

Udio proteina u uzorcima cvjetnog i livadnog meda, te medljikovca iz sezone 2022.

Strbad, Sara

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:757041>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Sara Strbad
0058217120**

**UDIO PROTEINA U UZORCIMA CVJETNOG I
LIVADNOG MEDA, TE MEDLJKOVCA IZ SEZONE
2022.**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Analitika prehrambenih proizvoda

Mentor: prof. dr. sc. Ksenija Marković

Zagreb, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Udio proteina u uzorcima cvjetnog i livadnog meda, te medljikovca iz sezone 2022.

Sara Strbad, 0058217120

Sažetak:

Udio proteina u medu se sve više istražuje u svrhu procjene autentičnosti i kvalitete, unatoč niskom udjelu. U ovom istraživanju korištena je metoda po Kjeldahl-u kako bi se indirektno odredio udio ukupnih proteina u uzorcima cvjetnog ($n=6$) i livadnog meda ($n=6$), te medljikovca ($n=6$). Prema dobivenim rezultatima, udio ukupnih proteina u cvjetnom medu bio je između 0,09 % i 0,42 %, u livadnom medu između 0,11 % i 0,17 %, a u medljikovcu između 0,11 % i 0,42 %. Najviši prosječan udio ukupnih proteina određen je u uzorcima cvjetnog meda (0,21 %), a najniži u uzorcima livadnog meda (0,13 %). Dobiveni rezultati u skladu su sa rezultatima sličnih objavljenih istraživanja.

Ključne riječi: med, udio ukupnih proteina, metoda po Kjeldahl-u

Rad sadrži: 24 stranice, 2 slike, 4 tablice, 28 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof. dr. sc. Ksenija Marković

Pomoć pri izradi: teh. sur. Valentina Hohnjec

Datum obrane: 08.09.2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Protein content in samples of flower, meadow, and honeydew honey from the 2022 season

Sara Strbad, 0058217120

Abstract:

The protein content in honey is increasingly being investigated for the purpose of assessing authenticity and quality, despite its low proportion. In this research, the Kjeldahl method was used to indirectly determine the content of total proteins in samples of flower (n=6), meadow (n=6), and honeydew (n=6) honey. According to the obtained results, the content of total proteins in flower honey was between 0.09 % and 0.42 %, in meadow honey between 0.11 % and 0.17 %, and in honeydew honey between 0.11 % and 0.42 %. The highest average content of total proteins was determined in flower honey samples (0.21 %), and the lowest in meadow honey samples (0.13 %). The obtained results are consistent with the results of similar published research.

Keywords: honey, content of total proteins, Kjeldahl method

Thesis contains: 24 pages, 2 figures, 4 tables, 28 references

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Ksenija Marković, PhD, Full Professor

Technical support and assistance: Valentina Hohnjec, technical assistant

Thesis defended: 08.09.2023.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. DEFINICIJA MEDA.....	2
2.2. SASTAV MEDA.....	2
2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA	4
2.4. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA.....	4
2.5. OSNOVNA PODJELA MEDA.....	5
2.5.1. Cvjetni med.....	6
2.5.2. Livadni med.....	6
2.5.3. Medljikovac.....	6
2.6. BILJNI MED.....	6
2.7. POTROŠNJA I PROIZVODNJA MEDA U SVIJETU.....	7
2.8. UTJECAJ PELUDI NA RAZVOJ PČELA MEDARICA.....	7
2.9. NUTRITIVNE I ZDRAVSTVENE ZNAČAJKE MEDA.....	7
2.10. PROTEINI U MEDU.....	8
2.11. METODE ODREĐIVANJA PROTEINA.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	11
3.1. MATERIJALI	11
3.2. METODE	12
4. REZULTATI I RASPRAVA	16
5. ZAKLJUČCI.....	20
6. POPIS LITERATURE	21

1. UVOD

Med se koristi kao hrana i lijek već nekoliko milijuna godina. Najstariji je zaslađivač visoke nutritivne vrijednosti i ima brojne zdravstvene dobrobiti (Ajibola, 2012). Med je prirodna namirnica koja ima karakterističan složeni sastav. Glavni sastojci meda su šećeri, uglavnom fruktoza i glukoza, ali med u malim količinama sadrži enzime, proteine, organske kiseline, mineralne tvari, fenole, vitamine. Sastojci prisutni u malim količinama važni su za karakterizaciju meda i nutritivnu vrijednost. Neki sastojci su prirodno prisutni u nektaru, dok su drugi dodani od strane pčela tijekom procesa sazrijevanja meda (de Sousa i sur., 2016).

Proteini i aminokiseline koji se nalaze u medu mogu biti iz peludi pa se smatra da imaju biljno podrijetlo ili mogu imati životinjsko podrijetlo ukoliko dolaze od pčela, a pri tome je njihov udio u medu između 0 % i 1,7 % (Vahčić i Matković, 2009). Udio proteina u medu jedan je od pokazatelja kvalitete meda. Poznavanje proteina meda važno je jer ima veliki potencijal primjene, te se može koristiti u procjeni autentičnosti meda (Erban i sur., 2019).

Cilj ovog rada bio je odrediti udio ukupnih proteina u uzorcima cvjetnog (n=6) i livadnog meda (n=6), te medljikovca (n=6) iz sezone 2022. (koji su predstavljali dio uzoraka sa 18. Međunarodnog natjecanja pčelara u kvaliteti meda Zzzagimed 2022.), kao i usporediti dobivene rezultate s rezultatima sličnih znanstvenih istraživanja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA MEDA

Prema definiciji med je sladak proizvod za čiju proizvodnju su zaslužne medonosne pčele koje med proizvode iz nektara biljaka ili iz sekreta živih dijelova biljaka, ili iz izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljke. Pčele ga skupljaju, kombiniraju s vlastitim specifičnim tvarima, spremaju, dehidriraju i ostavljaju u saću da sazrije (Codex Alimentarius, 2001).

2.2. SASTAV MEDA

Osnovna sirovina za med koja služi ujedno kao izvor energije za pčele je nektar (Sajwani, 2007). Nektar je šećerna izlučevina koju proizvode posebne žlijezde nektarije, a sastoji se od saharoze, glukoze i vode (do 90 %). Nektar izravno utječe na sastav meda (Baglio, 2018). Osim što nektar sadrži šećere, u nektaru se mogu pronaći i dušikovi i fosforni spojevi, vitamini, organske kiseline, pigmenti, aromatski spojevi, enzimi i aminokiseline (Vahčić i Matković, 2009).

Sastav i svojstva meda ovisni su o čimbenicima poput geografskog podrijetla, klimatskih uvjeta, godišnjih doba i okoliša (Rotim i sur., 2021). Geografsko podrijetlo meda može se odrediti na temelju odabranih fizikalno-kemijskih parametara. To je vrlo važno za zaštitu i provjeru zemljopisnog podrijetla i autentičnosti meda (Kropf i sur., 2010).

Med se sastoji od različitih sastojaka, najveći udio čine šećeri od koji su najzastupljeniji fruktoza i glukoza (80 do 85 %), zatim voda (15 do 17 %), proteini i aminokiseline, pepeo i druge tvari kao što su organske kiseline, enzimi, vitamini i fenolni spojevi u tragovima (Rotim i sur., 2021). Osim fruktoze i glukoze, važni šećeri prisutni u medu su saharoza i maltoza. Omjer fruktoze i glukoze varira ovisno o vrsti meda, ali med obično sadrži više fruktoze nego glukoze. Udio saharoze je nizak u odnosu na ostale šećere u uzorcima meda zbog djelovanja enzima invertaze, koji razgrađuje molekulu saharoze na monosaharide glukozu i fruktozu tijekom procesa sazrijevanja meda. Iako saharoza ima manju važnost zbog niskog udjela u medu, značajna je jer može dati informacije o krivotvorenju i botaničkom podrijetlu meda. Mali udio saharoze u uzorku meda pokazuje da uzorak nije patvoren, dok visok udio saharoze u medu pokazatelj je patvorenja dodatkom saharoze ili nezrelog meda. Maltoza koja se nalazi

u medu ne potječe iz nektara, već nastaje zbog aktivnosti enzima α - i β -glukozidaze tijekom procesa medenja. Prisutnost maltoze također može pružiti informacije o botaničkom podrijetlu meda. Šećeri u medu mogu se analizirati različitim tehnikama, između ostalog i tehnikom tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti ili HPLC tehnikom (eng. High performance liquid chromatography) (Sajwani i sur., 2007).

Udio vode u medu vrlo je bitan čimbenik kakvoće meda jer o njemu ovisi stabilnost meda odnosno stupanj mikrobiološkog kvarenja proizvoda tijekom vremena (Vahčić i Matković, 2009). Nizak sadržaj vlage štiti med od mikrobiološke aktivnosti i na taj način se med može sačuvati dulje razdoblje. Što je sadržaj vlage veći, veća je vjerojatnost fermentacije meda tijekom skladištenja. Sadržaj vlage ovisan je o temperaturi i relativnoj vlažnosti tijekom proizvodnje meda (El Sohaimy i sur., 2015).

Većina proteina u medu su enzimi (Flanjak i sur., 2016). Enzimi su komponente koje su prisutne u medu, dok kod ostalih zaslađivača nisu prisutni. Enzimi su vrlo bitni jer njihova aktivnost pokazuje kvalitetu meda, stupanj zagrijavanja i trajnost meda. Enzimi koje med sadrži su invertaza, dijastaza, glukoza oksidaza, katalaza, kisela fosfataza, peroksidaza, polifenoloksidaza, esteraza, inulaza i proteolitički enzimi (Vahčić i Matković, 2009).

Vitamini su u medu zastupljeni u vrlo niskim količinama, iako to ovisi i o botaničkom podrijetlu meda, a većina ih dolazi iz nektara i peluda. Organska kiselina koja je najviše zastupljena u medu je glukonska, a osim nje u medu se mogu naći i mravlja, jabučna, limunska, maslačna, oksalna. Organske kiseline u medu nalaze se u rasponu od 0,17 do 1,17 % od kojih je većina u formi estera (Vahčić i Matković, 2009). Prema propisima, udio kiselina ne smije biti veći od 50 mEq na 1000 g meda (Pravilnik, 2015). U medu se nalaze mnoge mineralne tvari koje su važne za organizam od kojih je najviše zastupljen kalij, zatim natrij, kalcij, željezo, mangan, fosfor, bakar i sumpor. Mineralne tvari mogu ovisiti o sastavu tla i klimatskim uvjetima (Vahčić i Matković, 2009). Sadržaj mineralnih tvari u medu u velikoj mjeri ovisi o vrsti medonosnog bilja s kojeg pčele sakupljaju nektar (Nanda i sur., 2003). Puno istraživanja o udjelu mineralnih tvari u pčelinjim proizvodima usmjereno je na učinke onečišćenja okoliša budući da imaju važnu ulogu kao pokazatelji onečišćenja (Liberato i sur., 2013). U skladu s propisima, nektarni med ne smije sadržavati udio mineralnih tvari viših od 0,6 %, a med medljikovac smije sadržavati do 1 % mineralnih tvari (Baglio, 2018).

2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

Svojstva meda povezuju se s njegovim kemijskim sastavom, a neka od najvažnijih su kristalizacija, viskoznost, higroskopnost i električna vodljivost (Vahčić i Matković, 2009). Konzistencija meda može biti tekuća ili viskozna, a med djelomično ili potpuno kristaliziran (Codex Alimentarius, 2001).

Viskoznost pokazuje stupanj tečenja meda. Na nju utječu sastav, od čega najviše udio vode u medu, temperatura i veličina kristala. Viskoznost u medu je manja što je veći udio vode i što je veća temperatura (Vahčić i Matković, 2009). Med koji sadrži manje glukoze nego fruktoze ima veću sposobnost tečenja (El Sohaimy i sur., 2015).

Veće količine glukoze u medu i neki drugi čimbenici poput temperature i uvjeta skladištenja uzrokuju i ubrzavaju kristalizaciju meda. (Sajwani i sur., 2007). Kristalizacijom vezana voda postaje slobodna, a med je podložniji kvarenju. Kristalizacija meda se najviše događa na temperaturi između 11 i 15 °C. Ne događa se kada je omjer glukoze i vode manji od 1,7, ali kristalizacija je jako ubrzana čim taj omjer prijeđe 2,1 (Vahčić i Matković, 2009). Najmanja sposobnost kristalizacije postiže se kada je omjer glukoze i vode manji od 1,0. Kristalizacija meda je brža kada je omjer fruktoze i glukoze ispod 1,0 i usporava se kada je taj omjer veći od 1,0 jer je fruktoza topljivija u vodi nego glukoza. Ipak se omjer glukoze i vode smatra prikladnijim pokazateljem za predviđanje kristalizacije meda od omjera fruktoze i glukoze (El Sohaimy i sur., 2015). Kristalizacija meda se izbjegava isključivo zbog potrošača, takav med nije manje kvalitetan. Medljikovac, suncokretov i maslačkov med najbrže kristaliziraju (Vahčić i Matković, 2009).

Higroskopnost meda ovisna je o relativnoj vlažnosti i udjelu vode. Higroskopnost je veća što je veći udio fruktoze u medu. Što je veći udio vode u medu, med je skloniji kvarenju. Električna vodljivost koristi se za određivanje kvalitete meda, a ovisi o udjelu mineralnih tvari. Koristi se za određivanje razlike između nektarnog meda i medljikovca, odnosno kako bi se odredilo botaničko podrijetlo (Vahčić i Matković, 2009). Nektarni med i mješavine smiju imati električnu vodljivost najviše 0,8 mS/cm, dok medljikovac, kestenov med i mješavine moraju imati električnu vodljivost najmanje 0,8 mS/cm (Pravilnik, 2015).

2.4. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA

Med se dosta razlikuje prema senzorskim svojstvima koja ovise o vrstama cvjetnog nektara kojeg pčele koriste i klimatskim uvjetima (Sajwani i sur., 2007). Senzorska svojstva meda kao

što su miris, okus i boja ovise o podrijetlu, preradi i uvjetima skladištenja. Senzorska svojstva ukazuju i na patvorenja poput dodatka šećera u med, hranjenje pčela šećerom i svrstavanje meda u vrstu neodgovarajućeg botaničkog podrijetla (Vahčić i Matković, 2009).

Med se prema boji razlikuje od gotovo bezbojnog do tamnosmeđeg (Codex Alimentarius, 2001). Boja meda povezana je s kemijskim sastavom, botaničkim podrijetlom i skladištenjem. Boju određuje udio karotenoida, klorofila, ksantofila, antocijana, flavonoida, tanina i šećera (Vahčić i Matković, 2009). Čimbenici poput sadržaja mineralnih tvari i količine proteina također utječu na boju meda. Tamni med sadrži više mineralnih tvari od svijetlog (Sajwani i sur., 2007).

Okus i miris meda ovisni su o hlapljivim komponentama i međusobno su povezani. Monoflorni med ima karakteristike okusa i mirisa biljne vrste od koje je dobiven, dok kod poliflornog meda okus i miris nije određen. Okus je sladak, iako može sadržavati i malo gorčine. Slatkoća meda povezana je s udjelom i omjerom glukoze i fruktoze, organskih kiselina i eteričnih ulja (Vahčić i Matković, 2009). Omjer fruktoze i glukoze izravno utječe na slatki okus meda jer je fruktoza slađa od glukoze (de Sousa i sur., 2016).

2.5. OSNOVNA PODJELA MEDA

Med se prema podrijetlu može podijeliti na nektarni med koji se dobiva iz nektara biljaka i med medljikovac koji se dobiva iz izlučevina kukaca ili sekreta živih dijelova biljaka. Podjela nektarnog meda je na monoflorni i poliflorni med. Monoflorni med mora sadržavati u netopljivom sedimentu minimalno 45 % peludnih zrnaca iste biljne vrste. Izuzeci su pitomi kesten u kojem je udio peludnih zrnaca iste biljne vrste u netopljivom sedimentu minimalno 85 %, zatim kod ružmarina minimalno 30 % peludnih zrnaca iste biljne vrste, kod lipe minimalno 25 %, dok kod kadulje, bagrema i lavande minimalno 20 % (Vahčić i Matković, 2009). Poliflorni med kombinacija je nekoliko različitih vrsta nektara koje kombiniraju medonosne pčele dok pretvaraju nektar u med (Muresan i sur., 2022). Prema postupku proizvodnje med se dijeli na: med u saću, med s dijelovima saća, cijeđeni med, vrcani med, prešani med i filtrirani med (Pravilnik, 2015). Neki od najpoznatijih vrsta nektarnog meda u Republici Hrvatskoj su: med bagrema, med kadulje, med kestena, med lipe, med lavande, med ružmarina, med suncokreta, med amorfe i livadni med (Vahčić i Matković, 2009).

2.5.1. Cvjetni med

Prema propisima, cvjetni med mora sadržavati najmanje 60 grama fruktoze i glukoze na 100 grama proizvoda, od čega najviše 5 grama saharoze na 100 grama meda. Količina vode u medu ne smije biti veća od 20 % (Pravilnik, 2015).

2.5.2. Livadni med

Livadni med je med od različitog livadnog cvijeća taj nektarni med je vrlo cijenjen. Ovisno o livadnoj biljci koja dominira u medu, okus i boja meda, te sklonost kristalizaciji variraju (Vahčić i Matković, 2009).

2.5.3. Medljikovac

Podrijetlo medljikovca je najčešće od crnogoričnog drveća poput bora, jele i smreke ili bjelogoričnog drveća poput hrasta, bukve i lipe. Medljika je slatka tvar koja se pojavljuje na dijelovima drveća crnogorice i bjelogorice. Proizvodi se od izlučevina kukaca koji sišu biljne sokove, prerađuju i izlučuju kao sitne kapljice medljike koja se potom skuplja na biljci. Medljikovac se razlikuje od nektarnog meda po tome što je obojeniji, manje sladak, ima veći udio mineralnih tvari i oligosaharida. Neki od najpoznatijih vrsta medljikovca u Republici Hrvatskoj su jelov medljikovac, smrekov medljikovac i hrastov medljikovac (Vahčić i Matković, 2009). Medljikovac ima veću aktivnost enzima od nektarnog meda zbog činjenice da je medljika bogata enzimima, posebno invertazom (Flanjak i sur., 2016).

Medljikovac mora sadržavati najmanje 45 grama fruktoze i glukoze na 100 grama proizvoda, od čega najviše 5 grama saharoze na 100 grama meda. Količina vode u medu ne smije prelaziti 20 % (Pravilnik, 2015).

2.6. BILJNI MED

Biljni med je sličan prirodnom medu, proizvode ga pčele koje jedu hranu na bazi saharoze s dodatkom biljnih ekstrakata ili voćnih sokova. Sa specifičnim senzorskim karakteristikama biljni med proširuje paletu pčelinjih proizvoda. Biljni med ima široku primjenu u farmaciji i medicini kao komponenta lijekova, profilaktičkih sredstava i dodataka prehrani. Kemijski sastav biljnog meda sličan je prirodnom medu, a glavni sastojci su šećeri glukoza, fruktoza i saharoza. Udio saharoze u svježe ekstrahiranom biljnom me

du može biti čak 20 g na 100 g meda. Zbog svojih specifičnih senzorskih svojstava, biljni med izvrsna je dopuna asortimanu pčelinjih proizvoda (Juszczak i sur., 2009).

2.7. POTROŠNJA I PROIZVODNJA MEDA U SVIJETU

Potrošnja meda jako se razlikuje među državama. Glavni izvoznici meda su Kina i Argentina, ali imaju malu godišnju potrošnju od 0,1 do 0,2 kg meda po glavi stanovnika. Potrošnja meda veća je u razvijenim zemljama. U Europskoj uniji, koja je i veliki proizvođač i uvoznik meda, godišnja potrošnja po glavi stanovnika varira od 0,3 do 0,4 kg. U zemljama poput Australije, Kanade i Sjedinjenih Američkih Država prosječna potrošnja po stanovniku iznosi 0,6 do 0,8 kg godišnje. Osim Kine, ostali veliki proizvođači meda su Argentina, Turska i Sjedinjene Američke Države. Značajni regionalni proizvođači meda su Turska, Ukrajina i Meksiko (Ajibola, 2012). Prema podacima i procjenama iz 2018. godine, proizvodnja meda u cijelom svijetu iznosila je oko 1,9 milijuna tona (Muresan i sur., 2022). Najzastupljenije vrste meda koje se proizvode u Republici Hrvatskoj su med bagrema, kadulje, kestena, te med medljikovac (Flanjak i sur., 2016).

2.8. UTJECAJ PELUDI NA RAZVOJ PČELA MEDARICA

Pelud je prirodni izvor proteina za pčele i neophodan za razvoj pčela medarica. Sastav peludi kojeg sakupljaju medonosne pčele može se dosta razlikovati ovisno o godišnjem dobu, botaničkom podrijetlu i geografskom području. Utvrđeno je da prisutnost dovoljne količine peludi koja sadrži više od 25 % proteina potiče pčele da održavaju visoku razinu reprodukcije i razvoja. Velika količina peludi koju pčele sakupe u proljeće, bogata je proteinima što uzrokuje nagli rast legla i populacije pčela, dok je udio proteina u peludi ljeti i tijekom jeseni manji pri čemu se i rast populacije smanjuje (Radev, 2018). Proteini peludnog podrijetla glavni su izvor dušika za pčele (Brudzynsk i Maldonado-Alvarez, 2015). Proteini peludi značajni su i pri utvrđivanju botaničkog podrijetla meda (Rotim i sur., 2021).

2.9. NUTRITIVNE I ZDRAVSTVENE ZNAČAJKE MEDA

Energijskoj vrijednosti meda doprinose glavne komponente, šećeri glukoza i fruktoza. Pri tome, 100 grama meda osigurava oko 300 kcal. Omogućuje trenutnu energiju za potrošače i

Iako je probavljiv (Baglio, 2018). Istraživanja pokazuju da med sadrži antioksidanse koji sprječavaju patogenezu i kronične bolesti. Sadržaj antioksidansa utječe na boju meda, a tamniji med sadrži ih više od svjetlijeg meda (Ajibola, 2012). Antioksidacijska aktivnost meda značajnije se smanjuje zagrijavanjem (Vahčić i Matković, 2009). Med ima prednosti u odnosu na konzumni šećer jer sadrži određeni udio nutrijenata koji pomažu u probavi. Važnost meda u prehrani očituje se i kroz rast korisnih bakterija (bifidobakterija i laktobacila) te prebiotičke učinke (Ajibola, 2012). Antimikrobna aktivnost meda uključuje bakteriostatski i bakteriocidni učinak protiv brojnih bakterija (Bogdanov i sur., 2008). Antibakterijska svojstva meda vrlo su kompleksna, a komponente koje imaju ključnu ulogu su visoka koncentracija šećera u medu, niska pH vrijednost, visoka koncentracija organskih kiselina, sadržaj glukoza oksidaze i polifenolnih spojeva (Marić i sur., 2021). Antibakterijsko djelovanje očituje se kroz sposobnost inhibicije Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, uključujući sojeve otporne na lijekove, te također i neke vrste gljivica i virusa. Protuupalna svojstva meda povezana su s njegovom antiseptičkom prirodom koja omogućuje uklanjanje bakterija koje stimuliraju upalni odgovor te smanjenje količine bakterija prisutnih u rani. Smanjuje ukupno vrijeme zacjeljivanja rana, te smanjuje ožiljke kod pacijenata s opeklinским ranama (Scepankova i sur., 2017). Konzumacijom meda osigurava se unos kalcija koji ima ulogu u jačanju koštane mase, što pomaže u smanjenju rizika od osteoporoze kod starijih osoba. Med se smatra dobrim imunološkim nutrijentom koji može potaknuti i povećati proizvodnju antitijela tijekom primarne i sekundarne imunološke reakcije. Visoka razina antibakterijskog djelovanja meda smanjuje rizik od zubnog karijesa, zubnog plaka i gingivitisa. Med djeluje gastroprotektivno zbog antioksidacijskih svojstava. Koristan je i u održavanju razine šećera u krvi. Unos meda ublažava rizik i od srčanožilnih bolesti (Ajibola, 2012). Osim u tretiranju opekline i rana, te njezi zuba, med pokazuje i antitumorsko djelovanje (Erban i sur., 2019). Neka istraživanja pokazuju da med poboljšava metabolizam masti, a može utjecati i na snižavanje krvnog tlaka (Ramli i sur., 2018). Njegova antioksidacijska i antibakterijska svojstva ukazuju na potencijal u sprječavanju različitih bolesti (Marić i sur., 2021). Pčelinji med je jedna od rijetkih namirnica koja gotovo uopće ne izaziva alergiju (El Sohaimy i sur., 2015).

2.10. PROTEINI U MEDU

Proteini i aminokiseline koji se nalaze u medu mogu biti iz peludi pri čemu se smatra da imaju biljno podrijetlo ili, ukoliko dolaze od pčela, mogu imati životinjsko podrijetlo. Udio

proteina u medu u rasponu je od 0 do 1,7 %. Prolin je najzastupljenija aminokiselina u medu (80 - 90 %) koja potječe od pčela i ujedno je pokazatelj zrelosti, a ponekad i indikator patvorenja (Vahčić i Matković, 2009). Izuzetci su med lavande, timijana, i ružmarina gdje je glavna aminokiselina fenilalanin (Flanjak i sur., 2016). Proteini u medu imaju utjecaj na neka svojstva poput kristalizacije, tamnjenja i stvaranja pjene kod meda. Aminokiseline zajedno sa šećerima stvaraju žute i smeđe produkte uslijed dugog skladištenja ili zagrijavanja meda što dovodi do tamnjenja meda (Vahčić i Matković, 2009). Proteini koje med sadrži obično potječu od peludi koja je prirodan izvor hrane bogat proteinima. Razlike u udjelu proteina u različitim vrstama meda mogu se odnositi na podrijetlo meda i vrste peludi (Sohraimiy u sur., 2015). Specifični proteini u medu su proteini matične mliječi koji se luče iz žlijezde mladih pčela (Chua i sur., 2013). Najzastupljeniji neenzimski protein u medu koji potječe od pčela je glikoprotein (Brudzynsk i Maldonado-Alvarez, 2015). Različiti sadržaj proteina u medu rezultat je različite prisutnosti proteina u nektaru cvijeca i enzima unesenih od strane pčela u med (de Sousa i sur., 2016). U medu je sadržaj proteina, uključujući i enzime, relativno nizak te ima manji nutritivni značaj, ali je vrlo bitan kao parametar za ocjenu kvalitete meda (Flanjak i sur., 2016). Poznavanje proteinskih komponenti može otvoriti nove puteve za primjenu meda u različitim područjima (Erban i sur., 2019).

Polifenoli kao i proteini čine vrlo mali udio u medu, ali mogu značajno utjecati na antioksidacijska i antibakterijska svojstva meda. Polifenoli imaju sposobnost vezanja proteina putem nekovalentnih ili kovalentnih veza i izdvajaju proteine u topljive ili netopljive komplekse. Proteini modificirani polifenolima prolaze kroz konformacijske prijelaze zbog čega mijenjaju svoju biološku aktivnost na način da smanjuju izvornu funkciju i nutritivne prednosti, dok polifenoli vezani proteinima smanjuju svoju antioksidacijsku aktivnost. Veličina i broj kompleksa protein-polifenol povećati će se s porastom temperature. Osim temperature, čimbenici koji pospješuju stvaranje kovalentnih veza između polifenola i proteina su kisik, prisutnost oksidansa (vodikov peroksid) i prisutnost iona prijelaznih metala. U medu se interakcija između proteina i polifenola povećava s vremenom skladištenja i toplinskom obradom. Interakcije proteina i polifenola utječu međusobno na strukturna i funkcionalna svojstva molekula. Kovalentne interakcije proteina s polifenolima mogu biti odgovorne za inaktivaciju enzima meda (Brudzynsk i Maldonado-Alvarez, 2015).

2.11. METODE ODREĐIVANJA PROTEINA

Unatoč niskom sadržaju proteina u medu, određivanje njihovog udjela je sve značajnije jer se koriste kao markeri autentičnosti, kvalitete i patvorenja meda. Kontrola kvalitete meda važna je jer ukazuje na promjene u sastavu meda tijekom faze skladištenja, a i med je proizvod koji se često patvori (Bocian i sur., 2019). Proteini se mogu odrediti primjenom različitih analitičkih metoda. Sajwani i suradnici (2007) u svom istraživanju koristili su kolorimetrijsku metodu po Lowry-u (uz uporabu Folin-Ciocalte-ovog reagensa) za određivanje udjela ukupnih proteina u medu. El Sohramy i suradnici (2015) određivali su udio ukupnih proteina u uzorcima meda Kjeldahl metodom. Flanjak i suradnici (2016) su za određivanje udjela ukupnih proteina u medu primijenili spektrofotometrijsku metodu po Bradford-u. Metode određivanja proteina, kao i pripreme uzoraka za analize, se kontinuirano razvijaju (Bocian i sur., 2019; Chua i sur., 2013). U praćenju udjela pojedinih proteina u medu i pčelinjih peptida (kao što su na primjer apalbumin-1 i defensin-1) pozornost privlači i imunoenzimska ili ELISA metoda (eng. Enzyme-linked immunosorbent assay). Imunoenzimske metode temelje se na svojstvu antitijela za specifično prepoznavanje antigena te spektrofotometrijskom mjerenju reakcije koja nastaje zbog promjene boje supstrata. Kod utvrđivanja autentičnosti i kvalitete meda i pčelinjih proizvoda, imunoenzimska ELISA metoda pokazuje potencijal razlikovanja prirodnog od patvorenog meda (Rotim i sur., 2021).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Analizirani uzorci

U ovom istraživanju korišteno je 18 uzoraka meda (Tablica 1) kako bi se odredio udio ukupnih proteina. Analizirani uzorci su iz sezone 2022. i ocijenjeni su srebrnim i zlatnim medaljama na 18. Međunarodnom natjecanju pčelara u kvaliteti meda Zzzagimed 2022. Za laboratorijske analize određivanja udjela ukupnih proteina izdvojeni su cvjetni med (n=6), livadni med (n=6) i medljikovac (n=6) (Tablica 1).

Tablica 1: Uzorci meda

Vrsta meda	Medalja	Broj uzoraka	Oznaka
cvjetni	zlato	3	1, 9, 12
	srebro	3	13, 14, 67
livadni	zlato	3	21, 79, 81
	srebro	3	77, 78, 83
medljikovac	zlato	6	41, 120, 152, 155, 165, 200

3.1.2. Laboratorijsko posuđe i uređaji

- analitička vaga (SHIMADZU AX 200)
- aluminijska ladica
- kivete za Kjelttec sustav (500 mL)
- trbušasta pipeta (25 mL)
- blok za spaljivanje (Digestion system 6, 1007 Digester)
- Kjelttec uređaj (KjelttecTM 8100, TecatorTM Line, Foss)
- Erlenmeyerova tikvica (300 mL)

- bireta
- menzura (25 mL)
- staklena čaša (100 mL)

3.1.3. Reagensi

- Kjeldahl-ove tablete ($K_2SO_4 + CuSO_4$, Merck KGaA, Njemačka)
- koncentrirana 96%-tna sumporna kiselina (H_2SO_4 , Lach-Ner s.r.o, Češka)
- obojeni indikator; metilno crvenilo, bromkrezol zeleno (Gram-Mol d.o.o., Hrvatska)
- 4%-tna borna kiselina (BH_3O_3 , Fisher BioReagents, Kina)
- 40%-tni natrijev hidroksid (NaOH)
- klorovodična kiselina (HCl, 0,1 mol/L, Kemika, Hrvatska)

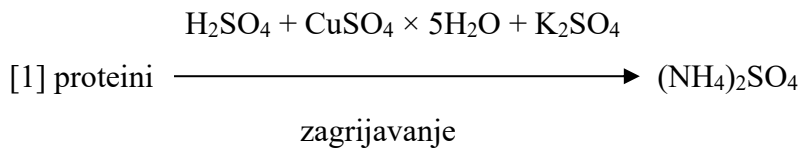
3.2. METODE

Za određivanje udjela ukupnih proteina u uzorcima cvjetnog i livadnog meda te medljikovca iz sezone 2022., provedene su analize metodom po Kjeldahl-u (AOAC, 1995; Kropf i sur., 2010).

3.2.1. Princip određivanja metodom po Kjeldahl-u

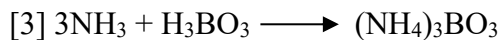
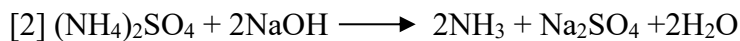
Metoda koja ima najširu primjenu za određivanje udjela ukupnih proteina je metoda po Kjeldahl-u. Ovom metodom udio ukupnih proteina ne određuje se direktno, već preko udjela dušika prisutnog u -NH skupinama. Preračunavanjem udjela dušika, točnije množenjem udjela dušika i faktora pretvorbe F koji je određen za pojedinu namirnicu ili skupinu namirnica, dobiva se postotak ukupnih proteina u uzorku (Vahčić i sur., 2008). Metoda po Kjeldahl-u uključuje postupak spaljivanja uzorka, postupak destilacije, te završne titracije. Početno spaljivanje uzorka provodi se sa sumpornom kiselinom, a kao katalizator se koristi $CuSO_4 \times 5H_2O$ te K_2SO_4 koji povećava vrelište kiselini pri čemu dolazi do oslobađanja proteinskog i neproteinskog dušika i nastaje amonijev sulfat.

1) Postupak spaljivanja:



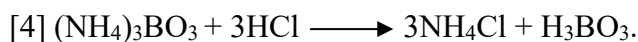
Metoda po Kjeldahl-u uključuje i postupak destilacije uz dodatak NaOH pri čemu se oslobođeni amonijak predestilira u bornu kiselinu uz nastanak amonijeva borata.

2) Postupak destilacije:



Nakon destilacije amonijev borat titrira se klorovodičnom kiselinom do promjene boje uz nastanak amonijeva klorida i borne kiseline.

3) Postupak titracije:



3.2.2 Postupak određivanja metodom po Kjeldahl-u

Izvaže se 5,0 g (s točnošću $\pm 0,0001$) uzorka meda u aluminijsku lađicu na analitičkoj vagi i prebaci u kivetu od 500 mL pazeći da grlo kivete bude čisto. U kivetu se dodaje Kjeldahl-ova tableta ($\text{CuSO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4$) i 20 mL koncentrirane 96%-tne sumporne kiseline. Kiveta se stavlja na zagrijavanje u blok za spaljivanje u digestoru. Na početku spaljivanja potrebno je voditi računa da sadržaj kivete ne prelazi polovicu volumena kako ne bi došlo do istjecanja sadržaja kivete. Spaljivanje uzorka traje nekoliko sati, što ovisi o uzorku, a završeno je kada tekućina postane bistra, plavo-zelene boje bez neizgorelih crnih komdića. Sadržaj kivete ohladi se na sobnu temperaturu, a zatim započinje postupak destilacije. Kiveta s uzorkom se postavlja i dobro pričvršćuje u destilacijsku jedinicu predhodno zagrijanog Kjeltca uređaja (Slika 1).

Dodaje se 25 mL 4 %-tne borne kiseline s indikatorima u Erlenmeyerovu tikvicu koja je postavljena na postolje tako da je destilacijska cjevčica uronjena u sadržaj Erlenmeyerove tikvice. Na početku destilacije sustav u kivetu dozira 50 mL 40 %-tne NaOH, a destilacija traje 6 minuta. Tijekom destilacije je vidljiva promjena boje sadržaja Erlenmeyerove tikvice iz ružičaste u plavo-zelenu zbog predestilacije amonijaka u bornu kiselinu. Otopina u Erlenmeyerovoj tikvici, koja je promijenila boju u plavo-zelenu, titirana je klorovodičnom kiselinom (0,1 mol/L) do ponovne promjene boje u ružičastu.



Slika 1. Kjeltor uređaj (vlastita fotografija)

Izračunavanje udjela dušika:

$$\% \text{ ukupnog N} = \frac{(T-B) \times N \times 14,007 \times 100}{m} \quad [1]$$

T – volumen klorovodične kiseline utrošen za titraciju uzorka (mL)

B – volumen klorovodične kiseline utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

N – molaritet kiseline

m – masa uzorka (mg).

Izračunavanje udjela proteina:

$$\% \text{ proteina} = \% \text{ N} \times F \quad [2]$$

F – faktor za preračunavanje % dušika u proteine; za uzorak meda iznosi 6,25.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Određivanjem udjela ukupnih proteina metodom po Kjeldahl-u u 18 uzoraka meda (cvjetnom; n = 6, livadnom; n = 6, i medljikovcu; n = 6) iz sezone 2022., dobiveni su podaci prikazani u Tablici 2. Rezultati laboratorijskih analiza uspoređeni su međusobno kao i sa sličnim rezultatima iz literature.

Tablica 2. Udio ukupnih proteina u uzorcima cvjetnog (n=6) meda

Vrsta meda	Uzorak	Oznaka uzorka	Udio dušika (%)	Udio proteina (%)
cvjetni	1.	Uzorak 1	0,02	0,10
	2.	Uzorak 13	0,07	0,42
	3.	Uzorak 14	0,06	0,40
	4.	Uzorak 67	0,02	0,12
	5.	Uzorak 12	0,01	0,09
	6.	Uzorak 9	0,02	0,11
RASPON			0,02 – 0,70	0,09 - 0,42

Med se ističe svojom nutritivnom vrijednošću, te mu se pripisuju pozitivni učinci na zdravlje (Ajibola, 2012). Za procjenu autentičnosti i kvalitete meda značajno je i određivanje sadržaja proteina (Erban i sur., 2019) koji se sve više istražuju unatoč niskom udjelu u medu (Chua i sur., 2013).

Rezultati o udjelu ukupnih proteina u medu u ovom istraživanju dobiveni su indirektno određivanjem udjela dušika metodom po Kjeldahl-u te množenjem dobivene vrijednosti s faktorom za preračunavanje koji je u ovom slučaju iznosio 6,25.

Ukupni udio proteina u 6 uzoraka analiziranog cvjetnog meda u rasponu je između 0,09 % i 0,42 % (Tablica 2), dok je prosječan udio meda u analiziranim uzorcima cvjetnog meda 0,21 % (Slika 2). Najniži udio proteina u cvjetnom medu određen je u uzorku 5 (0,09 %), dok je najviši udio proteina određen u uzorku 2 (0,42 %).

Tablica 3. Udio ukupnih proteina u uzorcima livadnog (n = 6) meda

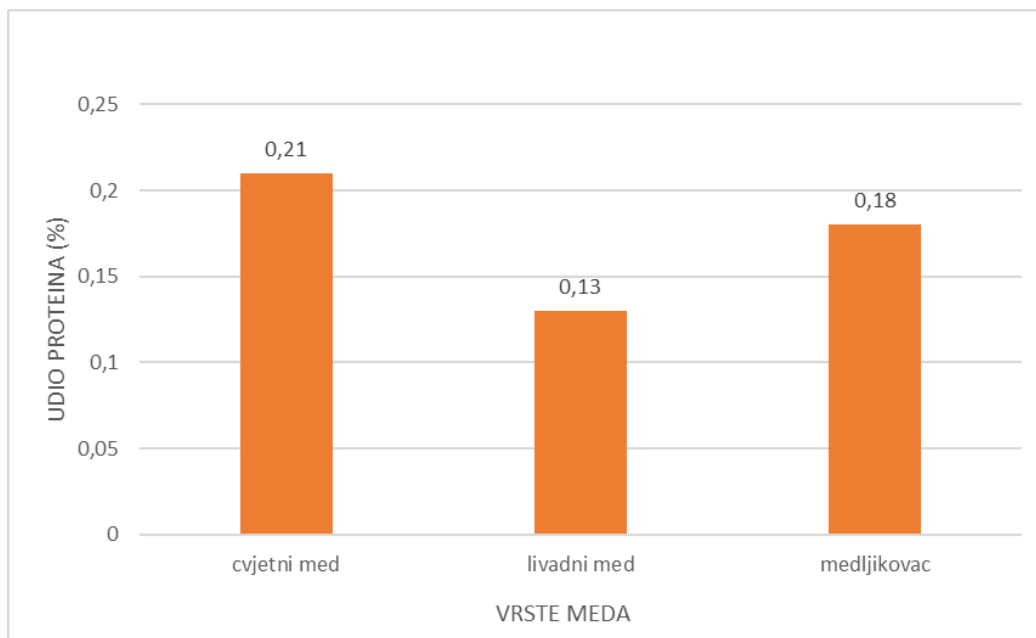
Vrsta meda	Uzorak	Oznaka uzorka	Udio dušika (%)	Udio proteina (%)
livadni	1.	Uzorak 21	0,02	0,12
	2.	Uzorak 79	0,02	0,14
	3.	Uzorak 78	0,02	0,12
	4.	Uzorak 77	0,02	0,11
	5.	Uzorak 81	0,02	0,13
	6.	Uzorak 83	0,03	0,17
RASPON			0,02 – 0,03	0,11 – 0,17

Ukupan udio proteina za 6 uzoraka analiziranog livadnog meda kreće se između 0,11 % i 0,17 % (Tablica 3), dok prosječan udio iznosi 0,13 % (Slika 2). Najniži udio proteina u livadnom medu određen je u uzorku 4 (0,11 %), dok je najviši udio proteina određen u uzorku 6 (0,17 %).

Tablica 4. Udio ukupnih proteina u uzorcima (n = 6) meda medljikovca

Vrsta meda	Uzorak	Oznaka uzorka	Udio dušika (%)	Udio proteina (%)
medljikovac	1.	Uzorak 152	0,02	0,13
	2.	Uzorak 200	0,02	0,13
	3.	Uzorak 155	0,02	0,13
	4.	Uzorak 41	0,02	0,11
	5.	Uzorak 120	0,07	0,42
	6.	Uzorak 165	0,02	0,14
RASPON			0,02 – 0,07	0,11 – 0,42

Ukupan udio proteina za 6 uzoraka analiziranog meda medljikovca kretao se između 0,11 % i 0,42 % (Tablica 4), dok je prosječan udio proteina 0,18 % (Slika 2). Najniži udio proteina u medu medljikovcu određen je u uzorku 4 (0,11 %), dok je najviši udio proteina određen u uzorku 5 (0,42 %).



Slika 2. Prosječan udio ukupnih proteina u analiziranim uzorcima cvjetnog meda (n = 6), livadnog meda (n = 6) i medljikovca (n = 6).

Iz rezultata je vidljivo da je najviši prosječan udio ukupnih proteina određen u cvjetnom medu, a najniži u livadnom medu (Slika 2).

Uspoređujući rezultate ovog istraživanja s rezultatima objavljenih sličnih istraživanja u kojima je određen udio ukupnih proteina u medu, vidljivo je da su rezultati u skladu. El Sohaimy i suradnici (2015) također su koristili metodu po Kjeldahl-u za određivanje udjela ukupnih proteina u uzorcima egipatskog, jemenskog, saudijskog i kašmirskog meda pri čemu se udio ukupnih proteina kretao između 0,167 % i 0,467 %. Osuagwu i suradnici (2020) također su koristili metodu po Kjeldahl-u za određivanje ukupnih proteina u uzorcima meda podrijetlom

iz zona gvinejske savane, a prosječan udio ukupnih proteina iznosio je 0,16 %. Swajani i suradnici (2007) koristili su metodu po Lowry-u za određivanje udjela ukupnih proteina, a prosječna dobivena vrijednost pri tome je iznosila 0,2 %. Istraživači, osim Kjeldahl metode, te spomenute metode po Lowry-u, često koriste i jednostavnu i brzu metodu po Bradford-u (Chua i sur., 2013). Flanjak i suradnici (2016) koristili su metodu po Bradford-u za određivanje udjela ukupnih proteina u medu također podrijetlom iz Republike Hrvatske, a pri tome je udio proteina u uzorcima medljikovca prosječno iznosio 0,059 % što u ovom slučaju pokazuje nešto nižu vrijednost s obzirom na ovo istraživanje. Koristeći metodu po Bradford-u, Liberato i suradnici (2013) dobili su vrijednosti udjela ukupnih proteina u rasponu od 0,10 % do 0,22 % za različite vrste meda, a Azeredo i suradnici (2003) su koristeći istu metodu u uzorcima meda podrijetlom iz Brazila odredili najviši udio ukupnih proteina u vrijednosti 0,22 %. Rezultati ovog istraživanja u skladu su sa navedenim vrijednostima.

5. ZAKLJUČCI

Prema rezultatima ovog istraživanja može se zaključiti:

1. Udio ukupnih proteina u analiziranim uzorcima cvjetnog meda (n=6) u rasponu je između 0,09 % i 0,42 %, livadnog meda (n=6) između 0,11 % i 0,17 %, te medljikovca (n=6) između 0,11 % i 0,42 %.
2. Najviši prosječan udio ukupnih proteina određen je u cvjetnom medu (0,21 %), slijedi med medljikovac (0,18 %), dok je najniži udio ukupnih proteina određen u livadnom medu (0,13 %).
3. Dobiveni rezultati u skladu su sa sličnim istraživanjima tijekom kojih je različitim metodama određen udio ukupnih proteina u uzorcima meda.

6. POPIS LITERATURE

Ajibola A, Chamunorwa JP, Erlwanger KH (2012) Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutr Metab* **9(61)**, <https://doi.org/10.1186/1743-7075-9-61>

AOAC (1995) Official methods of analysis, 16. izd., Association of official analytical chemists, Washington DC, USA.

Azeredo LC, Areredo MAA, de Souza SR, Dutra VML (2003) Protein contents and Physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chem* **80**, 249-254. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00261-3](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00261-3)

Baglio E (2018) Chemistry and Technology of Honey Production. SpringerBriefs in Molecular Science. doi:10.1007/978-3-319-65751-6

Bocian A, Buczkowicz J, Jaromin M, Hus KK, Legáth J (2019) An Effective Method of Isolating Honey Proteins. *MOLEFW* **24**, 2399. <https://doi.org/10.3390/molecules24132399>

Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallmann, P. (2008) Honey for nutrition and health: A Review. *J Am Coll Nutr* **27**, 677–689. <https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>

Brudzynski K, Maldonado-Alvarez L (2015) Polyphenol-Protein Complexes and Their Consequences for the Redox Activity: Structure and Function of Honey. A Current View and New Hypothesis – a Review. *Polish J Food Nutr Sci* **65**, 71 – 80. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0030>

Chua LS, Lee JY, Chan GF (2013) Honey protein extraction and determination by mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* **405**, 3063-3074. doi: 10.1007/s00216-012-6630-2

Codex Alimentarius Commission (2001) Revised Codex Standard for Honey, Codex STAN 12-1981, Rev.2.

de Sousa JMB, de Souza EL, Marques G, de Toledo Benassi M, Gullón B, Pintado MM, Magnani M (2016) Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. *LWT*, 645-651. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.058>

El Sohaimy SA, Masry SHD, Shehata MG (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Ann Agric Sci* **60(2)**, 279-287. 21 <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2015.10.015>

Erban T, Shcherbachenko E, Talacko P, Harant K (2019) The unique protein composition of honey revealed by comprehensive proteomic analysis: Allergens, venom-like proteins, antibacterial properties, royal jelly proteins, serine proteases, and their inhibitors. *J Nat Prod* **82(5)**, 1217-1226. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00968>

Flanjak I, Strelec I, Kenjeric D, Primorac L (2016) Croatian produced unifloral honey characterized according to the protein and proline content and enzyme activities. *J Apic Res* **60(1)**, 39-48. <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0005>

Juszczak L, Socha R, Rożnowski J, Fortuna T, Nalepka K (2009) Physicochemical properties and quality parameters of herbhoney. *Food Chem* **113(2)**, 538-542. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.098>.

Kropf U, Korošec M, Bertoneclj J, Ogrinc N, Nečemer M, Kump P, Golob T (2010) Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chem* **121(3)**, 839-846. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.094>

Liberato M da CT, Morais de SM, Magalhães CE de C, Magalhães IL, Cavalcanti DB, Silva MM de O (2013) Physicochemical properties and mineral and protein content of

honey samples from Ceará State, Northeastern Brazil. *Cienc Tecnol Aliment* **33(1)**, 38-46. <https://www.scielo.br/j/cta/a/jZySLXPZLjRvWff7s3wr3VS/>

Marić A, Jovanov P, Sakač M, Novaković A, Hadnađev M, Pezo L, Mandić A, Milićević N, Đurović A, Gadžurić S (2021) A comprehensive study of parameters correlated with honey health benefits. *RSC Adv.* **11(20)**, 12434-12441. doi: 10.1039/d0ra10887a

Mureşan CI, Cornea-Cipcigan M, Suharoschi R, Erler S, Mărgăoan R (2022) Honey botanical origin and honey-specific protein pattern: Characterization of some European honeys. *LWT* **154**, 112883. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112883>

Nanda V, Sarkar BC, Sharma HK, Bawa AS (2003) Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *J Food Compost Anal* **16(5)**, 613-619. [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00062-0](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00062-0).

Osuagwu OS, Oyerinde AA, Onipede AS, Ombugadu A (2020) Comparative Studies of the Physicochemical Properties and Mineral Elements of Honey Produced in the Guinea Savannah Zones of Nigeria. *BJSTR* **24(5)**, 18548-18561. <https://DOI:10.26717/BJSTR.2020.24.004105>

Pravilnik (2015) Pravilnik o medu. Narodne novine 53, Zagreb. https://narodnenovine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_05_53_1029.html. Pristupljeno 18. svibnja 2023.

Radev, Z. (2018). The impact of different protein content of pollen on honey bee (*Apis mellifera* L.) development. *Am J Entomol* **2(3)**, 23-27. <https://doi:10.11648/j.aje.20180203.11>

Ramli, N. Z., Chin, K. Y., Zarkasi, K. A., Ahmad, F. (2018). A Review on the Protective Effects of Honey against Metabolic Syndrome. *Nutrients* **10**, 1009. <https://doi.org/10.3390/nu10081009>

Rotim K, Marković K, Vahčić N (2021) Imunoenzimske metode u procjeni kvalitete meda i pčelinjih proizvoda, *Hrvat čas prehrambenu tehnol. biotehnol. nutr* **16(3-4)**, 109-114. <https://doi.org/10.31895/hcptbn.16.34.2>

Sajwani AM, Eltayeb EA, Farook SA, Patzelt A (2007) Sugar and Protein Profiles of Omani Honey from Muscat and Batinah Regions of Oman. *Int J Food Prop* **10(4)**, 675–690. <https://doi:10.1080/10942910601118904>

Scepankova H, Saraiva J A, Estevinho L M (2017) Honey Health Benefits and Uses in Medicine. U: Alvarez-Suarez J M (ured.) *Bee Products - Chemical and Biological Properties*, Springer Cham, str. 83–96. doi:10.1007/978-3-319-59689

Vahčić N, Hruškar M, Marković K (2008) Analitičke metode za određivanje osnovnih sastojaka hrane, Praktikum. Interna skripta Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

Vahčić N, Matković D (2009) Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda, <https://pdfcoffee.com/kemijske-fizikalne-i-senzorske-karakteristike-meda-pdf-free.html>. Pristupljeno 10. lipnja 2023.

Izjava o izvornosti

Ja Sara Strbad izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis