Mineralne tvari u medu

Ružman, Edi

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

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:159:456205

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Prediplomski studij Prehrambena tehnologija

Edi Ružman

6612

MINERALNE TVARI U MEDU

ZAVRŠNI RAD

Modul: Analitika prehrambenih proizvoda

Mentor: prof.dr.sc. Nada Vahčić

Zagreb, 2016.

Završni rad

‚Završni rad Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija
Zavoda za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

MINERALNE TVARI U MEDU

Edi Ružman, 6612

Sažetak: Cilj ovog istraživanja bio je određivanje kalcija i magnezija prisutnih u bagremovom i cvjetnom medu prikupljenom od hrvatskih pčelara. Istraživanje je provedeno na deset uzoraka bagremovog i deset uzoraka cvjetnog meda. Uzorci su tretirani tehnikom „suhog“ spaljivanja, nakon čega su podvrgnuti mineralizaciji u mufolnoj peći. Udio kalcija i magnezija određen je na atomskom spektrofotometru Perkin-ELMER 2380. Dobiveni rezultati ukazuju na značajno veću količinu prisutnih mineralnih elemenata u cvjetnom medu, u usporedbi sa bagremovim. Takvi rezultati su u korelaciji s podacima iz literature, koji navode da tamniji medovi imaju veću koncentraciju minerala od svijetlih medova. Izmjerene koncentracije kalcija i magnezija bile su približne drugim provedenim istraživanjima na području Hrvatske.

Ključne riječi: bagremov med, cvjetni med, metali, AAS
Rad sadrži: 22 stranice, 1 sliku, 2 tablice, 30 literaturni navod
Jezik izvornika: hrvatski
Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb
Mentor: Prof. dr.sc. Nada Vahčić
Pomoć pri izradi: Renata Petrović ing.
Valentina Hohnjec

Rad predan: rujan, 2016

Final work

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Undergraduate studies Food Technology
Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Quality Control

MINERAL CONTENT IN HONEY

The goal of this research was to determine calcium and magnesium content of black locust and medow honey collected from Croatian beekeepers. Research was done on ten samples of black locust honey and ten samples of medow honey. Samples were treated with „dry" burning method after which they were subjected to mineralization in muffle furnace. Calcium and magnesium was determined with atomic absorption spectrometer Perkin-ELMER 2380. Obtained results indicate that there is a larger amount of mineral elements in medow honey in comparison to black locust honey. This results are in correlation with results in literature from which we can conclude that dark honeys have a higher mineral content than pale ones. Measured concentration of calcium and magnesium were close to those measured in other research in Croatia.

Keywords: black locust, medow honey, minerals, AAS
Thesis contains: 22 pages, 1 figure, 2 tables, 30 references
Original in: Croatian
Final work in printed and electronic (pdf format**) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb
Mentor: Ph.D. Nada Vahčić, Full professor
Technical support and assistance: Renata Petrović
Valentina Hohnjec

Thesis delivered: June, 2016

SADRŽAJ

1.UVOD.....1

2.TEORIJSKI DIO.....2

2.1. DEFINICIJA I PODJELA MED.....2

2.1.1. BAGREMOV MED.....3

2.1.2. CVJETNI MED.....3

2.2. **KEMIJSKI SASTAV MEDA**.....4

2.2.1. VODA.....4

2.2.2. UGLJIKOHIDRATI.....5

2.2.3. PROTEINI I AMINOKISELINE.....6

2.2.4. ORGANSKE KISELINE.....6

2.2.5. ENZIMI 7

2.2.6. OSTALI SPOJEVI.....7

2.2.7. MAKRO I MIKROELEMENTI.....8

3. EKSPERIMENTALNI DIO.....12

3.1. MATERIJALI.....12

3.1.1. PRIBOR I APARATURA 12

3.1.2. UZORCI 12

3.2. METODE RADA.....12

3.2.1. PRIPREMA UZORAKA ZA ODREĐIVANJE METALA.....12

3.2.2. POSTUPAK SUHOG SPALJIVANJA UZORAKA.....13

3.2.3. ATOMSKA APSORPCIJSKA SPEKTROFOTOMETRIJA.....13

4. REZULTATI.....16

5. DISKUSIJA.....17

6. ZAKLJUČAK.....19

7. LITERATURA.....20

1. UVOD

Med je proizvod koji je od davnina poznat čovjeku, te je dugo vremena bio jedini zaslađivač koji je bio dostupan ljudima prije masovne proizvodnje šećera. Danas je glavni prirodni zaslađivač visoke energetske i nutritivne vrijednosti. Dobiva se preradom nektara i medljike u mednom mjehuru medonosnih pčela.

Ovisno o podrijetlu, med se dijeli na nektarni ili cvjetni med, koji potječe od nektara medonosnih biljaka različitih vrsta, i na medljikovac koji dolazi uglavnom od medne rose (slatki sok koji izlučuju različite vrste lisnih uši). Nektarni med može biti monoflorni i poliflorni. Monoflorni med u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 45% peludnih zrnaca iste biljne vrste, s izuzetcima pitomog kestena gdje udio peludnih zrnaca u netopivom sedimentu iznosi najmanj 85%, lucerne 30%, ružmarina 30%, lipe 25%, kadulje 20%, bagrema 20% i lavande 20%. Kod poliflornog meda broj peludnih zrnaca pojedine biljke nije definiran zakonom i može biti mješavina nektarnog meda i mediljke. (Vahčić i Matković, 2009)

Cilj ovog rada je usporedba količine kalcija i magnezija prisutnih u deset različitih uzoraka bagremovog i deset različitih uzoraka cvjetnog meda prikupljenih od hrvatskih proizvođača. Iako su mineralne tvari u medu količinski slabo zastupljene (prosječno 0.1-0.2 % u nektarnom medu te do 1.5% u medljikovcu, izraženo kao udio pepela) one su izuzetno važne za pravilan rad ljudskog organizma.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA I PODJELA MEDA

Prema Pravilniku o medu donesenom od strane Ministarstva poljoprivrede na temelju članka 71, stavka 1, Zakona o poljoprivredi (NN 53/15), med je definiran kao prirodno sladak proizvod što ga medonosne pčele (Apis mellifera) proizvode od nektara medonosnih biljaka, 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.

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

Ovisno o načinu proizvodnje i/ili prezentiranju njegova je podjela na:
- med u saću: 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.
- med sa saćem ili med s dijelovima saća: med koji sadži jedan ili više proizvoda iz prethodno definiranog meda u saću.
- cijeđeni med: med koji se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla.
- prešani med: med dobiven prešanjem saća bez legla, sa ili bez korištenja umjerene temperature koja ne smije prijeći 45^0C.
- vrcani med: med dobiven centrifugiranjem otvorenog saća bez legla.
- filtrirani med: med dobiven na način koji tijekom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari dovodi do značajnog uklanjanja peludi.
- pekarski med: med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje i može imati strani okus ili miris, biti u stanju vrenja ili prevrio, ili biti pregrijan (NN 53/15).

2.1.1. BAGREMOV MED

Bagrem (*Robinia pseudoacacia*) je kratkotrajna, ali najizdašnija paša u kontinentalnim dijelovima Hrvatske. Ovisno o nadmorskoj visini, cvjeta u drugoj polovici svibnja i početkom lipnja, 10 do 12 dana. Najprije počne mediti na zaštićenijim nižim terenima, a kasnije na višim. Korištenjem visinske razlike ponegdje je moguće dobiti raniju i kasniju bagremovu pašu, u ukupnoj cvatnji do 20 dana. Bagremova paša nerijetko zna podbaciti budući da u vrijeme cvjetanja u kontinentalnim krajevima vremenske prilike često mogu biti nepovoljne (hladno i kišovito ili jako toplo i vjetrovito). U Hrvatskoj se najveće bagremove šume nalaze u Baranji, Podravini i na Moslavačkoj gori. Čisti bagremov med, bez primjesa, vrlo je svijetao, slabog mirisa i ugodnog okusa po biljci, te sporo kristalizira. (Vahčić i Matković, 2009)

2.1.2. CVJETNI MED

Cvjetni med je med od različitog livadnog cvijeća. U njemu se može, manje ili više, naći i medljike, lipe, unosa s raznih korova ili drugih biljaka koje cvatu u isto vrijeme. Boja i okus kao i sklonost kristalizaciji ovise o biljnoj vrsti koja prevladava u medu. Upravo zbog toga što potječe od nektara mnogo vrsta biljaka nosi u sebi sve osobine dobrog i vrijednog meda. (Vahčić i Matković, 2009)

2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA

Med ima izuzetno složen kemijski sastav sa više od 70 različitih kompononenti koje potječu od pčela, medonosne biljke, a ostatak nastaje tokom zrenja u saću. Unatoč velikom napretku analitičkih metoda potpuna struktura meda nije u potpunosti razjašnjena te industrijska proizvodnja nije moguća. Svaki med je unikatan proizvod kompleksne strukture, što otežava njegovo patvorenje. Postoje različite vrste meda koje se međusobno razlikuju u svom sastavu. Na njegov sastav utječe biljno i geografsko podrijetlo, klimatski uvjeti, pasmina pčela i način rada od strane pčelara.Više od 99% kemijskog sastava meda čine ugljikohidrati i voda. Kod ugljikohidrata najzastupljeniji su glukoza i fruktoza. Preostalih 1% čine proteini (uključujući enzime), mineralne tvari, vitamini, organske kiseline, fenolni spojevi, tvari arome i razni derivati klorofila. Iako je njihov udio manji od 1% , one su vrlo značajne za senzorska i nutritivna svojstva meda. Aroma mu može varirati, ali mora potjecati od izvornog bilja. (Singhal, 1997)

2.2.1. VODA

Drugi najzastupljeniji sastojak meda. Njen udio se kreće od 15% do 20% (izuzetak je vrijesak i pekarski med od vrijeska koji smiju sadržavati do 23% i 25% vode) i značajno utječe na fizikalna svojstva meda, kao što su kristalizacija, viskoznost i specifična težina. Udio vode ovisi o klimatskim uvjetima, pasmini pčela, snazi pčelinje zajednice, vlažnosti i temperaturi zraka u košnici, botaničkom podrijetlu meda te uvjetima pri preradi i čuvanju. Izuzetno je bitan parametar zbog njezinog utjecaja na stabilnost meda i mikrobiološko kvarenje tijekom čuvanja. Povećanjem udjela vode, raste i vjerojatnost da će osmofilni kvasci fermentirati med, čime bi nastao alkohol koji se u kontaktu sa zrakom razlaže na octenu kiselinu i vodu, što medu daje kiseli okus. (Zamora, 2004) .Med lako apsorbira vodu iz zraka, što otežava proizvodnju kvalitetnog meda s niskim udjelom vode u predjelima visoke koncentracije vlage u zraku.

2.2.2. UGLJIKOHIDRATI

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda i njihov udio iznnosi od 73% do 83%, što med čini prezasićenom otopinom šećera. Najzastupljeniji su fruktoza s udjelom 33,3% - 40,0% te glukoza s udjelom 25,2% - 35,3%. Prema hrvatskom Pravilniku, zajednički udio glukoze i fruktoze u 100 grama meda mora iznositi najmanje 60 grama za cvjetni med, odnosno 45 grama za medljikovac i mješavine mediljikovca i cvjetnog meda. (NN, 53/15)

Ta dva monosaharida su uzrok slatkoće, energetske vrijednosti te najviše utječu na fizikalna svojstva kao što su viskoznost, gustoća, ljepljivost, sklonost kristaliziciji te mikrobiološka aktivnost. (Barhate, 2004) Njihov omjer varira ovisno o vrsti meda, ali je u većini slučajeva udio fruktoze nešto veći. Jedne od rijetkih vrsta sa većim udjelom glukoze su med uljane repice i maslačka. Omjer im je izuzetno bitan jer se pomoću njih može odrediti i predvidjeti tendencija kristalizacije meda. Slatkoća D-fruktoze je 1,5 puta veća od saharoze, dok je za D-glukozu ona 0,7 puta manja. S obzirom da je fruktoza šećer koji prevladava u medu, tako je i njegova slatkoća oko 1,5 puta veća od konzumnog šećera. (Vahčić i Matković, 2009)

Osim dva monosaharida, u medu je identificirano 11 disaharida: saharoza (0,4 - 10,1 %), maltoza (0,5 - 2,8 %), izomaltoza (0,5 - 1,5 %), nigeroza (0,2 - 1,0 %), turanoza (0,5 - 1,5 %), kobioza, laminoriboza, α- i β- trehaloza (<0,5 %), i gentiobioza maltuloza i izomaltuloza melibioza (<0,5 %). Također je prisutno i 12 oligosaharida: erloza (<3,5 %), melecitoza (1,4 - 11,0 %), α- i β-izomaltozilglukoza, maltotrioza, 1-kestoza, panoza, centoza, izopanoza i rafinoza (<1 %) te izomaltotetroza i izomaltopentoza. (Sanz, 2004) Većina ih se ne nalazi u nektaru, nego u medu nastaju djelovanjem pčelinjih enzima. Količina i odnos između pojedinih ugljikohidrata u medu ovise o njegovom botaničkom i geografskom podrijetlu, ali i o sastavu i intenzitetu lučenja nektara, klimatskim uvjetima, fiziološkom stanju i pasmini pčela. Određivanje ugljikohidrata je izuzetno bitno u kontroli kvalitete meda, jer se iz njegovog sastava može utvrditi patvorenje meda te njegovog botaničkog i geografskog podrijetla. Utvrđivanjem udjela saharoze možemo ustvrditi je li došlo do patvorenja, hranjenja pčela saharozom ili direktnog dodavanja saharoze u med. Dozvoljeni udio saharoze je 5 %. Iznimke su bagrem, lucerna, med biljaka Banksia menziesii, eukaliptusa, slatkovina Hedysarum i med citrusa koji smiju sadržavati do 10% saharoze, te med lavande i boražina sa do 15% saharoze. (NN, 53/15)

2.2.3. PROTEINI I AMINOKISELINE

Podrijetlo proteina i aminokiselina u medu može biti životinjsko (od pčela) i biljno (iz peludi). Proteini u medu se mogu nalaziti u obliku prave otopine aminokiselina ili u obliku koloida koji utječu na neka svojstva meda poput stvaranja pjene, zračnih mjehurića, tamnjenje, zamućenje ili kristalizacija meda. Prilikom dugog skladištenja ili zagrijavanja može doći do Maillardove reakcije, odnosno kondenzacije aminokiselina i šećera koja se očituje tamnjenjem meda. Udio proteina u medu je 0 - 1,7%, s time da medljikovac sadrži veći udio proteina od nektarnog. Iako je udio aminokiselina u medu poprilično mali, on sadrži oko 9 esencijalnih (fenilalanin, histidin, izoleucin, leucin, lizin, metionin, treonin, triptofan i vanilin) te 9 neesencijalnih aminokiselina (arginin, asparaginska kiselina, serin, glutaminska kiselina, glicin, alanin, cistein i tirozin). Najzastupljenija aminokiselina je prolin, koji čini 80 - 90% svih aminokiselina, a njegov udio je predložen kao jedan od indikatora zrelosti te, u nekim slučajevima, kao indikator patvorenja meda. U većini europskih laboratorija za analizu kakvoće meda prihvaćena je granična vrijednost za udio prolina 180 mg/kg za izvorni nepatvoreni med. (Vahčić i Matković, 2009) S obzirom da značajan dio slobodnih aminokiselina u medu potječe od pčela, imamo velike razlike u aminokiselinskom sastavu unutar jedne vrste meda, što otežava određivanje botaničkog podrijetla meda koristeći kvantitativnu i kvalitativnu analizu aminokiselinskog sastava. (Hermosin, 2003)

2.2.4. ORGANSKE KISELINE

Med sadrži čitav niz organskih kiselina. U većim količinama prisutne su mravlja, oksalna, maslačna, octena, limunska, vinska, jabučna, piroglutaminska, mliječna, benzojeva, maleinska, glukonska, valerijanska, jantarna, pirogrožđana, α-ketoglutarna, glikolna i 2,3-fosfogliceratna. Najzastupljenija je glukonska, koja u medu nastaje iz glukoze, djelovanjem enzima glukoza oksidaza. Udio organskih kiselina u medu kreće se u rasponu 0,17 - 1,17%, a u prosjeku 0,57%. Velik broj organskih kiselina se nalazi u obliku estera te na taj način utječu na miris i okus meda. pH meda se kreće od 3,2 do 6,5. Bagremov, kestenov i livadni med karakterizira mala količina organskih kiselina, dok tamniji medovi imaju veću kiselost. Previsoka kiselost ukazuje na fermentaciju meda, što rezultira pretvorbom alkohola, koji je produkt fermentacije, u organsku

kiselinu. (Anupama, 2003) Prema hrvatskom Pravilniku određena je maksimalna količina slobodnih kiselina od 50 mEq na 1000 grama meda. (NN, 53/15)

2.2.5. ENZIMI

Enzimi su vrlo značajne komponente meda, s obzirom da je njihova aktivnost pokazatelj kakvoće, stupnja zagrijavanja i trajnosti. Skupa s proteinima daju medu svojstva koja se ne mogu proizvesti niti nadomjestiti umjetnim putem. Od enzima u medu su prisutni invertaza, amilaza, glukoza oksidaza, katalaza, kisela fosfataza, peroksidaza, polifenol oksidaza, esteraza, inulaza i proteolitički enzimi. Podrijetlo enzima može biti direktno od pčela koje one dodaju u med prilikom prerade nektara, dok ostali potječu iz peludi, nektara ili iz kvasaca i bakterija prisutnih u medu. Invertaza ima glavnu ulogu u biokemijskim procesima prilikom prerade nektara, kao i kod promjene na ugljikohidratima tijekom čuvanja meda. Njena aktivnost se smatra mjerilom svježine i stupnja zagrijavanja meda. Promjene na ugljikohidratima se prvenstveno odnose na hidrolizu saharoze na glukozu i fruktozu, kao i na stvaranje viših šećera transglukozidaznim reakcijama. Značajno je njeno djelovanje prilikom dozrijevanja, a svoju aktivnost zadržava i prilikom skladištenja. Unatoč konstantnoj aktivnosti invertaze, saharoza u medu nikada u potpunosti ne nestaje. Razlog tome je mogućnost invertaze da sintetizira saharozu, pa dolazi do uspostave ravnoteže između razgradnje i sinteze saharoze. (Vahčić i Matković, 2009) Aktivnost dijastaze prema hrvatskom Pravilniku mora iznositi najmanje 8 dijastaznih jedinica, dok za vrste meda s niskom prirodnom količinom enzima iznosi najmanje 3dijastazne jedinice. (NN, 53/15)

2.2.6. OSTALI SPOJEVI

Iako med sadrži vitamine, zbog malih količina ne smatra se značajnim izvorom vitamina za ljudski organizam. Pelud je glavni izvor vitamina u medu, a zastupljenost pojedinog vitamina ovisi o botaničkom podrijetlu meda. Sadrži nešto veću količinu vitamina C, K te vitamina skupine B. (Finke, 2005)

Fitokemikalije su izuzetno važna skupina spojeva zbog svog povoljnog utjecaja na ljudski organizam. Potječu iz biljaka s kojih su pčele skupljale nektar ili mednu rosu. U grupu fitokemikalija spadaju antioksidansi i flavanoidi. Antioksidansi smanjuju rizik oksidativnih

oštećenja stanica koji nastaju djelovanjem slobodnih radikala; oni uzrokuju oštećenja stanica i zdravstvene probleme. Bitni su i kod očuvanja meda jer svojim djelovanjem sprječavaju kvarenja uzrokovana oksidativnim promjenama uslijed djelovanja svjetlosti, topline i nekih metala.

Flavanoidi se također nalaze u grupi fitokemikalija sa antioksidativnim učinkom. Nalaze se u biljkama i vezani su uz proces fotosinteze. Uz antioksidativnu aktivnost, djeluju i antimikrobno, inhibiraju razne enzime, imaju citotoksični antitumorni učinak te djeluju kao estrogeni. (Cushnie, 2005) Osim flavanoida, med sadrži i druge fenole, od kojih se najviše ističu fenolne kiseline poput galne, kumarinske, kafeinske, elaginske, ferulične te njihovi esteri.

Hidroksimetilfurfural je ciklički aldehid koji nastaje dehidracijom fruktoze i glukoze u kiselom mediju, a može nastati i u Maillardovim reakcijama. (Spano, 2005) Pokazatelj je zagrijavanja i neprikladno skladištenog meda, a izrazito visoke mogu biti pokazatelj krivotvorenja meda. (Cervantes,2000) Hrvatskim Pravilnikom je određena maksimalna količina hidroksimetilfurfurala od 40 mg/kg, odnosno 80 mg/kg za medove s označenim podrijetlom iz regija tropske klime i mješavine takvih medova. (NN 53/15)

2.2.7. MAKRO I MIKROELEMENTI

Mineralne tvari spadaju u skupinu makro i mikro elemenata. Nihov udio u u nektarnom medu iznosi 0,1% - 0,2% te do 1,5% u medljikovcu izraženo kao udio pepela. Pravilnikom je određena električna vodljivost meda i to najmanje 0.8 mS/cm za medljikovac i med od kestena i njihove mješavine, dok je za ostale vrste meda i njihove mješavine najveća dopuštena električna vodljivost 0.8 mS/cm. Iznimke su planika (*Arbutus unedo*), vrijes (*Erica spp*.), eukaliptus (*Eucalyptus spp*.), lipa (*Tilia spp*.), vrijesak (*Calluna vulgaris*), manuka (*Leptospermum scoparium*), čajevac (*Melaleuca spp*.). (NN, 30/2015) Med sadrži čitav niz mineralnih tvari koje, iako se u medu nalaze u malom udjelu, imaju značajnu ulogu u pravilnom radu ljudskog organizma. Prevladavaju kalij, natrij, kalcij, fosfor, sumpor, klor, magnezij, željezo i aluminij, a u malim količinama prisutni su još bakar, mangan, krom, cink, olovo, arsen, titan, selen. Najzastupljeniji je kalij, koji čini od 25% do 50% ukupnog udjela mineralnih tvari, a zajedno sa natrijem, kalcijem i fosforom najmanje 50%. (Hernandez, 2004) Povećan udio pepela može biti znak patvorenja meda šećernom melasom. Udio mineralnih tvari prvenstveno ovisi o botaničkom podrijetlu i klimatskim uvijetima, ali i značajno ovisi o tipu zemlje na kojoj raste biljka od koje

med potječe. (Pohl, 2009) Tamniji tipovi meda generalno su bogatiji mineralnim tvarima. Bagremov i suncokretov med karakterizira manji udio pepela, dok se veće količine mogu naći kod livadnog i kestenovog meda te medljikovca. (Muñoz-Palmero, 2005)

Mineralne tvari spadaju u esencijalne tvari, jer ih ljudski organizam ne može sam sintetizirati niti zamjeniti drugim tvarima, te se stoga u organizam u dovoljnoj količini moraju unositi putem hrane. Važni su za odvijanje metaboličkih procesa u organizmu te imaju gradivnu i zaštitnu funkciju. Kalcij je najzastupljeniji mineral u ljudskom organizmu. Omogućuje stezanje mišića, nužan je za zgrušavanje krvi, prijenos živčanih impulsa i zdravlje vezivnog tkiva. Održava normalnu razinu krvnog tlaka i smanjuje opasnost od bolesti srca. Kalcijevi ioni se apsorbiraju u tankom crijevu aktivnim transportom i pasivnom difuzijom. (Medić-Šarić, 2000)
Magnezij zajedno sa kalcijem i fosforom čini glavni sastojak kostiju. Apsorbira se cijelom dužinom tankog crijeva, a sudjeluje u stvaranju energije u ljudskom organizmu i u transportu glukoze u stanice. Nedostatak magnezija može uzrokovati koronarne srčane bolesti, zloćudne bolesti i povišeni krvni tlak. Pravilna ravnoteža magnezija i kalcija važna je za zdrave zube i kosti, smanjuje opasnost od pojave osteoporoze, a u slučaju kada je bolest već nastupila, ograničava njezine učinke. Preporučena dnevna količina magnezija (RDA): 375 mg, dok je za kalcij (RDA): 800 mg. (NN 46/07, 155/08)

Provedeno je nekoliko istraživanja vezanih za sastav makro i mikro elemenata na području Hrvatske. Istraživanje iz 2015. pokušalo je povezati mineralni profil hrvatskih medova sa regijom iz koje med potječe. Obuhvaćalo je 200 uzoraka bagremovog meda prikupljenih tokom dvije sezone u 5 regija Hrvatske: Varaždin, Krapina-Zagorje, Bjelovar-Bilogora, Istočna Hrvatska i Istra. Udjeli određivanih kalcija, natrija, kalija, magnezija, cinka, željeza, bakra, mangana, aluminija, nikla, olova i kadmija uvelike su varirali između regija, ali i između sezona. Najzastupljeniji mineral bio je kalij (205.571 - 428.050 mg/kg) te potom kalcij (33.526 - 329.00 mg/kg) i natrij (23.343 - 218.042 mg/kg). Dobiveni rezultati ukazuju na moguću korelaciju između određenih mineralnih tvari u bagremovom medu sa regijom iz koje med potječe i to aluminij (Bjelovar-Bilogora), željezo (Bjelovar-Bilogora i Istra) i kalij (Istočna Hrvatska). (Uršulin-Trstenjak, 2015)

U radu iz 2011. određivani su udjeli teških metala: bakra, olova, arsena, žive i kadmija, u 54 uzoraka multifloralnog meda, skupljenih tokom 2009. i 2010. u pet hrvatskih regija. Udjeli bakra i olova su bili najzastupljeniji i postojala je značajna razlika u njihovim udjelima između različitih regija. Najviša koncentracija bakra i olova izmjerena je u Zagrebačkoj županiji. Najniži udjeli arsena i olova određeni su u Osječko-baranjskoj županiji, najniži udjeli kadmija i žive u južnoj Hrvatskoj (Splitsko-dalmatinska i Zadarska županija), a najniži udjeli bakra u Bjelovarsko-bilogorskoj županiji. Izmjereni udjel olova u hrvatskim medovima bio je veći, u odnosu na zabilježeni udjel olova u medu u drugim Europskim državama. Mogući uzrok tome je prevelika blizina košnica autocestama i željeznicama. (Bilandžić, 2011) Isti autori proveli su još jedno prošireno istraživanje koje je uključivalo analizu dvanaest elemenata (As, Cd, Cu, Hg, Se, Pb, Ca, Zn, Fe, Mg, Na, K) prisutnih u šest raličitih vrsta meda (kaduljin, bagremov, kestenov, lipin, multifloralni med voćnjaka i multifloralni cvjetni med) prikupljenih tokom 2010. i 2011. godine. Značajne razlike u sastavu analiziranih medova primjećene su između raličitih vrsta medova. Najveće koncentracije kalcija, kalija, magnezija i žive detektirane su kod kestenovog meda. Kod meda od lipe detektirane su najveće koncentracije bakra, cinka, kadmija i olova, dok su najmanje koncentracije željeza, kalija, magnezija i žive detektirane kod bagremovog meda. (Bilandžić, 2014)

U Saudijskoj Arabiji provedeno je istraživanje o mineralnom sastavu i fizičkim svojstvima lokalnog i uvoznog egzotičnog meda. Određivali su udjele 14 minerala (K, Mg, Ca, P, Na, Fe, I, Mn, Zn, Li, Co, Ni, Pb, i Cd) u 23 uzoraka različitih vrsta meda. Trinaest uzoraka meda (od toga su dva uzorka dobivena od „umjetno“ hranjenih pčela) prikupljeno je iz različitih regija Saudijske Arabije, dok su preostali medovi uvezeni iz Egipta, Novog Zelanda, Njemačke, Jemena, Australije i Malezije. Kalij je bio dominantan mineral u svim analiziranim medovima. Najveća količina detektirana je u medu saudijske akacije (491.40 ppm), a najmanja u medu dobivenom od pčela koje su „umjetno“ hranjene (296.60 ppm). Magnezij je bio drugi najzastupljeniji mineral. Njegove vrijednosti su varirale od 199.30 ppm kod manuka meda uvezenog iz Novog Zelanda do 80.70 ppm detektiranog kod egipatskog citrusnog meda. Udio kalcija je varirao od 99.97 ppm u manuka medu do 60.75 ppm kod meda akacije uvezenom iz Njemačke. Udjeli teških metala kod svih analiziranih medova bili su u prihvatljivim količinama. (Algarni, 2012)

Španjolsko istraživanje iz 2012. godine bavilo se određivanjem metala (Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Na, K) u šest uzoraka monoflornih medova i dva poliflorna meda, sa zaštićenim zemljopisnim podrijetlom (Granada). Koncentracija kalija je bila najveća kod svih medova (545mg/kg-5570mg/kg). Koncentracija natrija nalazila se u rasponu od 9 mg/kg do 52 mg/kg, magnezija od 42 mg/kg do 1079 mg/kg i kalcija od 15 mg/kg do 182 mg/kg. Željezo je detektirano samo u kestenovom medu i u medu timijana. Bakar nije detektiran. Tamniji medovi (kestenov, timijanov, avokadov i multifloralni) imali su veću koncentraciju minerala od svijetlih medova (ružmarinov i narančin). Na temelju pet određenih minerala (Ca, Mg, Zn, Na, K) autori su zaključili da se poznavajući njihove udjele može potvrditi autentičnost medova sa zaštićenim zemljopisnim podrijetlom iz Granade. (Alda-Garcilope, 2012)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. PRIBOR I APARATURA

Kod određivanja metala posebnu pozornost treba obratiti na stakleno posuđe i pribor, kao i kemikalije, koji moraju biti zadovoljavajuće čistoće. Korištene kemikalije i aparatura su:

- HCl, 10% - kloridna kiselina, p.a. Kemika
- Mufolna peć
- Perkin-ELMER 2380
- Porculanski lončić
- Analitička vaga
- Plamenik
- Odmjerna tikvica 25 ml

3.1.2. UZORCI

- 10 uzoraka bagremovog meda
- 10 uzoraka cvijetnog meda

3.2. METODE RADA

3.2.1. PRIPREMA UZORAKA ZA ODREĐIVANJE METALA

Oko 5 grama uzorka bagremovog i cvjetnog meda odvaže se na digitalnoj vagi. Kod pripreme uzoraka za određivanje metala važno je točno definirati uzorak. Za određivanje metala atomskom apsorcijskom spektrofotometrijom uzorak je potrebno razoriti metodom „mokrog“ ili „suhog“ spaljivanja uzoraka. Nakon spaljivanja mineralni ostatak se otapa u razrjeđenoj kloridnoj kiselini uz zagrijavanje da bi se prisutni elementi preveli u kloride pogodne za analizu u plamenu.

Atomska apsorpcijska spektrofotometrija je izuzetno osjetljiva metoda za određivanje niske koncentracije metala, pa je pri radu potrebno obratiti pozornost na faktore koji utječu na točnost rezultata ispitivanja:

- Obratiti posebnu pozornost na čistoću kemikalija, vode, posuđa i pribora

- Metodama „dodavanja standarda“ provjeriti točnost očitovanja
- Raditi sa potvrđenim referencijskim standardima za svaki ispitivani metal
- Utvrditi ponovljivost rezultata

3.2.2. POSTUPAK SUHOG SPALJIVANJA UZORAKA

Kod tehnike suhog spaljivanja, uzorak se u porculanskom lončiću isuši do suhog ostatka, karbonizira na plameniku i mineralizira u mufolnoj peći do bijelog pepela na temperaturi 540°C. Dobiveni pepeo se odvaže i predstavlja ukupnu anorgansku tvar. Pepeo se otapa u razrijeđenoj kloridnoj kiselini uz zagrijavanje da bi se prisutni elementi preveli u kloride pogodne za analizu u plamenu.

3.2.3. ATOMSKA APSORPCIJSKA SPEKTROFOTOMETRIJA

Princip metode zasniva se na Kirchoffovu zakonu koji definira da svaka tvar apsorbira svjetlost valne duljine koju sama može emitirati, kao i Planckovu zakonu po kojem atom može apsorbirati samo svjetlost određene valne duljine, tj. može primiti i otpustiti točno određenu količinu energije. Atom u osnovnom stanju ima najnižu moguću energiju. Pri apsorpciji fotona određene energije, jedan ili više elektrona mogu prijeći u više energetsko stanje, tzv. pobuđeno ili ekscitirano stanje.

Budući da je stanje više energije nestabilno, atom se otpuštanjem viška energije ponovno vraća u osnovno stanje. Energija koja se apsorbira ili emitira u obliku fotona daje odgovarajuću liniju u spektru. Prijelaz elektrona iz jednog elektronskog stanja u drugo može izazvati pojavu rezonantne spektralne linije, što se događa kada je apsorbirana energija jednaka emitiranoj; to znači da se elektron direktno, a ne preko drugih energetskih međustanja, vraća u osnovno stanje. Atomi određivanog elementa apsorbiraju svjetlost koja dolazi iz svjetlosnog izvora. Između svjetlosne energije i atoma dolazi do interakcije po Planckovoj teoriji, po kojoj će atomi bilo kojeg elementa apsorbirat samo energiju koja omogućuje prijelaz iz nižeg u više energetsko stanje. Ti prijelazi su kvantizirani, apsorpcija energije je strogo selektivna i ovisi o vrsti ispitivanog atoma. Apsorpcijom zračenja određene valne duljine atom prelazi u pobuđeno stanje u kojem ostaje 10^{-7} – 10^{-8} sekundi i zatim se vraća u osnovno stanje emitirajući višak energije.

Tehnike analitičke atomske apsorpcione spektrofotometrije zasnivaju se na apsorpciji svjetlosti od strane slobodnih disociranih atoma. Postoji niz metoda kojima se razara kemijska veza i

oslobađaju atomi. Najčešće se primjenjuje metoda spaljivanja uzorka pri određenoj temperaturi, pri čemu se postiže disocijacija molekula, a atomi ostaju u nepobuđenom stanju.

Prolazom svjetlosti početnog intenziteta kroz sloj raspršenih čestica tekućine, u kojoj se nalazi analizirani element (atom), doći će do njene apsorpcije samo u slučaju kad energija pobuđivanja atoma odgovara energiji, odnosno valnoj duljini svjetlosti. Intenzitet svjetlosti će nakon prolaska kroz sloj raspršenih čestica biti smanjen. Iz omjera početnog i propuštenog intenziteta svjetlosti može se na osnovu Lambert-Beerovog zakona izračunati apsorbancija, odnosno ekstinkcija te koncentracija elementa:

$\text{Log } I_0/I = k \times n \times b$

Gdje su:

I_0 = početni intenzitet svjetlosti

i = intenzitet svjetlosti nakon prolaska kroz ispitivani uzorak

k = konstanta proporcionalnosti (ovisna o prirodi elementa)

n = broj atoma analiziranog elementa

b = debljina sloja raspršenih čestica koje sadrže analizirani element



Slika 1. PERKIN-ELMER 2380 (Anonymous 1)

Osnovni dijelovi instrumenta su :

- izvor svjetlosti (zračenja)
- uređaj za disocijaciju (atomizator)
- sistem za mijerenje svjetlosti (zračenja)

Izvor zračenja mora emitirati vrpcu čija valna duljina odgovara sredini apsorpcione linije ispitivanog elementa. Valna duljina koja odgovara sredini apsorpcione linije za kalcij iznosi 327.4 nm, dok za magnezij ona iznosi 285.2 nm. Kao izvor svjetlosti korištena je lampa sa šupljom katodom koja se sastoji od staklenog omotača u kojem se nalazi cilindrična katoda izrađena od mješavine ili legure nekoliko metala. Anoda je metalna žica izgrađena od volframa. Lampa je punjena inertnim plinom pod tlakom od od oko 600 Pa. Dio lampe kroz koji izlazi svjetlo izrađen je od kvarca ili specijalne vrste stakla. Uspostavljanjem potencijala od 300 do 500 volti između katode i anode, atomi inertnog plina na anodi prelaze u ione. Nastali ioni se velikom brzinom upućuju prema katodi iz koje izbacuju atome metala. Izbačeni atomi u sudaru sa atomima inertnog plina primaju od njih energiju i prelaze u pobuđeno stanje. Kod vraćanja u osnovno stanje dolazi do emisije viška energije u obliku karakterističnog linijskog spektra.

Uređaj za disocijaciju uzorka (atomizator), jedan je od najvažnijih dijelova instrumenta. Najpogodniji način za postizanje atomskog stanja elementa je sagorijevanje u plamenu, na principu kemijske reakcije između goriva i oksidansa. Ovisno o analiziranom uzorku podešava se temperatura plamena uporabom raznih smjesa za sagorijevanje (zrak – acetilen za glave plamenika od 10cm, acetilen – N_2O za glave plamenika od 5cm). Procesi sagorijevanja se kontroliraju u plameniku koji treba osigurati stabilnu reakciju. Uzorak za analizu u tekućem stanju uvodi se u plamen pomoću raspršivača kojim se postiže disperzija tekućine u fine kapljice. Svjetlost koja dolazi iz izvora zračenja razdvaja se uz pomoć ogledala na dvije zrake. Jedna prolazi kroz plamen, a druga pored njega. Optički sistem ponovno spaja ove dvije zrake prije ulaska monokromatora. Izvor zračenja mora emitirati vrpcu čija valna duljina odgovara sredini apsorpcione linije ispitivanog elementa. Za kalcij je to 327.4 nm, a za magnezij 285.2 nm. (Anonymous 2) Intenzitet svjetlosti će nakon prolaska kroz sloj raspršenih čestica biti smanjen. Iz omjera početnog i propuštenog intenziteta svjetlosti može se na osnovu Lambert-Beerovog zakona izračunati apsorbancija, odnosno ekstinkcija te koncentracija elementa.

4. REZULTATI

U ovom poglavlju prikazane su vrijednosti kalcija i magnezija dobivene atomskom apsorpcijskom spektrofotometrijom za bagremov i cvjetni med.

Tablica 1. Udio kalcija i magnezija u bagremovom medu

BAGREM		
Šifra uzorka	Ca (mg/100g)	Mg (mg/100g)
39	10.11	4.44
28	13.29	7.40
76	9.81	5.97
19	5.68	4.83
43	7.69	3.90
20	10.79	4.33
79	39.80	7.85
47	9.55	4.99
16	7.20	4.89
66	11.73	5.81
Srednja vrijednost	12.57	5.44
Standardna devijacija	9.85	1.31
koeficijent varijabilnosti (%)	78.36	24.16

Tablica 2. Udio kalcija i magnezija u cvjetnom medu

CVJETNI		
Šifra uzorka	Ca (mg/100g)	Mg (mg/100g)
113	48.77	29.41
13	100.45	29.84
109	18.13	12.19
6	9.60	5.44
11	17.17	10.65
45	17.60	12.26
46	15.06	8.89
26	12.80	9.64
65	13.55	9.32
7	14.41	7.34
srednja vrijednost	26.75	13.50
standardna devijacija	28.12	8.74
koeficijent varijabilnosti (%)	105.12	64.78

5. DISKUSIJA

Rezultati određivanja koncentracije kalcija i magnezija u bagremovom medu prikazani su u Tablici 1. Vrijednosti za određivani kalcij u bagremovom medu kretale su se od 5.68 mg/100 g - 39.80 mg/100 g, s prosječnom vrijednosti koja je iznosila 12.57 mg/100 g i jednim većim odstupanjem kod uzorka broj 79 (39.80 mg/100 g). Izmjerene vrijednosti kalcija slične su onima izmjerenim u istraživanju Uršulin-Trstenjak (2015) čije su vrijednosti varirale od 3.35 mg/100 g do 32.90 mg/100 g provedenih u pet različitih hrvatskih regija. Srednja vrijednost za kalcij je najbliža varaždinskoj regiji (12.62 mg/100 g). Dobivena vrijednost je niža u usporedbi s drugim hrvatskim istraživanjem kod kojeg je prosječna koncentracija kalcija u devetnaest uzoraka bagremovog meda iznosila 34.93 mg/100 g. (Bilandžić,2014) Slične vrijednosti dobivene su u španjolskom istraživanju, 1.50 mg/100 g - 18.20 mg/100 g. (Alda-Garcilope, 2012), dok su vrijednosti kalcija manje kod istraživanja u Saudijskoj Arabiji provedenih na različitim vrstama meda. (Algarni, 2012) Udjeli kalcija detektirani u bagremovom medu prikupljeni iz tri različite slovenske regije varirali su od 1.54 mg/100 g do 1.91 mg/100 g, što je značajno manje nego u ovom istraživanju. (Urška, 2009)

Vrijednosti za magnezij u bagremovom medu kretale su se od 3.90 mg/100 g do 7.85 mg/100 g, s posječnom vrijednosti od 5.44 mg/100 g. Dobivene vrijednosti su malo više nego u provedenom istraživanju na području Hrvatske, čije su vrijednosti varirale od 1.23 mg/100 g do 4.91 mg/100 g. Dobivene vrijednosti za magnezij najbliže su onima izmjerenim na području istočne Hrvatske čija je izmjerena prosječna vrijednost 4.91 mg/100 g. (Uršulin-Trstenjak, 2015) Još niže vrijednosti detektirane su u drugom hrvatskom istraživanju, čija je prosječna vrijednost za magnezij u bagremovom medu iznosila 0.80 mg/100 g. (Bilandžić, 2014) Udio magnezija se uvelike poklapa sa istraživanjem provedenom u Granadi čije vrijednosti su varirale od 4.2 mg/100 g do 10.79 mg/100 g (Alda-Garcilope, 2012), dok su vrijednosti u saudijskom istraživanju bile više i iznosile su od 8.07 mg/100 g do 19.93 mg/100 g.

Rezultati određivanja koncentracije kalcija i magnezija u cvjetnom medu prikazani su u Tablici 2. Vrijednosti za određivani kalcij u cvjetnom medu kretale su se od 9.60 mg/100 g do 100.45 mg/100 g, sa srednjom vrijednosti od 26.75 mg/100 g i jednim velikim odstupanjem kod uzorka pod šifrom 13 (100.45 mg/100 g). Na lokalitetima Hrvatske izmjerene su manje prosječne vrijednosti kalcija kod cvjetnog meda i iznosile su 18.89 mg/100 g. (Bilandžić, 2014) Kod

talijanskog istraživanja na multiflornim medovima izmjerene su jako bliske vrijednosti kalcija, 25.40 mg/100 g. (Pisani, 2008) Niže vrijednosti kalcija u multifloralnom medu dobivene su i u španjolskom istraživanju 11.58mg/100g. (Alda-Garcilope,2012).Vrijednosti za magnezij u cvjetnim medovima kretale su se u rasponu od 5.44 mg/100 g do 29.84 mg/100 g, sa srednjom vrijednosti 13.50 mg/100 g. U istraživanju provedenom na području Hrvatske 2014. godine izmjerene koncentracije magnezija bile su značajno manje i iznosile su 2.69 mg/100 g. (Bilandžić, 2014) Kod talijanskog istraživanja na multiflornim medovima dobivene vrijednosti su također manje, 5.23 mg/100 g. (Pisani, 2008) U španjolskom istraživanju na multifloralnom medovima zabilježene vrijednosti su značajno više, 26.71 mg/100 g. (Alda-Garcilope, 2012)

Uspoređujući dobivene koncentracije kalcija i magnezija kod bagremovog i cvjetnog meda evidentno je da su dobivene vrijednosti kod cvjetnog meda značajno više. Ovi rezultati su u korelaciji sa istraživanjima drugih autora (Anklam, 1998; Küçük 2005; Chudzinska i Baralkiewicz, 2010; Fernández-Torres, 2005; Hernández et al., 2005; Nozal Nalda et al., 2005) i njihovom tezom da su tamniji medovi bogatiji mineralnim tvarima od svijetlih medova.

Kod cvjetnog meda je primjećeno i veće rasipanje rezultata, što se može pripisati tome što se cvjetni med dobiva od različitog livadnog cvijeća, zbog čega cvjetni med sa različitih područja ima i bitno različit kemijski sastav.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata i provedene diskusije može se zaključiti:

- Izmjerene vrijednosti u bagremovom medu za kalcij kretale su se od 5.68 mg/100 g do 39.80 mg/100 g. Vrijednosti za magnezij su se kretale od najmanje 3.90 mg/100 g do najviše 7.85 mg/100 g.
- Prosječne vrijednosti za kalcij u bagremovom medu su bliske vrijednostima u drugim istraživanjima na hrvatskim medovima od bagrema, dok su vrijednosti za magnezij bile više nego u tim istraživanjima.
- Izmjerene vrijednosti u cvjetnom medu za kalcij kretale su se od najmanje vrijednosti 9.60 mg/100 g do najviše vrijednosti 100.45 mg/100 g. Vrijednosti za magnezij su se kretale od najmanje 5.44 mg/100 g do najviše 29.84 mg/100 g.
- Prosječne vrijednosti za kalcij i magnezij u cvjetnom medu su više nego u drugom istraživanju provedenom na hrvatskim cvjetnim medovima.
- U uzorcima cvjetnog meda prisutne su veće koncentracije magnezija i kalcija od onih izmjerenih u bagremovom medu. Dobiveni rezultati su u skladu s podacima iz literature koji navode da tamniji medovi imaju veću koncentraciju minerala od svijetlih medova.
- Cvjetni med se dobiva od različitog livadnog cvijeća, zbog čega ima veće razlike u kemijskom sastavu između uzoraka prikupljenih na različitim područjima i veću raspršenost izmjerenih rezultata.

7. LITERATURA

Alda-Garcilope, C., Gallego-Picó,A., Bravo-Yagüe, J.C., Garcinuño-Martínez,R.M., Fernández-Hernando,P. (2012) Characterization of Spanish honeys with protected designation of origin ‘‘Miel de Granada’’ according to their mineral content. *Food Chem*. **135,** 1785-1788.

Algarni,A.S., Owayss,A.A., Mahmoud,A.A., Hannan,M.A. (2012) Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. Journal of Saudi Chemical Society. **18,** 618-625.

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

Anonymous 1. (2016) Artisan technology group. < http://www.artisantg.com> . Pristupljeno 25. Lipanj, 2016.

Anonymous 2. (1996) AA- Perkin Elmer guide to all.< http://www.lasalle.edu> .Pristupljeno 26. Lipanj, 2016.

Anupama, D., Bhat, K.K., Sapna, V.K. (2003) Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey.*Food Res. Int.* **36**, 183-191.

Barhate, R. S., Subramanian, R., Nandini, K. E., Hebbar, H. U. (2003) Processing of honey using polymeric microfiltration and ultrafiltration membranes. *J. Food Eng.* **60**, 49- 54.

Bilandžić,N., Gačić,M., Đokić,M., Sedak,M., Šipušić,I.Đ., Končurat,A., Gajger,I.T. (2014) Major and trace elements levels in multifloral and unifloral honeys in Croatia. *J.Food Com. Ana.* **33,** 132-138.

Bilandžić,N., Đokić,M., Sedak,M., Solomun Kolanović, B., Varenina,I., Končurat,I., Rudan,N. (2011) Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions. *Food Chem*. **128,** 1160-1164.

Chudzinska, M., & Baralkiewicz, D. (2010) Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) combined with chemometrics. *Food Chem.Tox*. **48,** 284–290.

Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J. (2005) Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Ag*. **26**, 343-356.

Finke, M.D. (2005) Nutrient composition of bee brood and its potential as human food. *Eco. Food.Nut.* **44**, 257-270.

Fernández-Torres, R., Pérez-Bernal, J. L., Bello-López, M. A., Callejón-Mochón, M., Jiménez-Sánchez, J. C., & Guiraúm-Pérez, A. (2005) Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Talanta*. **65,** 686–691.

Hernandez, O.M., Fraga, J.M.G., Jimenez, A.I., Jimenez, F., Arias, J.J. (2004) Characterisation of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chem*. **43**, 261-271.

Hermosin, I., Chicon, R.M., Cabezudo, M.D. (2003) Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chem.* **83**, 263-268.

Medić-Šarić,M., Buhač,I., Bradamante, V. (2000) Vitamini i minerali – istine i predrasude,F.Hoffmann – La Rosch, Zagreb.

Munoz, E., Palmero, S. (2005): Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology. *Food Chem*. **52**, 313-319.

Nozal Nalda, M. J., Bernal Yagüe, J. L., Diego Calva, J. C., & Martín Gómez, M. T. (2005) Classifying honeys from the Soria Province of Spain via multivariate analysis. *Ana.Bio.Chem.* **382,** 311–319.

Pisani, A., Protano, G., Riccobono, F. (2008) Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy). *Food Chem*. **107,** 1553–1560.

Pohl, P. (2009) Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. *Trends Ana.Chem.* **28,** 117–128

Pravilnik o medu (2015) *Narodne novine* **53**, Zagreb (NN 53/15).

Pravilnik o navođenju hranjivih vrijednosti hrane (2009) *Narodne novine* **46,** Zagreb (NN 46/07, 155/08).

Ramirez Cervantes, M.A., Gonzales Novelo, S.A., Sauri Duch, E. (2000) Effect of temporary thermic treatment of honey on variation of the quality of the same during storage. *Apiacta*. **35,** 152-170.

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

Singhal, R.S., Kulkarni, P.R., Rege, D.V. (1997): Handbook of indices of food quality. Woodhead Publishing Limited, *Cambridge*, 358-379.

Spano, N., Casula, L., Panzanelli, A., Pilo, M.I., Piu, P.C., Scanu, R., Tapparo, A., Sanna, G. (2005) An RP-HPLC determination of 5-hydroximethylfurfural in honey. The case of strawberry tree honey. *Talanta*. **68**, 1390-1395.

Urška,K., Korošec,M., Bertoncelj,J., Ogrinc, J., Nečemer,M., Kump,P., Golob,T. (2009) Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chem.* **121,** 839-846.

Uršulin-Trstenjak, N., Levanić D., Primorac L., Bošnir J., Vahčić N., ŠarićG. (2015) Mineral profile of Croatian honey and differences due to its geographical origin. *Czech J. Food Sci*. **33,** 156–164.

Vahčić, N., Matković,D. (2009) Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda. <http://www.pcelinjak.hr/ >. Pristupljeno 4.Svibnja, 2016.

Zamora, M.C., Chirife, J. (2004) Determination of water activity change due to crystallization in honey from Argentina.*Food Cont.* **38**, 342-347.