda prema literaturi (Anjos i sur., 2015; Karimov i sur., 2014; Rybak-Chmielewska, 2007; Ruoff, 2006; Persano Oddo i Piro, 2004; Devillers i sur., 2004) i prema Pravilniku o medu (NN 53/15). Granica kvantifikacije očitanja kromatograma iznosila je 0,1 g/L što preračunato u masenu koncentraciju iznosi 0,5 g/100 g meda. Saharoza je utvrđena u 73 uzorka, do kojih je vrijednost saharoze u samo 4 uzorka bila veća od granice kvantifikacije. Za razliku od saharoze, maltoza je utvrđena u većem broju uzoraka (n=252) s 59 uzoraka čije su vrijednosti maltoze bile veće od granice kvantifikacije. Turanoza je za razliku od saharoze i maltoze bila utvrđena u svim uzorcima te je u samo jednom uzorku njena vrijednost bila manja od granice kvantifikacije.

U ovom su istraživanju korišteni uzorci meda koji su bili proizvedeni i prikupljani od 2009. do 2014. godine stoga je djelovanje enzima duže trajalo te su zbog toga vjerojatno utvrđene i niže vrijednosti udjela analiziranih disaharida. Naime, Anklam (1998) navodi kako se sadržaj saharoze u medu može smanjiti dužim vremenskim razdobljem pohranjivanja meda zbog prisutnosti invertaze koja razgrađuje saharozu na fruktozu i glukozu. Rybak-Chmielewska (2007) također tvrdi kako se sadržaj saharoze u medu smanjuje dugim razdobljem čuvanja.

Tablica 6: Prosječne i granične vrijednosti analiziranih šećera po vrsti meda

Vrsta meda	N	Fruktoza		Glukoza		Saharoza		Turanoza		Maltoza	
		$\bar{x}$	Min-Max	$\bar{x}$	Min-Max	$\bar{x}$	Min-Max	$\bar{x}$	Min-Max	$\bar{x}$	Min-Max
Amorfa	29	40,43	36,48-44,31	27,95	24,88-31,26	0,16	0,13-0,18	1,75	0,32-2,1	0,42	0,004-1,35
Bagrem	39	42,26	38,8-55,36	24,06	21,37-33,55	0,03	0-0,18	2,12	1,76-2,52	0,19	0,07-0,48
Kadulja	54	41,49	35,8-59,25	26,28	22,07-36,94	0,09	0-0,18	1,94	0,98-2,68	0,38	0,08-0,68
Kesten	24	40,70	37,63-50,33	22,96	20,54-29,87	0,21	0-0,4	1,81	1,33-2,54	0,24	0-0,48
Lipa	31	38,26	32,9-41,13	28,36	23,19-33,51	0,14	0,12-0,16	1,68	1,32-2,06	0,50	0,14-0,95
Mandarina	7	39,36	37,58-40,97	32,11	27,6-38,24	0,22*		1,47	1,27-1,68	0,40	0,09-0,93
Smilje	6	42,51	40,38-44,29	28,01	25,05-31,19	0,15	0,12-0,17	1,73	1,57-1,85	0,42	0,22-0,61
Vrijes	14	37,85	35,04-42,57	27,92	23,87-31,67	1,11 *		1,47	1,03-1,83	0,36	0,08-1,58
Vrisak	6	41,81	40,49-43,15	25,87	24,16-28,27	NP		1,52	1,37-1,77	0,53	0,36-0,71
Multiflorni	30	39,76	34,9-48,68	27,34	22,06-33,96	NP		1,9	1,40-2,36	0,37	0,003-2,7
Medljikovci	28	33,74	27,59- 39,08	23,18	18,17-29,0	0,25	0,03-1,20	1,41	1,15-1,68	0,42	0,12-0,87
Ukupno	**268**	**39,82**	**27,59-59,25**	**26,14**	**18,17-38,24**	**0,15**	**0-1,20**	**1,79**	**0,32-2,68**	**0,37**	**0-2,7**

***šećer utvrđen u samo jednom uzorku te vrste meda; NP-nije pronađen

Promatrajući ukupan prosjek svih analiziranih vrsta meda fruktoza je iznosila 39,82 g/100 g, glukoza 26,14 g/100 g, saharoza 0,15 g/100 g, turanoza 1,79 g/100 g, a maltoza 0,37 g/100 g meda. Najniža vrijednost fruktoze utvrđena je u uzorku medljikovca (27,59 g/100 g), a najviša (59,25 g/100 g) u medu od kadulje. Najviša vrijednost glukoze (38,24 g/100 g) utvrđena je u medu od mandarine, a najniža (18,17 g/100 g) ponovno u uzorku medljikovca. Najviša vrijednost saharoze bila je utvrđena u uzorku medljikovca (1,2 g/100 g) i u medu od vrijesa (1,1 g/100 g), dok je najniža bila utvrđena u bagremovom medu (0,004 g/100 g). Najveći broj uzoraka u kojima je utvrđena saharoza pripadao je skupini medljikovaca (od 28 uzoraka medljikovaca, u 19 uzoraka je utvrđena saharoza). Za razliku od saharoze, turanoza je utvrđena u svim uzorcima meda. Samo jedan uzorak meda imao je očitanu vrijednost turanoze ispod granice kvantifikacije. Najniža vrijednost turanoze (0,32 g/100 g) utvrđena je u uzorku meda od amorfe, dok je najviša vrijednost (2,68 g/100 g) utvrđena u uzorku meda od kadulje. Vrijednosti maltoze su u brojnim uzorcima bile ispod granice kvantifikacije (193 uzorka ispod granice kvantifikacije, od 252 uzorka u kojima je utvrđena maltoza), ali u znatno manjem broju nego kod očitanja saharoze (69 uzorka ispod granice kvantifikacije od 73 uzorka u kojima je utvrđena saharoza). Najniža vrijednost maltoze očitana je na uzorku meda od amorfe (0,004 g/100 g), dok je najviša (2,7g/100 g) utvrđena u uzorku multiflornog meda (Tablica 6).

Relativno niže prosječne vrijednosti saharoze, turanoze i maltoze mogu se pripisati starijim uzorcima meda, ali i čuvanju pripremljenih uzorka za HPLC analizu na temperaturi od -18°C. Arias i sur. (2003) navode kako su u svom istraživanju primjetili razlike u relativnoj količini određenih šećera, iako su pripremljene uzorke skladištili na -20°C do analize. Smatraju kako je djelovanje enzima u otopinama meda utjecalo na smanjenje udjela disahrida i trisaharida u analiziranim uzorcima meda.

Tablica 7. Zbroj i omjer udjela fruktoze i glukoze po vrsti meda

Vrsta meda	**N**	**F + G**			**F / G**		
		$\bar{x}$	**Min**	**Max**	$\bar{x}$	**Min**	**Max**
Amorfa	29	68,45	62,31	75,43	1,45	1,32	1,61
Bagrem	39	66,32	60,97	88,91	1,76	1,51	1,90
Kadulja	54	67,76	60,28	96,19	1,58	1,34	1,74
Kesten	24	63,66	60,00	80,20	1,78	1,59	1,94
Lipa	31	66,62	60,24	72,72	1,36	1,05	1,68
Mandarina	7	71,48	65,38	75,82	1,24	0,98	1,37
Smilje	6	70,51	66,29	74,65	1,53	1,39	1,77
Vrijes	14	65,78	61,33	72,82	1,36	1,16	1,60
Vrisak	6	67,68	65,37	70,61	1,62	1,50	1,71
Multiflorni	30	67,07	60,45	77,17	1,47	1,12	1,83
Medljikovci	28	56,92	45,76	65,77	1,46	1,17	1,66
Ukupno	**268**	**65,97**	**45,76**	**96,19**	**1,54**	**0,98**	**1,94**

Zbroj udjela fruktoze i glukoze svih analiziranih uzoraka kretao se u rasponu od 45,76 g/100 g do 96,19 g/100 g meda s prosječnom vrijednošću od 65,97 g/100 g meda. Najmanja prosječna vrijednost zbroja glukoze i fruktoze utvrđena je u uzorcima medljikovaca (56,92 g/100 g) a najveća u uzorcima meda od mandarine (71,48 g/100 g). Omjer fruktoze i glukoze kretao se u rasponu od 0,98 do 1,94 s prosjekom 1,54. Najmanji prosječni omjer fruktoze i glukoze iznosio je 1,24 i utvrđen je u uzorcima meda od mandarine, dok je najveći iznosio 1,78 i ustanovljen je na uzorcima kestenovog meda (Tablica 7).

4.2.1. Komparativna analiza sastava šećera između vrsta meda

Med istog botaničkog podrijetla može imati različita fizikalno-kemijska svojstva zbog razlike u sezonskim i klimatskim uvjetima različitih zemljopisnih područja (Anklam, 1998). Stoga u usporedbi sastava šećera uniflornih vrsta meda može doći do razlika u količini pojedinog analiziranog šećera zbog različitih klimatskih i zemljopisnih uvjeta, kao i različitih načina i tradicije pčelarstva.

Analizirajući rezultate bagremovog meda najveći udio šećera pripadao je fruktozi koja je iznosila 42,26 g/100 g (Tablica 6) te je bila sukladna vrijednostima koje su utvrdili Bobis i sur. (2007) 42,39; Persano Oddo i Piro (2004) 42,7; Primorac i sur. (2011) 43,0 te Madas i sur. (2012) 43,34 g/100 g. Borras i sur. (2014) utvrdili su veći udio fruktoze u bagremovom medu (45,2 g/100 g), dok su znatno niže prosječne vrijednosti fruktoze utvrdili Devillers i sur. (2004) 39,81; Čizmarik i sur. (2004) 38,30; Nayik i sur. (2016) 35,64 te Can i sur. (2015) 28,30 g/100 g. Prosječna vrijednost glukoze iznosila je 24,06 g/100 g (Tablica 6) i bila je znatno niža nego u drugim dostupnim istraživanjima. Čizmarik i sur. (2004) ustanovili su prosječnu vrijednost glukoze u iznosu od 34,44; Bobis i sur. (2007) 31,93; Nayik i sur. (2016) 31,66; Madas i sur. (2012) 28,90; Borras i sur. (2014) 28,5; Primorac i sur. (2011) 27,6; Devillers i sur. (2004) 26,88 te Persano Oddo i Piro (2004) 26,5 g/100 g. Samo su Can i sur. (2015) naveli prosječnu vrijednost glukoze 24,16 g/100 g koja je bila u skladu s dobivenim rezultatom.

Što se tiče saharoze u uzorcima bagremovog meda, u literaturi se navode različite prosječne vrijednosti: 1,33 g/100 g meda prema Nayik i sur. (2016) do 3,51 g/100 g prema Čizmarik i sur. (2004). U analiziranim uzorcima bagremovog meda očitana saharoza nalazi se ispod granice kvantifikacije (0,5 g/100 g). Njena prosječna vrijednost u uzorcima u kojima je detektirana iznosila je 0,03 g/100 g (Tablica 6). Madas i sur. (2012) naveli su kako su u analiziranim uzrocima bagremovog meda utvrđene male količine saharoze, za koje se može pretpostaviti da su slične dobivenim rezultatima ovog istraživanja. Srednja vrijednost turanoze iznosila je 2,12 g/100 g (Tablica 6) i bila je slična prosječnoj vrijednosti turanoze u istraživanju koje su proveli Madas i sur. (2012) u kojem je ona iznosila 2,07 g/100 g meda. U ostalim istraživanjima nije analizirana ili nije utvrđena turanoza, već neke druge vrste disaharida i trisaharida poput izomaltoze, rafinoze i melecitoze. Srednje vrijednosti maltoze u istraživanjima koje su proveli Bobis i sur. (2007), Madas i sur. (2012), Primorac i sur. (2011), Nayik i sur. (2016) kretale su se od 1,57 g/100 g do 3,0 g/100 g meda i bile su znatno više od dobivenog rezultata jer je utvrđena maltoza u uzorcima bagremovog meda bila niža od

granice kvantifikacije. U uzorcima meda od bagrema, maltoza koja je bila utvrđena, kretala se u rasponu od 0,07-0,48 s prosjekom 0,19 g/100 g (Tablica 6). Can i sur. (2015) naveli su nižu vrijednost maltoze, koja je u prosjeku iznosila 0,12 g/100 g meda.

Primorac i sur. (2011) naveli su kako je zbroj fruktoze i glukoze u uzorcima bagremovog meda u rasponu od 67,7 do 70,5 g/100 g meda sa srednjom vrijednošću od 70,5 g/100 g meda koja je bila veća od srednje vrijednosti ovog rada u kojem se zbroj fruktoze i glukoze na uzorcima bagremovog meda kretao u rasponu od 60,97 do 88,91 sa srednjom vrijednošću od 66,32 g/100 g (Tablica 7). Can i sur. (2015) odredili su prosječnu vrijednost ukupnih monosaharida na uzorcima bagremovog meda u iznosu od 52,46 g/100 g meda što je znatno niže od prosjeka količine monosaharida na uzorcima meda od bagrema u ovom radu (66,32 g/100 g), a ujedno je i niža vrijednost od minimalne granice kriterija kvalitete prema Pravilniku o medu (NN 53/15) koji je usklađen s Europskom direktivom Vijeća 2001/110/EZ. Srednja vrijednost omjera fruktoze i glukoze iznosila je 1,76 (Tablica 7) i najsličnija je vrijednostima istraživanja Primorac i sur. (2011) u kojem je prosjek omjera navedenih monosaharida iznosio 1,6; kao i rezultatima istraživanja koje su proveli Persano Oddo i Piro (2004) koji su naveli omjer 1,61.

Prosječna vrijednost fruktoze u uzorcima kestenovog meda iznosila je 40,7 g/100 g (Tablica 6) i sukladna je rezultatu prema Persano Oddo i Piro (2004) 40,8 g/100 g. Više vrijednosti fruktoze utvrdili su Čizmarik i sur. (2004) 43,42 i Primorac i sur. (2011) 42,0 g/100 g, dok su niže vrijednosti ustanovili Can i sur. (2015) 38,44; Aboud i sur. (2011) 38,35; Devillers i sur. (2004) 37,39; Rodriguez-Flores i sur. (2016) 37,2 te Poyrazoglu i sur. (2012) 36,88 g/100 g. Prosječna vrijednost glukoze u analiziranim uzorcima kestenovog meda iznosila je 22,96 g/100 g (Tablica 6) i sukladna je rezultatu koji su utvrdili Aboud i sur. (2011) 22,6 i Poyrazoglu i sur. (2012) 21,89 g/100 g. Nižu vrijednost glukoze utvrdili su Can i sur. (2015) 19,35 g/100 g, dok su više vrijednosti ustanovili: Čizmarik i sur. (2004) 39,50; Devillers i sur. (2004) 31,60; Persano Oddo i Piro (2004) 27,90; Primorac i sur. (2011) 27,4 te Rodriguez-Flores i sur. (2016) 25,9 g/100 g.

U uzorcima kestenovog meda saharoza i maltoza utvrđene su u malim količinama. Prosječna vrijednost saharoze iznosila je 0,21, a maltoze 0,24 g/100 g (Tablica 6). U literaturi se nalaze raznovrsni podaci o udjelima saharoze i maltoze u kestenovom medu. Tako su primjerice Aboud i sur. (2011) naveli prosječnu vrijednost saharoze 0,1; Rodriguez-Flores i sur. (2016) 0,2; Persano Oddo i Piro (2004) 0,2 te Devillers i sur. (2004) 0,25 g/100 g meda. S druge pak strane, Poyrazoglu i sur. (2012) utvrdili su prosječnu vrijednost saharoze 2,86 g/100 g, a Primorac i sur. (2011) 2,2 g/100 g meda. Čizmarik i sur. (2004) utvrdili su

prosječnu vrijednost saharoze 7,86 g/100 g koja je znatno viša od najviše dopuštene količine saharoze prema Pravilniku o medu (NN 53/15) i Europske direktive (EC Direktiva 2001/110, 2002). Vrijednosti maltoze kretale su se od 0 do 0,48 g/100 g meda, s prosječnom vrijednošću 0,24 g/100 g (Tablica 6) i niže su od rezultata koje su polučili Can i sur. (2015) s 0,53 g/100 g te Primorac i sur. (2011) s vrijednošću maltoze 2,4 g/100 g meda.

Srednja vrijednost zbroja fruktoze i glukoze na uzorcima kestenovog meda iznosila je 63,66 g/100 g (Tablica 7) i bila je niža od srednje vrijednosti koju su utvrdili Persano Oddo i Piro (2004) 68,7 te Primorac i sur. (2011) 69,5 g/100 g. Srednja vrijednost omjera fruktoze i glukoze iznosila je 1,78 (Tablica 7) te je bila veća od omjera fruktoze i glukoze koji su ustanovili Primorac i sur. (2011) 1,5; Čizmarik i sur. (2004) 1,11; Poyrazoglu i sur. (2012) 1,69 te Persano Oddo i Piro (2004) 1,48. Jedino su Can i sur. (2015) naveli veću vrijednost omjera fruktoze i glukoze koja je iznosila 1,98.

Kaduljin je med još uvijek slabo istražen te postoje samo tri rada u kojima se navodi sastav šećera. Prosječna vrijednost fruktoze u istraživanim uzorcima kaduljina meda iznosila je 41,49 g/100 g, a kretala se od 35,8 do 59,25 g/100 g (Tablica 6) i sukladna je rezultatu koji su utvrdili Kenjerić i sur. (2006) 41,0 te Primorac i sur. (2011) 42,0 g/100 g. Gašić i sur. (2015) iznijeli su vrijednosti fruktoze u rasponu od 39,36 do 48,91 g/100 g te glukoze od 10,89 do 30,50 g/100 g. Prosječna je vrijednost glukoze iznosila 26,28 g/100 g, a kretala se u rasponu od 22,07 do 36,94 g/100 g (Tablica 6) te je bila znatno niža od vrijednosti koje se ustanovili Primorac i sur (2011) 32,9 te Kenjerić i sur. (2006) 34,0 g/100 g.

Vrijednosti saharoze u istraživanim uzorcima kaduljina meda kretale su se u rasponu od 0 do 0,18 g/100 g s prosjekom 0,09 g/100 g (Tablica 6), dok su Primorac i sur. (2011) utvrdili prosječnu vrijednost 1,8; Kenjerić i sur. (2006) 1,7; a Gašić i sur. (2015) ustanovili su vrijednosti saharoze u rasponu od 1,1 do 3,04 g/100 g. Prosječna vrijednost maltoze iznosila je 0,38 g/100 g, a kretala se u rasponu od 0,08 do 0,68 g/100 g (Tablica 6) te je bila niža u usporedbi s prosječnom vrijednošću maltoze iz literature u kojoj iznosi 1,9 (Primorac i sur., 2011). Gašić i sur. (2015) naveli su vrijednosti maltoze koje se kreću od 0,37 do 1,67 g/100 g. Prosječna vrijednost zbroja fruktoze i glukoze u uzorcima meda od kadulje iznosila je 67,76 g/100 g (Tablica 7) i bila je niža od vrijednosti koje su utvrdili Primorac i sur. (2011) 74,8 i Kenjerić i sur. (2006) 75,0 g/100 g. Omjer navedenih monosaharida u istraživanim se uzorcima meda kretao u rasponu od 1,34 do 1,74 s prosjekom od 1,58 (Tablica 7) i bio je znatno viši od vrijednosti koje su ustanovili Primorac i sur. (2011) 1,3 te Kenjerić i sur. (2006) 1,23. Prema rezultatima Gašić i sur. (2015) omjer fruktoze i glukoze kretao se od 1,31 do 4,42, što je znatno veći raspon omjera od rezultata ovog istraživanja. Gašić i sur. (2015)

usporedili su med od kadulje s medovima drugih biljaka iz porodice *Lamiaceae* (med od timijana, mente i vriska) te zaključili kako je med od kadulje imao veći udio turanoze od drugih vrsta meda. Njihov rezultat u skladu je s rezultatima ovoga rada budući je prosječna vrijednost turanoze u uzorcima kaduljina meda iznosila 1,94 g/100 g, a u uzorcima vriskova meda 1,52 g/100 g meda.

Primorac i sur. (2011) u svom su istraživanju uspoređivali sastav šećera za bagremov, kestenov i kaduljin med te su ustanovili kako su uzorci kaduljina meda imali najveći udio glukoze (32,9 g/100 g), što je sukladno dobivenim rezultatima ovog istraživanja. Nadalje, utvrdili su da su uzorci kestenova meda imali manje disaharida u usporedbi s uzorcima bagremova i kaduljina meda, što je također slično rezultatima ovog istraživanja, jer su uzorci kestenova meda imali najmanju količinu turanoze (1,81 g/100 g), ali najveću količinu saharoze (0,21 g/100 g) te manju prosječnu vrijednost maltoze (0,24 g/100 g) od uzoraka kaduljina meda (0,38 g/100 g), ali veću (0,19 g/100 g) od uzoraka bagremovog meda (Tablica 6).

Na uzorcima lipovog meda vrijednosti fruktoze kretale su se od 32,9 do 41,13 g/100 g s prosječnom vrijednošću 38,26 g/100 g (Tablica 6) i bile su u skladu s vrijednostima koje su utvrdili Waś i sur. (2011) 37,3 te Persano Oddo i Piro (2004) 37,5 g/100 g. Gašić i sur. (2014) naveli su vrijednosti u rasponu 36,42 do 44,44 g/100 g, a Kowalski i sur. (2013) od 47,88 do 50,17 g/100 g. Dobivena vrijednost fruktoze bila je znantno manja od vrijednosti koju su iznijeli Can i sur. (2015) 44,12; Borras i sur. (2014) 41,7 te Kadar i sur. (2010) 40,14 g/100 g. Prosječna vrijednost glukoze iznosila je 28,36 g/100 g, a kretala se u rasponu od 23,19 do 33,51 g/100 g (Tablica 6) te je bila sukladna rezultatima koje su polučili Kadar i sur. (2010) 29,9 g/100 g. Znatno više vrijednosti glukoze utvrdili su Borras i sur. (2014) 32,2; Persano Oddo i Piro (2004) 31,9 te Waś i sur. (2011) 31,3 g/100 g. Gašić i sur. (2014) naveli su vrijednosti u rasponu od 23,06 do 30,78 g/100 g koje su u skladu s dobivenim rezultatima, dok su Kowalski i sur. (2013) iznijeli vrijednosti koje su bile znatno više i kretale su se od 43,46 do 46,76 g/100 g.

Vrijednosti saharoze kretale su se od 0,12 do 0,16 s prosjekom od 0,14 g/100 g (Tablica 6) te su bile u skladu s vrijednostima prema Borras i sur. (2014) 0,3 g/100 g, dok su u drugim istraživanjima vrijednosti saharoze znatno više. Kadar i sur. (2010) utvrdili su prosječnu vrijednost saharoze 1,72, a Persano Oddo i Piro (2004) 1,2 g/100 g. Kowalski i sur. (2013) ustanovili su vrijednosti od 0,65 do 1,28 g/100 g, dok su Gašić i sur. (2014) ustanovili znatno više vrijednosti saharoze u rasponu od 3,07 do 9,89 g/100 g. Turanoza u uzorcima meda od lipe iznosila je 1,68 (Tablica 6) te je bila slična vrijednosti koju su utvrdili Waś i sur.

(2011) 1,5 g/100 g, dok drugi autori nisu utvrdili ili nisu analizirali količinu turanoze. Prosječna vrijednost maltoze u uzorcima lipova meda iznosila je 0,5 g/100 g, a kretala se od 0,14 do 0,95 g/100 g (Tablica 6) i bila je niža od vrijednosti koju su utvrdili Waś i sur. (2011) 2,3 g/100 g, ali i viša od vrijednosti koju su utvrdili Can i sur. (2015) 0,13 g/100 g. Kowalski i sur. (2013) te Gašić i sur. (2014) ustanovili su više vrijednosti maltoze, a kretale su se od 3,02 do 3,86, odnosno 1,01 do 3,66 g/100 g.

Srednja vrijednost omjera fruktoze i glukoze iznosila je 1,36, dok je njihov zbroj u prosjeku iznosio 66,62 g/100 g (Tablica 7). Niže vrijednosti omjera fruktoze i glukoze ustanovili su Borras i sur. (2014) 1,3 te Persano Oddo i Piro (2004) 1,18. Višu prosječnu vrijednost zbroja monosaharida utvrdili su Persano Oddo i Piro (2004) te je ona iznosila 69,5 g/100 g.

Prema rezultatima sastava šećera u uzorcima vrijesa srednja vrijednost fruktoze iznosila je 37,85, a glukoze 27,92 g/100 g (Tablica 6). Najsličniji sastav fruktoze i glukoze utvrdili su Aboud i sur. (2011) s prosječnom vrijednošću fruktoze 37,13 i glukoze 30,07 g/100 g. Više vrijednosti fruktoze i glukoze utvrdili su Andrade i sur. (2001) 44,97 za fruktozu i 32,65 g/100 g za glukozu; Devillers i sur. (2004) 40,17 za fruktozu i 35,75 g/100 g za glukozu te Ouchemoukh i sur. (2010) 38,27 za fruktozu i 33,89 g/100 g za glukozu. Anjos i sur. (2015) ustanovili su znatno manje prosječne vrijednosti obaju monosaharida: 35,97 za fruktozu i 23,15 g/100 g za glukozu.

Saharoza je utvrđena u samo jednom uzorku vrijesova meda u kojem je iznosila 1,11 g/100 g (Tablica 6). Sličnu koncentraciju saharoze utvrdili su Persano Oddo i Piro (2004) 1,4; Anjos i sur. (2015) 1,04 te Ouchemoukh i sur. (2010) 1,02 g/100 g. U drugim radovima navode se male količine saharoze koje su iznosile 0,1 prema Aboud i sur. (2011) te 0,12 g/100 g prema Devillers i sur. (2004). Prosječna vrijednost maltoze iznosila je 0,36 g/100 g (Tablica 6). Znatno više vrijednosti utvrdili su Ouchemoukh i sur. (2010) 1,59; Andrade i sur. (2001) 1,19 te Anjos i sur. (2015) 1,01 g/100 g. Utvrđena turanoza iznosila je 1,47 g/100 g (Tablica 6) te je bila znatno viša od vrijednosti koju su utvrdili Ouchemoukh i sur. (2010) 0,45 te Andrade i sur. (2001) 0,03 g/100 g. Jedino su Anjos i sur. (2015) ustanovili višu vrijednost turanoze te je iznosila 2,74 g/100 g. Andrade i sur. (2001) analizirali su uzorke meda koji su proizvedeni u rasponu od 1991. do 1993. godine. Zbog starosti uzoraka koje su analizirali dobiveni rezulatati sadržavali su znatno veće količine monosaharida, ali male količine disaharida, od kojih saharoza nije utvrđena niti u jednom analiziranom uzorku.

Prosječna vrijednost omjera fruktoze i glukoze u uzorcima vrijesova meda iznosila je 1,36 g/100 g (Tablica 7) te je bila viša od vrijednosti koju su ustanovili Ouchemoukh i sur.

(2010) 1,13 te Persano Oddo i Piro (2004) 1,26, ali i znatno niža od vrijednosti koju su ustanovili Anjos i sur. (2015) 1,57. Zbroj fruktoze i glukoze u uzorcima vrijesova meda iznosio je 65,78 g/100 g (Tablica 7) i bio je niži od rezultata u istraživanjima Ouchemoukh i sur. (2010) gdje je iznosio 72,15 g/100 g, odnosno 73,4 g/100 g meda prema Persano Oddo i Piro (2004).

S obzirom na raritetnost meda od unšijske mandarine koji je analiziran u ovom istraživanju, za usporedbu rezultata korištena su istraživanja koja uključuju sastav šećera meda od različitih vrsta agruma. Tako su primjerice, Anjos i sur. (2015) analizirali med od naranče, dok se u drugim istraživanjima navode samo uzorci meda od *Citrus* spp. Prosječna vrijednost fruktoze iznosila je 39,36 g/100 g (Tablica 6) i bila je sukladna rezultatu koji su utvrdili Persano Oddo i Piro (2004) 38,7; Zerrouk i sur. (2013) 40,45; Aboud i sur. (2011) 40,8 te Ouchemoukh i sur. (2010) 40,81 g/100 g. Niže vrijednosti fruktoze ustanovili su Tewari i Irudayaraj (2004) 35,67; Poyrazoglu i sur. (2012) 37,52 te Anjos i sur. (2015) 37,57 g/100 g. Glukoza je u prosjeku iznosila 32,11 g/100 g (Tablica 6) i sukladna je rezultatu koji su utvrdili Tewari i Irudayaraj (2004) 32,0; Zerrouk i sur. (2013) 32,68; Ouchemoukh i sur. (2010) 31,96 te Persano Oddo i Piro (2004) 31,4 g/100 g. Nešto niže vrijednosti glukoze ustanovili su Anjos i sur. (2015) 30,73; Poyrazoglu i sur. (2012) 30,53 te Aboud i sur. (2011) 30,3 g/100 g. Yun Ma i sur. (2016) naveli su kako med od agruma ima prirodno veću mogućnost kristalizacije u kojoj glavnu ulogu ima glukoza, zbog niže topljivosti. To je u skladu i s rezultatima ovog istraživanja u kojem su uzorci meda od mandarine imali najvišu prosječnu vrijednost glukoze od svih drugih vrsta (32,11 g/100 g), a u skladu je i s dostupnom navedenom literaturom u kojoj su prosječne vrijednosti glukoze također iznad 30 g/100 g meda.

Saharoza je utvrđena u samo jednom uzorku meda od unšijske mandarine u kojem je iznosila 0,22 g/100 g (Tablica 6). Anjos i sur. (2015) objavili su kako je prosječna vrijednost saharoze u uzorcima meda od naranče bila niža od granice kvantifikacije (koja je u njihovom slučaju iznosila 0,8 %). Znatno više vrijednosti utvrdili su Tewari i Irudayaraj (2004) 5,0; Zerrouk i sur. (2013) 3,47; Ouchemoukh i sur. (2010) 2,87; Persano Oddo i Piro (2004) 1,2 te Poyrazoglu i sur. (2012) 0,74 g/100 g. Jedino su Aboud i sur. (2011) naveli nižu vrijednost saharoze te je ona iznosila 0,1 g/100 g. Prosječna vrijednost turanoze iznosila je 1,47 g/100 g (Tablica 6) te je bila viša od prosjeka turanoze prema istraživanju Ouchemoukh i sur. (2010) 1,15, ali i niža od vrijednosti koju su ustanovili Anjos i sur. (2015) 2,38 g/100 g. Utvrđena maltoza u analiziranim uzorcima iznosila je 0,40 g/100 g (Tablica 6) te je bila niža od

vrijednosti koju su utvrdili Tewari i Irudayaraj (2004) 9,89; Ouchemoukh i sur. (2010) 3,42 te Anjos i sur. (2015) 1,15 g/100 g.

Prosječna vrijednost zbroja monosaharida na uzorcima meda od unšijske mandarine iznosila je 71,48 g/100 g (Tablica 7) i bila je sukladna rezultatima koje su utvrdili Persano Oddo i Piro (2004) 70,1; Ouchemoukh i sur. (2010) 72,77 te Zerrouk i sur. (2013) 73,13 g/100 g. Nadalje, prosječna vrijednost omjera fruktoze i glukoze iznosila je 1,24 (Tablica 7) i bila je sukladna omjeru koje su ustanovili Persano Oddo i Piro (2004) 1,24; Poyrazoglu i sur. (2012) 1,23 te Anjos i sur. (2015) 1,28.

Primorac i sur. (2013) analizirali su sastav šećera na uzorcima meda od vriska. Na sedam uzoraka određivali su sastav šećera HPLC metodom, dok su na 15 uzoraka, koji su bili iz starijih godišta, šećere određivali titrimetrijskom metodom. Prema njihovim rezultatima zbroj fruktoze i glukoze se kretao od 69,8-83,1 s prosjekom 78,0 g/100 g dok su vrijednosti ovog istraživanja znatno niže. Utvrđen zbroj fruktoze i glukoze kretao se od 65,37 do 70,61 s prosječnom vrijednošću 67,68 g/100 g (Tablica 7). Omjer fruktoze i glukoze iznosio je 1,62 (Tablica 7) i bio je znatno veći od omjera koji su ustanovili Primorac i sur. (2013) 1,26. Osim toga, u istraživanju Primorac i sur. (2013) utvrđena se saharoza kretala u rasponu od 0,6 do 1,6 g/100 g meda, dok u ovom istraživanju saharoza nije bila utvrđena na uzorcima meda od vriska, ali su bile utvrđene turanoza i maltoza s vrijednostima 1,52 i 0,53 g/100 g (Tablica 6).

Za uzorke meda od smilja i amorfe nema podataka o sastavu šećera u dostupnoj literaturi te su podaci ovog istraživanja (Tablica 6), koliko je autoru poznato, prvi utvrđeni sastavi šećera HPLC metodom za navedene vrste meda.

U analiziranim uzorcima multiflornog meda udio fruktoze je iznosio 39,76 g/100 g (Tablica 6) i bio je u skladu s rezultatima koje su polučili Čizmarik i sur. (2004) 39,64; Bentabol Manzanares i sur. (2011) 39,54; Nayik i sur. (2016) 39,27; Victorita i sur. (2008) 39,19; Ouchemoukh i sur. (2010) 38,93 te Rybak-Chmielewska i Szczesna (2003) 38,67 g/100 g. Niže vrijednosti utvrdili su Can i sur. (2015) 32,35 te Anjos i sur. (2015) 35,10 g/100 g, za razliku od Ciapini i sur. (2008) koji su utvrdili znatno veću vrijednost fruktoze 44,80 te Primorac i sur. (2008) 45,26 g/100 g. Prosječni udio glukoze iznosio je 27,34 g/100 g (Tablica 6) te je bio znatno niži od vrijednosti koje su ustanovili Čizmarik i sur. (2004) 38,81; Nayik i sur. (2016) 33,97; Rybak-Chmielewska i Szczesna (2003) 33,82; Bentabol Manzanares i sur. (2011) 33,29; Ouchemoukh i sur. (2010) 31,65; Victorita i sur. (2008) 30,73; Primorac i sur. (2008) 30,41 te Poyrazoglu i sur. (2012) 29,11 g/100 g. Anjos i sur. (2015) te Can i sur. (2015) utvrdili su niže vrijednosti glukoze te su one iznosile 23,21 i 25,07 g/100 g. U uzorcima multiflornog meda saharoza nije bila utvrđena. U literaturi se navode različite

vrijednosti saharoze: od 0,3 g/100 g prema Victorita i sur. (2008) do 2,93 g/100 g prema Čizmarik i sur. (2004). Prosječni udio turanoze iznosio je 1,9 g/100 g (Tablica 6) i bio je viši od udjela turanoze koji su utvrdili Ouchemoukh i sur. (2010) 0,96; Rybak-Chmielewska i Szczesna (2003) 1,14; Bentabol Manzanares i sur. (2011) 1,46; te Victorita i sur. (2008) 1,58 g/100 g. Jedino su Anjos i sur. (2015) ustanovili viši udio turanoze koji je iznosio 3,05 g/100 g. Prosječni udio maltoze iznosio je 0,37 g/100 g (Tablica 6) i bio je u skladu s rezultatom koji su utvrdili Ciapini i sur. (2008) 0,45 g/100 g. Znatno više udjele maltoze ustanovili su Bentabol Manzanares i sur. (2011) 5,25; Rybak-Chmielewska i Szczesna (2003) 2,81; Primorac i sur. (2008) 2,45; Victorita i sur. (2008) 2,03; Nayik i sur. (2016) 1,97; Ouchemoukh i sur. (2010) 1,72; Anjos i sur. (2015) 1,28; Can i sur. (2015) 1,05 te Čizmarik i sur. (2004) 1,02 g/100 g. Primorac i sur. (2008) naveli su znatno veće količine svih šećera u uzorcima multiflornog meda, naročito saharoze i maltoze. Treba uzeti u obzir da su uzorke analizirali do šest mjeseci nakon prikupljanja, dok su uzorci u ovom istraživanju nešto duže skladišteni, što je vjerojatno utjecalo na smanjenje udjela disaharida, zbog utjecaja enzima. Anjos i sur. (2015) su zaključili kako su maltoza i turanoza kvantitativno najvažniji disaharidi koji su u najvećem udjelu bili utvrđeni u multiflornim uzorcima meda. U ovom istraživanju, veći udio maltoze bio je utvrđen u uzorku multiflornog meda, a i turanoza u većim količinama nego u drugim vrstama meda.

Srednja vrijednost omjera fruktoze i glukoze u analiziranim uzorcima multiflornog meda iznosila je 1,47 (Tablica 7) i bila je sukladna vrijednostima koje su utvrdili Primorac i sur. (2008) 1,50 te Anjos i sur. (2015) 1,54. Znatno manje vrijednosti ustanovili su Rybak-Chmielewska i Szczesna (2003) 1,15; Nayik i sur. (2016) 1,16; Bentabol Manzanares i sur. (2011) 1,19; Ouchemoukh i sur. (2010) 1,23; Can i sur. (2015) 1,29 te Poyrazoglu i sur. (2012) 1,35. Prosječna vrijednost zbroja fruktoze i glukoze u uzorcima multiflornog meda iznosila je 67,07 g/100 g (Tablica 7) i bila je viša od vrijednosti prema Can i sur. (2015) 57,42 g/100 g. Znatno više vrijednosti udjela monosaharida utvrdili su Primorac i sur. (2008) 75,66; Bentabol Manzanares i sur. (2011) 72,82; Rybak-Chmielewska i Szczesna (2003) 72,50 te Ouchemoukh i sur. (2010) 70,59 g/100 g.

Nayik i sur. (2016) su istraživali razlike u sastavu šećera između uzoraka multiflornog i bagremovog meda te medljikovaca. Prema njihovim rezultatima u multiflornim su uzorcima meda utvrdili najveće prosječne vrijednosti svih analiziraniih šećera (fruktoza 39,27 g/100 g, glukoza 33,97 g/100 g, maltoza 1,97 g/100 g i saharoza 1,92 g/100 g). Njihovi su se rezultati djelomično podudarali s rezultatima ovoga istraživanja. Naime, uspoređujući rezultate uzoraka multiflornog, bagremovog meda i medljikovaca, multiflorni su uzorci

sadržavali relativno najveće količine glukoze (27,34 g/100 g), turanoze (1,9 g/100 g) i maltoze (0,37 g/100 g), dok saharoza nije bila utvrđena u uzorcima multiflornog meda (Tablica 6). Najveći udio fruktoze (42,26 g/100 g) i turanoze (2,12 g/100 g) bio je utvrđen u uzorcima bagremovog meda, a najveće količine saharoze (0,25 g/100 g) u uzorcima medljikovaca (Tablica 6).

U uzorcima medljikovaca utvrđena je fruktoza prosječne vrijednosti 33,74 g/100 g (Tablica 6) i sukladna je rezultatu koji su polučili Persano Oddo i Piro (2004) 32,5 g/100 g. Niže vrijednosti utvrdili su Poyrazoglu i sur. (2012) 30,61; Aboud i sur. (2011) 31,1 te Nayik i sur. (2016) 31,96 g/100 g, dok su znatno više vrijednosti ustanovili Can i sur. (2015) 43,28; Bentabol Manzanares i sur. (2011) 39,64; Victorita i sur. (2008) 35,52 te Rybak-Chmielewska H. (2007) 35,31 g/100 g. Prosječna vrijednost glukoze iznosila je 23,18 g/100 g (Tablica 6) i bila je u skladu s vrijednostima koje su utvrdili Poyrazoglu i sur. (2012) 23,51 te Aboud i sur. (2011) 22,5 g/100 g, za razliku od Can i sur. (2015) koji su utvrdili nižu vrijednost 21,73 g/100 g. Znatno više vrijednosti glukoze ustanovili su Nayik i sur. (2016) 32,84; Bentabol Manzanares i sur. (2011) 31,19; Rybak-Chmielewska H. (2007) 30,08; Victorita i sur. (2008) 27,07 te Persano Oddo i Piro (2004) 26,5 g/100 g.

Udio saharoze u analiziranim uzorcima medljikovaca iznosio je 0,25 g/100 g (Tablica 6) te je bio sličan vrijednosti saharoze prema Victorita i sur. (2008) 0,19, ali i viši od vrijednosti koju su utvrdili Aboud i sur. (2011) 0,1 g/100 g. Za razliku od navedenih istraživanja, znatno viši udio saharoze ustanovili su Rybak-Chmielewska H. (2007) 1,26; Nayik i sur. (2016) 1,10; Persano Oddo i Piro (2004) 0,8 te Bentabol Manzanares i sur. (2011) 0,5 g/100 g. Prosječna vrijednost turanoze iznosila je 1,41 g/100 g (Tablica 6) te je bila neznatno viša od vrijednosti prema Bentabol Manzanares i sur. (2011) 1,28, ali i značajnije niža od vrijednosti koju su utvrdili Victorita i sur. (2008) 2,1 i Rybak-Chmielewska H. (2007) 1,83 g/100 g. Maltoza utvrđena u ovom istraživanju iznosila je 0,42 g/100 g (Tablica 6) i bila je niža u usporedbi sa Bentabol Manzanares i sur. (2011) koji su utvrdili 5,52; Rybak-Chmielewska H. (2007) 3,61; Victorita i sur. (2008) 2,48 te Nayik i sur. (2016) sa 1,02 g/100 g. Jedino su Can i sur. (2015) utvrdili nižu vrijednost maltoze 0,19 g/100 g.

Prosječna vrijednost udjela monosaharida na uzorcima medljikovaca iznosila je 56,92 g/100 g, dok je omjer fruktoze i glukoze iznosio 1,46 (Tablica 7). Znatno viši udio monosaharida utvrdili su Bentabol Manzanares i sur. (2011) 70,83; Can i sur. (2015) 65,01; Rybak-Chmielewska H. (2007) 64,60; Victorita i sur. (2008) 62,59 te Persano Oddo i Piro (2004) 58,7 g/100 g. Samo su Can i sur. (2015) ustanovili veću vrijednost omjera fruktoze i

glukoze 1,99, dok su te vrijednosti u drugim istraživanjima bile znatno manje: od 1,13 prema Nayik i sur. (2016) do 1,28 prema Bentabol Manzanares i sur. (2011).

Bentabol Manzanares i sur. (2011) su zaključili da su medljikovci imali nižu koncentraciju glukoze (31,19 g/100 g), saharoze (0,50 g/100 g) i turanoze (1,28 g/100 g), a veći udio fruktoze (39,64 g/100 g) i maltoze (5,52 g/100 g) spram nektarnih vrsta meda, što nije slučaj kod analiziranih medljikovaca ovoga istraživanja. Naime, prema dobivenim rezultatima, medljikovci su imali niži udio fruktoze (33,74 g/100 g) i glukoze (23,18 g/100 g), te veći udio saharoze (0,25 g/100 g) u usporedbi s nektarnim vrstama meda. Udio maltoze u analiziranim je uzorcima medljikovaca bio sličan udjelima maltoze u nektarnim uzorcima meda, dok je turanoze bilo manje u medljikovcima nego u nektarnim vrstama meda (Tablica 6).

Victorita i sur. (2008) su konstatirali kako medljikovci imaju manju količinu monosaharida (62,59 g/100 g) te veće količine disaharida i trisaharida u usporedbi s drugim vrstama meda. Ovim istraživanjem može se potvrditi njihova konstatacija, s obzirom na to da su najmanji udjeli fruktoze i glukoze (56,92 g/100 g) promatrajući sve analizirane uzorke, utvrđeni upravo u uzorcima medljikovaca (Tablica 7), a udjeli analiziranih disaharida utvrđeni su u većim količinama, naročito saharoze čija je najveća vrijednost (1,20 g/100g) također bila utvrđena na uzorcima medljikovaca (Tablica 6).

Poyrazoglu i sur. (2012) naveli su sličnosti u sastavu šećera u uzorcima kestenovog meda i medljikovaca te zaključili da su imali sličan udio glukoze i da su samo u tim uzorcima otkriveni svi analizirani disaharidi. Prema rezultatima ovog istraživanja uzorci kestenovog meda i medljikovaca također su imali slične udjele glukoze, koji su se u kestenovom medu kretali od 20,54 do 29,87 g/100 g, a u uzorcima medljikovaca od 18,17 do 29,0 g/100 g (Tablica 6). Osim toga, u analiziranim uzorcima kestenovog meda i medljikovaca također su bili utvrđeni svi analizirani disaharidi. Prosječne vrijednosti saharoze bile su slične u obje vrste meda, dok su uzorci kestenova meda sadržavali više turanoze i manje maltoze u usporedbi s medljikovcima (Tablica 6).

5. ZAKLJUČAK

HPLC analizom utvrđeno je da su monosaharidi fruktoza i glukoza najzastupljeniji šećeri u medu, dok su disaharidi saharoza, turanoza i maltoza bili slabije zastupljeni. Od ukupno analiziranih 268 uzoraka, saharoza je bila utvrđena u samo 73 uzorka, maltoza u 252, dok je turanoza bila utvrđena u svim analiziranim uzorcima. Glavni uzroci malog udjela disaharida, a naročito saharoze, mogu se povezati sa starošću uzoraka i načinu skladištenja do analiza.

Dobiveni su rezultati ukazali na razlike u sastavu šećera pojedinih vrsta meda. Utvrđeno je kako su uzorci meda od unšijske mandarine sadržavali veliki udio monosaharida, a naročito glukoze. Na uzorcima meda od lipe i smilja također je bio utvrđen viši udio glukoze u usporedbi s drugim uniflornim vrstama meda. Uzorci meda od bagrema, smilja i vriska imali su viši udio fruktoze. Viši udjeli turanoze bili su utvrđeni na uzorcima meda od bagrema i kadulje, a maltoze na uzorcima meda od vriska i lipe. Uzorci multiflornog meda se nisu razlikovali od uniflornih vrsta meda: udio turanoze bio je velik, saharoza nije bila pronađena, a udjeli maltoze, fruktoze i glukoze bili su u skladu s uniflornim vrstama. Medljikovci su, za razliku od uniflornih vrsta, imali niži udio fruktoze i glukoze te veći udio saharoze, ali manje turanoze, dok je udio maltoze bio sličan kao kod nektarnih vrsta meda.

Rezultati analize sastava šećera istraživanih uzoraka meda pokazali su različita odstupanja u odnosu na podatke iz dostupne literature. Ove bi se razlike mogle objasniti zemljopisnim podrijetlom, brojem i starošću analiziranih uzoraka meda, kao i razlikama u primijenjenoj metodologiji. Osim toga, HPLC, kao referentna rutinska metoda, može se razlikovati korištenjem različitih detektora i/ili kolona o kojima ovisi mjerna preciznost i kapacitet razdvajanja koji su bitni za određivanje manje zastupljenih šećera.

U ovom su radu po prvi puta bili analizirani rezultati sastava šećera u medu od smilja, amorfe, unšijske mandarine, dok su za neke vrste meda s područja Hrvatske, poput meda od kadulje, vriska i vrijesa upotpunjeni podaci o sastavu šećera.

Rezultati ovog istraživanja mogu poslužiti kao polazište za druge radove, kao i za utvrđivanje profila sastava šećera hrvatskih vrsta meda.

6. LITERATURA

Aboud F., Pasquale C., Sinacori A., Massi S., Conte P., Alonzo G. (2011). Palynological, physico-chemical and aroma characterization of Sicilian honeys. Journal of ApiProduct and ApiMedical Science, 3(4):164-173.

Aljinović D. (2015). Fitokemijske karakteristike i primjena meda u farmakognoziji. Diplomski rad. Kemijsko tehnološki fakultet i Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu.

Amić D. (2008). Organska kemija: za studente agronomske struke. Školska knjiga, Zagreb

Andrade P. B., Batista M. T., Amaral M. T., Carvalho J. C. M. F., Seabra R. M., Proença da Cunha A. (2001). Determination of sugar composition in Portuguese heather honeys by HPLC/RI. Proceedings of the 37th International Apicultural Congress, 28 October-1 November 2001, Durban, South Africa.

Anklam E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. Food Chem., 63: 549-562.

Anjos O., Campos M. G., Ruiz P. C., Antunes P. (2015). Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey. Food Chemistry, 169 (1): 218-223.

Arias V. C., Castells R. C., Malacalza N., Lupano C. E.., Castells C. B. (2003). Determination of Oligosaccharide Patterns in Honey by Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography. Chromatographia, 58 (11/12): 797-801.

Bentabol Manzanares A., Hernández García Z., Rodríguez Galdón B., Rodríguez Rodríguez E., Diaz Romero C. (2011). Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. Food Chemistry, 126: 664-672.

Bobis O., Marghitas L., Bonta V., Dezmirean D. (2007). Free Phenolic Acids, Flavonoids And Abscisic Acid Related To HPLC Sugar Profile In Acacia Honey. Buletin USAMV-CN, 64/2007, 179-185.

Bogdanov S., Ruoff K., Persano Oddo L. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. Apidologie; 35: 4-17.

Borras J., Antich D., EM., Hellebrandova M., Escriche R. (2014). Effect of country origin on physicochemical, sugar and volatile composition of acacia, sunflower and tilia honeys. Food Research International, 60: 86-94.

Can Z., Yildiz O., Sahin H., Turumtay E. A., Silici S., Kolayli S. (2015). An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. Food Chemistry, 180: 133-141.

Ciappini M. C., Gatti M. B., Di Vito M. V., Gattuso S., Gattuso M. (2008). Characterization of different floral origins honey samples from Santa Fe (Argentina) by palynological, physicochemical and sensory data. Apiacta, 43: 25-36.

Codex Alimentarius Commission, Codex Standards 12-1981 (2001). Revised codex standard for honey. Standard Methods, 12: 1-7.

Čižmarik J., Hrobonova K., Lehotay J. (2004). Determination of Monosaccharides and Disaccharides in Honey by Ion-Exchange High Performance Chromatography. Acta facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae, 51.

Devillers J., Morlot M., Pham-Delégue M.H., Doré J.C. (2004). Classification of monofloral honeys based on their quality control data. Food Chem., 86: 305–312.

Erejuwa O. O., Sulaiman S. A., Wahab M. S. A. (2012). Honey - A Novel Antidiabetic Agent.. Int. J. Biol. Sci., 8(6): 913-934.

EU Council directive 2001/110/EC relating to honey (2002). Official Journal of the European Communities, L10: 47-52.

Gašić U., Šikoparija B., Tosti T., Trifković J., Milojković-Opsenica D., Natić M., Tešić Ž. (2014). Phytochemical Fingerprints of Lime Honey Collected in Serbia. Journal of AOAC International. 97 (5): 1259-1267.

Gašić U., Natić M., Mišić D. M., Lušić D.V., Milojković-Opsenica D., Tešić Ž., Lušić D. (2015). Chemical markers for the authentication of unifloral *Salvia officinalis L*. honey. Journal of food composition and analysis, 44: 128-133.

Hrvatska enciklopedija (2000). Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb. Broj 10 str. 448.

Ivaniš B. (2012). Validacija HPLC metode za određivanje sadržaja lidokaina u Lidokain spreju. Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu.

Jerković I., Marijanović Z., Kezić J., Gugić M. (2009). Headspace, Volatile and Semi-Volatile Organic Compounds Diversity and Radical Scavenging Activity of Ultrasonic Solvent Extracts from *Amorpha fruticosa* Honey Samples. Molecules, 14: 2717-2728.

Jerković I., Tuberoso C. I. G., Marijanović Z., Kranjac M., Malenica-Staver M. (2015). Antioxidant capacity and chemical profiles of *Satureja montana L.* Honey: hotrienol and syringyl derivatives as biomarkers. Chemistry & Biodiversity 12 (7): 1047-56.

Kadar M., Juan-Borras M., Hellebrandova M., Domenech E., Escriche I. (2010). Differentiation of Acacia, Sunflower and Tilia Honeys from Different Countries Based on Sugar Composition, Physicochemical and Color Parameters. Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca, 67 (2): 252-258.

Karimov E., Xalilzad Z., Hobbi P., Alekperov J. (2014). Quality evaluation of honey from the different region of Azerbaijan. Journal of Food Chemistry and Nutrition, 2 (2): 71-79.

Kaškoniene V., Venskutonis P. R. (2010). Floral markers in honey of various botanical and geographic origins: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9 (6): 620-634.

Kenjerić D., Primorac Lj., Mandić M. L., Bubalo D., Perl Pirički A., Flanjak I. (2006). Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.) honey characterization. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 102: 479-484.

Kezić N., Bubalo D., Dražić M., Barisić D., Grgić Z., Jakopović I., Krakar D., Palčić-Jakopović K., Ševar M., Tretinjak V. (2012) Pčelarstvo. Interna skripta, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.

Kowalski S., Lukasiewicz M., Berski W. (2013). Applicability of physico-chemical parameters of honey for identification of the botanical origin. Acta Sci Pol Technol Aliment., 12 (1): 51-59.

Krell R. (1996). Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124.

Luterotti S. (2009). Uvod u kemijsku analizu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 222-224.

Madas N., Margitas L. Al., Dezmirean D., Bonta V., Bobis O. (2012). Botanical origin authenticafition of Black locust (*Robinia pseudoacacia*) honey, by means of sugar spectrum determination. Agricultura, agricultural practice and science journal. 83. (3-4): 95-100.

Malenica Staver M., Ratkaj I., Broznić D., Jerković I., Marijanović Z., Željezić D., Kraljević Pavelić S. (2014) Bioactivity of *Satureja montana L.* honey extracts and their profile screening. RSC Advances, 4: 47329-47340.

Ouchemoukh S., Schweitzer P., Bachir Bey M., Djoudad-Kadji H., Louaileche H. (2010). HPLC sugar profiles of Algerian honeys. Food Chemistry, 121: 561-568.

Persano Oddo L., Piazza M. G., Sabatini A.G., Accorti M. (1995). Characterization of unifloral honeys. Apidologie, 26: 453-465.

Persano Oddo L., Piro R. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. Apidologie, 35: S38-S81.

Piana M., Persano Oddo L., Bentabol A., Bruneau E., Bogdanov S., Guyot Declerck C. (2004) Sensory analysis applied to honey: state of the art. Apidologie, 35: S26-S37.

Pine S. (1984). Oranska kemija. Drugo promijenjeno izdanje. Školska knjiga, Zagreb.

Poyrazoglu E. S., Haroun I. M., Konar N., Hospolat I., Artık N. (2012). Sugars Profiles and Contents of Turkish Honeydew and Floral Honeys. International Conference on Environment, Agriculture and Food Sciences, 11-12, Thailand.

Pravilnik o kakvoći uniflornog meda (2009). Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja RH. Narodne Novine 122/09.

Pravilnik o medu (2015). Ministarstvo poljoprivrede RH. Narodne Novine 53/15.

Primorac Lj., Bubalo D., Kenjerić D., Flanjak I., Perl Pirički A., Mandić M. L. (2008). Pollen spectrum and physicochemical characteristics of Croatian Mediterranean multifloral honeys. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 104: 170-175.

Primorac Lj., Angelkov B., Mandić M., Kenjerić D., Nedeljko M., Flanjak I., Perl Pirički A., Arapceska M. (2009). Comparison of the croatian and macedonian honeydew honey. Journal of Central European agriculture, 10 (3): 263-264.

Primorac Lj., Flanjak I., Kenjerić D., Bubalo D., Topolnjak Z. (2011). Specific rotation and carbohydrate profile of Croatian unifloral honeys. Czech Journal of Food Sciences, 29 (5): 515-519.

Primorac Lj., Flanjak I., Kenjerić D., Bubalo D., Novak I. (2013). Physicochemical parameters of winter savory (*Satureja montana* L.) honey. Agronomski glasnik, 5-6: 245-252.

Ricciardelli D'Albore, G. (1998). Mediterranean melissoplaynology. Universita degli Studi di Perugia, Facolta di Agraria, Instituto di Entomologia agraria, Perugia.

Rodriguez-Flores S., Escuredo O., Seijo M. C. (2016). Characterization and antioxidant capacity of sweet chestnut honey produced in North-West Spain. Journal of Apicultural Science,.60 (1): 19-30.

Ruoff K. (2006). Authentication of the Botanical Origin of Honey. Dissertation for the deegree of Doctor of Sciences. University of Helsinki.

Ruoff K., Luginbühl W., Kilchenmann V., Bosset J. O., von der Ohe K., von der Ohe W., Amadò R. (2007). Authentication of the botanical origin of honey using profiles of classical measurands and discriminant analysis. Apidologie, 38: 438-452.

Rybak-Chmielewska H., Szczesna T. (2003). Determination of saccharides in multifloral honey by means of HPLC. Journal of Apicultural Science, 47 (2): 93-101.

Rybak-Chmielewska H. (2007). High Performance Liquid Chromatography (HPLC) study of sugar composition in some kinds of natural honey and winter stores processed by bees from starch syrup. J. Apic. Sci., 51(1): 23-38.

Sanz M. L., Sanz J., Martínez-Castro I. (2004). Gas chromatographic-mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey. J. of Chrom., 1059: 143-148.

Sutlović D., Kovačić Z., Riha B., Žuntar I., Tomašek Lj., Bakulić L., Nestić M., Horvat V., Mandić S., Plavšić F., Ferček R., Definis-Gojanović M., Suton J., Knezović Z., Veršić M., Vulić M., Vučinović M., Strinić T., Stipišić A., Mrčela M. (2011). Osnove forenzične toksikologije. Redak, Split.

Svečnjak L. (2015). Infracrvena spektroskopija u identifikaciji botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda. Doktorska disertacija, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu.

Svečnjak L., Bubalo D., Baranović, G., Novosel H. (2015). Optimization of FTIR‐ATR spectroscopy for botanical authentication of unifloral honey types and melissopalynological data prediction. Eur. Food. Res. Technol., 240: 1101-1115.

Šarić G., Matković D., Hruškar M., Vahčić N. (2008). Characterisation and Classification of Croatian Honey by Physicochemical Parameters. Food Technology and Biotechnology, 46: 355-367.

Tewari J., Irudayaraj J. (2004). Quantification of saccharides in multiple floral honeys using fourier transform infrared microattenuated total reflectance spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (11): 3237-43.

Trinajstić I. (1992): Endemi hrvatske flore 4. Ljekovita kadulja-*Salvia officinalis L.* endemična, ljekovita, medonosna i ukrasna biljka. Priroda 9-10: 34-36.

Victorita B., Marghitas L.Al., Stanciu O., Laslo L., Dezmirean D., Bobis O.(2008). High-performance liquid chromatographic analysis of sugars in transylvanian honeydew honey. Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, 65 (1-2): 229-232.

Von der Ohe, K., Von der Ohe, W. (2000) Celle´s Mellisopalynological Collection. Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde, Celle.

Von der Ohe, W., Persano Odo, L., Piana, M. L., Morlot, M., Martin, P. (2004) Harmonized methods of melissopalynology. Apidologie, 35: S18-S25.

Waś E., Rybak-Chmielewska H., Szczesna T., Kachaniuk K., Teper D. (2011) Characteristics of Polish unifloral honeys. II. Lime honey (*Tilia* spp.). Journal of Apicultural Science. 55 (1): 121-129.

Zerrouk S., Boughediri L., Seijo M. C., Fallico B., Arena E., Ballistreri G. (2013). Palynological and Physicochemical Properties of *Citrus* and *Eucalyptus* Honeys Produced in Blida Region (Algeria). European Journal of Scientific Research, 104 (1): 79-90.

International Honey Commission-IHC (2009) Harmonised methods of the International Honey Commission, http://www.ihc-platform.net Pristupljeno 18. ožujka 2016.

Nayik G. A., Suhag Y., Majid I., Nanda V. (2016). Discrimination of high altitude Indian honey by chemometric approach according to their antioxidant properties and macro minerals. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X16300200 Pristupljeno 23. sprnja 2016.

Kim S., Thiessen P. A., Bolton E. E., Chen J., Fu G., Gindulyte A., Han L., He J., He S., Shoemaker B. A., Wang J., Yu B., Zhang J., Bryant S. H. (2016). PubChem Substance and Compound databases. Nucleic Acids Res. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov Pristupljeno: 1. lipnja 2017.

Vahčić N., Matković D. (2009). Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda. http://www.pcelinjak.hr Pristupljeno 15. srpnja 2016.

Yun M., Bing Z., Hongyan L., Yulu L., Jiangning H., Jing L., Hongming W., Zeyuan D. (2016). Chemical and molecular dynamics analysis of crystallization properties of honey. International Journal of Food Properties. Dostupno na: http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2016.1178282 Pristupljeno: 20. lipnja 2016.

7. ŽIVOTOPIS

Mateja Barkijević rođena je 27. siječnja 1991. godine u Požegi, Republika Hrvatska. Ondje je pohađala Osnovnu školu Antuna Kanižlića i provela svoje djetinjstvo do dvanaeste godine života kad se s obitelji seli u Sesvete, Grad Zagreb. Ondje završava Osnovnu školu Luka I. s odličnim uspjehom te upisuje Srednju školu Sesvete s usmjerenjem Opća gimnazija. Nakon završene srednje škole, Mateja pristupa prijemnim ispitima na različitim prirodoslovno-biotehnološkim fakultetima, te 2009.godine upisuje preddiplomski studij Agroekologije na Agronomskom fakultetu u Zagrebu kojeg uspješno završava 2013.godine. Iste godine, Mateja Barkijević upisuje diplomski studij Ekološke poljoprivrede i agroturizma.