

# Određivanje ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti u medu iz područja Bjelovarsko-bilogorske županije

---

Lacković, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University North / Sveučilište Sjever**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:122:974264>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**

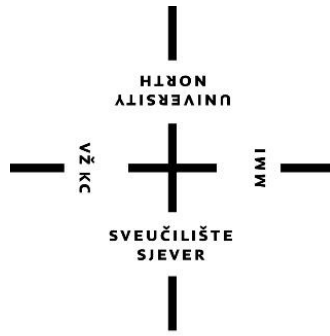


Repository / Repozitorij:

[University North Digital Repository](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI



# Sveučilište Sjever

Završni rad br. 31/PREH/2022

## **Određivanje ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti u medu iz područja Bjelovarsko- bilogorske županije**

**Ivana Lacković, 0336041602**

Koprivnica, rujan 2022. godine



# Sveučilište Sjever

**Prehrambena tehnologija**

**Završni rad br. 31/PREH/2022**

## **Određivanje ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti u medu iz područja Bjelovarsko-bilogorske županije**

**Student**

Ivana Lacković, 0336041602

**Mentor**

Ivana Dodlek Šarkanj, dipl.ing.preh.teh.

Koprivnica, rujan 2022. godine

# Prijava završnog rada

## Definiranje teme završnog rada i povjerenstva

ODJEL Odjel za prehrambenu tehnologiju

STUDIJ preddiplomski stručni studij Prehrambena tehnologija

PRISTUPNIK Ivana Lacković

MATIČNI BROJ 0336041602

DAYUM 29.08.2022.

KOLEGIJ Senzorske analize hrane

NASLOV RADA Određivanje ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti  
u medu iz područja Bjelovarsko-bilogorske županije

NASLOV RADA NA ENGL. JEZIKU Determination of total phenols and antioxidant activity  
in honey from Bjelovar-Bilogora County

MENTOR Ivana Dodlek Šarkanj, dipl.ing.preh.teh.

ZVANJE predavač

ČLANOVI POVJERENSTVA

1. prof.dr.sc. Nada Vahčić, predsjednica

2. doc.dr.sc. Dunja Šamec, članica

3. Ivana Dodlek Šarkanj pred., mentorica

4. izv.prof.dr.sc. Bojan Šarkanj, zamjena člana

VŠ KC

MMI

## Zadatak završnog rada

BROJ 31/PREH/2022

OPIS

Med je prirodno sladak proizvod što ga medonosne pčele proizvode od nektara medonosnih biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljka. Cilj ovog rada je da se na 5 različitih vrsta uzorka meda iz područja Bjelovarsko-Bilogorske županije odredi ukupni udio fenola i antioksidativni kapacitet meda. Udio ukupnih fenola određen je Folin-Ciocalteu metodom, dok je antioksidativni kapacitet određen FRAP metodom. Blagotovorna svojstva meda potječu od fenolnih spojeva i ujedno se smatraju najodgovornijima za antioksidacijski kapacitet meda.

ZADATAK URUČEN

31.8.2022

POTPIS MENTORA



SVEUČILIŠTE  
SJEVER

## **Predgovor**

Zahvaljujem se mentorici Ivana Dodlek Šarkanj, dipl.ing.preh.teh. na prilici za mentorstvo, strpljenu i pruženoj pomoći tokom izrade i provedbe eksperimentalnog dijela rada. Također bih se zahvalila na velikoj motivaciji i bezuvjetnoj pomoći te na svom uloženom trudu i vremenu koje je izdvojila za ovaj rad.

Zahvaljujem se i svojoj obitelji koja mi je omogućila studiranje i bila uz mene kroz ove tri godine. Također bih se zahvalila prijateljima i kolegama koji su ovaj studentski život učinili boljim i lakšim.

## Sažetak

Med je prirodan proizvod, slatkog okusa koji proizvode medonosne pčele. Izuzetno je zdrav proizvod i preporučuje ga se za učestalu konzumaciju. Cilj završnog rada bio je provesti analizu na 5 uzoraka meda iz područja Bjelovarsko-bilogorske županije, a to su medljikovac, amorfa, bagrem, cvjetni i med od uljane repice te odrediti udio ukupnih fenola i antioksidativni kapacitet. Koristile su se dvije metode, a to su Folin-Ciocalteu metoda za određivanje udjela ukupnih fenola i FRAP metoda za određivanje antioksidativnog kapaciteta. Kod analiziranih uzoraka raspon udjela ukupnih fenola kretao se od 21,8 do 123,6 mg galne kiseline/kg meda. Udio ukupnih fenola za medljikovac iznosio je 123,6 mg galne kiseline/kg meda, amorfe 33,0 mg galne kiseline/kg meda, bagrema 21,8 mg galne kiseline/kg meda, cvjetnog meda 44,4 mg galne kiseline/kg meda, meda od uljane repice 44,7 mg galne kiseline/kg meda. Raspon dobivenih rezultata za antioksidativni kapacitet kretao se od 78,74 do 907,95  $\mu\text{M}$  Fe(II). Prosječna vrijednost za medljikovac iznosila je 907,95  $\mu\text{M}$  Fe(II), amorfe 169,26  $\mu\text{M}$  Fe(II), bagrem 78,74  $\mu\text{M}$  Fe(II), cvjetni 238,21  $\mu\text{M}$  Fe(II), med uljane repice 173,21  $\mu\text{M}$  Fe(II).

Ključne riječi: med, antioksidativni kapacitet, FRAP, fenoli

## Summary

Honey is a natural, sweet product produced by honeybees. Honey is an extremely healthy product and is recommended for frequent consumption. The aim of this work was to analyze 5 samples of honey from the area of Bjelovar-Bilogora County, and these are honeydew, amorphous, acacia, flower and rapeseed honey, and to determine the proportion of total phenols and antioxidant capacity. Two methods were used, namely the Folin-Ciocalteu method for determining the proportion of total phenols and the FRAP method for determining the antioxidant capacity. In the analyzed samples, total phenolic content ranged from 21,8 to 123,6 mg of gallic acid/kg honey. Total phenolic content for honeydew was 123,6 mg of gallic acid/kg honey, amorphous 33,0 mg of gallic acid/kg honey, acacia 21,8 mg of gallic acid/kg honey, flower honey 44,4 mg of gallic acid/kg honey and rapeseed honey 44,7 mg of gallic acid/kg honey. The range of results obtained for antioxidant capacity ranged from 78,74 to 907,95  $\mu\text{M Fe(II)}$ . The average values for honeydew was 907,95  $\mu\text{M Fe(II)}$ , amorphous 169,26  $\mu\text{M Fe(II)}$ , acacia 78,74  $\mu\text{M Fe(II)}$ , flower honey 238,21  $\mu\text{M Fe(II)}$  and rapeseed honey 173,21  $\mu\text{M Fe(II)}$ .

Keywords: honey, antioxidant capacity, FRAP, phenols

## Popis korištenih kratica

<b>CAC</b>	kodeks alimentarius komisija ( <i>engl. Codex Alimentarius Commission</i> )
<b>HMF</b>	hidroksimetilfurfural
<b>HAT</b>	prijenos vodikovog atoma ( <i>engl. Hydrogen Atom Transfer</i> )
<b>SET</b>	prijenos jednog elektrona ( <i>engl. Single Electron Transfer</i> )
<b>ORAC</b>	kapacitet apsorpcije kisikovih radikala ( <i>engl. Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> )
<b>TRAP</b>	antioksidacijski kapacitet izražen kao Trolox ekvivalenti ( <i>engl. Total Radical Trapping Antioxidant Capacity</i> )
<b>FRAP</b>	antioksidacijska sposobnost redukcije željeza ( <i>engl. Ferric Reducing Antioxidant Power</i> )
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>TEAC</b>	antioksidativni kapacitet izražen kao Trolox ekvivalent ( <i>engl. Trolox Equivalent Antioxidative Capacity</i> )
<b>TPTZ</b>	(2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin)
<b>GAE</b>	galna kiselina



# Sadržaj

1.	UVOD.....	1
2.	TEORIJSKI DIO.....	3
2.1.	Med.....	3
2.1.1.	Vrste meda .....	3
2.2.	Proizvodnja meda.....	5
2.3.	Nutritivna svojstva meda.....	6
2.4.	Zdravstveni aspekt upotrebe meda.....	6
2.5.	Pokazatelji kakvoće meda .....	7
2.6.	Kemijski sastav meda.....	7
2.6.1.	Ugljikohidrati.....	7
2.6.2.	Voda.....	8
2.6.3.	Proteini i aminokiseline .....	8
2.6.4.	Enzimi .....	9
2.6.5.	Vitamini i mineralne tvari .....	9
2.6.6.	Fenolni spojevi.....	10
2.6.7.	Hidroksimetilfurfural (HMF).....	10
2.7.	Fizikalna svojstva meda .....	11
2.7.1.	Kristalizacija meda.....	11
2.7.2.	Viskoznost meda.....	12
2.7.3.	Higroskopsnost meda .....	12
2.7.4.	Električna vodljivost meda .....	13
2.7.5.	Optička aktivnost meda.....	13
2.8.	Senzorska svojstva meda.....	13
2.8.1.	Boja.....	14
2.8.2.	Miris meda .....	14
2.8.3.	Okus meda .....	15
2.8.4.	Aroma meda.....	15
2.9.	Antioksidativni kapacitet meda.....	15
2.9.1.	Metode određivanja antioksidativnog kapaciteta.....	16
3.	EKSPERIMENTALNI DIO .....	18
3.1.	Zadatak rada .....	18
3.2.	Materijali i metode .....	18
3.2.1.	Određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom .....	19

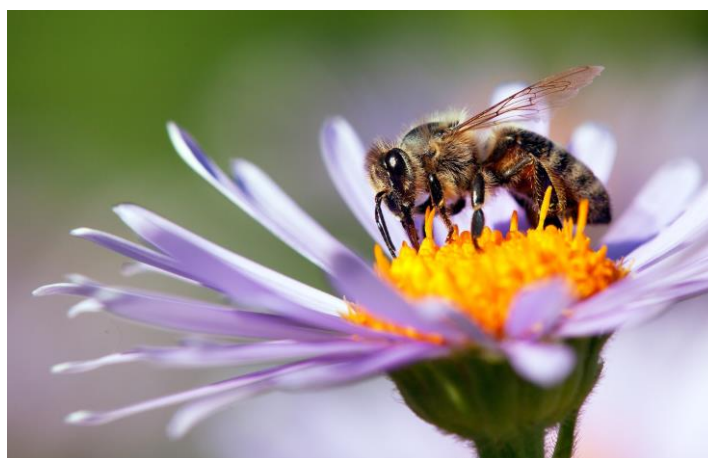
3.2.2. Određivanje antioksidativnog kapaciteta FRAP metodom.....	22
4. REZULTATI.....	24
5. RASPRAVA .....	27
6. ZAKLJUČAK .....	29
7. LITERATURA .....	34
Popis slika .....	38
Popis tablica.....	39



# 1. UVOD

Pčelarstvo je kompleksna poljoprivredna grana koja ima veliki gospodarski značaj, ne samo u Republici Hrvatskoj, već i u cijelome svijetu. Spaja ratarstvo, voćarstvo i prerađivačku industriju te je od posebnog ekološkog i društvenog značaja jer doprinosi očuvanju biološke raznolikosti [1]. Kao privredna djelatnost ima veliki značaj jer pčelinji proizvodi služe ljudima kao hrana, ali i kao lijek. Sve se više koriste kao sirovina za dobivanje nekih prehrambenih proizvoda.

Pčela je prirodni oprašivač čija je vrijednost puno veća od vrijednosti njenih proizvoda. Veliki broj biljnih vrsta (voća, povrća, krmnog bilja,...) koje čovjek uzgaja daju plod upravo zbog pčela i njihovog oprašivanja i stoga su važne u očuvanju biološke raznolikosti (slika 1.1.) [1]. Pretpostavlja se da je podrijetlom iz šumovitih dijelova južne i jugoistočne Azije (Indija) te da su se odande proširile na zapad [2].



Slika 1.1. Pčela oprašuje cvijet, izvor: <https://cff2.earth.com/uploads/2018/06/15142112/Sniffer-bees-show-surprising-potential-in-explosive-detection-.jpg>

Na stijenama spilje u Španjolskoj, u blizini Valencije, pronađeni su crteži na kojima su prikazana dva sakupljača (slika 1.2.) meda koji uzimaju med i saće iz gnijezda divljih pčela. Smatra se da je stara najmanje 8000 godina [3].



Slika 1.2. Sakupljači meda, izvor: <http://startbees.com/images/cavepainting.jpg>

U prošlosti, pčelarstvom su se bavili Egipćani, a potom Stari Grci i Rimljani. Med su koristili kao lijek za razne posjekotine i gastrointestinalne bolesti [3]. Med se smatrao jednom od bitnijih namirnica u ljudskoj prehrani sve do 19. stoljeća jer je bio jedini dostupan zaslađivač [4].

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Med

U Pravilniku o medu (NN 53/2015) med je opisan kao: „*prirodno sladak proizvod što ga medonosne pčele (Apis mellifera) proizvode od nektara medonosnih biljaka ili sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja.*“ [5].

Prema Komisiji Codex Alimentarius (CAC) med je definiran kao: „*Prirodnu slatku tvar koju od nektara biljaka ili izlučevina živih dijelova biljaka proizvode pčele medarice (Apis mellifera) tako da iste skupljaju, preinačuju dodajući im vlastite specifične tvari, odlažu, isušuju, pohranjuju i ostavljaju u saću da sazriju.*“ [6].

Med kao namirnica vrlo cijenjen kod osoba koji brinu o pravilnoj prehrani i vode zdrav način života jer je izuzetno nutritivno vrijedna namirnica. Poznat je po svom jedinstvenom i balansiranom sastavu, sportaši ga vole jer je prepun jednostavnih ugljikohidrata, odnosno glukoze i fruktoze, a oni se lako iskoriste za stvaranje energije. Za med se smatra da je izuzetno bogat ljekovitim svojstvima [1, 7].

#### 2.1.1. Vrste meda

Prema podrijetlu postoje dvije vrste, a to su cvjetni med i medljikovac.

**Cvjetni ili nektarni med** (slika 2.1.) pčele proizvode od slatkog soka (nektara) koji izlučuje medonosno bilje iz nektarija. Nektar u svom sastavu sadrži čak i do 80 % vode te šećer od kojih je najviše saharoze, glukoze i fruktoze. Svaka medonosna biljka (livadno cvijeće, bagrem, lipa) ima specifičan nektar karakterističan za tu biljku i zato imamo različite vrste meda (cvjetni med, bagrem, amorfa, lipin med,...) koji može potjecati od jedne vrste bilja i nazivamo ga uniflorni ili od više vrsta bilja, odnosno poliflorni [7, 8].

Unatoč nazivu uniflorni ne znači da je med proizveden samo od jedne vrste meda već da je većinski proizveden od jedne biljke, a to se određuje utvrđivanjem peludi i drugih čestica u medu. Pod uniflorne vrste meda spadaju bagremov med, livadni, med uljane repice i drugi. Poliflorni med u svome sastavu ima pelud i nektar od više vrsta biljaka. Uz peludnu analizu, kao i kod uniformog meda, bitno je odraditi organoleptičke i fizikalno-kemijske osobine kako bi identificirali med [7].



Slika 2.1. Cvjetni med, izvor: Autor

**Medljikovac ili medna rosa** (slika 2.2.) nastaje u bjelogoričnim i crnogoričnim šumama, ali može nastati i na ukrasnom bilju i korovu. Smatra se isključivo proizvodom životinjskog podrijetla jer nastaje iz ekstrakta kukaca roda *Hemiptera* koji sišu žive dijelove biljke [7]. Isisani i probavljeni sok biljke može se gomilati na stabljici kao sitne kapljice ili padati na zemlju. Kapljice medljike sadrže od 10 do 30 % suhe tvari od čega su veći dio ugljikohidrati (5-20 %) dok ostatak čine: pepeo (1-3 %), bjelančevine (0,03-3 %), vitamini, organske kiseline i enzimi. Najpoznatije vrste medljikovca su: hrastov, jelin i smrekin medljikovac [9].



Slika 2.2. Medljikovac, izvor: Autor

Prema Pravilniku o medu (NN 53/2015) med se razlikuje i prema načinu proizvodnje: „*Med u saću, med sa saćem ili dijelovima saća u medu, cijedeni med, vrcani med, prešani med, filtrirani i pekarski med.*“. Med u saću je med kojeg pčele spremaju u stanice saća, a prodaju se dijelovi ili cijela saća. Cijedeni med dobiva se kapanjem meda iz saća, a za dobivanje vrcanog

meda potrebna nam je centrifugalna sila. Za dobivanje filtriranog meda potrebno je odstraniti organski ili anorganski sediment u medu (uključujući i pelud). Prema Pravilniku o medu (NN 53/2015): „*Pekarski med je med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se pritom prerađuje i može imati strani okus ili miris, može biti u stanju vrenja ili prevrio ili biti pregrijan.*“ [5].

## **2.2. Proizvodnja meda**

Kako bi se proizveo med, pčele najprije moraju obaviti sakupljanje nektara iz medonosnog bilja i uskladištiti ga u košnicama. Pčele prvenstveno proizvode med da bi osigurale dovoljnu količinu hrane koja im je potrebna da bi preživjele zimski perioda bez nektara i peludi. Med se ne koristi samo za hranjenje legla, već je neophodan za pčele sakupljačice i pčele kućanice prilikom održavanja odgovarajuće temperature u zajednici. Također, med je od velikog značaja i za proizvodnju voska koji pčele kasnije koriste za proizvodnju saća. Sam proces proizvodnje meda započinje tako što pčela sleti na biljku, zatim pomoću rilca usisava nektar i pohranjuje ga u medni mjehur. Zatim pčela odlazi do drugoga cvijeta, postupak ponavlja sve dok se medni mjehur ne napuni [4].

Obilazak medonosnog bilja s kojeg će pčela uzeti nektar i napraviti med ovisi o koncentraciji šećera u nektaru i o udaljenosti samog bilja od košnice. Pčele će najprije sakupljati nektar iz bilja koje ima veću koncentraciju šećera, a kada se koncentracija šećera smanji ispod 4,5 %, pčele tu prestaju sakupljati nektar i prelaze na drugo medonosno bilje [10].

Da bi dobili jednu žličicu meda, pčela mora sletjeti na biljku oko 5 000 puta [4]. Sakupljeni nektar sadrži 30-80 % vode i 30-40 % saharoze od ukupnih šećera [10]. Prilikom povratka pčele u košnicu, ona konzumira jednu malu količinu nektara zbog velike potrošnje energije tijekom leta. Ostatak nektara u mednom mjehuru se miješa s enzimom invertazom koja postupkom hidrolize razlaže složeni šećer saharozu na jednostavne šećere glukozu i fruktozu [4].

Kada pčela sakupljačica donese nektar u košnicu, na red dolazi pčela kućanica te ga ona dalje probavlja tako što kap nektara stavlja na rilce, žvače te ga izlaže zraku. Nakon žvakanja i izlaganja zraku, nektar ima manju količinu vode od onoga koji je pčela sakupljačica donijela u košnicu zbog djelovanja enzima. Zatim se ta kap stavlja u stanicu saća te se postupak ponavlja sve dok se saće ne napuni do kraja. Nektar unutar saća još uvijek sadrži velike količine vode i zato svaka daljnja aktivnost koja se odvija vezana je za smanjenje količine vode, a to provode mašući krilima te tako postižu cirkuliranje zraka oko saća. Ponavljaju postupak sve dok se količina vode ne smanji ispod 20 % i zatim pčele saće poklapaju voštanim poklopcima i tako med ostaje u saći do upotrebe [4].



Pčele u košnici godišnje proizvedu oko 36 kg meda od potrebnom i zbog toga pčelari imaju bitnu ulogu u životu pčele tako što uklanjaju višak meda iz košnice. Med skupljaju tako što najprije prikupe okvire saća i uklanjaju voštane poklopce sa stanica saća. Zatim se okviri stavljaju u ekstraktor gdje se uz pomoć centrifugalnih sila omogućava izvlačenje meda iz saća [10].

### **2.3. Nutritivna svojstva meda**

Med je kompleksna prirodna mješavina čiji su glavni sastojci ugljikohidrati. Uz njih sadrži i oko 200 komponenata kao što su proteini, enzimi, aminokiseline, organske kiseline, vitamini, fenolni spojevi i minerali [11]. Od ugljikohidrata najvažniji su monosaharidi (fruktoza i glukoza) i smatra se da imaju važan utjecaj na ljudsko zdravlje [12]. Osim monosaharida, u medu su prisutne i manje količine disaharida kao što su saharoza i galaktoza, također i manje količine trisaharida i oligosaharida [13].

Od ostalih komponenti proteini zauzimaju 0,5 % ukupnog sastava meda, a čine ih slobodne aminokiseline i enzimi. Najznačajnija tri enzimi su: dijastaza (amilaza), invertaza (sukroza, saharaza) i glukoza oksidaza. [14]. Kiselost meda, odnosno njegova pH vrijednost iznosi od 3,2 do 4,5 i za nju su zaslužne organske kiseline iz meda [15]. Unatoč njihovoj maloj količini, svega 0,5 % u svježoj masi meda, organske kiseline imaju važnu ulogu u mnogim fizikalnim, kemijskim i senzorskim svojstvima. Organske se kiseline mogu koristiti i kao indikatori za otkrivanje svježine i autentičnosti meda [11].

U sastavu svih vrsta meda nalazi se i limunska kiselina čija se koncentracija može koristiti za razlikovanje medljikovca od cvjetnog meda jer je kod cvjetnog meda sadržaj limunske kiseline značajno manji [11]. Također, u medu je vrlo niska koncentracija vitamina i mineralnih tvari. Mineralnih tvari koje se nalaze u sastavu medu su: klor, natrij, magnezij, kalcij i fosfor, dok je kod vitamina najzastupljeniji vitamin C [16].

### **2.4. Zdravstveni aspekt upotrebe meda**

Tijekom prošlosti, med se prvenstveno upotrebljavao kao hrana, odnosno sladilo. Nešto kasnije, ljudi su ga počeli upotrebljavati i za liječenje upaljenog grla, ublažavanje kašlja, nanosili su ga na razna kožna oboljenja i služio im je za zacjeljivanje rana. Budući da nigdje nije bilo znanstvenih dokaza o djelotvornosti meda, pozitivne djelotvornosti su se isključivo bazirale na iskustvima [17].

## **2.5. Pokazatelji kakvoće meda**

U Pravilniku o medu (NN 53/2015) navedeno je da : „*Prije samog stavljanja meda na tržište ili upotrebe u nekom prehrambenom proizvodu, medu se ne smiju dodavati nikakvi prehrambeni aditivi niti neki drugi dodaci, ne smije imati stran miris i okus, biti u stanju vrenja, imati umjetno izmijenjenu kiselost ili biti zagrijavan tako da prirodni enzimi budu uništeni ili inaktivirani. U sastavu meda ne smiju biti organske i anorganske tvari koje prirodno nisu prisutne u njemu (zaostaci prilikom vrcanja, drvo,...). Također, sastavni dijelovi koji su karakteristični za med (pelud) ne smiju se uklanjati, osim ako je to neizbježno zbog uklanjanja stranih organskih i anorganskih tvari.*“ [5].

## **2.6. Kemijski sastav meda**

Po svom sastavu, med je vrlo složena prirodna smjesa. Za neke od tih komponenti zaslužno je podrijetlo same medonosne biljke, neke od njih pčele dodaju u med, a neki od njih nastaju u saću tijekom zrenja [18]. Sam sastav meda ponajprije ovisi o botaničkom podrijetlu jer i unutar istih vrsta meda može doći do promjena sastava, a na to mogu utjecati različiti čimbenici kao što su klimatske promjene ili zemljopisno podrijetlo [19].

### **2.6.1. Ugljikohidrati**

Ugljikohidrati su najzastupljeniji u sastavu, a glavni šećeri meda su monosaharidi fruktoza sa udjelom od 40 % i glukoza sa 34 %, a zatim slijedi saharoza sa udjelom od 5 % [14]. Omjeri šećera variraju kod svake vrste meda i uvjetuje ih djelotvornost enzima invertaze koji se nalaze u nektaru i pčelinjim žlijezdama te putem pčele dolaze u med [20]. Fruktoza i glukoza se smatraju važnim komponentama jer medu daju prepoznatljiv slatkast okus i energetska vrijednost [21].

Za fermentaciju meda važni su udjeli šećera i vode jer mogu spriječiti odvijanje fermentacije, tako naprimjer kod meda koji je pravilno skladišten i ima udio šećera veći od 83 % i količinu vode manju od 17,1 %, neće doći do fermentacije [21].

## 2.6.2. Voda

Udio vode ima veliki utjecaj na kvalitetu, stabilnost i kristalizaciju meda. Udio može varirati od 13 do 25 %, a na to utječu uvjeti skladištenja jer se zbog neprilagođenih uvjeta mijenja higroskopnost meda [22]. Prema Pravilniku o medu (NN 53/2015): „*Najviša dopuštena granica za količinu vode u medu iznosi 20 % te med koji ima veći udio od dozvoljenog ne bi trebao biti stavljen na tržište zbog povećanog rizika od fermentacije.*“ [5]. Prerano vrcanje meda može biti uzrok proizvodnje meda sa povećanim udjelom vode [18]. Također, na količinu vode može utjecati i pčela, odnosno njena pasmina i snaga zajednice u kojoj se ona nalazi te pčelar, odnosno način prerade i čuvanja meda [22]. Ako med u svome sastavu ima manje od 18 % vode ne bi trebalo doći do fermentacije, ali za fermentaciju nije važan samo udio vode u medu već i količina kvasaca te temperatura [21]. Pčelarima je također bitno da nemaju ni prenizak udio vode jer si tako otežavaju posao, odnosno teže će vratiti i preraditi med [23].

## 2.6.3. Proteini i aminokiseline

Udio proteina u medu je vrlo mali i može iznositi do 0,2 %. Proteini su bitni u medu jer mogu biti pokazatelj čistoće i patvorenja meda [24].

Aminokiselina koja je najzastupljenija u medu je prolin (50-85% ukupnih aminokiselina), a osim njega, u medu pronađene su sve esencijalne i neesencijalne amino kiseline, osim asparagina i glutamina [25].

Međunarodna komisija za med (*engl. International Honey Commission*) predložila je da se uz pomoć analize slobodnih aminokiselina, odnosno udjela prolina, odredi moguće patvorenje i zrelost meda. Tako su europski laboratoriji za kontrolu kvalitete meda dogovorili graničnu vrijednost udjela prolina i ona iznosi 180 mg/kg za nepatvoreni med [26].

Med se smatra izuzetno pogodnim za odvijanje Maillardove reakcije, reakcija neenzimatskog posmeđivanja, odnosno kondenzacije aminokiseline sa šećerom. Tvore žute i smeđe produkte što se očituje tamnjenjem meda, a uzrok tome je prisutnost proteina i slobodnih aminokiselina, slabo kisela pH vrijednost, niski aktivitet vode te velika količina reducirajućih šećera. Svi prethodno navedeni uvjeti omogućavaju provođenje reakcije već pri sobnoj temperaturi, a prilikom dugog skladištenja ili zagrijavanja meda brzina provođenja reakcije se povećava [27].

#### **2.6.4. Enzimi**

Udio enzima u medu je malen, neki su podrijetlom iz pelud i nektar, dok veći dio potječe od pčele koje one dodaju prilikom pretvaranja nektara u med. Također, jedna mala količina enzima može biti podrijetlom od bakterija i kvasaca koji su prisutni u medu [23].

Enzimi su biološki katalizatori, a njihova važnost za med je ta što ubrzavaju proces pretvaranja nektara u med [21]. Najznačajniji enzimi u medu su invertaza, diastaza, glukoza-oksidadza, kisela fosfataza i katalaza [23].

Razlika između meda i ostalih zaslađivača je u prisutnost enzima. Enzimatska aktivnost se koristi u analizama kako bi se odredila kvaliteta meda, zatim koliko je med zagrijavan, te kako je med čuvan i koliko je njegova trajnost. Enzimi, paralelno s proteinima u medu, daju medu jedinstvena obilježja koja se ne mogu nadomjestiti umjetnim putem i upravo zato su enzimi vrlo važne komponente meda [28].

#### **2.6.5. Vitamini i mineralne tvari**

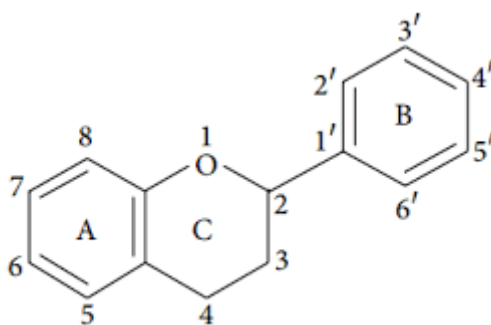
Med u svome sastavu sadrži vrlo male količine vitamina i stoga ga ne možemo smatrati značajnim izvorom vitamina u ljudskoj prehrani [21]. Glavni izvori vitamina u medu su nektar i pelud te iz toga razloga botaničko podrijetlo meda ima ulogu u zastupljenosti pojedinih vitamina. Vitamini B skupine (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>) su zastupljeni u većoj količini, dok se vitamin C uglavnom nalazi kod meda u saći [14, 23].

Mineralne tvari su količinski manje zastupljene u medu, svega od 0,02 do 1,03 %. Med sadrži gotovo sve elemente koji su od velike važnosti za ljudski organizam [29]. Elementi koje med sadrži zastupljeni su u različitim količinama, a prevladavaju kalij, fosfor, kalcij, natrij, silicij, željezo, sumpor, magnezij, bakar i mangan [19]. Također treba navesti i da su tamnije vrste meda bogatije mineralima. Medljikovac (0,29-1,29 %) sadrži više mineralnih soli od nektarnog meda (0,02-1,14 %). U medu se mogu pronaći i vrlo male količine teških metala kao što su olovo, krom, litij i nikel što može biti pokazatelj zagađenosti okoliša na području gdje se odvijala pčelinja paša [29].

### 2.6.6. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi nastaju kao sekundarni produkti biljnog metabolizma, a većinom sudjeluju u zaštitnom mehanizmu biljke. Dijele se na četiri velike skupine, a to su flavonoidi, fenolne kiseline, lignani i stilbeni [30]. Fenolni spojevi ponajviše potječu iz propolisa i nektara, a u nešto manjoj količini iz peludi (sadržaj flavonoida: 0,5% pelud, 10% propolis, 0,0006 % u medu) [19].

Osnovnu strukturu flavonoida (slika 2.3.) čine dva benzenska prstena povezanih propanskim lancem. U medu se nalaze tri skupine flavonoida, a to su flavoni, flavanoni i flavonoli [30].



Slika 2.3. Osnovna struktura flavonoida, izvor: M. Morović: Flavonoidi, Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, 2018.

### 2.6.7. Hidroksimetilfurfural (HMF)

Hidroksimetilfurfural (HMF) je ciklički aldehid koji nastaje dehidracijom glukoze i fruktoze u kiselom mediju. Smatra se jednim od pokazatelja kakvoće meda te indikatorom svježine i procesiranja meda [21, 31]. Prirodno je prisutan u svježem medu kod većine vrsta, ali njegov udio je vrlo mali (manje od 1 mg/kg) jer većinom nastaje kao međuprodukt u Maillardovim reakcijama. Skladištenjem i zagrijavanjem udio HMF-a se povećava, porast brzine je proporcionalan porastu temperature te se iz toga razloga udio HMF-a smatra indikatorom zagrijavanja i dugotrajnog skladištenja [31].

Za nastajanje hidroksimetilfurfurala su odgovorni razni uvjeti, a to su vrijeme zagrijavanja, temperatura, izloženost svjetlosti, uporaba metalne ambalaže, uvjeti skladištenja te različite kemijske značajke koje ovise o vrsti biljke od koje je dobiven med, a to su: ukupna kiselost, pH, količina mineralnih tvari i aktivnost vode [31].

Prema Komisiji Codex Alimentarius dopuštena količina hidroksimetilfurfurala za med proizveden u Hrvatskoj iznosi 40 mg/kg, iznimka su medovi koji dolaze iz tropskih zemalja i njihov dozvoljeni udio je do 80 mg/kg [6].

## **2.7. Fizikalna svojstva meda**

Fizikalna svojstva koja se očituju kod meda su: viskoznost, kristalizacija, električna vodljivost, higroskopsnost, optička aktivnost, specifična masa i indeks refrakcije. Vrijednosti parametara mogu biti jedinstvene i različite zbog razlika u kemijskom sastavu meda [28].

### **2.7.1. Kristalizacija meda**

Kristalizacija je potpuno normalan, prirodan proces koji se događa svakom medu i nema nikakav utjecaj na kemijski sastav i kakvoću meda [20]. Brzina kristalizacije uvelike ovisi o porijeklu meda, neke vrste će brže kristalizirati, a neke sporije. A to, hoće li med kristalizirati ili ne, prvenstveno ovisi o udjelu vode, sadržaju šećera, temperaturi skladištenja i načinu čuvanju meda. Tako će naprimjer medljikovac i med uljane repice (slika 2.4.) kristalizirati puno prije nego bagremov i kestenov med jer zbog velike količine melicitoze u svome sastavu mogu kristalizirati još i u saću [7].

Pojavu kristalizacije je moguće prepoznati po promijeni boje jer med postaje svjetliji, prestaje biti proziran, naziru se kristali i dolazi do promijene okusa. Iako med kristalizacijom ne gubi na svojoj kvaliteti, ona se nastoji izbjeći jer je potrošači smatraju lošom za med i izbjegavaju kupnju takvog meda [28].

Moguće je i dekrystalizirati med, ali kod tog postupka je jako važno paziti na temperaturu zagrijavanja jer ona ne smije prijeći 40 °C zbog gubitka nutritivnih svojstava, također se narušava i kvaliteta meda [7].



Slika 2.4. Kristalizirani med, izvor: <https://receptiasmir.files.wordpress.com/2016/11/kristalizacija-meda.gif>

### **2.7.2. Viskoznost meda**

Viskoznost je jedan od važnih svojstava meda i ovisi o načinu skladištenja, rukovanja i obrade. Definira se kao otpor tekućine na promjenu oblika te na njega utječu različiti faktori kao što su temperatura, sastav, veličina i količina kristala u medu. Temperatura ima značajnu ulogu u viskoznosti meda i njen najveći utjecaj je pri niskim temperaturama, ispod 15 °C. U normalnim uvjetima veći udio vode rezultira manju viskoznost, odnosno smanjenu ljepljivost i lakše izlivanje meda [32].

### **2.7.3. Higroskopnost meda**

Med je po prirodi izrazito higroskopan, odnosno da ima sposobnost upijanja i otpuštanja vode. Proces ovisi o udjelu vode u medu i relativnoj vlažnosti zraka [21]. Proces higroskopnosti traje sve dok ne dođe do ravnoteže, odnosno sve dok vlažnost u zraku ne bude 58 %, a količina vode u medu ne bude iznosila 17,4 %. Med s visokim udjelom vode je podložniji fermentaciji od meda koji ima manji udio vode u svome sastavu. Posljedica higroskopnosti je ta da je med podložniji kvarenju i fermentaciji [28].

#### **2.7.4. Električna vodljivost meda**

Električna vodljivost je usko povezana s koncentracijom organskih kiselina i mineralnih tvari. Što je veći udio organskih kiselina i mineralnih tvari, to je veća i električna vodljivost meda [33]. Milisimens po centimetru (mS/cm) je mjera za električnu vodljivost. Prema Pravilniku o medu (NN 53/2015): „*Nektarni i miješani med moraju imati električnu vodljivost najviše od 0,8 mS/cm, dok medljikovac i kestenov med moraju imati električnu vodljivost najmanje od 0,8 mS/cm. Iznimke su medovi eukaliptusa, vrijeska i lipe zbog prirodno velikih varijacija u električnoj vodljivosti.*“ [5].

#### **2.7.5. Optička aktivnost meda**

Med se smatra optički aktivnom otopinom jer ima sposobnost zakretanja ravninu polarizirane zrake svjetlosti koja prolazi kroz nju. Zakretanje se odvija zbog razlika u sastavu ugljikohidrata koji se nalaze u medu [28]. Tako naprimjer fruktoza zakreće ravninu ulijevo, dok ostali ugljikohidrati, kao što su glukoza, disaharidi, trisaharidi i viši oligosaharidi, zakreću udesno. Zakretanjem se pokazuje kakvu optičku aktivnost ima med, odnosno ako se zakreće ulijevo im negativno optičku aktivnost, dok zakretanje udesno pokazuje pozitivnu optičku aktivnost [21]. Nektarni med u svome sastavu ima veći udio fruktoze u odnosu na medljikovac i zato se mjerenje optičke aktivnosti koristi u prepoznavanju vrste meda [34].

#### **2.8. Senzorska svojstva meda**

Senzorska analiza je nezaobilazni dio u procjeni kvalitete meda. Senzorska svojstva meda ovise o zemljopisnom podrijetlu jer kod svake vrste meda prezentiraju svoje vlastite osjetilne i senzorske karakteristike te tako definiraju njihovu kvalitetu. Tako se senzorska analiza može koristiti kao nadopuna fizikalno-kemijskoj i peludnoj analizi. Senzorske analize imaju različite ciljeve, a neki od njih su opisati i objasniti senzorska svojstva, procijeniti tipičnost sorte i identificirati moguće mane meda. Senzorska analiza je bitna, ali ne i jedini kriterij kvalitete meda [21, 35].



### 2.8.1. Boja

Boja je jedan od senzorskih parametara koji se procjenjuju tokom senzorske analize. Može varirati od svjetlijih nijansi žutu pa sve do tamno smeđe boje. Analiza boje se koristi za razlikovanje vrste meda. Svjetlije nijanse meda su povezane sa bagremovim medom, dok tamnosmeđa boja odlikuje kestenov med. Najtamnija vrsta meda je medljikovac. Boja meda je povezana sa više faktora. Dio njih je povezan sa botaničkim podrijetlom kao što su vrsta biljke, tlo, klima i godišnje doba. Osim prirode, na boju utječe i samo rukovanje medom, odnosno način proizvodnje i skladištenja meda. Procjena boje se može određivati ljudskim okom ili uređajem, a izražava se prema klasifikaciji Američkog odjela za poljoprivredu ili u milimetrima ljestvice po Pfundu. Prema Pfundovoj ljestvici boja meda je podijeljena u sedam kategorija i prikazane su u **Tablici 1** [28, 35].

**Tablica 1** Klasifikacija boje meda prema Pfundovoj ljestvici, izvor: USDA Agricultural Marketing Service: United States Standards for Grades of Extracted Honey, 1985.

USDA standardi boje	Pfundova skala (mm)
Bezbojna	0 – 8
Jako bijela	8 – 17
Bijela	17 – 34
Jako svijetli jantar	34 – 50
Svijetli jantar	50 - 85
Jantar	85 – 114
Tamni jantar	>114

### 2.8.2. Miris meda

Miris meda određuju biljke od kojih je proizveden med, odnosno od kojih je dobiven nektar. Mirisne tvari su lako hlapljive pa tako zagrijavanjem ili čuvanjem meda, miris slabi ili čak i nestaje, a to su kiseline, alkoholi, aldehidi, esteri, ketoni, fenoli, itd. Provjerom mirisa meda može se odrediti zemljopisno podrijetlo karakteristične sorte, nepoželjno zagrijavanje ili dugo i loše skladištenje meda [20, 28].

### **2.8.3. Okus meda**

Med je prepoznatljiv po svojoj slatkoći za koju su zaslužni udjeli i omjeri fruktoze, glukoze, eteričnih ulja, organskih kiselina i aminokiselina. Neke vrste mogu biti gorke, kao što je med od kestena. Osim na miris meda, zagrijavanje može utjecati i na promjenu okusa meda te tako nakon fermentacije može poprimiti kiseli okus. Ukoliko se med zagrijava ili skladišti dulje vrijeme na visokim temperaturama, tada će isto doći do promijene okusa iz slatkog u kiseo [21, 28].

### **2.8.4. Aroma meda**

Aroma meda dolazi od aromatičnih aldehida, terpena, diacetila, eteričnih ulja, hlapljive i nehlapljive kiseline te metilacetilkarbamata. Kod svježeg meda je aroma bogatija jer tijekom kristalizacije aroma slabi zbog uklapanja eteričnih ulja u kristale. Tijekom Maillardovih reakcija nastaju aromatski karbonili kao anisalaldehid, vanilin, benzaldehid, fenilacetaldehid i acetofenon, a oni su bitni u sastavu meda jer doprinose aromi meda [19].

## **2.9. Antioksidativni kapacitet meda**

Mjerenjem antioksidativnog kapaciteta prikazuje se sposobnost neke vrste meda da reducira i zaustavlja štetne oksidativne reakcije u hrani, pa tako i u organizmu [36].

Antioksidacijski kapacitet je predložen za indikatora prisutnih poželjnih bioaktivnih sastojaka u medu jer je med bogat prirodnim antioksidansima. Svaka vrsta meda se može razlikovati u sadržaju polifenola i u enzimskoj aktivnosti [37]. Antioksidativni kapacitet meda ovisi o sadržaju polifenola jer su oni bitni za karakterističnu boju pojedinih vrsta meda, odnosno njihov intenzitet za koje su odgovorni pigmenti kao što su flavonoidi i karotenoidi. Tako naprimjer, tamnije vrste meda (kesten i medljikovac) prilikom analiza pokazuju više vrijednosti antioksidacijskog kapaciteta te više koncentracije fenolnih kiselina, karotenoida i flavonoida u odnosu na svjetlije vrste (bagrem, cvjetni) [38].

Sva blagotvorna svojstva koja med posjeduje potječu upravo od fenolnih spojeva i smatraju se najodgovornijim za antioksidacijski kapacitet meda. Udio ukupnih fenola u medu varira od 56 do 500 mg/kg, ovisno o vrsti meda [14].

## 2.9.1. Metode određivanja antioksidativnog kapaciteta

Antioksidativni kapacitet se ne mjeri standardnom metodom, već je potrebno koristiti više metoda jer se jednom metodom ne može odrediti profil aktivnosti svih prisutnih antioksidanasa. Mogu deaktivirati slobodne radikale na dva načina, a to su HAT (*engl. Hydrogen Atom Transfer*) i SET (*engl. Single Electron Transfer*) mehanizam [39].

Metode temeljene na HAT mehanizmu mjere sposobnost antioksidanasa da ugasi slobodne radikale doniranjem vodika. One nisu ovisne o pH vrijednosti i otapalu sustava te ne traju dugo. Najkorištenije metode su ORAC (*engl. Oxygen Radical Absorbance Capacity*) i TRAP (*engl. Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*) metoda [39].

Dok su HAT metode brze, metode na principu SET mehanizama dugo traju i ovise o pH vrijednosti i otapalu sustava. Otkrivaju sposobnost mogućeg antioksidansa da prenese jedan elektron kako bi reducirao bilo koji spoj, uključujući radikale, metale i karbonile. Nije bitna kinetika reakcije, već postotak smanjenja koncentracije slobodnih radikala. Najviše se koriste tri metode, a to su FRAP (*engl. Ferric Reducing Antioxidant Power*), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) i TEAC (*engl. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) metoda [40].

### 2.9.1.1. DPPH metoda

DPPH je kratica za organski kemijski spoj 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil koji je sastavljen od stabilnih molekula slobodnih radikala. Metoda se bazira na prijenosu elektrona te prilikom reakcije s antioksidansima dolazi do redukcije, a krajnji produkt je žute boje. Njegova promjena boje mjeri se pri oko 520 nm [40].

Korištenje DPPH metode pruža brz i jednostavan način za procjenu antioksidanasa spektrofotometrijski. Jedini problem kod ove metode je moguća pojava krivih rezultata jer neke komponente imaju apsorpcijski spektar u istom području valnih duljina kao i DPPH [40, 41].

### 2.9.1.2. FRAP metoda

FRAP je metoda koja se koristi kod antioksidativnih analiza. Temelji se na principu redukcije kompleksa trovalentnog željeza ( $\text{Fe}^{3+}$ ) sa TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin) u kompleks dvovalentnog željeza  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ pomoću antioksidanasa pri niskoj pH vrijednosti. Krajnji produkt ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ) je plave boje i očitavanje promjene boje se mjeri pri 593 nm. Prednost ove metode je ta što je brza i jednostavna te se za izvedbu analize ne koristi visoko specijalizirana oprema. Najveći problem kod FRAP metode je taj što se može pojaviti pogreška tokom

mjerenja, odnosno može doći do povećanja FRAP vrijednosti zbog redukcije željeza iz  $\text{Fe}^{3+}$  u  $\text{Fe}^{2+}$  oblik kod komponenti koje imaju manji redoks potencijal od  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  parcijalne reakcije [40, 42].

### **2.9.1.3. Određivanje ukupnih fenola**

Osim DPPH i FRAP metode, za određivanje antioksidativnog kapaciteta meda potrebno je odrediti i ukupne fenole u uzorcima što se često radi uz pomoć Folin-Ciocalteu reagensa sa galnom kiselinom kao standard. Temelji se na kemijskoj redukciji reagensa, a dobiveni produkti su plave boje. Intenzitet plavog obojenja se mjeri pri valnoj duljini od 765 nm [40, 43].

Metoda je brza i jednostavna te se vrlo često koristi, ali je potrebno paziti kako se ona provodi kako ne bi došlo do mogućih promjena rezultata [40].

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. Zadatak rada

Cilj istraživanja bio je odrediti antioksidativni kapacitet i udio ukupnih fenola 5 vrsta meda s područja Bjelovarsko-bilogorske županije: medljikovac, amorfa, bagrem, cvjetni i med od uljane repice.

### 3.2. Materijali i metode

Prilikom analize korišteno je 5 vrsta meda sa područja Bjelovarsko-bilogorske županije prikupljenih tijekom 2022. godine (slika 3.1., Tablica 2).

Medljikovac je vrsta meda koji se ne dobiva od nektara već od medne rose. Amorfa je vrsta meda koja je dosta slična medu od bagrema, blagog je okusa, bakreno crvene boje. Bagremov med poznat je po svojoj svijetloj boji i vrlo blagom okusu. Cvjetni med nastaje od nektara koji su pčele prikupila sa raznog livadnog cvijeća, a boja i okus mu ovise o zastupljenosti biljnih vrsta u njemu. Med od uljane repice je bijele do blago žute boje i poznat je po brzom kristalizaciji, odnosno bijelim kristalima [8].



Slika 3.1. Uzorci meda korišteni za analizu, izvor: Autor

**Tablica 2** Analizirani uzorci meda, izvor: Autor

<b>VRSTA MEDA</b>	<b>GODINA PROIZVODNJE</b>	<b>OZNAKA UZORKA</b>
<b>Medljikovac</b>	2022.	<b>M1</b>
<b>Amorfa (<i>Amorpha fruticosa</i>)</b>	2022.	<b>M2</b>
<b>Bagrem (<i>Robinia pseudoacacia</i>)</b>	2022.	<b>M3</b>
<b>Cvjetni</b>	2022.	<b>M4</b>
<b>Uljana repica (<i>Brassica napus L.</i>)</b>	2022.	<b>M5</b>

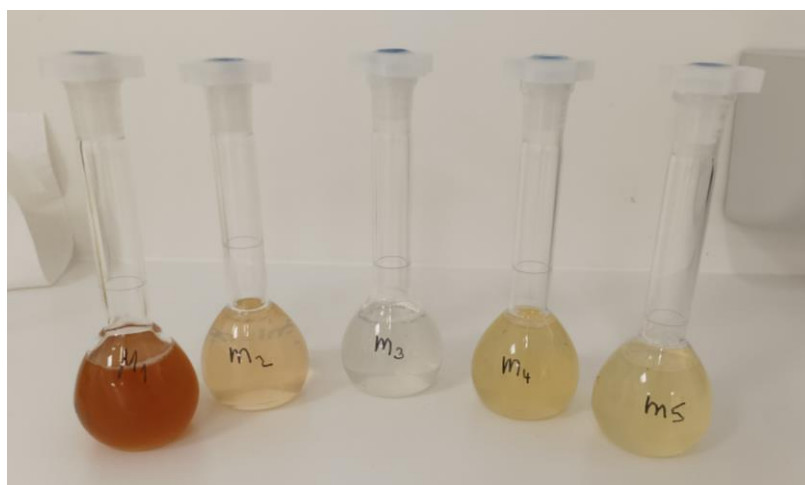
Određivanje ukupnih fenola provedenoj je pomoću Folin-Ciocalteu metode, a antioksidativni kapacitet pomoću FRAP metode. Za svaku analizu provodile su se dva paralelna mjerenja za svaki uzorak.

### **3.2.1. Određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom**

Za određivanje udjela ukupnih fenola korištena je Folin-Ciocalteu metoda koja se temelji na kemijskoj redukciji reagensa u kiselom mediju pri čemu dolazi do plavog obojenja produkta. Intenzitet plavog obojenja se mjeri pri valnoj duljini od 765 nm [45].

Najprije se odvaži 15 g meda koji se otopi u destiliranoj vodi i zatim se prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL (slika 3.2.). Pripremljene otopine meda pomiješaju se s 10 %-tnim Folin-Ciocalteu reagensom, pomiješaju se 2 minute na električnoj miješalici i ostave da odstoje 20 minuta na tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi (slika 3.3.). Nakon 20 minuta, smjesi se mjeri apsorbanacija pri 750 nm u odnosu na analog šećera koji se koristi kao slijepa proba.

Koncentracija ukupnih fenola izračunata je pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline (0,02 – 0,2 mg/mL). Rezultati su izraženi kao mg galne kiseline po kg meda (mg GAE/kg meda).



Slika 3.2. Pripremljene otopine meda, izvor: Autor



Slika 3.3. Uzorci otopina meda pomiješana s 10 %-tnim Folin-Ciocalteu reagensom, izvor: Autor

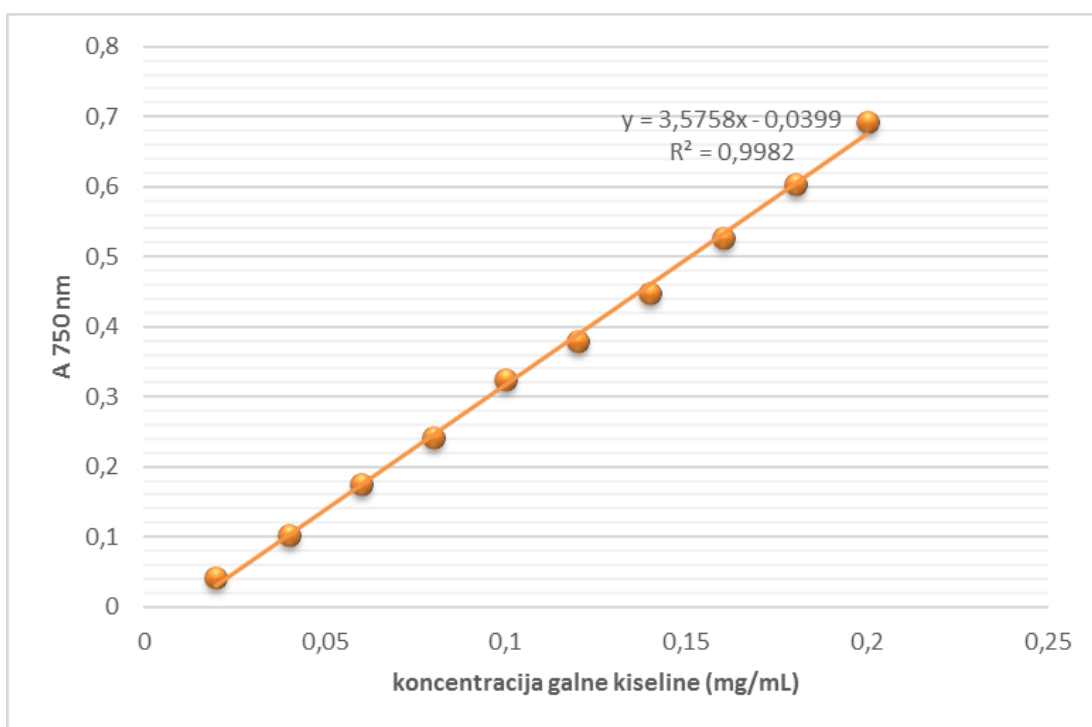
### 3.2.1.1. Izrada kalibracijske krivulje galne kiseline

Najprije se pripremi *stock* otopina galne kiseline te je potrebno napraviti 10 razrjeđenja u koncentracijama od 0,02 do 0,2 mg/kg. Nakon pripremljenih razrjeđenja potrebno je provesti isti postupak kao i kod pripreme uzoraka meda (slika 3.4.). Od svakog uzorka smo napravili dva ponavljanja i nakon dobivenih rezultata izradili kalibracijsku krivulju.



Slika 3.4. Razrjeđenja galne kiseline, izvor: Autor

Kalibracijska krivulja se izrađuje pomoću računalnog programa Microsoft Office Excel na temelju dobivenih rezultata. Kada se napravi krivulja, dobije se jednadžba pravca prema kojoj se kasnije izračunava koncentracija i udio ukupnih fenola.



Slika 3.5. Kalibracijska krivulja galne kiseline, izvor: Autor



### 3.2.2. Određivanje antioksidativnog kapaciteta FRAP metodom

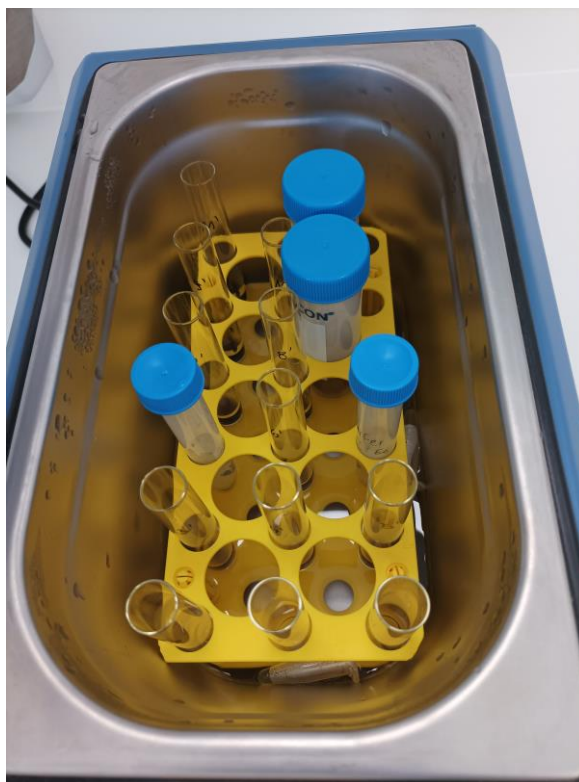
FRAP je metoda koja se koristi za mjerenje antioksidativnog kapaciteta. Razvijena je još 1996. godine od strane Benzie i Strain, ali 2005. godine Beretta i sur. prilagođavaju metodu kako bi se mogao odrediti ukupni antioksidativni kapacitet u medu [45].

Prije samoga mjerenja, najprije se mora pripremiti FRAP reagens.

Za njegovu pripremu potrebno je pomiješati 10 mM otopine TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazin) u 40 mM HCl, 20 mM željezo klorida ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ) i 0,3 M natrijevog acetatnog pufera (pH 3,6) u omjeru 1:1:10. Pripremljeni reagens tijekom analiza mora biti termostatiran na 37 °C u vodenoj kupelji.

Zatim se priprema otopina meda tako što se u destiliranoj vodi otopi 5 g meda i prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL. Od pripremljene otopine uzet je alikvot od 0,2 mL i pomiješan je 1,8 mL FRAP reagensa te sve ide na termostatiranje 10 minuta (slika 3.5. i 3.6.). Nakon termostatiranja na 37 °C smjesi se mjeri apsorbancija pri 593 nm u odnosu na slijepu probu (analog šećera).

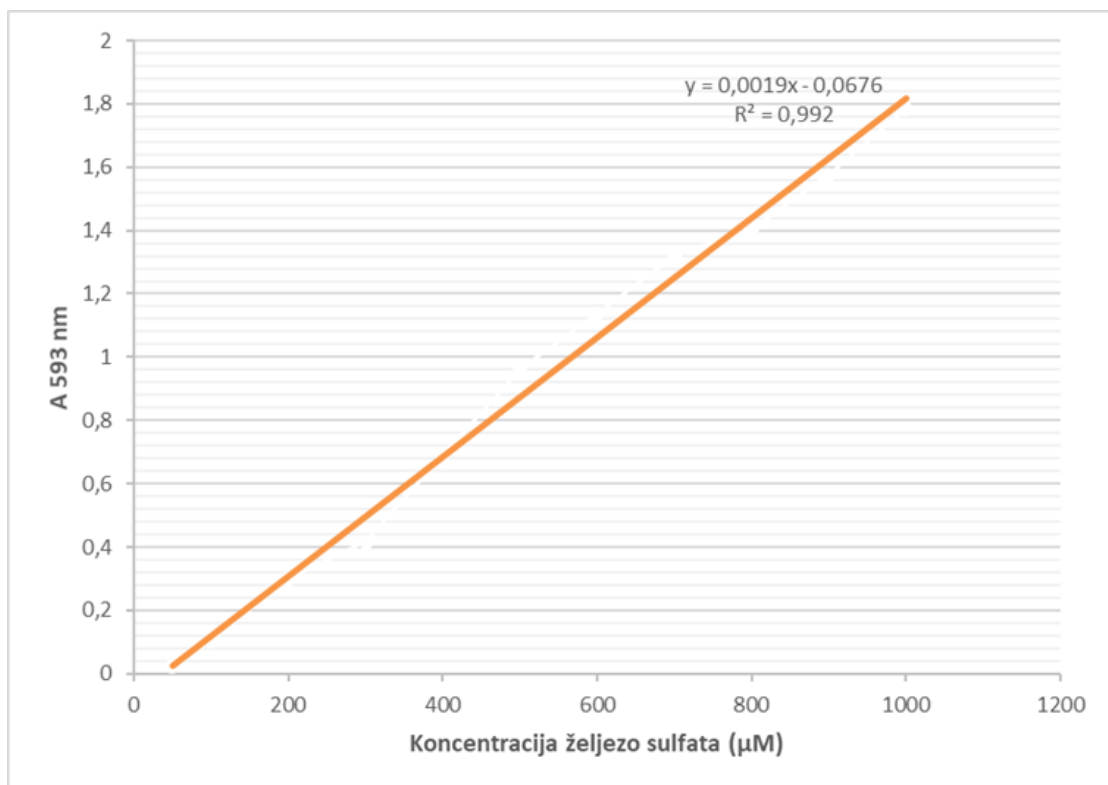
Za izračun FRAP vrijednosti koristile su se vodene otopine željezo sulfata ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ) u koncentracijskom rasponu od 50 do 1000  $\mu\text{M}$ .



Slika 3.6. Uzorci tijekom termostatiranja u vodenoj kupelji, izvor: Autor



Slika 3.7. Vodene otopine željezo sulfata prije mjerenja apsorbancije, izvor: Autor



Slika 3.8. Kalibracijska krivulja željezo sulfata određena FRAP metodom, izvor: Autor

## 4. REZULTATI

Cilj ovog rada bio je analizirati različite vrste meda iz Bjelovarsko-bilogorske županije, a analiziran je bio medljikovac, amorfna, bagremov, cvjetni i med od uljane repice. Za prikupljene uzorke provedeno je određivanje udjela ukupnih fenola pomoću Folin-Ciocalteu metode te je FRAP metodom određena antioksidacijska aktivnost.

Prvo je odrađena kalibracijska krivulja galne kiseline kao bi mogli odrediti udio ukupnih fenola u uzorcima meda.

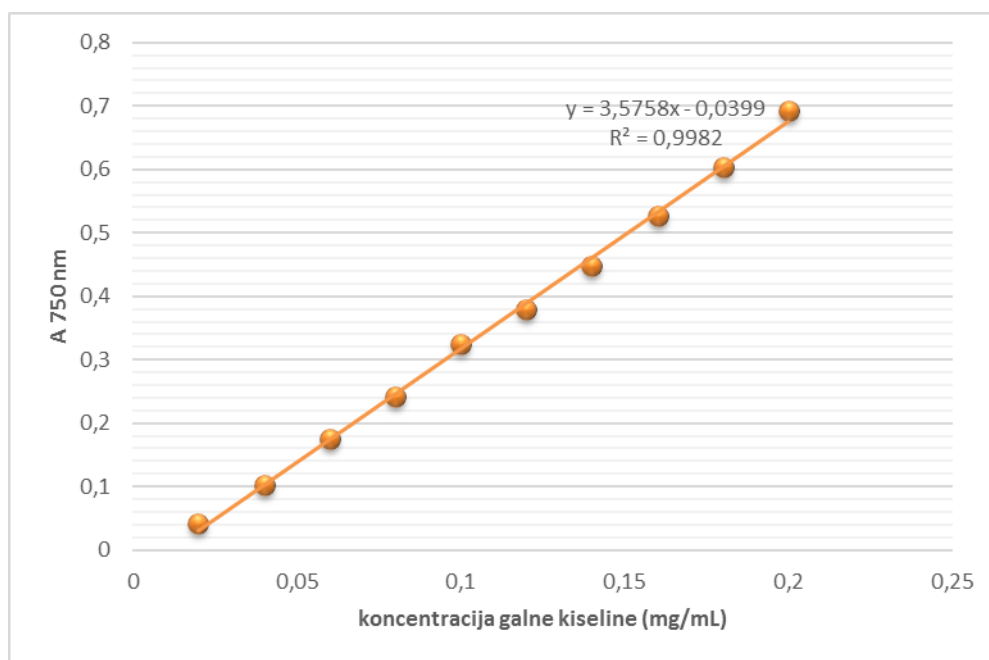
Na slici 4.1. prikazana je kalibracijska krivulja galne kiseline čija jednadžba glasi:

$$y = 3,5757x - 0,0399 \quad (1)$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 750 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg/mL)



Slika 4.1. Kalibracijska krivulja galne kiseline, izvor: Autor

Udio ukupnih fenola u korištenim uzorcima meda izračunava se uz pomoć dobivene jednadžbe pravce i to je prikazano u **Tablici 3**. Možemo vidjeti da je medljikovac imao najviši, dok je bagrem imao najniži udio ukupnih fenola. Što se tiče cvjetnog i meda uljane repice imali su približno jednake rezultate.

**Tablica 3** Udio ukupnih fenola u uzorcima meda, izvor: Autor

OZNAKA UZORKA	A 750 nm (prosječne apsorbancije)	Udio ukupnih fenola [mg galne kiseline/kg meda]
M1	0,402	123,6
M2	0,078	33,0
M3	0,038	21,8
M4	0,119	44,4
M5	0,12	44,7

Antioksidativni kapacitet se određuje FRAP metodom, ali najprije se mora izraditi kalibracijska krivulja željezo sulfata i ona je prikazana na slici 4.2.

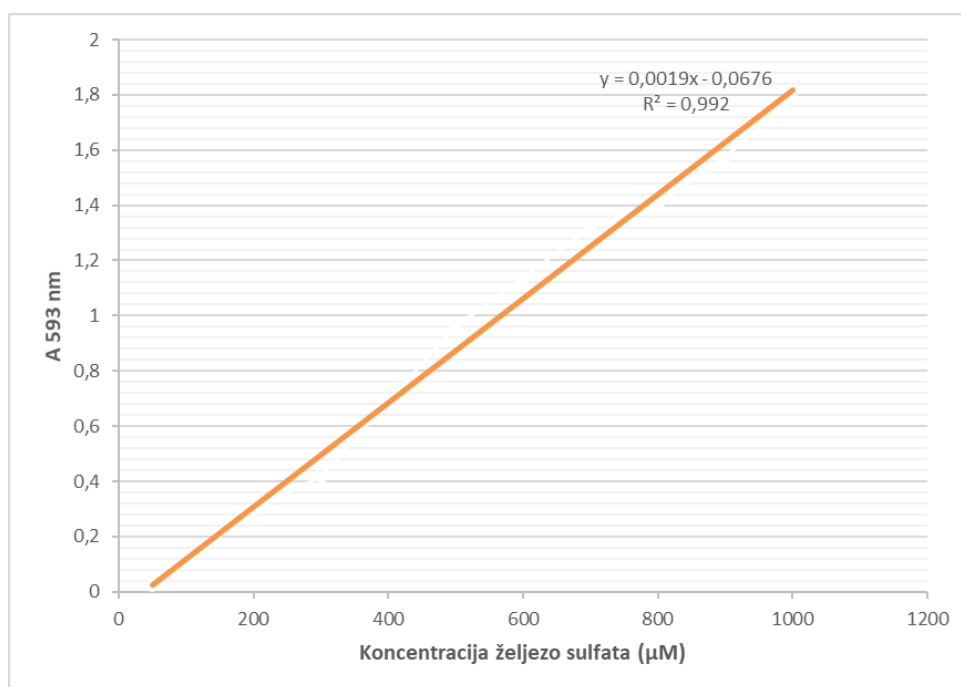
Jednadžba pravca glasi:

$$y = 0,0019x - 0,0676 \quad (2)$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 593 nm

x – koncentracija željezo sulfata ( $\mu\text{M}$ )



Slika 4.2. Kalibracijska krivulja željezo sulfata za FRAP metodu, izvor: Autor

Nakon što smo dobili jednadžbu pravca, FRAP metodom smo odredili antioksidativni kapacitet u uzorcima meda i dobiveni rezultati su prikazani u **Tablici 4**.

**Tablica 4** Rezultati određivanja antioksidativnog kapaciteta FRAP metodom u uzorcima meda, izvor: Autor

OZNAKA UZORKA	A 593 nm	FRAP vrijednost [ $\mu\text{M}$ Fe(II)]
M1	1,6575	907,95
M2	0,254	169,26
M3	0,082	78,74
M4	0,385	238,21
M5	0,2615	173,21

Prema dobivenim rezultatima može se vidjeti da medljikovac ima najviši antioksidativni kapacitet, dok bagrem ima najniži. Kod određivanja ukupnih fenola cvjetni i uljana repica su imali približno jednake rezultate, dok se ovdje rezultati uvelike razlikuju.

## 5. RASPRAVA

Svrha završnog rada bila je analizirati 5 vrsta meda (medljikovac, amorfa, bagrem, cvjetni, uljana repica) koji su prikupljeni na području Bjelovarsko-bilogorske županije i odrediti njihov udio ukupnih fenola i antioksidativni kapacitet.

Za određivanja udjela ukupnih fenola korištena je Folin-Ciocalteu metoda, a dobiveni rezultati su izraženi kao mg galne kiseline/kg meda. U pet analiziranih uzoraka raspon dobivenih rezultata za udio ukupnih fenola kretao se od 21,8 do 123,6 mg galne kiseline/kg meda te je prikazano u **Tablica 3**. Prema dobivenim rezultatima možemo zaključiti da vrsta meda uvjetuje udio ukupnih fenola te da tamnije vrste imaju veći udio od svjetlijih. Udio ukupnih fenola za medljikovac iznosio je 123,6 mg galne kiseline/kg meda, amorfne 33,0 mg galne kiseline/kg meda, bagrema 21,8 mg galne kiseline/kg meda, cvjetnog meda 44,4 mg galne kiseline/kg meda, meda od uljane repice 44,7 mg galne kiseline/kg meda. U istraživanju Beretta i sur. [45] analize su se provodile na uzorcima cvjetnog meda, dobivena srednja vrijednost ukupnih fenola iznosila je  $170,4 \pm 1,7$  mg galne kiseline/kg meda, dok su u istraživanju Bertoneclj i sur. [46] dobiveni rezultati iznosili od 126,8 do 194,6 mg galne kiseline/kg meda što je puno više od rezultata dobivenih tokom ovog istraživanja koji su iznosili 44,4 mg galne kiseline/kg meda. Nadalje, što se tiče meda uljane repice, prema istraživanju Lachman i sur. [47] udio ukupnih fenola varirao je od 89,60 do 96,79 mg galne kiseline/kg meda, što je više od dobivenih rezultata tokom istraživanja, a iznosili su 44,7 mg galne kiseline/kg meda. Što se tiče bagremovog meda, dobiveni rezultati su nešto manji od rezultata kod ostalih istraživanja. Dobiveni rezultati iznose 21,8 mg galne kiseline/kg meda, dok rezultati koje su proveli Beretta i sur. [45] i Bertoneclj i sur. [46] iznose 55,2, odnosno 44,8 mg galne kiseline/kg meda. Medljikovac ima nešto niži udio ukupnih fenola za razliku od podataka iz literature. Dobiveni rezultati iznose 123,6 mg galne kiseline/kg meda, dok rezultati prema istraživanju Beretta i sur. [45] iznose 255,6 mg galne kiseline/kg meda, dok kod istraživanja koje su proveli Lachman i sur. [47] rezultati variraju od 192,68 do 242,52 mg galne kiseline/kg meda.

Antioksidativni kapaciteta meda je određen FRAP metodom. Dobivene vrijednosti tokom ovog istraživanja prikazane su u **Tablici 4** i izražene su u  $\mu\text{M Fe(II)}$ . Raspon dobivenih rezultata kretao se od 78,74 do 907,95  $\mu\text{M Fe(II)}$ . Dobivena vrijednost za medljikovac iznosila je 907,95  $\mu\text{M Fe(II)}$ , amorfne 169,26  $\mu\text{M Fe(II)}$ , bagrem 78,74  $\mu\text{M Fe(II)}$ , cvjetni 238,21  $\mu\text{M Fe(II)}$ , med uljane repice 173,21  $\mu\text{M Fe(II)}$ . Najviši antioksidativni kapacitet je izmjeren kod medljikovca, dok je kod bagremovog meda izmjerena najniža vrijednost. Rezultati cvjetnog meda koji su dobiveni tokom istraživanja nešto su niža u odnosu na rezultate dobivene u istraživanju Beretta i sur. [45] gdje je u cvjetnom medu utvrđeno  $361,9 \pm 10,8$   $\mu\text{M Fe(II)}$ . Ali zato kod istraživanja

Bertoncelj i sur. [46], gdje su se rezultati kretali od 181,1 do 262,9  $\mu\text{M Fe(II)}$ , dobiveni rezultati se u potpunosti slažu sa rasponom kod njihovih istraživanja. Rezultati istraživanja bagremovog meda su zadovoljavajući, odnosno odgovaraju rezultatima dobivenim u istraživanjima u odnosu na rezultate iz istraživanja koje su proveli Beretta i sur. [45] na talijanskom i Krpan i sur. [48] na hrvatskom medu. Dobivene vrijednosti medljikovca za antioksidativni kapacitet su malo veće od rezultata istraživanja koje su proveli Beretta i sur. [45] i Lachman i sur. [47]. Dobiveni rezultati istraživanja iznose 907,95  $\mu\text{M Fe(II)}$ , dok literaturni rezultati istraživanja iznose od 699,10 do 887,12  $\mu\text{M Fe(II)}$ . Dobivene vrijednosti za med od uljane repice su niže u odnosu na rezultate provedene na rumunjskom medu uljane repicu u istraživanju koje su proveli Bobis i sur. [49] gdje je prosječna FRAP vrijednost iznosila 986,0  $\mu\text{M Fe(II)}$ .

Prema rezultatima dobivenim tokom ovog istraživanja, može se zaključiti da je med Bjelovarsko-bilogorske županije izuzetno dobre kvalitete. U prilog dobroj kvaliteti meda ide geografski položaj županije jer je omeđena Bilogorom i Moslavačkom gorom koje su poznate po bagremovim šumama te planinom Papuk na kojoj rastu šume hrasta medunca koje su bitne za proizvodnju medljikovca.

## 6. ZAKLJUČAK

Svrha završnog rada bila je provesti istraživanje na 5 uzoraka meda iz područja Bjelovarsko-bilogorske županije te odrediti udio ukupnih fenola i antioksidativni kapacitet pomoću FRAP metode. Nakon dobivenih rezultata i njihovom analizom može se zaključiti da se:

1. Udio ukupnih fenola značajno razlikuje ovisno o vrsti meda što je vidljivo iz dobivenih rezultata. Najveći udio ukupnih fenola imao je medljikovac, slijede ga med od uljane repice, cvjetni, amorfa, a najniži udio je imao bagrem. Dobiveni rezultati istraživanja su nešto niže vrijednosti u odnosu na dostupna literaturna istraživanja.
2. Rezultati određivanja antioksidativnog kapaciteta FRAP metodom prikazuju da je najniže izmjereni antioksidativni kapacitet kod bagremovog meda, zatim slijede amorfa, cvjetni, med od uljane repice, dok su najviše vrijednosti bile kod medljikovca. Dobivene vrijednosti kod bagrema se podudaraju sa dostupnom literaturom, dok se cvjetni med, uljana repica i medljikovac malo razlikuju od dobivenih vrijednosti kod ostalih istraživanja.
3. Bjelovarsko-bilogorska županija je, uz Virovitičko-podravsku, poznata po proizvodnji izuzetno kvalitetnog meda u većim količinama, pogotovo bagremovog. Od 2009. godine imaju i robnu marku bagremovog meda „Slatka nit“. U prilog razvoja pčelarstva u županiji ide i održavanje Međunarodnog pčelarskog sajma koji je najveći tog tipa u ovome dijelu Europe.





**IZJAVA O AUTORSTVU  
I  
SUGLASNOST ZA JAVNU OBJAVU**

Završni/diplomski rad isključivo je autorsko djelo studenta koji je isti izradio te student odgovara za istinitost, izvornost i ispravnost teksta rada. U radu se ne smiju koristiti dijelovi tuđih radova (knjiga, članaka, doktorskih disertacija, magistarskih radova, izvora s interneta, i drugih izvora) bez navođenja izvora i autora navedenih radova. Svi dijelovi tuđih radova moraju biti pravilno navedeni i citirani. Dijelovi tuđih radova koji nisu pravilno citirani, smatraju se plagijatom, odnosno nezakonitim prisvajanjem tuđeg znanstvenog ili stručnoga rada. Sukladno navedenom studenti su dužni potpisati izjavu o autorstvu rada.

Ja, IVANA LACKOVIĆ (ime i prezime) pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor/ica završnog/diplomskog (obrisati nepotrebno) rada pod naslovom ODREĐIVANJE UKUPANIH FENOLA I ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI U MEHU IZ PODRUČJA BIJELOVARSKO-BILOGORSKO ŽUPANIJE (upisati naslov) te da u navedenom radu nisu na nedozvoljen način (bez pravilnog citiranja) korišteni dijelovi tuđih radova.

Student/ica:  
(upisati ime i prezime)

Lacković Ivana  
(vlastoručni potpis)

Sukladno Zakonu o znanstvenoj djelatnosti i visokom obrazovanju završne/diplomske radove sveučilišta su dužna trajno objaviti na javnoj internetskoj bazi sveučilišne knjižnice u sastavu sveučilišta te kopirati u javnu internetsku bazu završnih/diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice. Završni radovi istovrsnih umjetničkih studija koji se realiziraju kroz umjetnička ostvarenja objavljuju se na odgovarajući način.

Ja, IVANA LACKOVIĆ (ime i prezime) neopozivo izjavljujem da sam suglasan/na s javnom objavom završnog/diplomskog (obrisati nepotrebno) rada pod naslovom ODREĐIVANJE UKUPANIH FENOLA I ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI U MEHU IZ PODRUČJA BIJELOVARSKO-BILOGORSKO ŽUPANIJE (upisati naslov) čiji sam autor/ica.

Student/ica:  
(upisati ime i prezime)

Lacković Ivana  
(vlastoručni potpis)

11.2%

Date: 2022-09-19 17:03 UTC

\* All sources 83 | Internet sources 39 | Organization archive 2 | Plagiarism Prevention Pool 5

- ✓ [0] [dr.nsk.hr/islandora/object/ptfos:895/datastream/PDF/view](#)  
6.0% 77 matches
- ✓ [1] [repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:633/datastream/PDF/view](#)  
4.4% 54 matches  
1 documents with identical matches
- ✓ [3] [zir.nsk.hr/en/islandora/object/ptfos:604/datastream/PDF/view](#)  
4.6% 52 matches
- ✓ [4] [repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:3480/datastream/PDF/view](#)  
1.9% 37 matches
- ✓ [5] [core.ac.uk/download/pdf/198177106.pdf](#)  
0.6% 19 matches
- ✓ [6] [repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:228/datastream/PDF/view](#)  
0.8% 19 matches
- ✓ [7] [core.ac.uk/download/pdf/197885846.pdf](#)  
0.3% 15 matches
- ✓ [8] [repositorij.unios.hr/islandora/object/ptfos:1917/datastream/PDF/download](#)  
0.6% 19 matches
- ✓ [9] [repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:3596/datastream/PDF/download](#)  
0.3% 18 matches
- ✓ [10] [repositorij.ktf-split.hr/islandora/object/ktfst:9/datastream/PDF/download](#)  
0.2% 17 matches
- ✓ [11] [repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:196/datastream/PDF/download](#)  
0.5% 14 matches
- ✓ [12] [repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:1398/datastream/PDF/download](#)  
0.3% 16 matches
- ✓ [13] [www.bib.irb.hr/972353/download/972353.Fizikalna-kemijska-i-antioksidativna-svojstva-meda-diplomski-rad-Ana-Maria-Crnoja-1.pdf](#)  
1.3% 20 matches
- ✓ [14] [zir.nsk.hr/islandora/object/vuka:167/datastream/PDF](#)  
0.3% 11 matches
- ✓ [15] [zir.nsk.hr/islandora/object/vuka:467/datastream/PDF/view](#)  
0.2% 9 matches
- ✓ [16] [zir.nsk.hr/islandora/object/pbf:2555/preview](#)  
0.4% 13 matches  
2 documents with identical matches
- ✓ [19] [zir.nsk.hr/islandora/object/vuka:169/datastream/PDF/download](#)  
0.4% 11 matches  
1 documents with identical matches
- ✓ [21] [repositorij.fazos.hr/islandora/object/pfos:1107/datastream/PDF/view](#)  
0.9% 13 matches
- ✓ [23] [gospodarski.hr/rubrike/pcelarstvo-rubrike/prilog-broja-medonosne-biljke-i-kvaliteta-meda/](#)  
0.1% 5 matches
- ✓ [24] [repositorij.kemija.unios.hr/islandora/object/kemos:284/datastream/PDF/view](#)  
0.4% 7 matches
- ✓ [25] [www.pcela.hr/mob\\_novost.php?no=12](#)  
0.0% 3 matches
- ✓ [26] [core.ac.uk/download/pdf/270119886.pdf](#)  
0.1% 6 matches
- ✓ [27] [repository.medri.uniri.hr/en/islandora/object/medri:3423/datastream/PDF/view](#)  
0.2% 6 matches
- ✓ [29] [from a PlagScan document dated 2020-08-23 08:31](#)

	0.2%	6 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [30]	<a href="zir.nsk.hr/islandora/object/efos:4811/datastream/PDF/view">zir.nsk.hr/islandora/object/efos:4811/datastream/PDF/view</a>	0.1% 4 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [31]	<a href="www.researchgate.net/publication/279483724_Antioksidanti_piva_i_vina_i_odredivanje_njihovog_antioksidativnog_kapaciteta">www.researchgate.net/publication/279483724_Antioksidanti_piva_i_vina_i_odredivanje_njihovog_antioksidativnog_kapaciteta</a>	0.2% 3 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [34]	"Balać Patricia Seminarski rad - Brze metode za detekciju mikroorganizama.docx" dated 2022-04-21	0.1% 4 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [37]	from a PlagScan document dated 2020-09-21 08:03	0.1% 4 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [39]	<a href="www.afc.kg.ac.rs/files/data/sb/zbornik/Zbornik_radova_-_SB2020_-_1a.pdf">www.afc.kg.ac.rs/files/data/sb/zbornik/Zbornik_radova_-_SB2020_-_1a.pdf</a>	0.1% 3 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [42]	<a href="repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:4107/datastream/PDF/view">repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:4107/datastream/PDF/view</a>	0.1% 4 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [45]	<a href="repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:2118/datastream/PDF/view">repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:2118/datastream/PDF/view</a>	0.0% 3 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [47]	<a href="repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:2109/datastream/PDF/view">repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:2109/datastream/PDF/view</a>	0.2% 3 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [48]	<a href="repositorij.vup.hr/islandora/object/vup:816/datastream/PDF/view">repositorij.vup.hr/islandora/object/vup:816/datastream/PDF/view</a>	0.1% 3 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [52]	<a href="zir.nsk.hr/islandora/object/ktfst:281/datastream/PDF/download">zir.nsk.hr/islandora/object/ktfst:281/datastream/PDF/download</a>	0.1% 3 matches 1 documents with identical matches
<input checked="" type="checkbox"/> [55]	<a href="repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:49/datastream/PDF/view">repositorij.pbf.unizg.hr/islandora/object/pbf:49/datastream/PDF/view</a>	0.1% 3 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [58]	<a href="repositorij.ktf-split.hr/islandora/object/ktfst:907/datastream/PDF/view">repositorij.ktf-split.hr/islandora/object/ktfst:907/datastream/PDF/view</a>	0.1% 3 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [60]	<a href="www.pmf.unizg.hr/_download/repository/Kemijski_seminar_1_Pavo_Zivkovic.docx">www.pmf.unizg.hr/_download/repository/Kemijski_seminar_1_Pavo_Zivkovic.docx</a>	0.2% 2 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [61]	from a PlagScan document dated 2019-10-05 20:19	0.0% 1 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [65]	<a href="www.researchgate.net/publication/341701822_Physicochemical_Properties_of_Honey_from_Federation_of_Bosnia_and_Herzegovina">www.researchgate.net/publication/341701822_Physicochemical_Properties_of_Honey_from_Federation_of_Bosnia_and_Herzegovina</a>	0.0% 1 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [68]	"Procjena nutritivnog statusa- Završni rad1.docx" dated 2020-09-19	0.1% 2 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [74]	<a href="zir.nsk.hr/islandora/object/vup:735/preview">zir.nsk.hr/islandora/object/vup:735/preview</a>	0.1% 2 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [75]	<a href="www.facebook.com/prodajaprirodnogmeda/photos/a.664468387302132/1029298944152406/?type=3">www.facebook.com/prodajaprirodnogmeda/photos/a.664468387302132/1029298944152406/?type=3</a>	0.0% 1 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [79]	<a href="lokalni.vecernji.hr/zupanije/oko-380-bilogorskih-pcelara-proizvede-160-tona-meda-na-godinu-13169">lokalni.vecernji.hr/zupanije/oko-380-bilogorskih-pcelara-proizvede-160-tona-meda-na-godinu-13169</a>	0.1% 1 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [80]	<a href="repositorij.fazos.hr/islandora/object/pfos:96/datastream/PDF/view">repositorij.fazos.hr/islandora/object/pfos:96/datastream/PDF/view</a>	0.1% 2 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [84]	from a PlagScan document dated 2017-07-11 13:41	0.0% 1 matches
<input checked="" type="checkbox"/> [88]	from a PlagScan document dated 2020-09-23 12:33	0.1% 1 matches

45 pages, 8394 words

PlagLevel: 11.2% selected / 20.1% overall

159 matches from 93 sources, of which 69 are online sources.

#### Settings

Data policy: Compare with web sources, Check against organization repository, Check against the Plagiarism Prevention Pool

Sensitivity: *Medium*  
Bibliography: *Consider text*  
Citation detection: *Reduce PlagLevel*  
Whitelist: --

## 7. LITERATURA

- [1] K. Batinić, D. Palinić: Priručnik o medu, Federalni agromediteranski zavod Mostar, Mostar, 2014.
- [2] <https://www.britannica.com/animal/bumblebee>, dostupno: 20.5.2022.
- [3] S. Nikhat, M. Fazil: History, phytochemistry, experimental pharmacology and clinical uses of honey: A comprehensive review with special reference to Unani medicine, *Journal of Ethnopharmacology*, 2022.
- [4] L. Bakir: Primjena testova sklonosti u senzorskoj procjeni meda, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 2020.
- [5] Pravilnik o medu, Narodne novine br. 53/2015. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015\\_05\\_53\\_1029.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_05_53_1029.html) (dostupno: 15.3.2022.)
- [6] Codex Alimentarius Commission: Revised Codex Standard for Honey, Codex STAN 12-1981, Rev. 1 (1987), Rev. 2 (2001), 2001.
- [7] Z. Laktić, D. Šukelja: Suvremeno pčelarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb, 2008.
- [8] N. Mikulić: Parametri kvalitete različitih vrsta meda iz sezone 2022., Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 2022.
- [9] L. Persano Oddo, L. Piana, S. Bogdanov, A. Bentabol, P. Gotsiou, J. Kerkivliet, P. Martin, M. Morlot, A. Valbuena Ortiz, K. Ruoff, K. Von der Ohe: Botanical species giving unifloral honey in Europe, *Apidologie*, 2004.
- [10] S. Mikac: Senzorska procjena meda koji nisu skloni kristalizaciji, Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 2016.
- [11] A. Keke, I. Cinkmanis: Determination of organic acids in honey samples from Latvian market by high-performance liquid chromatography, Latvia University of Life Sciences and Technologies, Latvia, 2019.
- [12] C. E. Manyi-Loh, A. M. Clarke, R. N. Ndip: Identification of volatile compounds in solvent extracts of honeys produced in South Africa, *African Journal of Agricultural Research*, 2011.
- [13] M. Sato, G. Miyata: The nutraceutical benefit, part iii: honey, *Nutrition*, 2000.
- [14] S. Bogdanov, T. Jurendić, R. Sieber, P. Gallmann: Honey for Nutrition and Health: a Review, *Journal of the American College of Nutrition*, 2008.
- [15] I. Mato, J. F. Huidobro, J. Simal-Lozano, M. T. Sancho: Significance of nonaromatic organic acids in honey, *Journal of food protection*, 2003.
- [16] L. Vorlova, A. Pridal: Invertase and diastase activity in honeys of Czech provenience, *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun*, 2002.

- [17] R. Jones: Honey and healing through the ages, International Bee Research Association, Cardiff, 2009.
- [18] R. Krell: Value – added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin, 1996.
- [19] E. Anklam: A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey, Food Chemistry, 1998.
- [20] P. Kapš: Liječenje pčelinjim proizvodima Apiterapija, Geromar, Udruga dobar život, Zagreb, 2013.
- [21] I. Mujić, V. Alibabić, D. Travljanin: Prerada meda i drugih pčelinjih proizvoda, Studiograf, Rijeka, 2014.
- [22] J. W. White, L. W. Doner: Honey composition and properties. Beekeeping in United States: Agriculture Handbook, 1980.
- [23] J. W. White: Honey, In The Hive and the Honey Bee, Dadant&Sons, Hamilton, Illinois, 2000.
- [24] S.R. Won, D. C. Lee, S. H. Ko, J. W. Kim, H. I. Rhee: Honey major protein characterisation and its application to adulteration detection, Food Research International, 2008.
- [25] I. Hermosin, R. M. Chiocon, M. D. Cabezudo: Free amino acid composition and botanical origin of honey, Food Chemistry, 2003.
- [26] S. Bogdanov, C. Lüllmann, P. Martin: Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Commission, 1999.
- [27] J. W. White: Honey composition and properties, Advances in food research, 1978.
- [28] S. Škenderov, C. Ivanov: Pčelinji proizvodi i njihovo korišćenje, Nolit, Beograd, 1986.
- [29] S. Bogdanov, M. Haldimann, W. Luginbühl, P. Gallmann: Mineral sin honey: environmental, geographical and botanical aspects, Journal of Apicultural Research, 2007.
- [30] C. Manach, A. Schalbert, C. Morand, C. Rémèsy, L. Jimenez: Polyphenols: food sources and bioavailability, The American Journal of Clinical Nutrition, 2004.
- [31] B. Fallico, E. Arena, M. Zappala: Degradation of 5-hydroxymethylfurfufal in honey, Journal of Food Science, 2008.
- [32] B. Bhandari, B. D'Arcy, S. Crow: Rheology of selected Australian honeys, Journal of food Engineering, br. 41, 1999, str. 65-69.
- [33] J. W. White, M. H. Subers, A. I. Schepartz: The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in honey glucose-oxidase system, Biochimica et Biophysica Acta, 1963.
- [34] S. Bogdanov, K. Rouff, I. P. Oddo: Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honey: a review, Apidologie, 2004.

- [35] <https://www.dlg.org/en/food/topics/dlg-expert-reports/sensory-technology/dlg-expert-report-11-2015>, dostupno: 27.8.2022.
- [36] P. Vit, A. Rodriguez-Malaver, C. Rondon, I. Gonzalez, M. Di Bernardo, M. Garcia: Bioactive indicators related to bioelements of eight unifloral honeys, *Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutricion*, 2010.
- [37] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur, J. Telser: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int. J. Biochem. Cell B.*, 2007.
- [38] J. M. Alvarez-Suarez, F. Giampieri, M. Battino: Honey as a Source of Dietary Antioxidants: Structures, Bioavailability and Evidence of Protective Effects Against Human Chronic Diseases, *Curr. Med. Chem.*, 2013.
- [39] H. Moharram, M. Youssef: Methods for Determining the Antioxidant Activity, *J. Fd. Sci. & Technol*, 2014.
- [40] R. L. Prior, X. Wu, K. Schaich: Standardised methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000.
- [41] D. Huang, B. Ou, R. L. Prior: The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005.
- [42] A. Karadag, B. Ozcelik, S. Saner,: Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2009.
- [43] Y. Zhong, F. Shahidi: Methods for the assessment of antioxidant activity in food, *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*, Woodhead Publishing, Cambridge, 2015.
- [44] J. A. Vinson, J. Proch, P. Bose: Determination of quantity and quality of polyphenol antioxidants in food and beverages, *Methods in Enzymology*, 2001.
- [45] G. Beretta, P. Granata, M. Ferrero, M. Orioli, R. M. Facino: Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics, *Analytica Chimica Acta*, 2005.
- [46] J. Bertoneclj, U. Doberšek, M. Jamnik, T. Golob: Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey, *Food Chem.*, 2007.
- [47] J. Lachman, M. Orsák, A. Hejtmánková, E. Kvárová: Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys, *LWT-Food Science and Technology*, 2010.
- [48] M. Krpan, D. Marković, G. Šarić, B. Skoko, M. Hruškar, N. Vahčić: Antioxidant activities and total phenolics of acacia honey, *Czech Journal of Food Sciences*, 2009.

[49] O. Bobis, L. Marghitas, D. Dezmirean, F. Chirila, R. Moritz: Preliminary Studies Regarding Antioxidant and Antimicrobial Capacity for Different Types of Romanian Honeys, Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, 2011.



## Popis slika

Slika 1.1. Pčela oprašuje cvijet, izvor: <a href="https://cff2.earth.com/uploads/2018/06/15142112/Sniffer-bees-show-surprising-potential-in-explosive-detection-.jpg">https://cff2.earth.com/uploads/2018/06/15142112/Sniffer-bees-show-surprising-potential-in-explosive-detection-.jpg</a> .....	1
Slika 1.2. Sakupljači meda, izvor: <a href="http://startbees.com/images/cavepainting.jpg">http://startbees.com/images/cavepainting.jpg</a> .....	2
Slika 2.1. Cvjetni med, izvor: Autor.....	4
Slika 2.2. Medljikovac, izvor: Autor .....	4
Slika 2.3. Osnovna struktura flavonoida, izvor: M. Morović: Flavonoidi, Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, 2018. ....	10
Slika 2.4. Kristalizirani med, izvor: <a href="https://receptiasmir.files.wordpress.com/2016/11/kristalizacija-meda.gif">https://receptiasmir.files.wordpress.com/2016/11/kristalizacija-meda.gif</a> .....	12
Slika 3.1. Uzorci meda korišteni za analizu, izvor: Autor.....	18
Slika 3.2. Pripremljene otopine meda, izvor: Autor .....	20
Slika 3.3. Uzorci otopina meda pomiješana s 10 %-tnim Folin-Ciocalteu reagensom, izvor: Autor .....	20
Slika 3.4. Razrjeđenja galne kiseline, izvor: Autor .....	21
Slika 3.5. Kalibracijska krivulja galne kiseline, izvor: Autor .....	21
Slika 3.6. Uzorci tijekom termostatiranja u vodenoj kupelji, izvor: Autor .....	22
Slika 3.7. Vodene otopine željezo sulfata prije mjerenja apsorbancije, izvor: Autor .....	23
Slika 3.8. Kalibracijska krivulja željezo sulfata za FRAP metodu, izvor: Autor .....	23
Slika 4.1. Kalibracijska krivulja galne kiseline, izvor: Autor .....	24
Slika 4.2. Kalibracijska krivulja željezo sulfata za FRAP metodu, izvor: Autor .....	25

## Popis tablica

<b>Tablica 1</b> Klasifikacija boje meda prema Pfundovoj ljestvici, izvor: USDA Agricultural Marketing Service: United States Standards for Grades of Extracted Honey, 1985.....	14
<b>Tablica 2</b> Analizirani uzorci meda, izvor: Autor .....	19
<b>Tablica 3</b> Udio ukupnih fenola u uzorcima meda, izvor: Autor .....	25
<b>Tablica 4</b> Rezultati određivanja antioksidativnog kapaciteta FRAP metodom u uzorcima meda, izvor: Autor.....	26