

# Određivanje antioksidativnog kapaciteta bagremova meda

---

Artić, Ema

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:122:230447>

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

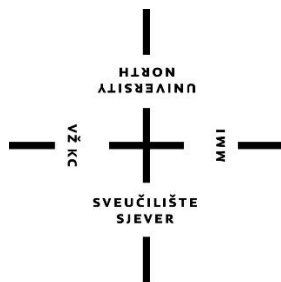
Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-23**



Repository / Repozitorij:

[University North Digital Repository](#)





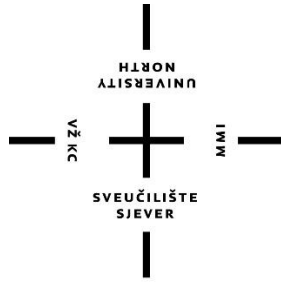
**Sveučilište  
Sjever**

**Završni rad br. 78/PREH/2024**

**Određivanje antioksidativnog kapaciteta bagremova meda**

**Ema Artić, 0336056906**

Koprivnica, rujan 2024. godine



# Sveučilište Sjever

**Prehrambena tehnologija**

**Završni rad br. 78/PREH/2024**

## **Određivanje antioksidativnog kapaciteta bagremova meda**

**Student**

Ema Artić, 0336056906

**Mentor**

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

Koprivnica, rujan 2024. godine

# Prijava završnog rada

## Definiranje teme završnog rada i povjerenstva

ODJEL	Odjel za prehrambenu tehnologiju		
STUDIJ	prijediplomski stručni studij Prehrambena tehnologija		
PRISTUPNIK	Ema Artić	MATIČNI BROJ	0336056906
DATUM	10.9.2024.	KOLEGIJ	Kontrola kakvoće i sigurnosti hrane
NASLOV RADA	Određivanje antioksidativnog kapaciteta bagremova meda		

NASLOV RADA NA ENGL. JEZIKU Determination of the antioxidant capacity of acacia honey

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

### ČLANOVI POVJERENSTVA

- doc.dr.sc. Dunja Šamec, predsjednica
- izv.prof.dr.sc. Natalija Uršulin -Trstenjak, član
- Ivana Dodlek Šarkanj, predavač, mentorica
- izv.prof.dr.sc. Bojan Šarkanj, zamjenski član
- 

## Zadatak završnog rada

BROJ 78/PREH/2024

### OPIS

Med je slatki proizvod koji pčele proizvode od nektara biljaka. Jedan od najcjenjenijih prirodnih proizvoda, koristi se kao prehrambeni proizvod koji ima povoljan učinak na zdravlje ljudi. Cilj završnog rada bio je provesti analize određivanja ukupnog udjela fenola i antioksidativnog kapaciteta na 5 uzoraka meda bagrema različitih proizvođača sa područja Varaždinske i Krapinsko - zagorske županije. Za provođenje analiza primijenjene su dvije metode, Folin-Ciocalteu metoda za određivanje ukupnog udjela fenola i DPPH metoda za određivanje antioksidativnog kapaciteta.

ZADATAK URUČEN 11.09.2024.

POTPIS MENTORA

SVEUČILIŠTE  
SJEVER



Zahvaljujem se mentorici Ivani Dodlek Šarkanj, dipl.ing.preh.teh. na pruženoj prilici za mentorstvo, strpljenju i svojoj potrebnoj pomoći pri izradi praktičnog dijela kao i korektnom vođenju pri izradi rada u cijelosti. Također se zahvaljujem na svim pruženim savjetima i neprestanoj motivaciji tijekom izrade.

Zahvaljujem se svojim roditeljima i mlađem bratu na konstantnoj podršci i strpljenju tijekom studiranja kao i vjeri u moj uspjeh. Za kraj se zahvaljujem kolegama i prijateljima koji su godine studiranja učinili lakšim i zabavnijim.

## Sažetak

Med je prirodni, slatki proizvod koji pčele proizvode od nektara biljaka. Jedan je od najcjenjenijih prirodnih proizvoda s kojim se čovječanstvo upoznalo od davnina. Koristi se kao prehrambeni proizvod koji ima povoljan učinak na zdravlje ljudi.

Cilj završnog rada bio je provesti analize određivanja ukupnog udjela fenola i antioksidativnog kapaciteta na 5 uzoraka meda bagrema različitih proizvođača sa područja Varaždinske i Krapinsko – zagorske županije. Za provođenje analiza primijenjene su dvije metode, Folin-Ciocalteu metoda za određivanje ukupnog udjela fenola i DPPH metoda za određivanje antioksidativnog kapaciteta. Kod analiziranih uzoraka rezultati su pokazali kako se udio ukupnih fenola kretao od 36,01 do 210,14 mg galne kiseline/kg meda. Rezultati uzoraka antioksidativnog kapaciteta kretali su se od 64,86 do 111,6 mg/mL.

Ključne riječi: med, antioksidativni kapacitet, ukupni fenoli, DPPH

## **Summary**

Honey is a natural, sweet product produced by bees from the nectar of plants. One of the most valued natural products that mankind has known since ancient times. It is used as a food product that has a beneficial effect on human health.

The goal of the final paper was to conduct analyzes of the determination of the total proportion of phenol and antioxidant capacity on 5 samples of acacia honey from different producers from the areas of Varaždin and Krapina - Zagorje counties. Two methods were used for the analysis, the Folin-Ciocalteu method for determining the total phenol content and the DPPH method for determining the antioxidant capacity. In the analyzed samples, the results showed that the proportion of total phenols ranged from 36.01 to 210.14 mg of gallic acid/kg of honey. The results of the antioxidant capacity samples ranged from 64.86 to 111.6 mg/mL.

Key words: honey, antioxidant capacity, total phenols, DPPH

## Popis korištenih kratica

- HMF** hidroksimetilfurfural
- ROS** reaktivne kisikove vrste (*engl. Reactive Oxygen Species*)
- HAT** prijenos vodikovog atoma (*engl. Hydrogen Atom Transfer*)
- SET** prijenos jednog elektrona (*engl. Single Electron Transfer*)
- ORAC** kapacitet apsorpcije kisikovih radikala (*engl. Oxygen Radical Absorbance Capacity*)
- TRAP** antioksidacijski kapacitet izražen kao Trolox ekvivalenti (*engl. Total Radical Trapping Antioxidant Capacity*)
- TOSC** ukupni kapacitet uklanjanja oksiradikala (*engl. Total Oxyradical Scavenging Capacity*)
- FRAP** antioksidacijska sposobnost redukcije željeza (*engl. Ferric Reducing Antioxidant Power*)
- DPPH** 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
- TEAC** antioksidativni kapacitet izražen kao Trolox ekvivalent (*engl. Trolox Equivalent Antioxidative Capacity*)
- FC** Folin-Ciocalteu reagens



# Sadržaj

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO.....</b>	<b>2</b>
2.1. Med.....	2
2.2. Proizvodnja meda.....	4
2.3. Kemijski sastav meda.....	6
2.4. Nutritivna svojstva meda.....	8
2.5. Antioksidativna svojstva meda.....	9
2.5.1. Metode određivanja ukupnih fenolnih spojeva.....	10
2.5.2. Metode određivanja antioksidativnog kapaciteta.....	11
<b>3. PRAKTIČNI DIO.....</b>	<b>14</b>
3.1. Zadatak rada.....	14
3.2. Materijali i metode.....	14
3.2.1. Određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom.....	15
3.2.2. Određivanje antioksidativnog kapaciteta DPPH metodom.....	16
<b>4. REZULTATI.....</b>	<b>18</b>
<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>20</b>
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>22</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>24</b>



## 1. UVOD

Med je širom svijeta dobro poznat zbog svog jedinstvenog okusa, slatkoće i blagodati za zdravlje. Jedini je zaslađivač koji se može skladištiti i koristiti točno onako kako je proizveden u prirodi, što znači da ne zahtijeva dodatnu obradu kako biste uživali u cijeloj zabilježenoj povijesti. [1].

Zbog svoje koncentrirane slatkoće i energetski kondenziranih svojstava, koristi se kao sastojak hrane već tisućljećima. Dokazi o njegovoj konzumaciji pronađeni su još u neolitu. Razne kulture, uključujući vedsku, egipatsku, rimsku, grčku, majansku, babilonsku i kinesku, konzumirale su med od davnina. Prva pojava pčelarstva započinje oko 2500. godine prije Krista u Egiptu, a zatim u različitim civilizacijama diljem svijeta [2].

Prirodni proizvodi korišteni su kao zamjena za razne konvencionalne tretmane i otkrića lijekova. Različita *in vivo* i *in vitro* istraživanja pokazala su da svojstva meda uključuju antioksidativna, antibakterijska, protuupalna, antikancerogena djelovanja i još mnogo toga. Nutritivna svojstva meda uvelike ovise o njegovom sastavu koji može varirati ovisno o specifičnim čimbenicima kao što su vrsta pčela, vrsta cvijeća, okolišni uvjeti i metode prerade. Antioksidativna i druga biološka svojstva meda uvelike su određena sastavom polifenola [2].

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Med

Prema Pravilniku o medu (NN 53/2015) med je definiran 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“ [3].

Prema standardu *Codex Alimentarius* med se definira kao: „prirodno slatka tvar koju pčele proizvode iz nektara biljaka ili iz izlučevina živih dijelova biljaka ili izlučevina insekata koji sišu sokove na živim dijelovima biljaka, koje pčele skupljaju, preinačuju dodavanjem vlastitih specifičnih tvari, talože, dehidriraju, pohranjuju i ostavljaju u saću da dozrije i sazrije“ [4].

Izraz "med" odnosi se na slatki proizvod koji prirodno proizvode pčele (*Apis mellifera*) iz nektara biljaka. U podnožju cvjetova nalaze se posebne žlijezde poznate kao "nektarije" koje proizvode nektar. [5]. Ovisno o cvjetovima koje pčele posjećuju, med može biti različite boje, mirisa i teksture [6].

Prema Pravilniku o medu (NN 53/2015) „med se osnovno može podijeliti:

a) Prema podrijetlu na:

- cvjetni ili nektarni med – dobiven od nektara biljaka,
- medljikovac ili medun: dobiven uglavnom od izlučevina kukaca (*Hemiptera*) koji žive na živim dijelovima biljaka ili od sekreta živih dijelova biljaka.

b) Prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja na:

- med u saće - med kojeg skladište pčele u stanicama svježe izgrađenog saća bez legla ili u satnim osnovama izgrađenim isključivo od pčelinjeg voska, koji se prodaje u poklopljenom saću ili u sekcijama takvog saća,
- cijedeći med - med koji se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla,
- vrcani med – med dobiven vrcanjem (centrifugiranjem) otklopljenog saća bez legla,
- prešani med – med dobiven prešanjem saća bez legla, sa ili bez korištenja umjerene temperature koja ne smije prijeći 45°C,
- filtrirani med - med dobiven na način koji tijekom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari dovodi do značajnog uklanjanja peludi“ [3].

Bagrem ili *Robinia pseudoacacia* je biljna vrsta koja pripada obitelji Fabaceae. Izvorno je porijeklom iz Sjeverne Amerike, široko je rasprostranjen u Europi, Turskoj, Kini, Južnoj Africi, Argentini, Čileu i australskim obalnim regijama zahvaljujući: svojoj prilagodljivosti klimatskim promjenama, učinkovitim metodama vegetativnog rasta, sposobnosti proizvodnje nektara kroz nektarije iz visećih cvjetnih grozdova i posjedovanju vrhunskog potencijala proizvodnje meda [7].



Slika 2.1. Pčela oprašuje cvijet bagrema [8]

Cvjetovi u obliku papilonata, poput *Robinia pseudoacacia*, pokazuju mehanizme blokiranja koji sprječavaju oslobađanje peludi: samo one pčele koje primjenjuju pravu silu na latice potiču taloženje peluda na njihovim tijelima. Pčele se smatraju lošim posjetiteljima takvih cvjetova, budući da su obično preslabe da bi aktivirale mehanizam. Unatoč tome, pčele često posjećuju cvjetove *R. pseudoacacia* i proizvode vrlo cijenjen cvjetni med [9].

Prema Pravilniku o kakvoći uniflornog meda (NN 122/09), „uniflorni med se može označiti prema određenoj biljnoj vrsti ako u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 45% peludnih zrnaca iste biljne vrste. Iznimno, med se može označiti nazivom Bagrem (*Robinia pseudoacacia* L.) ako je udio peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu najmanje 20%“ [10].

Vrste nektarnog meda mogu biti uniflorni ili poliflorni, ovisno da li sadrži jednu biljnu vrstu ili više njih, prikazano na slici 2.2. Također, postoje dva različita botanička porijekla meda kada je u pitanju sirovina izvorne biljke, cvjetni med ili med medljikovac. Pčele proizvode cvjetni med izvlačeći nektar iz medonosnih cvijeća u cvatu. Neka stabla i druge biljke proizvode medljikovac iz svojih izlučevina ili izlučevina insekata sisanjem biljaka – uglavnom

iz porodice *Aphididae* – na živim dijelovima biljaka. Sukladno tome, kemijski sastav meda usko je povezan s njegovom florom. Ovisno o geografskom položaju, na medonosnu floru utječu i različite karakteristike tla i klime. U usporedbi s medljikovcem, cvjetni med je tipično poznat po nižim vrijednostima električne vodljivosti, pH, udjelu pepela, kiselosti, tamnijoj boji, nižem udjelu oligosaharida i povećanom sadržaju monosaharida. Stoga je ključno identificirati vrstu meda kako bi se spriječilo krivotvorenje [11].



Slika 2.2. Usporedba bagremovog meda s drugim vrstama [12]

## 2.2. Proizvodnja meda

Sam početak proizvodnje meda, vidljivo na slici 2.4., kreće u prirodi s pčelama koje sakupljaju nektar iz medonosnog bilja te ga odnose i skladište u košnicu. Prvobitni razlog zbog kojeg pčele proizvode med jest da osiguraju dovoljne količine hrane za preživljavanje zimskog perioda tokom kojeg biljke ne proizvode nektar i pelud. Osim njihove upotrebe za hranjenje legala, med je prijeko potreban pčelama sakupljačicama koje troše velike količine energije prilikom sakupljanja nektara i peludi kao i pčelama kućanicama za održavanje odgovarajuće temperature u zajednici [13].

Međutim, med osim što je važan kao proizvod za sebe važan je i za proizvodnju voska pomoću kojeg pčele kasnije proizvode saće. Sama proizvodnja meda započinje s pčelom koja sleti na medonosnu biljku ili njen cvijet te pomoću rilca usisa nektar i pohrani ga u medni mjehur. Proces se ponavlja s prelaskom na druge cvjetove sve dok se medni mjehur ne napuni [13].

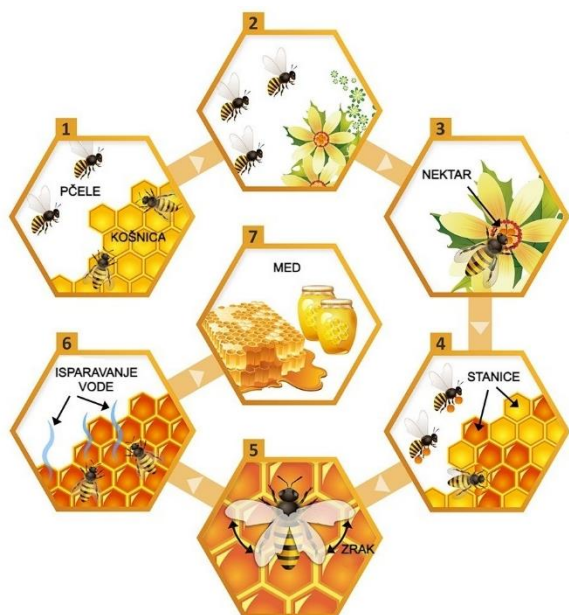
U procesu skupljanja nektara pčele dobro biraju na koji će cvijet sletjeti. Sve ovisi prvenstveno o udaljenosti od košnice i koncentraciji šećera u nektaru. Prvo skupi nektar s cvijeća koje ima veću koncentraciju šećera, no kad ta koncentracija padne pčele će napustiti taj cvijet i prestati sakupljati nektar sa njega [14].

Prikupljeni nektar sastoji se od 80% vode i 30 do 40% saharoze od ukupnih šećera koji se odnosi u košnicu gdje ga pčela sakupljačica predaje pčeli kućanici s obzirom da njezine žlijezde imaju veću sposobnost pretvaranja složenih šećera u jednostavne šećere [14].

Pčela ga potom razgrađuje tako da stavi kap nektara na rilo te ga žvače i izlaže zraku te na kraju kap odlaže u stanice saće. Proces traje dok se ćelije potpuno ne napune. Nakon toga dolazi do smanjenja količine vode prisutne u nektaru. Voda u nektaru počinje isparavati tokom transporta u košnicu i nastavlja isparavati u saćama. Stalnim mahanjem krilima pčela, povećava se protok zraka u košnici, čime se želi ubrzati proces isparavanja. Zahvaljujući tome, količina vlage je smanjena ispod 20%. Nektar se pretvara u med kada je udio suhe tvari u koncentracijama od 80 do 82% [13]. Nakon toga pčele poklapaju saće s voštanim poklopcem i tamo ostaje do upotrebe. Košnica na godišnjoj razini proizvede oko 36 kg meda, što je i više nego dosta, zbog čega je za pčelare ključno zbrinuti višak meda. Uklonjeni višak pčelari odnose na vrcanje u ručnim vrcaljkama, vidljivo na slici 2.3., te topljenje u parnom topioniku kako bi se dobio gusti, tekućasti med prikazano na slici 2.5. [14].



Slika 2.3. Vrcanje meda ručnom vrcaljkom [15]



Slika 2.4. Proces proizvodnje meda [16]



Slika 2.5. Proces obrade meda [17]

### 2.3. Kemijski sastav meda

Med je bogat ugljikohidratima i sadrži druge komponente kao što su voda, polifenoli, fenolni spojevi, proteini, aminokiseline, minerali, vitamini te preko 500 enzima. Sastav meda ovisi o čimbenicima kao što su: zrak, voda i tlo, geografska regija iz koje je sakupljen, vrsta cvijeća koje pčele posjećuju i uvjeti okoliša u kojem biljke rastu i sazrijevaju [2].

Najvažniji sastojci meda su ugljikohidrati. Ugljikohidrati u medu uglavnom su monosaharidi, glukoza i fruktoza, zatim slijede disaharidi i trisaharidi. Njihova svrha je doprinos energetske vrijednosti [18].

Prosječna količina ugljikohidrata u medu ne prelazi 82,3%. Oko 90% ukupnog sadržaja šećera u medu čine dva jednostavna šećera, fruktoza s udjelom od 40% i glukoza s udjelom od 30%. Količine i udjeli pojedinih šećera vrlo su varijabilni ovisno o botaničkom podrijetlu meda [19].

Omjer od jedne vrste ugljikohidrata u drugu ovisi o izvoru i donekle na enzim invertazu, koji razgrađuje saharozu u glukozu i fruktozu. Cvijet iz kojeg pčele uzimaju nektar sadrži ovaj enzim, koji je prisutan i u samom tijelu pčela. [19].

Bagremov med pokazuje jasno obilje fruktoze u usporedbi s glukozom s odnosnim omjerom između 1,59 i 1,67. Također, u medu se nalaze i drugi šećeri poput disaharida saharoze



s udjelom od 5% te maltoze i izomaltoze u malim količinama dok od trisaharida i viših šećera treba spomenuti melezitozu, erlozu, rafinozu, koibiozu, dekstrantriozu i melibiozu [5].

Prema Pravilniku o medu (NN53/2015) „količina fruktoze i glukoze zajedno za cvjetni med mora iznositi najmanje 60 g/100 g, dok količina saharoze općenito mora biti najviše 5 g/100 g, a za bagrem najviše 10 g/100 g“ [3].

Sadržaj vode u medu je ključni parametar kvalitete koji mu osigurava dugotrajnu svježinu i sprječava kvarenje od kvasaca. Sadržaj vode u medu, koji se kreće od 13 do 25%, utječe na različite aspekte poput njegove kristalizacije, viskoznosti i specifične težine, kao i na proces skladištenja i sposobnost otpornosti na mikrobiološka oštećenja [20].

Med sam po sebi može imati udio vode manji od 13%, a što je manji udio vode to je veća percipirana vrijednost meda. Poželjan je nizak udio vode jer med može početi fermentirati i izgubiti svježinu kvalitete ako je udio vode u medu veći od 20% [19].

Prema Pravilniku o medu (NN 53/2015) „najveća dozvoljena količina vode u medu je 20%“ [3]. U nepasterizirani med može dospjeti fermentirani divlji kvasac te fermentirati. No, zbog visoke koncentracije šećera u medu, manje je vjerojatno da kvasci uzrokuju fermentaciju u medu s niskim sadržajem vode [19].

Bjelančevine u medu dolaze iz nektara i peludi kao sastavnih dijelova biljaka. Proteini meda dolaze u različitim oblicima, kao složene strukture i jednostavni spojevi poput aminokiselina. Sadržaj aminokiselina i proteina relativno je mali, najviše 0,7 % [19].

Med sadrži gotovo sve fiziološki važne aminokiseline [19]. Sadrži glavnu aminokiselinu prolin, koja je mjera njegove zrelosti te čini 80 do 90% svih ostalih aminokiselina [21]. Njegova razina u medu ne smije biti manja od 200 mg/kg u usporedbi sa standardom [19].

Vrijednosti ispod 180 mg/kg znače da je med vjerojatno krivotvoren dodatkom šećera [19]. Osim prolina prisutne su i druge esencijalne i neesencijalne aminokiseline. Enzimi, kao što su dijastaza, katalaza, invertaza, glukoza-oksidaza i kisela fosfataza, u medu čine najveći udio proteina [21].

Kiseline doprinose karakterističnom okusu meda. Općenito, je njihova pH vrijednost u intervalima 3,4 te 6,2, ovisno o izvornim nektarima. Medovi od citrusa, bagrema, vrijeska, eukaliptusa, suncokreta, rododendrona i majčine dušice imaju pH vrijednost između 3,6 i 4,0, dok bi pH za med od kestena i medljike trebao biti između 5,2 i 5,5 [5]. Kiselost meda povezana

je s prisustvom brojnih organskih kiselina koje daju medu blago kiselu reakciju zbog oko 0,57% organskih kiselina. Kiseline doprinose aromi i antimikrobnom djelovanju meda [18].

## **2.4. Nutritivna svojstva meda**

Smatra se da je med uz izvrstan okus cijenjen zbog visoke nutritivne vrijednosti i doprinosi ljudskom zdravlju [11]. Od davnina se smatra vrlo važnim i vrhunskim nutrijentom u ljudskoj prehrani zbog mogućnosti da ga ljudi konzumiraju bez prerade, lake probavljivosti, nutritivnih svojstava i bioloških dobiti [18]. Ima brojna terapijska svojstva, uključujući antibakterijska i protuupalna svojstva koja pomažu u zacjeljivanju rana i opekline, kao i liječenju gastritisa [11]. Iako sadrži mnogo željenih bioaktivnih i antibakterijskih tvari, koje mogu biti dovoljne za antimikrobno djelovanje, ne može se proizvesti u dovoljnim količinama zbog niske aktivnosti vode u normalnim uvjetima [18]. Smatra se namirnicom visoke nutritivne vrijednosti zbog svog kemijskog sastava: 80-85 % ugljikohidrata, 15-17 % vode, 0,3 % bjelančevina, 0,2 % pepela, vitamina, aminokiselina, organskih kiselina, minerala, enzima, bioflavonoida i antioksidansa [20].

Prirodni je proizvod kojeg pčele izlučuju iz nektara cvijeća. Nutritivni je zaslađivač, čija svojstva proizlaze iz visokog sadržaja glukoze, a posebno fruktoze, te promjenjivog sadržaja minerala u tragovima. No, sadržaj vitamina nema nutricionistički značaj [1]. Sadrži makro i mikroelemente koji ovise o vrsti pčele, izvoru flore, ali i o okolišnim i procesnim čimbenicima [22]. Od značajnih minerala koji su bitni za metabolizam sadrži: kalij, klor, sumpor, kalcij, natrij, jod, mangan, krom, bakar, željezo, cink, magnezij, i selen. Od vitamina med sadrži B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, C, D, E, K [20].

Med se sastoji uglavnom od ugljikohidrata, a njihov utjecaj se, pored opskrbe tijela energijom, očituje kroz utjecaj na razinu glukoze u krvi. Brza apsorpcija monosaharida meda i sporiji metabolizam sadržaja fruktoze osnova su njegove popularnosti kao izvora brze energije za sportaše, ronioce i planinare [1]. To odražava njegovu visoku nutritivnu vrijednost i opravdava zašto se med koristi u ljudskoj prehrani, u medicini, kozmetici, prehrambenoj industriji itd [20].

Njegov prirodni sastav dovodi do pozitivnog učinka na zdravlje potrošača prilikom konzumacije. Osim što jača imunološki sustav u borbi protiv infekcija, ima antivirusna svojstva

koja su korisna za liječenje upale grla, kašlja i simptoma prehlade, kao i respiratornih patogena poput virusa koji uzrokuju kašalj [22].

Također ima svoja antibakterijska svojstva - zbog sadržaja glukozne oksidaze, katalaze i vodik peroksida. To je vrlo učinkovit način da cijeli organizam ima koristi od njegove sposobnosti apsorpcije slobodnih radikala, koji su neophodni za funkcioniranje stanica nakon izlaganja stresu. Ova učinkovitost rezultira antikancerogenim djelovanjem, zbog čega se koristi kao lijek u primarnoj, sekundarnoj i tercijarnoj prevenciji. Jedna od najranijih poznatih dobrobiti meda je njegova sposobnost inhibiranja mikroorganizama. Bakteriostatska svojstva i antibakterijski učinci učinkoviti su protiv različitih bakterija, uključujući i mnoge patogene sojeve. Određeni kvasci, plijesni i virusi, osjetljivi su na inhibicijska svojstva meda, kao i mnoštvo otpornih bakterija [20].

Med je jedna od najpotpunijih namirnica za čovjeka, zbog svog terapijskog, antioksidativnog, antimikrobnog, protuupalnog i antivirusnog djelovanja [20].

## **2.5. Antioksidativna svojstva meda**

Med je prirodni prehrambeni antioksidans čije komponente odgovaraju za redoks svojstva, a to su flavonoidi, fenolne kiseline, enzimi, vitamini i minerali poput bakra i željeza. Med može potjecati od jedne ili više biljnih vrsta, a na njegov biokemijski sastav utječe florni izvor. Značajke koje imaju utjecaj na pogodnu proizvodnju meda su geografski položaj, klimatski uvjeti i godišnja doba [23].

Antioksidativni kapacitet pokazatelj je prisutnosti korisnih bioaktivnih spojeva u medu kada je identificiran kao prehrambeni izvor prirodnih antioksidansa. Zbog razlika u sastavu sekundarnih metabolita i biljnih čimbenika, kao što su polifenoli i enzimska aktivnost, antioksidativni kapacitet meda uvelike ovisi o njegovom floralnom izvoru. Utvrđeno je da nekoliko sastojaka meda igra značajnu ulogu u antioksidativnom kapacitetu kao što su organske kiseline, askorbinska kiselina, katalaza i glukoza oksidaza, proizvodi Maillardove reakcije, flavonoidi, fenolne kiseline, proteini i aminokiseline. Antioksidativni kapacitet meda, koji ovisi o sadržaju polifenola, također je u korelaciji s njegovom bojom. Intenzitet boje u medu povezan je s pigmentima (flavonoidima, karotenoidima, itd.). Tamni medovi pokazuju najviši antioksidativni kapacitet, kao i koncentracije fenola, flavonoida i karotenoida, dok je za svijetle medove karakteristično da imaju najniže vrijednosti. Budući da se polifenoli smatraju

najodgovornijima za antioksidativni kapacitet u medu, mehanizmi kojima ti spojevi pridonose njegovim antioksidativnim svojstvima smatraju se medicinski najkorisnijim svojstvima meda. Čini se da se ove pozitivne karakteristike pripisuju njihovoj učinkovitosti kao kelatora metala i izvrsnih hvatača slobodnih radikala [24].

Za određivanje antioksidativnog potencijala meda razvijene su mnoge analitičke metode. Najčešće korišteni metode uključuju DPPH, FRAP, ORAC, AEAC i TEAC uključujući metodu određivanja ukupnih fenola. Svaka metoda sadrži prednosti i nedostatke [25].

Relativno jednostavan i brz test koji daje učinkovite rezultate, DPPH metoda je naširoko korištena jer se može provesti samo pomoću vidljivog spektrofotometra. U DPPH testu, antioksidansi smanjuju slobodni radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil. Ljubičasta boja DPPH• nestaje kada su prisutni antioksidansi, a promjena u apsorpciji može se izmjeriti pomoću spektrofotometrijskih mjerenja na 517 nm. Kao i mnoge druge metode i DPPH metoda uz sve prednosti ima i svoje nedostatke. Važan nedostatak su mnogi antioksidansi koji brzo reagiraju s peroksidnim radikalom te su gotovo ili potpuno inertni na DPPH. Unatoč tome, DPPH• je stabilan i komercijalno dostupan te se može smatrati jednostavnom i korisnom spektrofotometrijskom metodom u pogledu pregleda/mjerenja antioksidativni kapacitet u medu [26].

### **2.5.1. Metode određivanja ukupnih fenolnih spojeva**

Glavne bioaktivne molekule sadržane u medu predstavljaju polifenoli. Polifenoli su heterogeni kemijski spojevi koji se mogu podijeliti na flavonoide (flavonoli, flavoni, flavanoli, flavanoni, antocijani, kalkoni i izoflavoni) i neflavonoide (fenolne kiseline) [18].

Fenolne kiseline i polifenoli su sekundarni metaboliti biljnog podrijetla [19]. Profil polifenolnih spojeva u medu temeljito je proučen i uključuje vanilin, kavenu kiselinu, brizgaljku, p-gamičnu, ferulinsku, elaginsku, 3-hidroksibenzojevu, klorogensku, genističnu, galnu i benzojevu kiselinu i sadrži različite fenolne kiseline, kao što su različiti flavonoidi, uglavnom kvercetin, kemferol, miricetin, krizin, galangin, hesperetin [18].

Glavni flavonoidi u medu su krizin, pinobanksin i pinocembrin, dok sporedni flavonoidi uključuju kemferol, galangin, kvercetin i izorhamnetin. Pronađena je prosječna količina feniloctene kiseline, leptozina, metil špriceta i metoksifeniloctene kiseline. Ostali sastojci uključuju razne 1,2-dikarbonilne spojeve. Količina i vrsta polifenola uvelike ovisi o cvjetnom

izvoru ili sorti meda. Osim toga, poznato je da postoji jak odnos između antioksidativne aktivnosti i ukupnog sadržaja fenola [18]. Dok tamni med ima više derivata fenolne kiseline, također sadrži niže razine flavonoida. [19].

Hidroksimetilfurfural (HMF) je heterociklički organski spoj s aldehidnom i alkoholnom (hidroksimetil) funkcionalnom skupinom, koji se sastoji od šest ugljikovih atoma. Prsten strukture je usredotočen na furanske dijelove, dok su dvije funkcionalne skupine, tj. formilna i hidroksi-metilna skupina, povezane na drugom i petom položaju [19].

HMF je žuta krutina s niskim talištem, ali visokom topljivošću u vodi. Produkt je razgradnje fruktoze (jednog od glavnih šećera u medu) koji se stvara polako i prirodno tijekom skladištenja meda, i još mnogo toga brzo kad se med zagrije. Količina HMF-a prisutnog u medu je referenca koja se koristi kao smjernica za količinu zagrijavanja koja se dogodila: što je veća vrijednost HMF-a, smatra se da je kvaliteta meda lošija. Neke zemlje postavljaju ograničenje HMF-a za uvezeni med, a med s vrijednošću HMF-a višom od te granice neće biti prihvaćen [19].

Prema Pravilniku o medu (NN 53/2015) „količina HMF-a ne smije prelaziti 40 mg/kg“ [3].

Folin-Ciocalteu metoda se obično koristi za procjenu antioksidativne aktivnosti ukupnog sadržaja fenola, koji se temelji na reakciji fenolnih spojeva s Folin-Ciocalteu (FC) reagensom i podliježe spektrofotometrijskim mjerenjima. FC reagens je reagens koji se sastoji od fosfovolframovske i fosfomolibdenske kiseline. Fenolni spojevi reduciraju fosfomolibdat-fosfovolframovu kiselinu u alkalnim uvjetima dok reakcija daje plavo obojenim reduciranim FC reagensom, koji se mjeri na 750 nm pri čemu je intenzitet plave boje u korelaciji sa sadržajem fenola u uzorku [27].

### **2.5.2. Metode određivanja antioksidativnog kapaciteta**

Antioksidansi su spojevi koji prisutni u namirnicama ili ljudskom tijelu u vrlo niskim koncentracijama. Odgađaju, kontroliraju ili sprječavaju oksidativne procese koji dovode do pogoršanja kvalitete hrane ili nastanka i širenja degenerativnih bolesti u organizmu. Molekule s antioksidativnim svojstvima mogu se proizvoditi endogeno ili unositi egzogeno prehranom ili dodacima prehrani [28].

Antioksidansi se klasificiraju u dvije skupine, primarne antioksidanse ili antioksidanse koji prekidaju lanac i sekundarne ili preventivne antioksidanse. Primarni antioksidansi brzo reagiraju s peroksi radikalima i pretvaraju ih u stabilne produkte te najčešće djeluje doniranjem

atoma vodika. Primarni antioksidansi mogu prihvatiti slobodne radikale i dodatno odgoditi korak inicijacije ili prekinuti korak propagacije autooksidacije. Mogu reagirati s lipidnim i peroksilnim radikalima pretvarajući ih u stabilnije radikale ili neradikalne produkte [29].

Sekundarni ili preventivni antioksidansi mogu smanjiti brzinu oksidacije lipida različitim mehanizmima te reagiraju s hidroperoksidima dajući neradikalne, nereaktivne proizvode. Mogu djelovati vezanjem metalnih iona koji mogu katalizirati oksidativne procese hvatanjem kisika, apsorbiranjem UV zračenja, inhibicijom enzima ili razgradnjom hidroperoksida [29].

Oksidativni stres rezultat je reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) (*engl. Reactive Oxygen Species*) koje se nalaze u neravnoteži s antioksidativnom obranom organizma, posebice slobodnim radikalima [30].

Slobodni radikali, kemijske vrste koje sadrže jedan ili više nesparenih elektrona koji su sposobni za neovisno postojanje, proizvode se u svim živim stanicama. Većina radikala koji se javljaju *in vivo* jesu ili potječu od reaktivnih kisikovih vrsta ili reaktivnih dušikovih vrsta. Reaktivne kisikove vrste uključuju slobodne radikale na bazi kisika, npr. superoksid, hidroksid, alkoksil, peroksil i hidroperoksil. Drugi ROS (npr. vodik peroksid i lipidni peroksidi) mogu se pretvoriti u slobodne radikale pomoću prijelaznih metala, bilo slobodnih u stanici ili vezanih za proteine [31].

Slobodni radikali imaju potencijal reagirati s različitim kemijskim vrstama, što ih čini idealnima za širok raspon bioloških funkcija u staničnoj signalizaciji. Međutim, ROS se također nenamjerno proizvode u tijelu, različitim mehanizmima. Većina slobodnih radikala proizvedenih *in vivo* su oksidansi, koji mogu oksidirati niz bioloških molekula, uključujući ugljikohidrate, aminokiseline, masne kiseline i nukleotide [31].

Metode koje se koriste za mjerenje aktivnosti antioksidansa podijeljene su na dva mehanizma:

- HAT mehanizam (*engl. Hydrogen Atom Transfer*) - reakcija prijenosa atoma vodika
- SET mehanizam (*engl. Single Electron Transfer*) - reakcija prijenosa elektrona

Ishod ostaje nepromijenjen bez obzira na specifični korišteni mehanizam, unatoč razlikama u kinetici i brzini reakcije. Mjerenje antioksidativnog kapaciteta putem kemijskih testova koji su brzi i automatizirani prvenstveno se koristi za početni pregled i procjenu novih antioksidativnih spojeva ili ekstrakata iz postojećih proizvoda/nusproizvoda [28].

HAT metode temelje se na procjeni mogućnosti antioksidansa da hvataju slobodne radikale pomoću doniranja vodika, što rezultira stvaranjem stabilnih spojeva. Jedan od ključnih čimbenika u korištenju tih metoda je sposobnost antioksidansa da prekinu lanac radikala. Energija disocijacije H-donatorske veze, antioksidacijski potencijal i potencijal ionizacije primjeri su faktora koji određuju relativnu reaktivnost u HAT metodama. Ovisno o otapalu i njegovom pH, HAT reakcije mogu se odvijati različitim brzinama i duljinom trajanja što uvelike smanjuje trajanje [32]. Tipični primjeri metoda temeljenih na HAT-u su: ORAC (*engl. Oxygen Radical Absorbance Capacity*), TRAP (*engl. Total Radical Trapping Antioxidant Capacity*) i TOSC (*engl. Total Oxyradical Scavenging Capacity*) [28].

Metode temeljene na SET-u pokazuje da svaki potencijalni antioksidans može prenijeti elektron i uzrokovati redukciju bilo kojeg danog spoja, uključujući metale, karbonile ili slobodne radikale. pH je odlučujući faktor u kemijskoj stabilnosti SET metoda, što ovisi o relativnoj reaktivnosti reaktivnih funkcionalnih skupina kao što su deprotonacijski i ionizacijski potencijal. Vrijednosti ionizacijskog potencijala smanjuju se s porastom pH, što je obično uzrokovano povećanjem kapaciteta donora elektrona tijekom deprotonacije. Redukcijski kapacitet antioksidansa uvelike ovisi o pH vrijednostima [32].

Protoniranje u antioksidativnim spojevima može smanjiti redukcijski kapacitet u kiselim uvjetima, ali u bazičnim uvjetima odvajanjem protona od dispergirajućeg spoja povećat će redukcijsku sposobnost. Zbog relativno spore i dugotrajne provedbe samih SET reakcija, tradicionalno se mjeri smanjenje u postotku produkta umjesto kinetike ili ukupnog antioksidativnog kapaciteta. SET mehanizam uvelike ovisi o otapalu, za razliku od HAT-a, jer se nabijene vrste stabiliziraju pomoću otapala. Najčešće korištene metode temeljene na SET-u su: FRAP (*engl. Ferric Reducing Antioxidant Power*), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) i TEAC (*engl. Trolox Equivalent Antioxidative Capacity*) [32].

## 3. PRAKTIČNI DIO

### 3.1. Zadatak rada

Zadatak rada bio je određivanje antioksidativnog kapaciteta kao i udjela ukupnih fenola bagremovog meda od različitih proizvođača uz upotrebu Folin-Ciocalte metode i DPPH metode.

### 3.2. Materijali i metode

Tokom analize upotrebljavano je 5 uzoraka bagremovog meda od 5 različitih proizvođača. Uzorci su prikupljeni 2023. godine sa područja Varaždinske županije i Krapinsko – zagorske županije.

Materijali:

- Spektrofotometar
- Električna mješalica
- Analitička vaga
- Laboratorijsko posuđe – epruvete, odmjerne tikvice, kivete, pipete, staklene čaše, stakleni štapić



Slika 3.1. Uzroci meda, Autor



Metode:

Folin-Ciocalteu metoda upotrijebljena je za određivanje ukupnih fenola, dok se DPPH metodom odredio antioksidativni kapacitet.

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

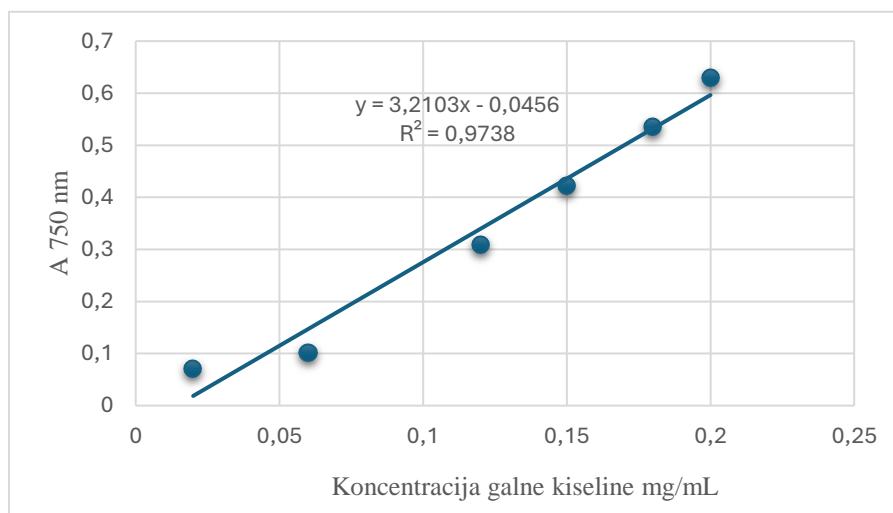
Za određivanje ukupnih fenola prisutnih u medu primijenjena je Folin-Ciocalteu metoda. Metoda se oslanja na interakciju između fenolnih spojeva i Folin-Ciocalteua reagensa u kiseloj sredini, što rezultira plavom bojom. Spektrofotometrijski, na valnoj duljini od 750 nm, mjeri se intenzitet boje [30].

Proces započinje mjerenjem i otapanjem 15 g meda s destiliranom vodom, zatim kvantitativno prenašanje u odmjernu tikvicu od 50 mL. Električnom se miješalicom 2 minute miješa 0,1 mL otopine meda s 1 mL 10%-tnog Folin-Ciocalteu reagensa, te se ostavi na sobnoj temperaturi 20 minuta. Spektrofotometar se koristi za mjerenje apsorbancije na 750 nm nakon stajanja, pri čemu se za usporedbu kao slijepa proba koristi analog šećera. Korištenjem kalibracijske krivulje galne kiseline moguće je odrediti koncentraciju ukupnih fenola i rezultate prikazati kao mg galne kiseline/kg meda [30].

#### **3.2.1.1. Izrada kalibracijske krivulje galne kiseline**

Treba izraditi stock otopinu galne kiseline te 10 razrjeđenja s koncentracijama u rasponu od 0,02 do 0,2 mg/kg. Sljedeći korak uključuje ponavljanje postupka kao kod pripreme meda. Osim toga, izvode se ponavljanja te se iz dobivenih rezultata izrađuje kalibracijska krivulja [30].

Na temelju rezultata izrađuje se kalibracijske krivulje što se postiže korištenjem programa Microsoft Office Excel. Korištenjem izrađene krivulje moguće je pomoću dobivene jednadžbe odrediti koncentraciju i udio ukupnih fenola [30].



Slika 3.2. Prikaz kalibracijske krivulje galne kiseline, Autor

### 3.2.2. Određivanje antioksidativnog kapaciteta DPPH metodom

Metoda za određivanje antioksidativnog kapaciteta je DPPH (2,2-difenil-1-pikril-hidrazil) metoda koja koristi mehanizam hvatanja slobodnih radikala [30].

Otopina od 15 g meda i destilirane vode kvantitativno se prenese u tikvicu od 25 ml. Razrjeđenja se pripremaju iz početne otopine s koncentracijom meda u reakcijskim otopinama od 30 do 600 mg/mL [30].

**Tablica 1.** Priprema razrjeđenja osnovne otopine meda, izvor: Flanjak, Doktorska disertacija, 2020.

Oznaka	V <sub>osnovne otop. meda</sub> [mL]	V <sub>vode</sub> [mL]	c [mg/mL]
1	0,1	1,9	3
2	0,4	1,6	12
3	0,8	1,2	24
4	1,2	0,8	36
5	1,6	0,4	48
6	2,0	0	60

Alikvot od 0,3 mL uzet je iz svake otopine i dodano je 0,8 mL natrijevog acetatnog pufera (pH 5,5) i 1,9 mL 130 mM DPPH reagensa u apsolutnom etanolu. Za svaku otopinu radi se slijepa proba korištenjem otopina meda identičnih koncentracija i natrijevog acetatnog pufera (pH5,5) bez upotrebe DPPH kako bi se eliminirao bilo kakav utjecaj boje meda. Analog šećera upotrebljava se kao kontrolni uzorak. Pripremljene otopine miješaju se na električnoj miješalici i ostave 90 minuta u mraku. Na kraju isteka vremena, spektrofotometrom se mjeri apsorbancija na 517 nm za svaku otopinu [30].

Postotak preostalog DPPH za svaku koncentraciju izračunava se prema jednadžbi:

$$\text{Preostali DPPH} \cdot (\%) = \frac{A - A_S}{A_K} \cdot 100 \quad (1)$$

gdje je: A – apsorbancija uzorka

A<sub>S</sub> – apsorbancija slijepa probe

A<sub>K</sub> – apsorbancija kontrolnog uzorka

Koristeći dobivene podatke, izračunava se koncentracija meda u otopini (mg/mL) u odnos na preostalu količinu DPPH• (%), te se pomoću jednadžbe pravca određuje potrebna koncentracija meda za 50% -tno smanjenje početne koncentracije DPPH• radikala (IC<sub>50</sub>) (1). Što je niži IC<sub>50</sub>, to je antioksidativni kapacitet uzorka veći [30].

## 4. REZULTATI

Cilj izrade rada bio je provesti analize na jednoj vrsti meda, bagrema, prikupljenog iz Varaždinske i Krapinsko – zagorske županije. Analize koje su se provodile uključivale su određivanje udjela ukupnih fenola Folin-Ciocalteu metodom te DPPH metodu za određivanje antioksidativnog kapaciteta.

Za određivanje ukupnog udjela fenola u medu prvo je potrebno odrediti kalibracijsku krivulju galne kiseline.

Na **slici 4.1.** vidljiv je prikaz kalibracijske krivulje galne kiseline s jednadžbom:

$$y = 3,2103x - 0,0456 \quad (2)$$

gdje je:

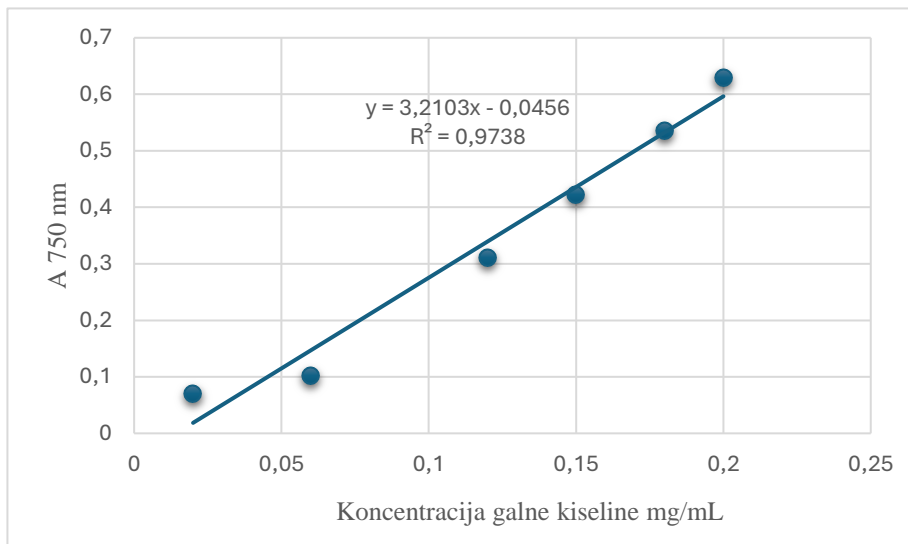
y – apsorbancija pri 750 nm

x – koncentracija galne kiseline mg/mL

Ukupni udio fenola u uzorcima izračunava se preko dobivene jednadžbe pravca (2) što je prikazano u **Tablica 2.**

**Tablica 2.** Uzorci meda s ukupnih udjelom fenola, izvor: autor

KONC.	A 750 NM (PROSJEČNA APSORBANCIJA)	UDIO UKUPNIH FENOLA (MG GALNE KISELINE/KG MEDA)
0,02	0,07	36,01
0,06	0,102	46,00
0,12	0,31	110,77
0,15	0,423	146,00
0,18	0,536	181,17
0,2	0,629	210,14



Slika 4.1. Kalibracijska krivulja galne kiseline, Autor

Tablica 3. Rezultati IC<sub>50</sub> u uzorcima meda, izvor: autor

KONC. UZORKA (MG/ML)	PREOSTALI DPPH	IC <sub>50</sub> (MG/ML)
3	138,77	111,6
12	123,44	104,22
24	107,63	94,38
36	92,83	84,54
48	80,19	74,7
60	68,57	64,86

## 5. RASPRAVA

Zadatak ovog rada bio je provesti analize 5 uzoraka bagremova meda prikupljenih s područja Varaždinske i Krapinsko – zagorske županije u svrhu određivanja ukupnih fenola i antioksidativnog kapaciteta.

Folin-Ciocalteu metoda je metoda korištena kod određivanja udjela ukupnih fenola čiji su rezultati izraženi kao mg galne kiseline/kg meda. Raspon dobivenih rezultata u analiziranim uzorcima, vidljiv u tablica 2., kretao se od 36,01 do 210,14 mg galne kiseline/kg meda.

Prema rezultatima može se zaključiti kako boja meda uvjetuje udjelu ukupnih fenola. Udio ukupnih fenola u najsvjetlijem uzorku iznosio je 36,01 mg galne kiseline/kg meda, dok je najtamniji uzorak imao iznos udjela ukupnih fenola 210,14 mg galne kiseline/kg meda pri čemu se može zaključiti kako tamniji med ima veći udio ukupnih fenola od onih svjetlijih.

Osim boje utjecaj na udio ukupnih fenola ima i geografsko područje i klimatski uvjeti kao i nadmorska visina. Prema rezultatima može se zaključiti kako rezultati uzoraka prikupljenih na većoj nadmorskoj visini, Krapinsko – zagorskoj županiji, imaju manji udio fenola od onih prikupljenih u Varaždinskoj županiji. U istraživanju Bertoncelj i sur. [33] udio ukupnih fenola iznosio je 44,8 mg galne kiseline/kg meda, dalje u istraživanju Beretta i sur. [34] rezultati su bili 55,2 mg galne kiseline/kg meda, dok su u istraživanju Mohammed i sur. [35] dobiveni rezultati 91,33 mg galne kiseline/kg meda. U istraživanju Lacković [36] rezultati udjela ukupnih fenola kretali su se između 44,7 i 123,6 mg galne kiseline/kg meda, dok su u istraživanju Flanjak [30] rezultati dobiveni u intervalu 28,2 i 52 mg galne kiseline/kg meda.

Rezultati istraživanja Mohammed i sur. [35] bliska su rezultatima ovog istraživanja koja iznose 121,68 mg galne kiseline/kg meda, dok su rezultati druga dva istraživanja znatno manja od rezultata ovog istraživanja. S druge pak strane rezultati istraživanja Lacković [36] nalaze se u cijelosti u intervalu rezultata ovog istraživanja, dok se u istraživanju Flanjak [30] većina rezultata odgovara intervalu ovih rezultata.

U usporedbi bagremova meda s drugim vrstama u istraživanju Flanjak [30] rezultati pokazuju da udio ukupnih fenola kestenova meda, čije vrijednosti iznose između 129,2-212,7 mg galne kiseline/kg meda, odgovara intervalu rezultata ovog istraživanja, osim iznimke jednog uzorka. Za med kadulje rezultati istraživanja Flanjak [30], u iznosima od 77,3 do 111,9 mg galne kiseline/kg meda, u potpunosti odgovaraju intervalu ovog istraživanja. Najveća razlika bagremovom medu predstavlja medljikovac čiji rezultati u istraživanja Flanjak [30] su

mnogo viši od rezultata ovog istraživanja, uz iznimku da jedan rezultata odgovara. Rezultati medljikovca istraživanja Flanjak [30] nalaze se u intervalu 147,8-588,0 mg galne kiseline/kg meda.

DPPH metoda korištena je za određivanje antioksidativnog kapaciteta čiji su rezultati iskazani kao  $IC_{50}$  (mg/mL), tj. kao koncentracija meda (mg/mL) potrebna za 50%-tno smanjenje početne koncentracije DPPH•. To govori kako je antioksidativni kapacitet uzorka veći što je dobivena vrijednost za  $IC_{50}$  manja. Rezultati u ovom istraživanju bili su u vrijednostima 64,86 – 111,6 mg/mL, što je vidljivo u tablica 3. U istraživanju Bertoneclj i sur. [33] rezultati  $IC_{50}$  iznose 53,8 mg/mL, dok kod istraživanja Beretta i sur. [34] rezultati su iznosili 45,45 mg/mL. U oba istraživanja rezultati su bili manji od onih dobivenih u ovome istraživanju koji iznose 89,05 mg/mL. U istraživanju Flanjak [30] rezultati su se kretali od 73,50 do 201,36 mg/mL. Dio rezultata u istraživanju Flanjak [30] poklapa se s intervalom rezultata ovog istraživanja dok je ostatak rezultata istraživanja u većim iznosima. Može se zaključiti kako je antioksidativni kapacitet uzoraka ovog istraživanja manji od onih u uzorcima istraživanja Bertoneclj i sur. [33] kao i Beretta i sur. [34].

Uspoređujući rezultate antioksidativnog kapaciteta bagremova meda s drugim vrsta meda iz istraživanja Flanjak [30] može se uočiti kako su rezultati meda kestena, meda kadulje i medljikovca, svi niži od rezultata bagremova meda. Rezultati meda kestena, istraživanja Flanak [30], kretali su se u intervalu 11,34-21,36 mg/mL, za med kadulje vrijednosti rezultata bile su između 18,65 i 34,08 mg/mL, dok je medljikovac imao najniže rezultate od 3,46 do 14,14 mg/mL.

## 6. ZAKLJUČAK

Završni rad imao je za cilj ispitati 5 uzoraka meda s područja Varaždinske i Krapinsko-zagorske županije, gdje je DPPH metodom određen antioksidativni kapacitet i udio ukupnih fenola. Po završetku provedbe analiza i dobivenim rezultatima može se zaključiti:

1. Udio ukupnih fenola razlikuje se ovisno o boji i geografskom području samog meda što se vidi iz dobivenih rezultata. Medovi prikupljeni u Varaždinskoj županiji imali su veći udio ukupnih fenola nego oni prikupljeni u Krapinsko-zagorskoj županiji.
2. Rezultati antioksidativnog kapaciteta određenog DPPH metodom pokazuju suprotnosti od udjeli ukupnih fenola. U slučaju antioksidativnog kapaciteta, medovi prikupljeni u Krapinsko-zagorskoj županiji imali su veći antioksidativni kapacitet od onih prikupljenih u Varaždinskoj županiji.



# Sveučilište Sjever

MARKON  
ALISREBAINO



SVEUČILIŠTE  
SJEVER

## IZJAVA O AUTORSTVU

Završni/diplomski/specijalistički 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, EMA ARTIĆ (ime i prezime) pod punom moralnom, materijalnom i kaznenom odgovornošću, izjavljujem da sam isključivi autor/ica završnog/diplomskog/specijalističkog (obrisati nepotrebno) rada pod naslovom ODREĐIVANJE AMIOKSIDATIVNOG KAPACITETA (upisati naslov) te da u navedenom radu nisu na nedozvoljeni način (bez pravilnog citiranja) korišteni dijelovi tuđih radova.

Student/ica:  
(upisati ime i prezime)

Ema Artić

(vlastoručni potpis)

Sukladno članku 58., 59. i 61. Zakona o visokom obrazovanju i znanstvenoj djelatnosti završne/diplomske/specijalističke radove sveučilišta su dužna objaviti u roku od 30 dana od dana obrane na nacionalnom repozitoriju odnosno repozitoriju visokog učilišta.

Sukladno članku 111. Zakona o autorskom pravu i srodnim pravima student se ne može protiviti da se njegov završni rad stvoren na bilo kojem studiju na visokom učilištu učini dostupnim javnosti na odgovarajućoj javnoj mrežnoj bazi sveučilišne knjižnice, knjižnice sastavnice sveučilišta, knjižnice veleučilišta ili visoke škole i/ili na javnoj mrežnoj bazi završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice, sukladno zakonu kojim se uređuje umjetnička djelatnost i visoko obrazovanje.

## 7. LITERATURA

- [1] J. W. White Jr., »Honey,« u *Advances in food research*, Pennsylvania, Elsevier, 1978., pp. 287-374.
- [2] W. Qamar, M. U. Rehman, »Brief history and traditional uses of honey,« u *Therapeutic applications of honey and its phytochemicals*, Riyadh, Springer, 2020, pp. 1-10.
- [3] 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: 20. srpanj 2024.)
- [4] Codex Alimentarius Commission: Revised Codex Standard for Honey, Codex STAN 12-1981, Rev. 1 (1987), Rev. 2 (2001), 2001.
- [5] E. Baglio, *Chemistry and technology of honey production*, Catania: Springer, 2018.
- [6] M. Mellen, M. Fikselová, A. Mendelová, P. Haščík, »Antioxidant Effect of Natural Honeys Affected by Their Source and Origin,« *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, pp. 81 - 85, 2015.
- [7] A. Gismondi, S. De Rossi, L. Canuti, S. Novelli, G. Di Marco, L. Fattorini, A. Canini, »From Robina pseudoacacia L. to Acacia monofloral honey: biochemical changes and variation of biological properties,« *Science of food and agriculture*, 10. veljača 2018.
- [8] F. volem, 2017., <https://fruskac.net/rs/biljke/bagrem-robinia-pseudoacacia>. (dostupno 29. kolovoz 2024.)
- [9] M. Giovanetti, G. Aronne, »Honey bee handling behaviour on the papilionete flower of Robinia pseudoacacia L.,« *Arthropod-plant interactions*, pp. 119-124, 12. listopad 2012.
- [10] Pravilnik o kakvoći uniflornog meda, Narodne novine br. 122/09, <https://www.zakon.hr/cms.htm?id=27541>. (dostupno: 11. rujan 2024.)
- [11] C. Pita-Calvo, M. Vázquez »Differences between honeydew and blossom honeys: A review,« *Trends in Food Science & Technology*, pp. 79 - 87, siječanj 2017.
- [12] P. Veber., <https://pcelarstvo-veber.hr/kategorija-proizvoda/med/>. (dostupno 16. rujan 2024.)
- [13] L. Bakir, »Primjena testova sklonosti u senzorskoj procjeni meda, Diplomski rad,« Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 2020.
- [14] S. Mikac, »Senzorska procjena meda koji nisu sklони kristalizaciji, Završni rad,« Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 2016.

- [15] P. Wood, »What is a honey extractor – an essential guide for 2024,« *bee professor*, 16. srpanj 2023.
- [16] I. exam.,  
[https://www.ieltswriting.info/EXAM/academic\\_writing\\_samples\\_task\\_1/1124/](https://www.ieltswriting.info/EXAM/academic_writing_samples_task_1/1124/).  
 (dostupno 16. rujan 2024.)
- [17] Freepik., [https://www.freepik.com/free-vector/honey-production-process-cartoon-flowchart\\_5970989.htm](https://www.freepik.com/free-vector/honey-production-process-cartoon-flowchart_5970989.htm). ( dostupno 16. rujan 2024.)
- [18] E. Dümen, N. Gizmen Tarakci, G. Ekici, »Honey production process,« u *A glance at food processing applications*, Istanbul, IntechOpen, 2021..
- [19] D. A. Tafer, »Chemical composition and uses of Honey: A Review,« Ethiopia, 2021..
- [20] B. Costa Ferreira da Cruz, L. Ronqui, P. Scharonski, P. Scharonski, »Health benefits of honey,« u *Honey analysis*, IntechOpen, 2019..
- [21] M. Talha, M. Imran, M. H. Ahmad, R. S. Ahmad, M. K. Kham, M. A. Rahim, M. F. Afzal »Honey Composition, Therapeutic Potential and Authentication through Novel Technologies: An Overview,« u *Honey - Composition and Properties*, IntechOpen, 2023.
- [22] P. Šedík, K. Predanócyová, E. Horská, M. Kačániová, »The antimicrobial activity of polyfloral honey and its awareness among urban consumers in Slovakia,« *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, pp. 467 - 474, 19. svibanj 2021.
- [23] A. Gül, T. Pehlivan,, »Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey,« u *Saudi Journal of Biological Sciences*, Elsevier, 2018., pp. 1056-1065.
- [24] 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,« *Current Medicinal Chemistry*, pp. 621-638, 2013..
- [25] M. Džugan, M. Tomczyk, P. Sowa, D. Grabek-Lejko, »Antioxidant Activity as Biomarker of Honey Variety,« *Molecules*, 23. kolovoz 2018. .
- [26] J. M. Alvarez-Suarez, S. Tulipani, S. Romandini, A. Vidal, M. Battino, »Methodological aspects about determination of phenolic compounds and in vitro evaluation of antioxidant capacity in the honey: a review,« *Current Analytical Chemistry*, pp. 293-302, ožujak 2009..
- [27] I. L. Lawag, E. S. Nolden, A. A. M. Schaper, L. Y. Lim, C. Locher, »A Modified Folin-Ciocalteu Assay for the Determination of Total Phenolics Content in Honey,« *Applied sciences journal*, 7. veljača 2023..
- [28] I. G. Munteanu, C. Apetrei»Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review,« *International journal of molecular sciences*, pp. 1-30, 25. ožujak 2021..

- [29] R. Mishra, S. S. Bisht, »Antioxidants and their charecterization,« *Journal of Pharmacy Research*, pp. 1-4, 16. srpanj 2011..
- [30] I. Flanjak, »Antioksidativni kapacitet meda i promjene tijekom procesiranja i skladištenja, Doktorski rad,« Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2012..
- [31] C. E. Cooper, N. B. J. Vollaard, T. Choueiri, M. T. Wilson, »Exercise, free radicals and oxidative stress,« *Biochemical Society Transactions*, pp. 1-7, svibanj 2002..
- [32] A. Karadag, B. Ozcelik, S. Saner, »Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities,« *Food Analytical Methods* , pp. 1-21, 25. studeni 2008..
- [33] J. Bertoneclj, U. Doberšek, M. Jamnik, T. Golob, »Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey,« *Food Chemistry*, pp. 822 - 828, 28. siječanj 2007.
- [34] 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*, pp. 185 - 191, 3. studeni 2004.
- [35] M. E. A. Mohammed, A. A. Shati, M. Y. Alfaifi, S. E. I. Elbehairi, M. A. Alshehri, S. K. Alhag, M. H. A. Suleiman, H. A. Ghramh, A. Ibrahim, A. M. Alshehri, A. A. A. Al-Mosa, W. M. A. Alaerjani, »Acacia honey from different altitudes: total phenols and flavonoids, laser-induced fluorescence (LIF) spectra, and anticancer activity,« *Journal of International Medical Research*, pp. 1 - 12, 29. lipanj 2020.
- [36] I. Lacković, »Određivanje ukupnih fenola i antioksidacijske aktivnosti u medu iz područja Bjelovarsko-bilogorske županije - Završni rad,« Koprivnica, 2022.

## Popis slika

Slika 2.1. Pčela oprašuje cvijet bagrema.....	3
Slika 2.2. Usporedba bagremovog meda s drugim vrstama.....	4
Slika 2.3. Vrcanje meda ručnom vrcaljkom.....	5
Slika 2.4. Proces proizvodnje meda.....	6
Slika 2.5. Proces obrade meda.....	6
Slika 3.1. Uzorci meda.....	14
Slika 3.2. Prikaz kalibracijske krivulje galne kiseline.....	16
Slika 4.1. Kalibracijska krivulja galne kiseline.....	19

## **Popis tablica**

<b>Tablica 1.</b> Priprema razrjeđenja osnovne otopine meda, izvor: Flanjak – Doktorska disertacija, 2020.....	16
<b>Tablica 2.</b> Udio ukupnih fenola u uzorcima meda, izvor: Autor.....	18
<b>Tablica 3.</b> Rezultati IC50 u uzorcima meda, izvor: Autor.....	19