

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Primož BOŽNAR

PREHAJANJE ELEMENTOV IZ TAL PREKO RASTLIN V MED

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**ELEMENTAL TRANSFER FROM SOIL THROUGH PLANTS INTO
HONEY**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Eksperimentalni del je bil opravljen v laboratorijih Odseka za fiziko nizkih in srednjih energij na Institutu Jožef Stefan v Ljubljani in na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Za mentorico diplomskega dela je imenovana prof. dr. Terezija Golob, za somentorja dr. Marijan Nečemer in za recenzenta prof. dr. Rajko Vidrih.

Mentorica: prof. dr. Terezija Golob

Somentor: dr. Marijan Nečemer

Recenzent: prof. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Primož Božnar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn
DK UDK 638.1:631.416:631.811:543.62(043)=163.6
KG med/nektar/zemlja/listje/cvetje/cvetni prah/medovite rastline/vzorčenje nektarja/kemijski elementi/rentgenska fluorescenčna spektrometrija s popolnim odbojem/TXRF/rentgenska fluorescenčna spektrometrija/XRF/fizikalnokemijske lastnosti/električna prevodnost/vsebnost vode/prehajanje elementov
AV BOŽNAR, Primož
SA GOLOB, Terezija (mentorica)/NEČEMER, Marijan (somentor)/VIDRIH, Rajko (recenzent)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2012
IN PREHAJANJE ELEMENTOV IZ TAL PREKO RASTLIN V MED
TD Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP XI, 56 str., 24 pregl., 24 sl., 14 pril., 49 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Namen diplomske naloge je bil proučiti prehajanje elementov iz tal v različne dele rastlin in preko rastlin v nektar in med pri treh vrstah slovenskega medu: pri akacijevem, lipovem in kostanjevem medu. Elemente K, Ca, Mn, Zn, Rb, Sr, Fe in Cu v vzorcih zemlje in v rastlinskih tkivih smo analizirali z metodo rentgenske fluorescenčne spektrometrije (XRF), elemente v nektarju in medu pa s tehniko imenovano rentgenska fluorescenčna spektrometrija s popolnim odbojem (TXRF). Za odvzemanje nektarja iz čebel smo razvili metodo iztiskanja nektarja iz mednega želodčka čebel tako da čebela ostane nepoškodovana. V nektarju in medu smo določili tudi vsebnost vode, v medu pa še električno prevodnost. Dobljene rezultate smo statistično obdelali in določili zvezo med vsebnostjo elementov v vzorcih. Meritve so pokazale, da pri lipovem medu ne moremo govoriti o odvisnosti vsebnosti elementov v medu od njihove vsebnosti v zemlji. Pri akacijevem medu smo našli malo zvez med vsebnostjo elementov v zemlji, v drevesu in v medu. Tesne zveze pa smo našli pri kostanjevem medu za elemente K, Mn, Fe in Rb. Ugotovili smo, da je vsebnost K v medu odvisna od vsebnosti K v zemlji, kjer raste kostanjevo drevo.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 638.1:631.416:631.811:543.62(043)=163.6
CX honeys/nectars/soils/leaves/blossom/pollen/bee plants/sampling of nectar/chemical elements/total reflection X-ray fluorescence spectrometry/TXRF/X-ray fluorescence spectrometry/XRF/physicochemical properties/electrical conductivity/water content/elemental transfer
AU BOŽNAR, Primož
AA GOLOB, Terezija (supervisor)/NEČEMER, Marijan (co-advisor)/VIDRIH, Rajko (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2012
TI ELEMENTAL TRANSFER FROM SOIL THROUGH PLANTS INTO HONEY
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 56 p., 24 tab., 24 fig., 14 ann., 49 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The purpose of the study was to examine the elemental transfer from soil through plants into nectar and honey in three types of Slovenian honey, in acacia, lime and chestnut honey. Elements K, Ca, Mn, Zn, Rb, Sr, Fe and Cu in soil samples and plant tissues were analyzed by the method of X-ray fluorescence spectrometry (XRF), elements in nectar and honey with a technique called total reflection X-ray fluorescence spectrometry (TXRF). For abstraction of nectra from bees we have developed a method by squeezeing nectar from honey bag. The bees remains intact. In all honey and nectar samples content of water and in honey also electrical conductivity were determined. The obtained results of the measurements were statistically analyzed and determined the relationship between content elements in the samples. Measurements have shown that the quantity of elements in lime honey does not depend on the quantity of elements in the soil. In acacia honey, only a few relations between the content of elements in the soil, in the tree and in honey were found. Close relationships were found in chestnut honey for the elements K, Mn, Fe and Rb. It was found that the K content in honey depends on the K content in soil, which grows the chestnut tree.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PREGLEDNIC	IX
KAZALO PRILOG	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	1
1.2 HIPOTEZA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 SPLOŠNO O MEDU	3
2.2 MEDOVITE RASTLINE	3
2.2.1 Akacija (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	3
2.2.2 Lipa (<i>Tilia platyphyllos</i> Scop.) in lipovec (<i>T. cordata</i> Mill.)	4
2.2.3 Pravi kostanj (<i>Castanea sativa</i> Mill.)	5
2.3 PRESKRBA RASTLINE S HRANILI	6
2.4 ZGRADBA IN DELOVANJE ČEBELJEGA TELESA	9
2.4.1 Deli telesa	9
2.4.1.1 Glava	9
2.4.1.2 Oprsje	9
2.4.1.3 Zadek	10
2.5 SUROVINE ZA MED	10
2.5.1 Nektar	11
2.5.2 Mana	11
2.6 VRSTE SLOVENSKEGA MEDU V NAŠI RAZISKAVI	12
2.6.1 Akacijev med	12
2.6.2 Lipov med	12
2.6.3 Kostanjev med	12
2.7 SESTAVA SLOVENSKEGA MEDU	13
2.8 ELEMENTI V MEDU	15
2.9 DOLOČANJE ELEMENTNE SESTAVE MEDU	16

3 MATERIAL IN METODE	17
3.1 VZORCI	17
3.1.1 Izbira lokacije vzorčenja	17
3.1.2 Vzorčenje zemlje, listja, cvetja	19
3.1.3 Vzorčenje nektarja	21
3.1.4 Vzorčenje cvetnega prahu	23
3.1.5 Vzorčenje medu	23
3.3 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE	24
3.3.1 Rentgenska fluorescenčna spektrometrija (XRF) (Nečemer in sod., 2008; Nečemer in sod., 2011)	24
3.3.2 Rentgenska fluorescenčna spektrometrija s totalnim odbojem (TXRF) (Nečemer in sod., 2008; Nečemer in sod., 2011)	28
3.3.3 Določanje vsebnosti vode v medu (Bogdanov, 2009)	30
3.3.4 Merjenje električne prevodnosti medu (Kropf in sod., 2008)	30
3.4 STATISTIČNA ANALIZA	31
4 REZULTATI	32
4.1 VSEBNOST ELEMENTOV V ZEMLJI, LISTJU, CVETJU IN CVETNEM PRAHU DOLOČENIH Z METODO XRF	32
4.1.1 Vsebnost elementov v zemlji	32
4.1.2 Vsebnost elementov v listju	34
4.1.3 Vsebnost elementov v cvetju	35
4.1.4 Vsebnost elementov v cvetnem prahu	37
4.2 VSEBNOST ELEMENTOV V NEKTARJU IN MEDU DOLOČENIH Z METODO TXRF	38
4.2.1 Vsebnost elementov v nektarju	38
4.2.2 Vsebnost elementov v medu	40
4.3 VSEBNOST ELEMENTOV V RAZLIČNIH VRSTAH SLOVENSKEGA MEDU	41
4.4 VSEBNOST VODE V NEKTARJU	42
4.5 VSEBNOST VODE V MEDU	42
4.6 REZULTATI MERJENJA ELEKTRIČNE PREVODNOSTI MEDU	43
4.7 KORELACIJE MED ANALIZIRANIMI VZORCI	44
4.7.1 Korelacije za vsebnost elementa K v vzorcih z lokacij medenja kostanja	45
5. RAZPRAVA IN SKLEPI	48
5.1 RAZPRAVA	48
5.1.1 Prehajanje elementov	49
5.1.1.1 Prehajanje elementov pri lipi (<i>Tilia</i> spp.)	49
5.1.1.2 Prehajanje elementov pri akaciji (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	49
5.1.1.3 Prehajanje elementov pri kostanju (<i>Castanea sativa</i>)	50

5.2 SKLEPI.....	51
6 POVZETEK.....	52
7 VIRI	53
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO SLIK

Slika 1: Cvetje <i>Robinia pseudoacacia</i> L.	4
Slika 2: Čebela na cvetu lipe	5
Slika 3: Cvetje kostanja (<i>Castanea sativa</i> Mill.).....	6
Slika 4: Kroženje hranilnih snovi v rastlini (Cuerda, 2006).....	9
Slika 5: Deli čebeljega telesa (Gregorc, 1998)	10
Slika 6: Prikaz lokacij vzorčenja akacije na zemljevidu makroregij Slovenije (Perko, 1998)	17
Slika 7: Prikaz lokacij vzorčenja lipe na zemljevidu makroregij Slovenije (Perko, 1998).	18
Slika 8: Prikaz lokacij vzorčenja kostanja na zemljevidu makroregij Slovenije (Perko, 1998).....	18
Slika 9: Gozd cvetočih akacij v času vzorčenja	19
Slika 10: Vzorčenje zemlje.....	19
Slika 11: Sonda za vzorčenje zemlje	20
Slika 12: Vzorčenje cvetja akacije	20
Slika 13: Lovljenje čebel na bradi panja	21
Slika 14: Iztiskanje nektarja iz živih čebel	22
Slika 15: Čebeli, ki nosita cvetni prah v panj	23
Slika 16: Detektor (Kump, 2005)	25
Slika 17: Princip delovanja rentgenske fluorescenčne spektrometrije (prirejeno po: Theory, X-ray..., 2006)	26
Slika 18: Hidravlična stiskalnica in pribor za izdelavo tabletk	27
Slika 19: Shematski prikaz principa delovanja TXRF metode (Klockenkämper in Bohlem, 2001).....	28
Slika 20: Zveza med vsebnostjo K v listju in zemlji na lokacijah medenja kostanja.....	45
Slika 21: Zveza med vsebnostjo K v cvetju in listju na lokacijah medenja kostanja	45
Slika 22: Zveza med vsebnostjo K v nektarju in cvetju na lokacijah medenja kostanja.....	46
Slika 23: Zveza med vsebnostjo K v nektarju in listju na lokacijah medenja kostanja.....	46
Slika 24: Zveza med vsebnostjo K v medu in nektarju na lokacijah medenja kostanja.....	47

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Zahteve Pravilnika o medu (Pravilnik o medu, 2011).....	14
Preglednica 2: Povprečna vsebnost elementov (mg/100 g) v različnih vrstah slovenskega medu (Kropf, 2009).....	15
Preglednica 3: Vsebnost elementov v zemlji v času medenja lipe, leta 2009	32
Preglednica 4: Vsebnost elementov v zemlji v času medenja kostanja, leta 2009 in 2010.	33
Preglednica 5: Vsebnost elementov v zemlji v času medenja akacije, leta 2010.....	33
Preglednica 6: Vsebnost elementov v listju lipe, leta 2009.....	34
Preglednica 7: Vsebnost elementov v listju kostanja, leta 2009 in 2010	34
Preglednica 8: Vsebnost elementov v listju akacije, leta 2010.....	35
Preglednica 9: Vsebnost elementov v cvetju lipe, leta 2009	35
Preglednica 10: Vsebnost elementov v cvetju kostanja, leta 2009 in 2010.....	36
Preglednica 11: Vsebnost elementov v cvetju akacije, leta 2010.....	36
Preglednica 12: Vsebnost elementov v cvetnem prahu lipe, leta 2009	37
Preglednica 13: Vsebnost elementov v cvetnem prahu kostanja, leta 2009 in 2010.....	37
Preglednica 14: Vsebnost elementov v nektarju lipe, leta 2009.....	38
Preglednica 15: Vsebnost elementov v nektarju kostanja, leta 2009 in 2010	39
Preglednica 16: Vsebnost elementov v nektarju akacije, leta 2010	39
Preglednica 17: Vsebnost elementov v lipovem medu, leta 2009.....	40
Preglednica 18: Vsebnost elementov v kostanjevem medu, leta 2009 in 2010.....	40
Preglednica 19: Vsebnost elementov v akacijevem medu, leta 2010.....	41
Preglednica 20: Primerjava vsebnosti elementov v slovenskem medu (Kropf, 2009) z našimi rezultati	41
Preglednica 21: Vsebnost vode v vzorcih nektarja.....	42
Preglednica 22: Vsebnost vode v vzorcih medu.....	42
Preglednica 23: Električna prevodnost medu (mS/cm)	43
Preglednica 24: Statistično značilne zveze med vsebnostjo posameznega elementa v analiziranih vzorcih	44

KAZALO PRILOG

Priloga A 1: Zveza med vsebnostjo Mn v listju in zemlji na lokacijah medenja lipe, v grafu so vključeni kraji Modrejce, Sužid in Kočevje

Priloga B 1: Zveza med vsebnostjo Ca v listju in zemlji na lokacijah medenja akacije, v grafu so vključene lokacije Velike Žablje, Mali Bakovci in Bogojina

Priloga B 2: Zveza med vsebnostjo Zn v listju in zemlji na lokacijah medenja akacije, v grafu so vključeni kraji Velike Žablje, Mali Bakovci, Bogojina in Podgrad

Priloga B 3: Zveza med vsebnostjo Zn v cvetju in listju akacije, v grafu so vključni kraji Mali Bakovci, Bogojina in Podgrad

Priloga B 4: Zveza med vsebnostjo Rb v cvetju in listju akacije, v grafu so vključeni kraji Velika Žablje, Mali Bakovci, Bogojina in Podgrad

Priloga B 5: Zveza med vsebnostjo Zn v nektaju in listju akacije, v grafu so vključeni kraji Velike Žablje, Bogojina in Podgrad

Priloga C 1: Zveza med vsebnostjo Mn v listju in zemlji na lokacijah medenja kostanja, v grafu so vključeni kraji iz leta 2010 Kresniški Vrh, Kostanjevica, Ženje in Areh

Priloga C 2: Zveza med vsebnostjo Zn v listju in zemlji na lokacijah medenja kostanja, v grafu so vključeni kraji Kresniški Vrh (2010), Kostanjevica (2010), Ženje (2010 in 2009)

Priloga C 3: Zveza med vsebnostjo Fe v listju in zemlji na lokacijah medenja kostanja, v grafu so vključeni kraji iz leta 2010 Kresniški Vrh, Kostanjevica in Ženje

Priloga C 4: Zveza med vsebnostjo Rb v cvetju in listju kostanja, v grafu so vključeni kraji Kostanjevica (2010), Zgornje prebukovja (2010), Kostanjevica (2009)

Priloga C 5: Zveza med vsebnostjo Fe v cvetju in listju na lokacijah medenja kostanja

Priloga C 6: Zveza med vsebnostjo Zn v nektarju in listju kostanja, v grafu so vključeni kraji Kostanjevica, Ženje, Zgornje Prebukovje, Areh in Ženje (2009)

Priloga C 7: Zveza med vsebnostjo Mn v medu in nektarju kostanja, v grafu so vključeni kraji vzorčenja kostanja iz leta 2010.

Priloga C 8: Zveza med vsebnostjo Rb v medu in nektarju kostanja, za vzorce pridobljene leta 2010 na območjih medenja kostanja

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

mS/cm	mili Siemens na centimeter
p	stopnja tveganja pri statističnem sklepanju
r	Pearsonov koeficient korelacije
r^2	koeficient determinacije
TXRF	rentgenska fluorescenčna spektrometrija s popolnim odbojem (ang. <i>Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometry</i>)
XRF	rentgenska fluorescenčna spektrometrija (angl. <i>X-Ray Fluorescence spectrometry</i>)
χ	električna prevodnost

1 UVOD

Med je naravna sladka snov, ki jo izdelajo čebele *Apis mellifera* iz nektarja cvetov ali izločkov iz živih delov rastlin ali izločkov žuželk, ki sesajo rastlinski sok na živih delih rastlin, ki jih čebele zberejo, predelajo z določenimi lastnimi snovmi, shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v satju (Pravilnik o medu, 2011).

Med je koncentrirana raztopina sladkorjev. Poleg sladkorjev vsebuje med še organske kisline, encime, vitamine, flavonoide, minerale in številne elemente v sledovih, ki dajo medu barvo, vonj in okus. Tudi, če vse te mikroelemente seštejemo skupaj, predstavljajo zelo majhen delež v skupni masi. Mešanica sladkorjev je sestavljena pretežno iz glukoze in fruktoze (85 – 95 %) (Molan, 1996).

Poleg sladkorjev, je v medu največ vode. Maksimalna dovoljena vsebnost vode v medu je 20 % (Pravilnik o medu, 2011).

Fizikalne lastnosti medu so odvisne od količine glavnih sestavin v medu, to so glukoza, fruktoza in voda, ter od razmerja med njimi (Molan, 1996).

Med je dobro poznan zaradi svoje dragocene prehranske in zdravilne vrednosti. Te lastnosti med drugim določa tudi mineralna sestava, ki je odvisna od vrste medu in lokacije pridelave. Vir mineralnih komponent je v prvi vrsti surovina (nektar, mana, cvetni prah) in ne čebela, kot je bilo mišljeno nekoč (Madejczyk, 2008). Posledično pa je mineralna sestava medu odvisna od rastlinske adsorpcije mineralov iz zemlje in okolja (Vanhanen in sod., 2011).

1.1 NAMEN DELA

Namen raziskave je bil proučiti prehajanje elementov iz tal v različne dele rastlin (tudi v floemski sok in nektar) in preko rastlin v med. Znano je, da je vsebnost elementov v rastlinah povezana s sestavo tal, na kateri rastline rastejo, ter da je vsebnost elementov v medu primarno odvisna od vrste medu, torej od botaničnega porekla medu. V raziskavo smo vključili 3 drevesne vrste, ki so znane kot bogat vir nektarja:

- lipa (*Tilia* spp.),
- pravi kostanj (*Castanea sativa*) in
- akacija (*Robinia pseudoacacia*).

Raziskava je potekala dve zaporedni leti, leta 2009 smo vzorčili na lipi in kostanju, leta 2010 pa smo je vzorčenje razširili še na akacijo.

Vzorčevanja posamezne rastlinske vrste, nektarja in medu so potekala na različnih lokacijah v Sloveniji, v različnih naravno-geografskih regijah. Raziskava je zajemala:

- odzemanje vzorcev tal, kjer smo določili elementno sestavo,
- odzemanje vzorcev rastlinskih tkiv (listje, cvetovi), da smo ugotovili, v kakšni meri elementi prehajajo v rastlino in kako se porazdeljujejo po različnih delih drevesa,

- odzemanje medicīne iz mednih golš, ter cvetnega prahu z nogic čebel, ki se pasejo na dotičnih rastlinah, da smo ugotovili približno elementno sestavo nektarja teh dreves (približna zato, ker ne moremo zagotoviti, da bodo čebele ves nektar, ki bo takrat v medni golši, zbrale izključno na dotični rastlini) in elementno sestavo cvetnega prahu.
- zbiranje vzorcev medu določene vrste iz panja, v katerega so prinašale čebele vzorčeni nektar, ter določanje elementne sestave tega medu.

Elemente v vzorcih zemlje in rastlinskih tkivih smo analizirali z metodo rentgenske fluorescenčne spektrometrije (XRF – angl. X-ray fluorescence spectrometry), elemente v medu in medicīni pa s posebno tehniko imenovano rentgenska fluorescenčna spektrometrija s popolnim odbojem (TXRF – angl. total reflexion X-ray fluorescence spectrometry). Obe metodi sta hitri, nedestruktivni in zahtevata le minimalno predpripravo vzorca, ki ne vključuje razklopa vzorca. S tema metodama lahko določimo vsebnost vseh elementov težjih od natrija, ki so prisotni v količinah nad 1 mg/kg. Metodi sta dobro preverjeni, saj sta bili na ta način določeni značilna elementna sestava različnih vrst slovenskega medu in značilna sestava mnogih rastlinskih vrst v Sloveniji.

Po svetu so raziskovalci že ugotavljali, kako elementi prehajajo iz tal v rastline, a nihče do sedaj še ni tega dela povezal z določanjem elementne sestave medu. Tako je ta raziskava pionirsko delo ne le v slovenskem okolju, temveč predstavlja napredek v poznavanju fiziologije rastlin in nastanka medu tudi v svetovnem merilu. Široko zastavljena raziskava ne omogoča le proučevanje obnašanja različnih medovitih drevesnih vrst, ampak tudi ugotavljanje vpliva tal (vrste zemlje in kamnin) na sestavo rastlinskih tkiv in posledično tudi na med.

1.2 HIPOTEZA

Pričakujemo, da elementna sestava tal vpliva na vsebnost posameznih elementov v različnih delih rastlin ter posledično na elementno sestavo nektarja in medu. Glede na to, da čebele proizvedejo med iz nektarja, pričakujemo pozitivno zvezo med vsebnostjo elementov v nektarju in medu.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SPLOŠNO O MEDU

Med je naravna sladka snov, ki jo izdelajo čebele *Apis mellifera* iz nektarja cvetov ali izločkov iz živih delov rastlin ali izločkov žuželk, ki sesajo rastlinski sok na živih delih rastlin, ki jih čebele zberejo, predelajo z določenimi lastnimi snovmi, shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v satju (Pravilnik o medu, 2011).

Že od nekdaj so med uporabljali kot sladilo in zdravilo. Da je v preteklosti človek prišel do medu, je pogosto tvegalo svoje življenje saj je moral plezati na drevesa in odganjati čebele iz njihovih bivališč (Crane, 1980). Med je omenjen v starih indijskih verskih knjigah že 2000–3000 let pred našim štetjem. Stari Kitajci pa so našli zapise o medu v knjigi pesmi iz 6. stoletja pr. n. št. Med je bil pomembno sladilo tudi v starem Egiptu. To je razvidno iz raznih stenskih risb, našli pa so jih tudi na papirusu iz obdobja okrog 1500 do 1700 let pr. n. št. (Božnar, 2011).

2.2 MEDOVITE RASTLINE

2.2.1 Akacija (*Robinia pseudoacacia* L.)

Pod napačnim imenom akacija poznamo v Sloveniji drevo s pravim imenom robinija. To je do 30 m visoko listopadno drevo z redko in zračno krošnjo. Ima široko razrasel koreninski sistem, gost in večinoma plitev, na ustreznih tleh tudi globlji, v mladosti ima močno glavno korenino. Je enodomna in žužkocvetna vrsta, cveti konec maja in junija hkrati z olistanjem. Najbolje raste na rahlih, globokih in rodovitnih tleh. Dobro prenaša tudi slana tla, ne mara pa kamnitih in mokrih terenov. Tudi hude suše ne prenaša dobro. Najbolje uspeva v čistih sestojih, zasenčenost prenaša slabo. Občutljiva je za veter in sneg ter zelo nizko temperaturo, zato jo v Evropi na splošno priporočajo za gojenje na vinorodnih območjih. Uspeva celo na področjih z onesnaženim zrakom. Kljub temu, da v Sloveniji akacija ni avtohtona rastlina, se je uspešno vključila med domače rastje tudi v gozdnem prostoru. Danes je najpogostejša tuja drevesna vrsta pri nas. Raste po nižinah in gričevjih do okrog 600 m n. v., po skoraj vsej Sloveniji, največ v sredozemskem in panonskem svetu (Brus, 2004).

Najbolj znana rastišča akacije so na Goriškem, v Vipavski dolini, na Vremskem polju in v Pomurju. Obsežnejša rastišča so še v vinorodnih območjih drugod po Sloveniji. Na teh območjih so tudi najboljši donosi akacijevega medu. V Sloveniji je mogoče izkoristiti tri akacijeve pašne: najprej v nižjih legah Primorske, nato v višjih (npr. na Vremskem polju) in pozneje še v Pomurju. Na Primorskem akacija vedno cveti že v maju, v Pomurju pa se lahko cvetenje zavleče v junij. Akacija, med vsemi medonosnimi rastlinami, najbolj obilno izloča medicino, hkrati pa je ena najbolj zanesljivih paš. Čebele na akacijevi paši le redko ne naberejo medicine. To se zgodi samo v primeru, če akacija pozebe ali pa pade med cvetenjem preveč dežja. Najbolje medi, kadar cveti še pred polnim olistanjem. Po nekaterih ocenah bi lahko hektar akacijevega gozda dal do 1000 kg medu in več (Božič, 2008).



Slika 1: Cvetje *Robinia pseudoacacia* L.

2.2.2 Lipa (*Tilia platyphyllos* Scop.) in lipovec (*T. cordata* Mill.)

Lipa ali velikolistna lipa je do 40 m visoko in do 5 m debelo listopadno drevo. Deblo je ravno in pravilno, krošnja na prostem široka in debelo vejnata, v gozdu ožja. Koreninski sistem je močno razvit, zlasti močne so stranske korenine. Cvetovi so dvospolni, rumeni in dišeči, navadno rastejo v socvetjih na skupnem peclju. Je enodomna in žužkocvetna vrsta, cveti junija in v prvi polovici julija, teden ali dva pred lipovcem. Najraje ima globoka in apnena tla, zračna in dovolj vlažna, z mineralnimi hranili bogata tla. Občutljiva je za mraz, slabo prenaša sušo in onesnažen zrak. Rada raste na senčnih, vlažnih in strmih pobočjih, nad soteskami ali pod pečinami, na splošno je občutljivejša od lipovca in potrebuje več toplote. Raste na območjih z elementi subatlantskega ali submediteranskega podnebja, celinsko podnebje prenaša slabše kot lipovec. Naravno je raširjena v velikem delu Slovenije. Čistih lipovih sestojev nimamo, lipo največkrat najdemo kot primes v hrastovih in različnih bukovih združbah v gorskem svetu, pogosto v družbi velikega jesena, gorskega javorja, gorskega bresta in lipovca (Brus, 2004).

Lipovec ali malolistna lipa je do 30 m visoko listopadno drevo. Na prostem ima kratko deblo in široko krošnjo z debelimi vejami. Če raste v sestoku, je deblo ravno in pokončno, krošnja pa kratka. Koreninski sistem je močan, razvite so močne vertikalne korenine in stranske korenine. Cvetovi so dvospolni, rumenozeleni in dišeči. Po 5–11 cvetov je združenih v socvetje. Je enodomna in žužkocvetna vrsta, cveti junija ali julija, 2 tedna pozneje kot lipa. Najraje raste na globokih, svežih, rahlih in bogatih tleh, na apnenčasti matični podlagi, čeprav prenese tudi nekoliko slabša in sušnejša rastišča. Na kislih tleh ne uspeva tako dobro. Nizko temperaturo, mraz in celinsko podnebje prenese bolje kot lipa, zato njen areal sega precej dlje proti vzhodu. Dobro prenaša vročino, enako tudi mestno okolje. Pri nas je samonikel, raztreseno raste od nižin do gorskega pasu po vsej Sloveniji.

Razširjen je predvsem v hrastovih in nižjih, bukovih, pa tudi jelovo-bukovih gozdovih. (Brus, 2004).

Lipa in lipovec rasteta v naših listantih gozdovih po vsej Sloveniji. Lipa cveti v juniju, običajno dober teden po cvetenju akacije. Lipovec cveti nekoliko pozneje, njegovo cvetenje se lahko zavleče do začetka cvetenja pravega kostanja, tj. v junij. Obe vrsti dobro medita. Pomembnejša je lipa, ki je tudi nekoliko pogostejša (Božič, 1998). V Sloveniji je precej območji z lipovo pašo. Najintenzivnejše paše so na Tolminskem, Kočevskem, v Beli Krajini, na Gorenjskem in Štajerskem (Božnar, 2011).



Slika 2: Čebela na cvetu lipe

2.2.3 Pravi kostanj (*Castanea sativa* Mill.)

Pravi ali domači kostanj je do 35 m visoko in 3 m debelo listopadno drevo z mogočno in široko krošnjo. Na prostem rastoča drevesa so vejnata skoraj do tal in večdebelna. Je enodomna, večinoma žužkocvetna vrsta, vendar se oprašuje tudi z vetrom. Potrebuje globoka, rahla, zmerno vlažna, humozna, s kalijem bogata peščeno glinasta tla. Raste na kisljih in nekarbonatnih tleh. Na apnencu raste le, kadar je ta prekrit z plastjo kisle prsti. Za rast potrebuje topla a ne preveč sušna poletja. Ustreza mu mila zima, enakomerno razporejene padavine, zmerna zračna vlaga in tople zavetne lege med 300 in 700 m n. v.. Pravi kostanj je v Sloveniji skoraj gotovo razširjen samoniklo, to potrjujejo tudi najdbe peloda izpred nekaj tisoč let na Koprskem. Razlikujemo dve glavni območji razširjenosti:

- Jedro prvega, celinskega območja je spodnje Posavje, od koder se je razširil v Haloze, Slovenske gorice, na Goričko, Gorenjsko in ob Savi vse do Mojstrane. Raste ob toku Drave, pogost je tudi v Beli Krajini.

- Jedro drugega, manjšega območja je svet ob spodnjem toku Soče, od koder se je, prek manjših nahajališč čez Kras (Kostanjevica), razširil v Brkine in naprej proti Istri (Brus, 2004).

Cveti v juniju in juliju, cvetenje se občasno razvleče na tri tedne. Na začetku se razcvetijo predvsem šopi moških socvetij, ko ti že odcvetajo pa zacvetijo ženska socvetja skupaj z eno mačico moškega socvetja. Drugi del cvetenja je seveda nekoliko manj obilen od prvega. Čebele na kostanju naberejo veliko cvetnega prahu. Kostanj izloča tudi precej medicnine. Kostanjeva paša je najzanesljivejša paša v Sloveniji, vendar nekoliko manj obilna kot akacijeva. Kostanjevi gozdovi so pogosto razširjeni na pobočjih z večjimi višinskimi razlikami, lahko tudi nekaj sto metrov. To pa še dodatno pripomore k časovnim razlikam v cvetnju kostanja (Božič, 1998). Kostanj je zelo občutljiv na padavine v času cvetenja, saj le-te prekinejo medenje (Javornik in sod., 1982).



Slika 3: Cvetje kostanja (*Castanea sativa* Mill.)

2.3 PRESKRBA RASTLINE S HRANILI

V tleh so prisotni različni elementi, ki se delijo na esencialne in neesencialne. Samo nekateri elementi so bili določeni kot esencialni za rast rastlin. Esencialni elementi so vsi tisti, ki so nujno potrebni, da rastlina zaključi rastni cikel (Arnon in Stout, 1939). Če so rastlini dani ti esencialni elementi ter svetloba, rastlina lahko sintetizira vse potrebne snovi za normalno rast. Rastlina elemente H, C in O pridobiva iz CO₂ in H₂O. Elementi, ki jih rastlina pridobiva s črpanjem iz tal, pa so razdeljeni na makro- in mikroelemente. Razdelitev je določena glede na njihovo relativno koncentracijo v rastlinskih tkivih, prisotnost makroelementov je vsaj 10-krat večja. Makroelementi, prisotni v rastlinah so N, K, Ca, Mg, P, S, Si, mikroelementi pa Cl, Fe, B, Mn, Na, Zn, Cu, Ni, Mo (Taiz in Zeiger, 2002). Poleg esencialnih elementov pa korenine iz tal prevzemajo tudi neesencialne elemente, kot so Pb, Cd, Cr, Me, Au, As, Ag, Hg (Seregin in Ivanov, 2001).

Kje v rastlini se elementi nahajajo, je odvisno tudi od mobilnosti elementov. Glede na mobilnost jih delimo na mobilne in nemobilne elemente. Mobilni so N, K, Mg, P, Cl, Na, Zn, Mo in Cd, nemobilni pa Ca, S, Fe, B, Cu in Pb (Taiz in Zeiger, 2002). Nemobilni elementi se ves čas nalagajo, zato se njihova koncentracija s staranjem lista večja, lahko pa se zadržujejo tudi v koreninah, kot npr. Pb (Ernst s sod., 1992). Mobilne elemente pa lahko rastlina ves čas premešča, glede na njene potrebe. V starejših listih zato večinoma najdemo visoke koncentracije tistih elementov, ki jih rastlina ne potrebuje (Fricks s sod., 2001).

Preživetje rastlin je v veliki meri odvisno od njihove sposobnosti prenosa različnih snovi v rastlino, po rastlini in iz rastline. Na celični ravni je za tako gibanje dovolj že enostavna difuzija, saj majhne molekule lahko prečijo celico široko 50 mikrometrov v manj kot sekundi. To pa pomeni, da bi molekula, ki z difuzijo potuje prek celice eno sekundo, potrebovala več kot osem let za pot v meter visoki rastlini. Z razvojem mnogoceličnih organizmov je tako postala difuzija neustrezen način transporta in je zahtevala izboljšave. Ti in še nekateri drugi dejavniki so vodili v razvoj dveh specialnih transportnih sistemov rastlin – ksilema in floema. V zreli stopnji razvoja rastline ksilem in floem sestavljata strukturno in funkcionalno povezano enoto, ki je bolj ali manj neprekinjena po celotni rastlini od korenin do najmanjših žil v zelenih in cvetnih listih (Dermastia, 2007).

Sladkorji, ki nastanejo pri fotosintezi, vsebujejo tri osnovne elemente, potrebne za življenje. To so ogljik, kisik in vodik. Te dobijo neposredno iz vode tako kot alge, ali pa jih črpajo s koreninami iz podlage (Cuerda, 2006).

Praviloma obstaja velika razlika med koncentracijo mineralnih hranil v zemlji in mineralnimi potrebami rastlin. Ponavadi zemlja vsebuje višje koncentracije mineralnih hranil, kot jih potrebuje rastlina. Zaradi tega mora biti mehanizem, s katerim rastlina črpa hranila, selektiven. Nekatere minerale črpajo rastline prednostno, nekatere pa v zelo majhnih količinah. Koncentracija mineralov je zaradi akumulacije večja v raslinskem celičnem soku kot v zemlji (Marschner, 1995).

Na splošno imajo korenine dve glavni območji: koreninski vršiček ali rastni del na koncu korenine in območje koreninskih laskov. Koreninski laski povečajo absorpcijsko površino in s tem zmožnost črpanja vode ter mineralnih snovi iz prsti. Njihova življenska doba je kratkotrajna. Na starejših delih rastlin se laski posušijo in odpadejo, nadomestijo jih novi, ki zrastejo tik nad koreninskim vršičkom. Imenujemo jih tudi absorpcijski laski (Cuerda, 2006).

Vse membrane imajo podobno zgradbo. Sestavljene so iz dvojnega sloja fosfolipidov, ki so impregnirani s proteini. Seveda pa nimajo vse membrane natančno enake strukture in funkcije. Vsaka membrana nadzoruje koliko in katere snovi bodo šle skozi. To pomeni, da ima vsaka membrana drugačno membransko selektivnost, ki je odvisna od strukture membrane. Sestava in fizikalne lastnosti membran se tekom celičnega razvoja lahko spreminjajo. Po membranskem modelu tekočega mozaika so proteini mozaično razporejeni v tekoči fosfolipidni dvosloj. Fosfolipidi so orientirani s polarnim – hidrofilnim delom proti površinama membrane, z nepolarnim – hidrofobnim repom pa v notranjost, skrito pred okolno vodo. Taka struktura, osnovana na hidrofobno/hidrofilnih interakcijah, naj bi bila zelo stabilna

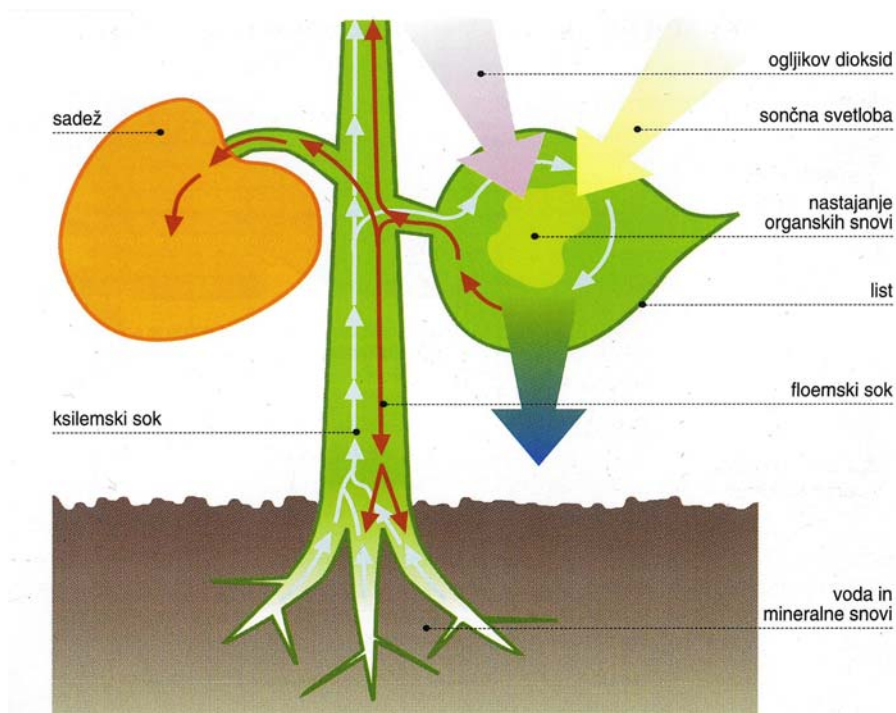
in elastična. Membranski proteini so tudi delno hidrofojni in delno hidrofilni. V lipidno strukturo so zasidrani s hidrofojnimi amino kislinami. Hidrofilne aminokisline so znotraj proteinov in na mestih, kjer protein sega iz membrane v vodno okolje. Nekateri proteini so tako veliki, da se ne prilegajo v lipidni dvosloj, tako da en ali oba konca štrlita v tekočino celice (integralni proteini), drugi so le na eni strani membrane (periferni proteini). Nekateri proteini lahko privlačijo druge s pozitivnim ali negativnim nabojem na njihovi lateralni površini, tako da dobimo skupke ali velike delce (Dermastja, 2007).

Obstajata dve paralelni poti prehajanja raztopin in vode. Prva poteka skozi apoplaste in druga poteka iz celice v celico, v simplast skozi plasmodezmo (Marschner, 1995).

Rastlina lahko sprejema mineralne snovi iz zemlje le takrat, ko so raztopljene v vodi. Trdni delci namreč ne morejo prehajati skozi membrane koreninskih celic. Raztopina prehaja skozi povrhnjico in skorjo od celice do celice samo preko celičnih sten, ne da bi vstopila v notranjost celice. Tako doseže koreninski ksilem, po katerem se začne njena pot navzgor po stebelu (Cuerda, 2006). Ksilemski transport poganja gradient hidrostatskega pritiska in vodni potencial (Marschner, 1995). Ta ksilemski sok se po ksilemskih elementih žil prevaja po stebelu do listov. Pri fotosintezi v listih nastanejo vse, za preživetje rastline nujne organske snovi. Raztopljene v vodi se, kot floemski sok po floemskem delu žil prevajajo po rastlini do mest porabe v različnih smereh (Cuerda, 2006).

Prevzem elementov v rastline je odvisen od zmožnosti elementov, da se prenašajo iz substrata v organizme, lastnosti tal, količine padavin, lastnosti rastline in prisotnosti gliv. Dejavniki, ki vplivajo na dostopnost elementov so pH, topnost, kationsko izmenjevalna kapaciteta, vsebnost organskih snovi, na katero so lahko vezani mikroorganizmi in struktura tal. Glede na svoje potrebe, pa lahko rastlina tudi sama vpliva na topnost in mobilnost elementov. Nekatere rastline namreč lahko sproščajo specifične kovinske kelate ali reducirajoče spojine v rizosfero, da povečajo adsorpcijo Fe in Zn, kadar je dostopnost teh mikronutrientov nizka (Marschner, 1995). Prisotnost gliv pa omogoča večji prevzem P, S, Ni, Cu, K in Ca (Smith in Read, 1997). Mg in K sta najpomembnejša elementa za fiksacijo ogljikovega dioksida ter za razvoj rezerv ogljikovih hidratov. Ker sta to mobilna elementa, se njuna koncentracija pred odpadanjem listov zmanjša (Ericsson in Kahr, 1995).

Med vsemi elementi, ki jih rastline sprejemajo iz zemlje, je nekaj takšnih, ki so potrebni v precejšnjih količinah. To pa zato, ker so iz njih zgrajeni rastlinski organi in tkiva ali so potrebni za pravilen potek življenjskih funkcij. Rastlina brez njih torej ne bi mogla obstajati. Druge snovi pa so rastlinam za uspešno rast potrebne v manjših količinah (Cuerda, 2006).



Slika 4: Kroženje hranilnih snovi v rastlini (Cuerda, 2006)

2.4 ZGRADBA IN DELOVANJE ČEBELJEGA TELESA

2.4.1 Deli telesa

Telo odrasle čebele sestavljajo glava, oprsje in zadek, ki so vsak posebej zgrajeni iz številnih ploščic ali skleritov. Trebušni in hrbtni okrov povezuje opna, nanjo so pripete noge in krila. Opno najdemo tudi med obročki zadka. Čebela se izleže z dlačicami, ki pokrivajo skoraj celotno telo in pozneje poskrbijo, da se na njih zadrži cvetni prah. Čebela znotraj telesa nima okostja. To nalogo opravlja čvrst hitinski oklep ali eksoskelet, ki ga sestavljajo hitin, proteini in pigmenti (Smodiš Škerl, 2011).

2.4.1.1 Glava

Glava je zelo pomemben del telesa, ki je sposobna zaznavati dražljaje iz okolja ter hkrati upravljati ustne dele za sprejem in hranjenje s cvetnim prahom in medom. Sploščena in v obliki trikotnika ima na zgornjem izbočenem robu tri pikčasta očesa na obeh straneh glave pa velike sestavljene oči (Smodiš Škerl, 2011).

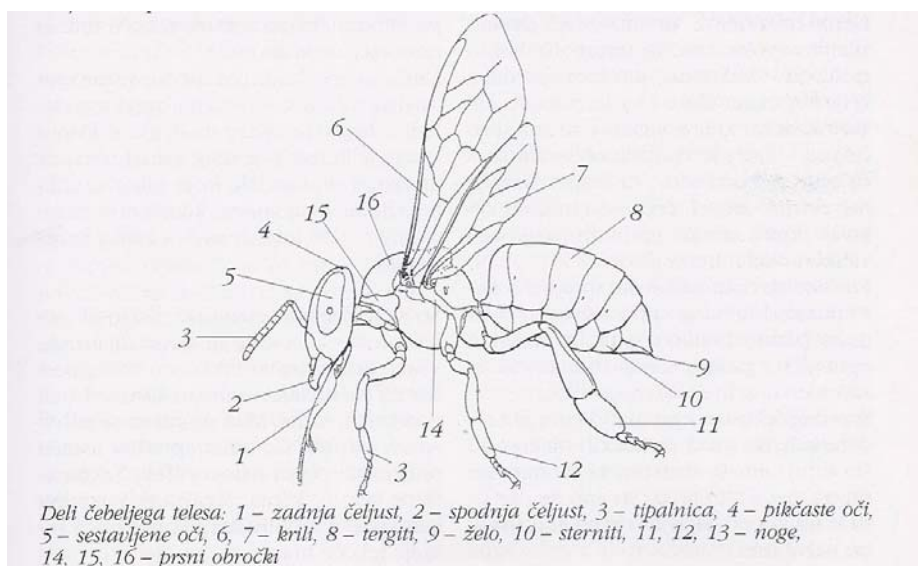
2.4.1.2 Oprsje

Čebelje oprsje sestavlja čvrst in ovalen oklep, ki se je v razvoju čebel oblikoval iz štirih segmentov: predprsjja, sredoprsja, zaprsja in priprsjja. Vsak obroček oprsja ima hrbtni okrov, prsni okrov in dva kožna dela na straneh. Iz oprsja izhaja šest nog, en par na vsak oprsni segment. Zadnja noga je prilagojena za prenašanje cvetnega prahu in propolisa.

Cvetni prah čebela zbira v posebnem delu zadnjih nog, ki se imenuje košek. Dva para kril sta na sprednjih prsnih obročih (Smodiš Škerl, 2011).

2.4.1.3 Zadek

Zadek pri čebelah sestavlja šest vidnih obročkov, trije pa so pri čebeli in matici zakrneli. Preobraženi so v želo ali so v povezavi z reprodukcijskimi organi pri matici in trotu. Vsak obroček ima hrbtni okrov in trebušni okrov, pri čemer hrbtni prekriva trebušnega, povezuje pa ju membrana, ki skupaj z mišičjem omogoča razširitev in krčenje zadka. Obročki zadka so prekriti z dlačicami. Pri mladici kranjske čebele so sive barve. Prebavila so v zadku in so z usti povezana prek daljšega požiralnika. Na prehodu iz oprsja v zadek se požiralnik razširi v raztegljiv medni želodček ali golšo. V njem se med pašnim izletom zbira medicina ali voda. Čebela v panju vsebino želodčka izbljuva v satno celico ali jo prenese panjskim čebelam. Medicina se lahko pomika skozi zaklopnico, ki je na podaljšku srednjega črevesa, v pravi želodec ali srednje črevo. To je dolga in široka cev, v trebušni votlini leži v obliki pentlje. V njem se hrana prebavi in presnovi (Smodiš Škerl, 2011).



Slika 5: Deli čebeljega telesa (Gregorc, 1998)

2.5 SUROVINE ZA MED

Čebele nabirajo na rastlinah sladke tekočine, cvetni prah, drevesne smole in vodo. Sladke tekočine in cvetni prah čebele uživajo, skladiščijo, z njimi pa tudi hranijo ličinke v panju. Drevesne smole in podoben material uporabljajo za pripravo čebelje zadelavine. To uporabljajo za zapiranje špranj in izolacijo tujkov v panju. Glavna vira sladkih tekočin sta medicina in mana. Medicino ali nektar izločajo cvetovi večine cvetnic, ki jih oprahujejo žuželke, mano pa izločajo listne ušice, kaparji in škržati. Poleg medicine in mane pa čebele nabirajo tudi druge sladke tekočine. Tako nabirajo sokove poškodovanega sadja in grozdja. Največ sadnih sokov naberejo v jesenskem času. Žal pa ti sokovi niso najboljša hrana za čebele, saj pogosto vsebujejo kvasovke, ki lahko kvarijo nepredelano hrano v satju (Božič, 2008).

Čebele v mednem mešičku prenašajo približno 50 mg nektarja ali mane. Čim bližje panju je izvor nektarja ali mane, tem več surovine lahko čebele prinesejo v panj. Če je pašni vir bolj oddaljen, čebele porabijo del surovine za energijo, ki jo potrebujejo za letenje (Meglič, 2004).

2.5.1 Nektar

Nektar ali medicina nastaja v medovnikih – nektarijih rastlin. Ti se navadno nahajajo v cvetu, lahko pa tudi zunaj cveta. Medicina privablja žuželke zaradi sladkorjev, vendar so za obisk pomembne tudi dišave, ki so v medicini in posebej izločene v cvetovih. V Sloveniji obstaja več kot 1000 vrst rastlin, na katerih čebele lahko nabirajo medicino in cvetni prah. Seveda pa gospodarsko niso pomembne vse mededeče vrste. Večina pomembnih medečih rastlin raste v večjih sestojih ali pa je njihovo medenje vsaj časovno ločeno od drugih rastlin (Božič, 2008).

Nektar je vodna raztopina sladkorjev, kislin, mineralov, vitaminov, eteričnih olj, barvnih snovi in drugega. Nastaja na osnovi procesov fotosinteze. Sestava in koncentracija snovi sta odvisna od vrste rastline, iz katere nektar izvira, temperature, svetlobe, vlage, zemlje, vetra, letnega časa, dela dneva itd. V nektarju je od 5–80 % sladkorjev. Čebele najlažje nabirajo in prinašajo nektar ali mano, če je koncentracija sladkorja okoli 50 %. Eterična olja dajejo medicini prijeten vonj in ta daje vonj tudi medu (Božnar, 2011). Gostota nektarja je 1,02 do 1,35 g/L, vsebnost pepela (tj. po sežigu) pa 0,023 do 0,45 %, pH je 2,7 do 6,4, zelo redko pa tudi v alkalnem področju med 7,2 in 9 (Božnar in Senegačnik, 1998).

2.5.2 Mana

Mana je izloček insektov (Hemiptera), ki sesajo rastlinske sokove. Poznamo več vrst insektov, ki proizvajajo mano. Pri nas večino mane dobimo na drevesih, največ na iglavcih. Mana lahko nastaja tudi na drugih rastlinah, kot so grmovnice, trave, detelja, bombaž, sončnice... Mana je pretežno raztopina, z vsebnostjo sladkorjev 5–80 %. Večina sladkorjev so saharoza in višji sladkorji. Med drugimi sestavinami pa najdemo aminokisline, beljakovine, minerale, kisline in vitamine. Nekateri insekti proizvajajo veliko sladkorja trisaharida-melecitoze, ki je zelo slabo topna v vodi. Velika vsebnost tega sladkorja povzroča kristalizacijo medu že v satju. V mani najdemo več mineralnih snovi kot v nektarju (Božnar, 2011).

2.6 VRSTE SLOVENSKEGA MEDU V NAŠI RAZISKAVI

2.6.1 Akacijev med

Za akacijev med je značilno, da je zelo svetel, skoraj brezbarvne do slamnato rumene barve. Ob uporabi deviškega satja iztočimo skoraj brezbarven med. Vsak temnejši odtenek je znak, da čebele nektarja niso nabirale samo na akaciji, ampak tudi na drugih rastlinah. Vedno je bister, le redkokdaj je nekoliko opalescenten. Ima zelo nežen vonj in šibko aromo. V okusu je mogoče zaznati sladkost, ki je srednje do močno intenzivna. Akacijev med ima značilno zelo nizko električno prevodnost, najnižjo med vsemi vrstami medu v Sloveniji. Akacijev med zelo dolgo ostaja v tekočem stanju in počasi kristalizira (Golob in sod., 2008)

2.6.2 Lipov med

Lipov med ima lahko lastnosti tako nektarnih kot maninih medov, saj je lahko proizveden iz nektarja ali mane. Lipov med je svetlo rumene do svetlo jantarne barve ali slamnate barve z zelenim odtenkom. Ni nujno vedno bister, po navadi hitro kristalizira ter tvori velike in grobe kristale. Lipov med po vonju in okusu spominja na lipovo cvetje in ima svež in nežen vonj po mentolu. Prevodnost ni omejena, lahko je nizka, od 0,5 mS/cm naprej, lahko pa tudi visoka več kot 1,0 mS/cm (Golob in sod., 2008). Lipov med nektarnega izvora kristalizira hitreje, kot med maninega izvora (Božnar, 2011).

2.6.3 Kostanjev med

Kostanjev med nabirajo čebele na pravem kostanju in je lahko nektarnega in/ali maninega izvora. Lahko je temno rjave ali jantarne barve, z rdečim odtenkom. Med je vedno bister in počasi kristalizira (Golob in sod., 2008). Kristalizacija je groba. Če vsebuje več vode, pogosto opazimo ločevanje faz – kristali se izločijo iz tekočine (Božnar, 2011). Motnost je znak navzočnosti drugih vrst nektarja ali mane. Kostanjev med se, po svojem grenkem, trpkem vonju, precej grenkem okusu in dolgotrajni obstojnosti ter izredno izraziti aromi, občutno razlikuje od drugih vrst (Golob in sod., 2008). Ponavadi je zelo izražen grenak okus, ki izvira iz velike vsebnosti cvetnega prahu (Božnar, 2011). Električna prevodnost je zelo visoka, lahko tudi več kot 2 mS/cm (Golob in sod., 2008).

2.7 SESTAVA SLOVENSKEGA MEDU

Med je visokovredno naravno živilo. Je kompleksna mešanica 300 različnih kemijskih spojin. Med njimi je 75 do 80 % sladkorjev, ki so, kot poglavitna sestavina medu, odgovorni za njegove fizikalno kemijske lastnosti tj. za viskoznost, kristalizacijo in higroskopnost. Od botaničnega izvora, encimov, sestave nektarja, podnebnih razmer, vrste, fiziološkega stanja čebel in od moči čebelje družine pa je odvisno razmerje med posameznimi sladkorji.

Večina ogljikovih hidratov je t.i. invertni sladkor, mešanica monosaharidov fruktoze in glukoze. V medu iz nektarja je vsebnost invertnega sladkorja večja kot v medu iz mane. Razmerje med fruktozo in glukozo je v veliki meri odvisno od botaničnega izvora in je značilno za posamezno vrsto medu. V medu, kjer je več fruktoze kot glukoze, ponavadi velja, da je stopnja kristalizacije manjša in med ostaja dlje časa tekoč. V slovenskem medu je vsebnost fruktoze velika predvsem pri akacijevem in kostanjevem medu. V medu so tudi oligosaharidi, med katerimi je največ trisaharidov maltotrioze in melecitoze, nekaj pa tudi panoze, erloze in rafinoze. Običajno je v medu vsebnost vode med 14–20 %. Vsebnost je odvisna od podnebnih razmer v obdobju cvetenja, intenzivnosti paše, od vrste paše ter tudi od tehnologije čebelarjenja. Vsebnost vode pa ni odvisna od botaničnega in geografskega porekla. Manjša je vsebnost vode, tem bolj je med viskozen gost in tudi obstojen, saj je v takih razmerah onemogočeno delovanje osmofilnih kvasovk, s tem pa je onemogočena tudi fermentacija. Poleg vode in sladkorjev najdemo v medu še številne druge snovi, kot so različne organske kisline (ocetna, maslena, citronska, mravljična, mlečna, jabolčna, oksalna, fumarna, jantarna, glikolna in vinska) in anorganske kisline, ki tudi prispevajo k njegovi obstojnosti, ter vplivajo na okus in aromo. V medu najdemo tudi beljakovine, proste aminokisline, encime, kot so invertaza, katalaza, glukozidaza, fosfataza in diastaza, ki je izjemno občutljiva na povišano temperaturo. Določanje diastazne aktivnosti je zato dober pokazatelj kakovosti medu oz. pokazatelj načina skladiščenja in ravnanja z medom. Pomembni v sestavi medu so tudi vitamini, med katerimi najdemo vitamine B1, B2, B6, C, pantotensko, nikotinsko in folno kislino ter biotin. Poleg tega najdemo v medu tudi barvila, hormon acetilholin, flavonoide, fenolne spojine, ter številne druge organske in anorganske spojine (Golob in sod., 2008).

Preglednica 1: Zahteve Pravilnika o medu (Pravilnik o medu, 2011)

Parameter	Tip medu	Količina
fruktoza in glukoza (vsota)	cvetlični med	najmanj 60 g/100 g
	gozdni med, mešanica gozdnega in cvetličnega medu	najmanj 45 g/100 g
saharoza	splošno	največ 5 g/100 g
	med iz akacije (<i>Robinia pseudoaccacia</i>), lucerne (<i>Medicago sativa</i>), Menzies Banksie (<i>Banksia menziesii</i>), medenice (<i>Hedysarum</i>), rdečega gumija (<i>Eucalyptus camadulensis</i>), evkrifije (<i>Eucryphia lucida</i> , <i>Eucryphia milliganii</i>), citrusov (<i>Citrus</i> spp.)	največ 10 g/100 g
	med iz sivke (<i>Lavandula</i> spp.), boreča (<i>Borago officinalis</i>)	največ 15 g/100 g
voda	splošno	največ 20 %
	med iz rese (<i>Calluna</i>) in pekovski med splošno	največ 23 %
	pekovski med iz rese (<i>Calluna</i>)	največ 25 %
vsebnost v vodi netopnih snovi	splošno	največ 0,1 g/100 g
	prešani med	največ 0,5 g/100 g
električna prevodnost	vrste medu, ki niso navedene pod spodnjima alineama, in mešanice teh vrst medu	največ 0,8 mS/cm
	gozdni med, kostanjev med in mešanica obeh vrst medu, razen tistih, ki so navedeni med izjemami	najmanj 0,8 mS/cm
	izjeme: med iz navadne jagodičnice (<i>Arbutus unedo</i>), spomladanske rese (<i>Erica</i>), evkaliptusa, lipe (<i>Tilia</i> spp.), jesenske rese (<i>Calluna vulgaris</i>), manuke (<i>leptospermum</i>), čajevca (<i>Melaleuca</i> spp.)	za izjeme ni omejitve vrednosti
proste kisline	splošno	največ 50 miliekvivalentov prostih kislin v 1000 g
	pekovski med	največ 80 miliekvivalentov prostih kislin v 1000 g
diastazno število (lestvica po Schade-ju)	splošno, razen pekovskega medu	najmanj 8
	vrste medu z majhno naravno vsebnostjo encimov (npr. medovi iz citrusov) in vsebnostjo HMF največ 15 mg/kg	najmanj 3
HMF	splošno, razen pekovskega medu	največ 40 mg/kg
	med z deklariranim poreklom iz območij s tropsko klimo in mešanice teh vrst medu	največ 80 mg/kg

2.8 ELEMENTI V MEDU

Na podlagi mineralne sestave je mogoče določiti vrsto medu, saj različne vrste medu vsebujejo zelo različno količino skupnih mineralov (Terrab in sod., 2003; Rashed in Soltan, 2004; Golob in sod., 2005; Madeyczk in Baralkiewicz, 2008; Nečemer in sod., 2009), na splošno pa velja, da je v svetlih medovih vsebnost mineralov manjša kot v temnih (Kropf, 2009).

V medu je pester spekter elementov, vendar pa je njihova vsebnost relativno majhna. V akacijevem, lipovem in kostanjevem medu je od makroelementov v medu prisoten le kalij, in sicer v razponu med 17 mg/100 g do več kot 500 mg/100 g. Med mikroelementi, ki nastopajo v količinah nad 1 mg/kg, so v medu: Al, B, Br, Ca, Cl, Fe, Mg, Mn, Na, P, Rb, S, Sr in Zn, med elementi v sledovih pa najdemo v medu: Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mo, Ni, Se in Pb (Kropf, 2009).

Preglednica 2: Povprečna vsebnost elementov (mg/100 g) v različnih vrstah slovenskega medu (Kropf, 2009)

Elementi (mg/100 g)		Vrsta medu		
		akacijev	lipov	kostanjev
makroelementi	K	17□78	47□256	68□552
mikroelementi	Al	0,005□0,14	/	0,18□0,79
	Ba	/	/	0,001□0,09
	Ca	0,289□10,8	2,0□12,6	6,64□27,0
	Cl	2,4□24,5	11,0□70,0	13,0□49,9
	Fe	0,013□1,0	-1,36	0,066□0,8
	Mg	0,143□10,9	/	4,74□11,1
	Mn	0,006□1,03	0,13□0,78	0,29□6,6
	Na	0,29□0,4	0,29□0,43	0,71□11,7
	P	3,21□39,8		6,6□14,3
	Rb	0,020□0,25	0,12□1,22	0,39□3,50
	S	0,16□6,8	2,53□9,64	1,05□44,0
	Sr	/	/	0,030□0,038
	Zn	0,004□0,596	0,028□0,15	0,045□0,99
elementi v sledovih	Ag	0,008□0,216	/	/
	As	-0,0013	/	-0,010
	Br	0,0018□0,118	0,037□0,17	0,024□0,107
	Cd	0,00008□0,00023	/	-0,002
	Co	-0,025	0,0001	0,00031□0,00203
	Cr	0,00018□0,052	-0,00084	/
	Cu	0,003□0,230	/	0,053□0,079
	Mo	0,007□0,081	/	/
	Pb	/	/	0,011□0,033

2.9 DOLOČANJE ELEMENTNE SESTAVE MEDU

Določiti elementno sestavo medu je zahtevno, saj je vsebnost elementov v medu zelo majhna. Le vsebnost kalija je višja od 1 mg/kg medu. Vsi ostali elementi pa se uvrščajo v skupino mikroelementov. Ker je vsebnost elementov tako majhna, je potrebno običajno vzorec pedhodno koncentrirati, ob tem pa lahko pride do kontaminacije vzorca. Ker je večina metod destruktivnih, lahko pride do napak tudi pri različnih razkrojih vzorcev. Zato so za analiziranje elementne sestave medu boljše nedestruktivne metode. Pri nedestruktivnih metodah pa so zaradi različnih principov potrebne zelo različne količine vzorcev, od nekaj μg do nekaj gramov (Kropf, 2009).

Težava pri določanju elementne sestave medu nastopi tudi pri preverjanju pravilnosti rezultatov. Ustreznega certificiranega referenčnega materiala za vsebnost mikroelementov in elementov v sledovih v medu namreč nimamo (Caroli in sod., 2000; Forte in sod., 2001), zato ni mogoče preveriti pravilnosti analitskih rezultatov.

Problem pri določanju elementne sestave medu je tudi velika možnost kontaminacije medu z mikroelementi in elementi v sledovih med samim procesom pridobivanja. Pri točenju medu pride le-ta velikokrat v stik z čebelarskim orodjem, kot so čebelarske vilice, noži in pa čebelarski pripomočki, kot so točilo, cedila in sodi za shranjevanje medu (Kropf, 2009).

Za določanje posameznih kemijskih elementov v medu se lahko uporabljajo različne spektrometrijske in elektrokemijske metode ter ionska kromatografija, ki so jo uporabili Buldini in sod. (2001). V zadnjem času pa se največ uporabljajo sodobne spektrometrične metode, med njimi tudi rentgenska fluorescenčna spektrometrija (Kropf, 2009).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 VZORCI

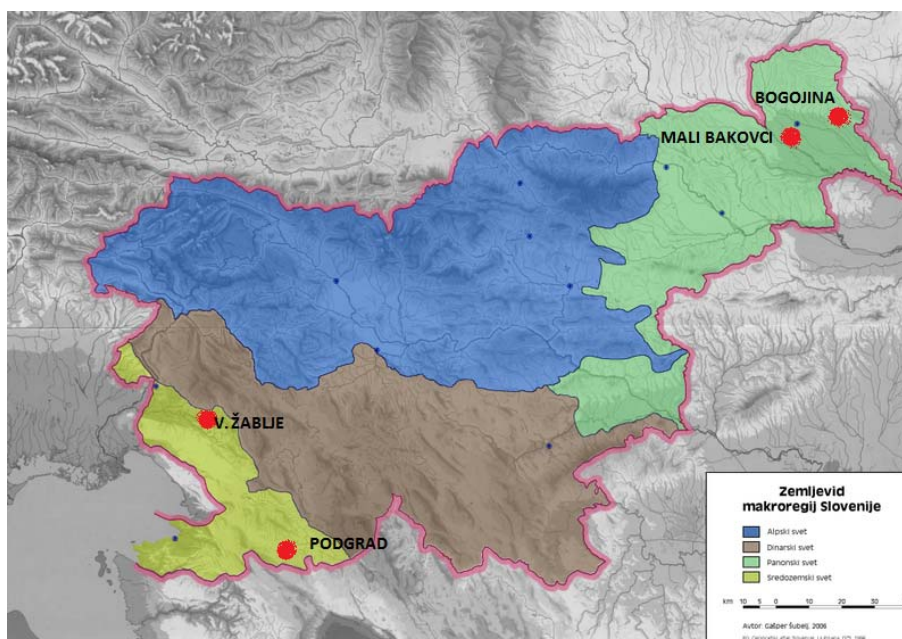
Vzorčenje je obsegalo vzorce zemlje, listja in cvetja izbrane drevesne vrste ter vzorce nektarja, cvetnega prahu in medu, ki so ga čebele nabrale na izbrani drevesni vrsti. Vzorčenje je potekalo leta 2009 in 2010.

Leta 2009 smo vzorčili na treh lokacijah v času lipove paše in na dveh lokacijah v času kostanjeve paše. Leta 2010 pa na štirih lokacijah v času akacijeve paše in na petih lokacijah kostanjeve paše.

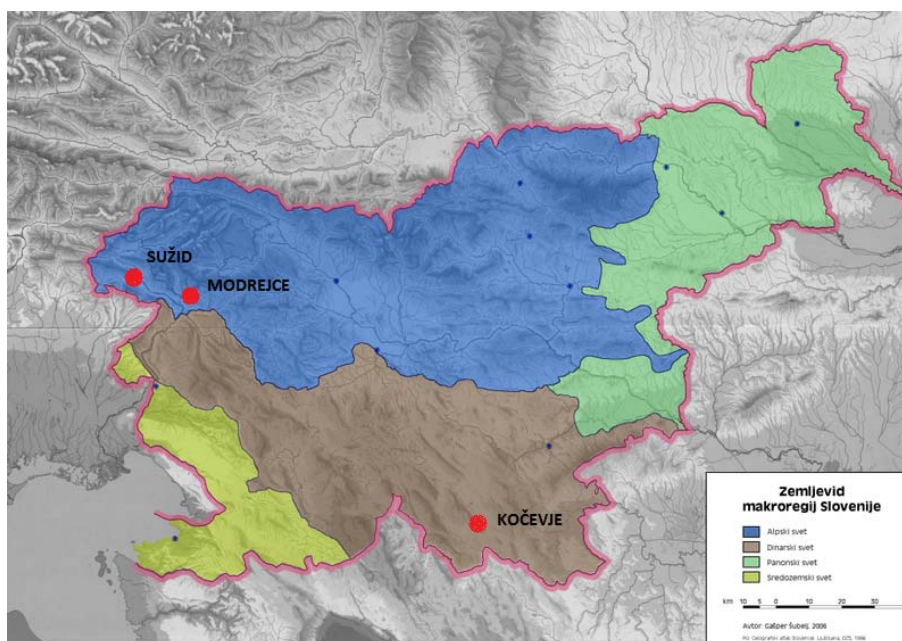
3.1.1 Izbira lokacije vzorčenja

Po izbiri drevesne vrste, ki smo jo želeli vzorčiti, smo izbrali lokacije, ki so v Sloveniji najprimernejše. To pomeni, da je na lokaciji zelo velika poraščenost s to drevesno vrsto, obenem pa so donosi medu izbrane vrste dobri, dokaj stalni in čisti v smislu sortnosti medu. Na vsaki izmed lokacij vzorčenja smo poiskali primerne čebelarja in se z njim dogovorili za sodelovanje.

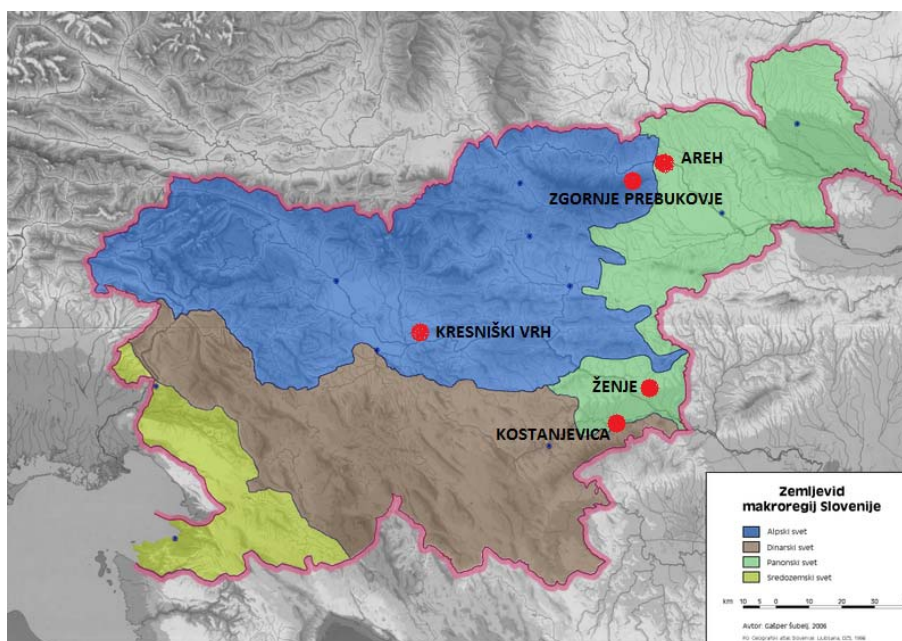
Ko so bile lokacije izbrane, smo počakali na najugodnejši čas medenja. Ko so bili donosi medu dovolj veliki in smo ugotovili, da so ti donosi medu iz naše drevesne vrste, smo pričeli z vzorčenjem. Kar nekaj lokacij za vzorčenje je zaradi slabega vremena odpadlo, saj ob neugodnem vremenu in nezadostnem medenju ni bilo smiselno vzorčiti. Tako smo od vseh predvidenih lokacij dejansko vzorčili prvo leto le na 5 lokacijah, drugo leto pa na 9 mestih.



Slika 6: Prikaz lokacij vzorčenja akacije na zemljevidu makroregij Slovenije (Perko, 1998)



Slika 7: Prikaz lokacij vzorčenja lipe na zemljevidu makroregij Slovenije (Perko, 1998)



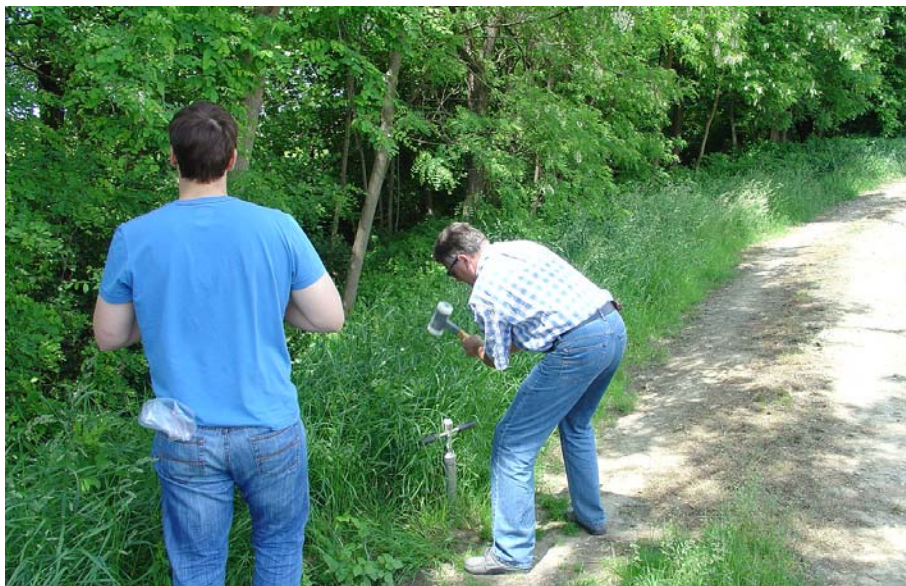
Slika 8: Prikaz lokacij vzorčenja kostanja na zemljevidu makroregij Slovenije (Perko, 1998)



Slika 9: Gozd cvetočih akacij v času vzorčenja

3.1.2 Vzorčenje zemlje, listja, cvetja

Zemljo, listje in cvetje smo vzorčili na lokacijah, kjer so čebele tisti dan nabirale nektar. Zemljo smo vzorčili s »posebno sondo«, ki je omogočila vzorčenje do globine 30cm. Vzorčenje zemlje je potekalo v bližnji okolici dreves, na katerih so tisti dan čebele nabirale nektar. Pridobljene vzorce smo vsakega posebej shranili v plastične vrečke, jih dobro zaprli in označili.

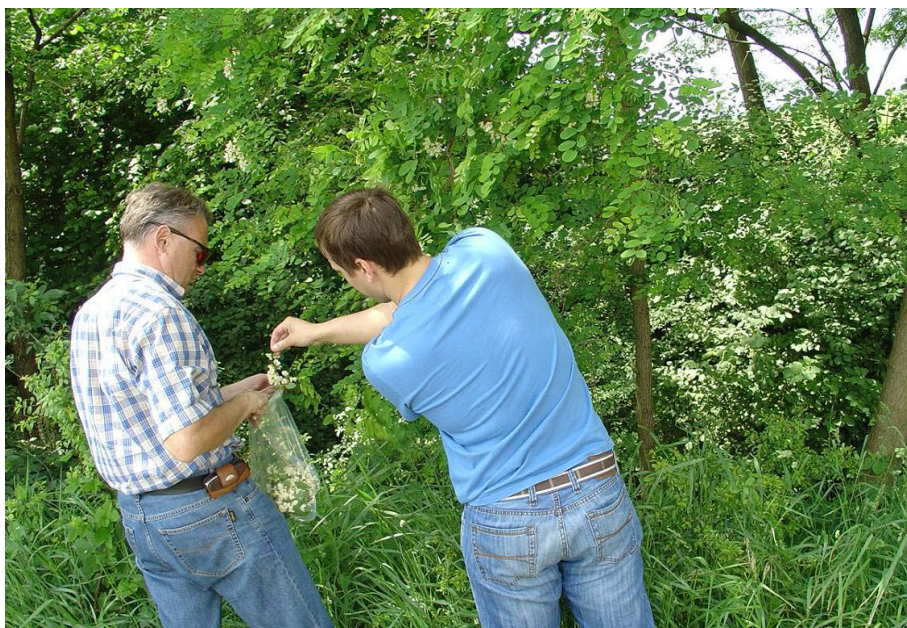


Slika 10: Vzorčenje zemlje



Slika 11: Sonda za vzorčenje zemlje

Listje in cvetje smo vzorčili na drevesu na katerem so tisti dan čebele nabirale nektar. Vzorčili smo samo zdrave liste dreves in cvetove, ki so bili v polnem cvetu ter brez vidnih bolezenskih sprememb. Vse vzorce smo vsakega posebej shranili v plastične vrečke, jih dobro zaprli in označili.



Slika 12: Vzorčenje cvetja akacije

3.1.3 Vzorčenje nektarja

Na vsaki izbrani lokaciji smo se za sodelovanje dogovorili s čebelarjem, ki ima večje število panjev. Po daljšem opazovanju vseh panjev smo izbrali močno čebeljo družino. Tej družini smo, pred pričetkom medenja, v medišče vstavili popolnoma prazne deviške sate. Tako smo zagotovili, da ni možnosti, da bo v iztočenem medu iz tega satja primešan med, ki je bil nabran pred vzorčenjem. Izbrani čebelar je nato opazoval medenje nekaj dni in nam sporočil, kdaj je postala paša intenzivna. Intenzivnost paš smo spremljali tudi s tehniko, ki kaže povečanje teže panja in sporoča dnevni donos medu v panj. Na vsaki posamezni lokaciji smo nato določili še uro dneva, ko je bilo medenje najbolj izdatno. Nektar in cvetni prah smo najprej ocenili senzorično, da smo si zagotovili čimbolj sortne vzorce nektarja izbrane drevesne vrste. Prav na osnovi teh ocen in na oceni količine nektarja smo izbirali kraje vzorčenja oz. nekatere ocenili kot neprimerne.

Za vzorčenje nektarja, ki ga čebele prinašajo v panj, v literaturi nismo zasledili primerne metode. Zato smo jo razvili sami. Ker čebele prinašajo nektar s paše v mednem želodčku, smo morali vzorce dobiti iz njega. Podatki iz literature govorijo o zelo različnih količinah medicine, ki jo čebele prinašajo. Zato smo izbrali intenzivno medenje in del dneva, ko je bilo to najobilnejše.

Na žrelu panja smo izbrali čebele, ki so priletele v panj in so v mednem mešičku prenašale veliko nektarja. Vsako primerno čebelo smo na žrelu panja, ko je priletela s paše, z rokami ujeli. Ujeto čebelo smo z prsti nežno stisnili in čebela je iz mednega želodčka izbljuvala vsebino nektarja, ki jo je prinašala v panj. Nektar smo ujeli v mikroepreveto in ga zaprtega in označenega shranili.



Slika 13: Lovljenje čebel na bradi panja

Metode jemanja vzorcev nikakor ni bila enostavna. Kljub pazljivemu delu s čebelami, smo bili deležni številnih pikov. Z nekaj vaje pri iztiskanju nektarja smo metodo izpopolnili in je delo postalo hitrejše. Kljub temu smo za pridobitev vsakega vzorca potrebovali več ur. Pri delu smo morali biti zbrani in tudi več čebeljih pikov v en prst smo morali mirno prestati, saj bi z najmanjšo nepazljivostjo lahko izgubili vzorec in s tem izničili naše večurno delo. Za en vzorec smo morali iztisniti tudi več kot 100 čebel. Po iztiskanju nektarja smo čebele izpustili. Čebele so nepoškodovane odletele in se vrnile na svoje delo.



Slika 14: Iztiskanje nektarja iz živih čebel

3.1.4 Vzorčenje cvetnega prahu

Čebele pri letanju s cveta na cvet nabirajo tudi cvetni prah. S tem početjem oprahujejo rastline, nabran cvetni prah pa predstavlja za čebele bogato, nujno potrebno hrano. Cvetni prah nosijo čebele na zato posebej oblikovanih zadnjih nogah.

Vzorke cvetnega prahu smo pridobili tako, da smo na žrelu panja, iz katerega smo pridobivali nektar, lovili tudi čebele, ki so v panj prinašale cvetni prah. Čebelo smo pri vходу v panj z roko ujeli ter ji z zadnjih nog odstranili kepici, ter jih shranili v mikroepruveto. Z zadnjih nog vsake ujete čebele smo pridobili dve majhni kepici, cvetnega prahu. Na vsaki lokaciji smo pridobili po nekaj gramov cvetnega prahu. Čebele tudi po odstranitvi cvetnega prahu niso bile poškodovane in so se po izpustitvi vrnile na pašo.



Slika 15: Čebeli, ki nosita cvetni prah v panj

3.1.5 Vzorčenje medu

Ko je določena drevesna vrsta na lokaciji začela mediti, smo v izbrani panj, v medišče, vstavili deviško satje. V to satje čebelja matica še nikoli ni zaleгла jajčec in je bilo uporabljeno in zgrajeno izključno v medišču. Satje je bilo popolnoma prazno in tako so čebele ob začetku medenja v celice satja začele prinašati nektar izbrane drevesne vrste. Ko se je paša končala, so čebele satje z medom pokrile z voščnimi pokrovc in takoj po pokritju medu, smo satje vzeli iz panja. To satje smo odkrili in ločeno od drugega medu iztočili in natočili v kozarec. Med, ki ga nismo potrebovali, je uporabil čebelar, ki je posodil čebeljo družino za našo raziskavo. Vzorke medu smo natočili v steklene kozarce, jih zaprli, označili in shranili na sobni temperaturi.

3.3 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE

3.3.1 Rentgenska fluorescenčna spektrometrija (XRF) (Nečemer in sod., 2008; Nečemer in sod., 2011)

Princip:

Koncentracije elementov v vzorcih smo določili s pomočjo rentgenske fluorescenčne spektrometrije (XRF) (Kump in sod., 1996), pri čemer smo kot vir vzbujaanja uporabili izotop Fe-55 in Cd-109. Gre za nedestruktivno metodo, kjer ni potrebna predhodna kemična obdelava vzorcev (razklop v kislini pri visoki temperaturi).

Fizikalni proces rentgenske fluorescence je osnova analiznih tehnik rentgenske fluorescenčne spektrometrije. Predpogoj za rentgensko fluorescenco je vzbujaanje (ionizacija) atomov – predvsem v močno vezanih stanjih lupin K in L (za elemente $20 < Z < 50$) in L ($Z > 50$) – z energijo, ki mora presežati vezavne energije K ali L elektronov (Markowicz, 1993).

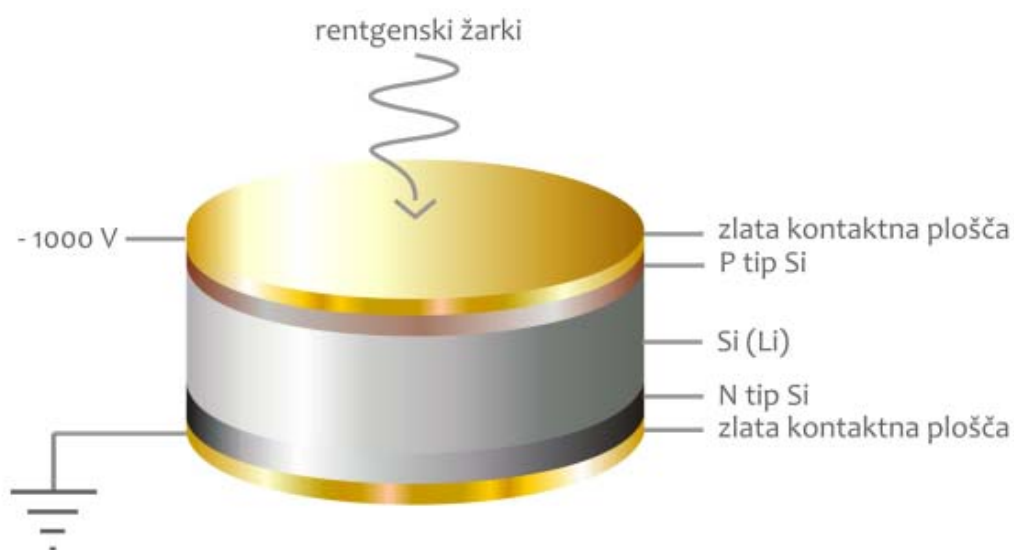
Vzbujaanje atomov vodi v nestabilnost atoma z viškom energije, ker mu na eni lupini manjka elektron. Vrzel v elektronski lupini se lahko v procesu relaksacije zapolni z elektronom iz manj vezanega stanja. Razlika v energiji pri prehodu elektrona med tema stanjema se lahko izseva kot foton rentgenske svetlobe oziroma rentgensko fluorescenčni foton ali pa porabi za izbitje v atomu manj vezanega elektrona (Auger-jev elektron), ki predstavlja nesevalni konkurenčen proces relaksacije. Ker ima vsak element različne vezavne energije za posamezna stanja elektronov v lupinah (K, L, M), se pri procesu rentgenske fluorescence izsevajo za vsak element karakteristični rentgenski žarki, na podlagi katerih lahko ločimo posamezne elemente med seboj (Markowicz, 1993).

Relativno verjetnost za sevalni prehod z rentgensko fluorescenco pri atomih v vzbujenem stanju v določeni lupini oziroma podlupini imenujemo fluorescenčni pridelek (npr. ω_K oz. ω_L), ki je manjši pri lažjih atomih (npr. $Al\omega_K = 0,036$; $Ag\omega_K = 0,83$) in pri L lupini ($Ag\omega_{L3} = 0,05$). Vrednost fluorescenčnega pridelka pomembno vpliva na občutljivost pri rentgenski fluorescenčni analizi (Markowicz, 1993).

Za analizo elementov v vzorcih je potrebno meriti spekter fluorescenčne rentgenske svetlobe, ki smo jo vzbudili v vzorcu. Za to uporabljamo rentgenske spektrometre, ki merijo energijo in število rentgenskih žarkov, torej energijsko porazdelitev fluorescenčne rentgenske svetlobe. Osnovni del rentgenskega spektrometra je detektor, ki mora biti sposoben ločiti po energiji karakteristične rentgenske žarke sosednjih elementov v periodnem sistemu (Jaklevic in Giaque, 1993).

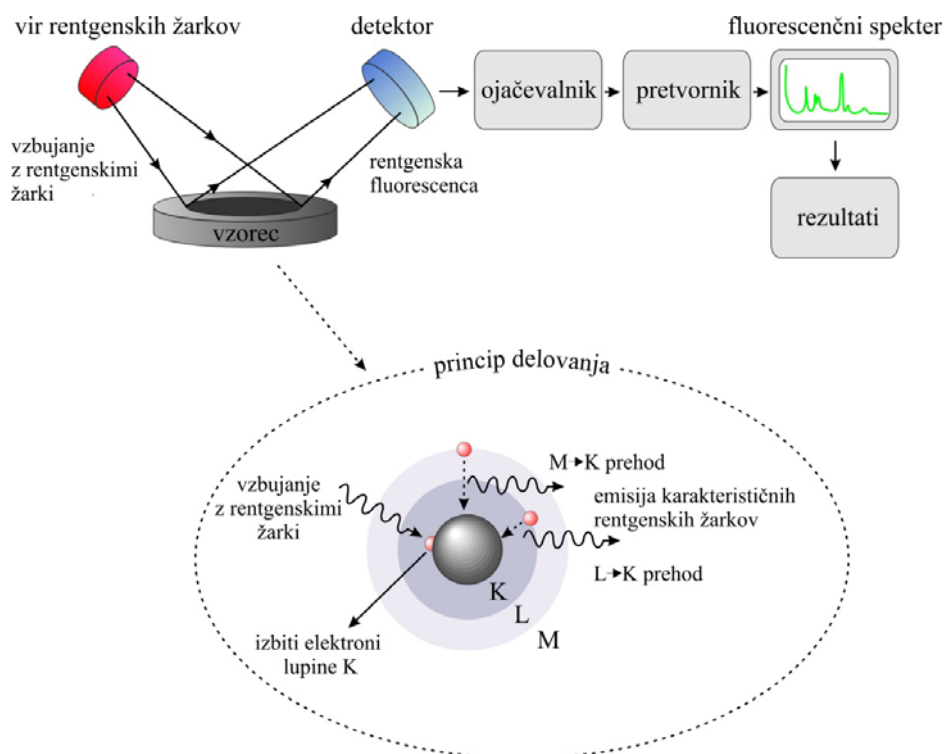
Energijsko disperzijski detektorji (EDD), ki se uporabljajo v rentgenski spektrometriji, so npr. polprevodniški Si(Li) detektorji (Slika 16). Osnova detekcije rentgenskega sevanja v EDD je absorpcija energije rentgenskega sevanja v občutljivem volumnu detektorja, ki je s tekočim dušikom hlajena trdna snov (Si ali Ge) (Jaklevic in Giaque, 1993; Kump, 2005). Občutljivi volumen EDD se nahaja v električnem polju, ki ga vzdržujemo z določeno napetostjo med elektrodami detektorja. V občutljivem volumnu ni nosilcev naboja, dokler ne pride do ionizacije snovi zaradi absorpcije rentgenskih žarkov, pri čemer nastanejo pari

pozitivnih in negativnih nosilcev naboja, ki se v električnem polju pospešijo proti elektrodam. Oblak naboja, ki nastane pri absorpciji fotona, se zbere na elektrodah, s posebnim elektronskim vezjem pa se spremeni v napetostni sunek, ki je sorazmeren absorbirani energiji fotona v občutljivem volumnu. Število teh sunkov je sorazmerno številu rentgenskih žarkov, ki so se tam absorbirali. S posebnim elektronskim vezjem (večkanalni analizator VKA ali MCA) lahko s pomočjo spektroskopskega ojačevalca okrepljene električne sunke iz detektorja sortiramo po višini in jih kot spekter shranimo v spomin računalnika (Jaklevic in Giaume, 1993; Kump, 2005).



Slika 16: Detektor (Kump, 2005)

Metode rentgenske fluorescenčne spektrometrije niso primerne za analizo elementov z nizkim atomskim številom, kot so na primer C, O, F, pa tudi Na, Mg, Al, in Si. Poleg nizkih vrednosti fluorescenčnega pridelka za te elemente vpliva na slabo občutljivost tudi dokaj močna absorpcija fluorescenčnih žarkov teh elementov v okencih energijsko disperzijskih detektorjev (pri energijah $\leq 1\text{-}2\text{ keV}$) in v zraku med detektorjem in vzorcem (Jaklevic in Giaume, 1993; Kump, 2005).



Slika 17: Princip delovanja rentgenske fluorescenčne spektrometrije (prirejeno po: Theory, X-ray..., 2006)

Pribor:

- mehanični mlin,
- model za stiskanje tablet,
- hidravlična stiskalnica,
- plastične posodice.

Priprava vzorca za analizo:

Vse vzorce rastlinskega materiala in zemlje smo po vzorčenju posušili v sušilniku pri 60 °C. Nato smo jih v mehničnem mlinu (Fritsch, Idar-Oberstein, Nemčija) z volfram/karbidnim terilcem najprej zmleli v droben prah. Homogenost vzorca ima vpliv na točnost analize, zato je kvalitetna priprava in homogenizacija vzorca zelo pomembna.

Natehtali smo 0,5-2 g uprašenega vzorca in z modelom za tablete in hidravlično stiskalnico stisnili tabletke s površino 4,9 cm² ter jih stehali. Izdelane tablete smo shranili v čistih plastičnih posodih.

Izvedba analize in aparatura:

Za vzbujanje vzorcev smo uporabili disk radioaktivne vire Fe-55 (25 mCi) in Cd-109 (10 mCi) (Eckert & Ziegler.). Spektrometer je bil opremljen z vakuumsko komoro v primeru meritve z Fe-55. Vzbujeno fluorescenčno sevanje smo izmerili z energijsko disperzijskim rentgenskim spektrometrom, ki je bil sestavljen iz Si (Li) polprevodniškega detektorja (Canberra), spektroskopskega ojačevalca (Canberra, M 2024), analogno digitalnega pretvornika (Canberra, M 8075), večkanalnega analizatorja -MCA (Canberra, S100).

Energijska ločljivost spektrometra je 175 eV pri 5,9 keV (Nečemer in sod., 2008). Meritev spektra posameznega vzorca z Fe-55 in Cd-109 smo merili med 1500 – 5000 s.

Izračun rezultatov:

Za izračun rezultatov smo uporabili računalniški program Quantitative Analysis of Environmental Samples (QAES), ki so ga razvili na Institutu Jožef Stefan. Pri standardni rentgenski fluorescenci je potrebno za določitev koncentracij v vzorcu določiti celotno matriko. To smo storili tako, da smo izmerili absorpcijo rentgenskih žarkov v vzorcu in določili površinsko maso tabletke (ρ_d [g/cm²]). Absorpcijo določimo tako, da nad vzorec namestimo kovinsko tarčo (Cu, Mo) ter izmerimo intenziteto karakterističnih rentgenskih žarkov kovine, ki preko vzorca pridejo na detektor. S pomočjo računalniškega programa (AXIL-QAES, Kump 2003) določimo absorpcijo v celotni matriki vzorca, iterativno pa tudi koncentracije merjenih elementov in tudi tisti del matrike, ki se ne odziva v fluorescenčnem spektru, vpliva pa zaradi absorpcije na jakosti merjenih fluorescenčnih žarkov (celuloza, oksidi, itd.).

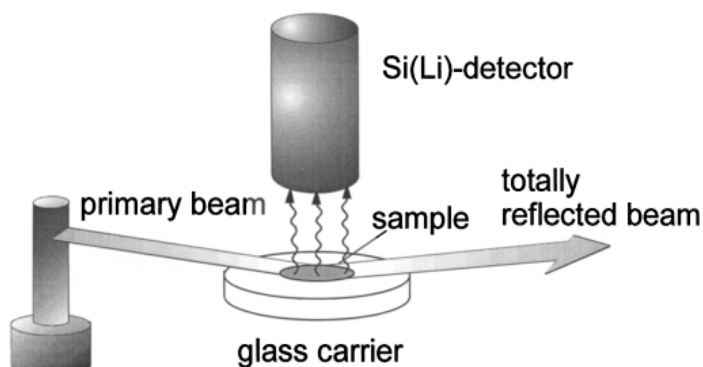


Slika 18: Hidravlična stiskalnica in pribor za izdelavo tabletk

3.3.2 Rentgenska fluorescenčna spektrometrija s totalnim odbojem (TXRF) (Nečemer in sod., 2008; Nečemer in sod., 2011)

Princip:

Rentgensko fluorescenčna spektroskopija s popolnim odbojem (TXRF) je izredno občutljiva tehnika za analizo elementov sledih v majhnih vzorcih, ki se nanesejo na gladko ravno podlago iz primerne snovi. Tej podlagi rečemo reflektor. Rentgenski curek je močno fokusiran in pada na optično gladko podlago pod kotom v območju kritičnega kota za popolni odboj. Velikost kritičnega kota za popolni odboj je izredno majhna (manj kot $0,1^\circ$), kar pri večini snovi pomeni, da je vpadni rentgenski curek skoraj vzporeden s površino reflektorja. Če vpadni kot preseže kritičnega, pogoj totalnega odboja ni več izpolnjen. Reflektivnost naenkrat pade in rentgenski žarki začno prodirati v snov (Kump, 1994). Popolni odboj pomeni, da se žarek odbije z intenziteto skoraj 100 %, za razliko od navadne rentgensko fluorescenčne spektroskopije (XRF), kjer je odboj manjši od 0,1 % (Klockenkämper in Bohlem, 2001).



Slika 19: Shematski prikaz principa delovanja TXRF metode (Klockenkämper in Bohlem, 2001)

TXRF se uporablja za rutinsko analizo elementov v različnih vzorcih iz okolja. Pri tankoplastnih in večplastnih strukturah, ki so enakomerno nanešene na podlago, pride do interference med lomljenimi vhodnimi in odbitimi žarki na mejah zaporednih plasti in na reflektorju. Ta pojav omogoča selektivne meritve elementov, ki te plasti sestavljajo (Kump, 1994).

Aparatura:

Eksperimentalni sistem na IJS je sestavljen iz rentgenske cevi (AEG, Nemčija), kot izvora rentgenskega sevanja, totalno-refleksijskega modula, ki omogoča pravilno oblikovanje žarkovne linije rentgenskih žarkov, in rentgenskega spektrometra s Si (Li) detektorjem (Princeton Gamma Tech Co, ZDA, FWHM). Za napajanje rentgenske cevi se uporablja generator Philips PW-1010/80 z močjo 1000 W, možnostjo nastavitve napetosti med 10 in 54 kV in toka 6-36 mA. Za vzbujanje vzorca uporabljajo Mo difrakcijsko rentgensko cev (Rich. Seifert & Co.) s finim fokusom $0,4 \times 8 \text{ mm}^2$, ki se napajata z napetostjo 40 kV (Nečemer, 1995). Visoko ločljivostni rentgenski spektrometer s polprevodniškim Si (Li) detektorjem sestavljajo še visokonapetostni izvir, ojačevalnik, analogno-digitalni pretvornik (ADC) in večkratni analizator. Vse enote so združene v integriranem signalnem procesorju M 1520 in MCA računalniški kartici S100 (Canberra, ZDA) (Kump, 1994).

Pribor:

- avtomatske pipete,
- nosilna kvarčna stekla,
- infrardeča lučka.

Reagenti:

- Ga (vodna raztopina 1 mg Ga/L) (CertiPUR[®], Gallium ICP Standard) (Merck, Nemčija),
- HNO₃ (Merck, Nemčija).

Delovni pogoji:

Meritev vzorca traja 5 min pri napetosti 40 kV in toku 30 mA na rentgenski cevi z Mo anodo.

Priprava vzorca za analizo:

Vzorec: Odtehtali smo med 0,3 in 0,7 g vzorca medu v 30 mL plastične centrifugirke (Sarstedt), dodali 10 µl Ga standarda kot interni standard in razredčili z dvakrat destilirano vodo na 10 ml. Centrifugirko smo stresali, da se je med raztopil in nato raztopino homogenizirali 1 uro v ultrazvočni kopeli. 10 µL tako pripravljene raztopine vzorca smo odpipetirali na nosilno kvarčno steklo in pustili čez noč v eksikatorju, da se je vzorec posušil. Da bi se izognili kontaminaciji, smo vzorce do analize hranili v eksikatorju. Nato smo izmerili rentgensko fluorescenčni spekter prisotnih elementov v sušini vzorca z metodo TXRF.

Slepi vzorec: Izmerili smo tudi spekter kvarčnega stekla brez vzorca. S tem smo določili slepe vrednosti prisotnih nečistoč elementov v substratu.

Izvedba analize:

Sušino vzorca medu z dodanim internim standardom smo vstavili v spektrometer in izmerili fluorescenčni spekter. Vsak vzorec smo analizirali v dveh paralelkah.

Izračun rezultatov:

Za izračun koncentracij prisotnih elementov v vzorcu smo uporabili računalniški program Quantitative Analysis of Environmental Samples (QAES), ki so ga razvili na Institutu Jožef Stefan. Program kvantitativno ovrednoti vsebnost elementov s primerjavo površin vrhov posameznih elementov v vzorcu in internega standarda. Na osnovi znane koncentracije internega standarda in glede na odtehte vzorca smo izračunali koncentracije ostalih izmerjenih elementov v vzorcu.

Posamezne elemente v vzorcu smo identificirali glede na energijo karakterističnega sevanja (kvalitativna analiza), na podlagi intenzitete emitiranega sevanja pa smo določili ustrezno vsebnost elementa v vzorcu (kvantitativna analiza).

3.3.3 Določanje vsebnosti vode v medu (Bogdanov, 2009)

Princip:

Princip metode temelji na refraktometrijskem določanju odstotka vode.

Pribor:

- steklena čaša,
- steklena palčka,
- refraktometer.

Priprava vzorca:

Če je med tekoč, ga pred začetkom analize premešamo s palčko ali pretresemo. Če je med granuliran, damo zaprto posodo z vzorcem v vodno kopel in 30 min segrevamo pri $T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, če je treba tudi pri $65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Med segrevanjem ga premešamo s palčko ali krožno pretresemo, nato pa ohladimo.

Izvedba:

Tanko plast medu s plastično žličko naneseemo na merilno prizmo ročnega refraktometra. V medu ne sme biti zračnih mehurčkov, merilna prizma pa mora biti popolnoma pokrita. Poklopec merilne prizme nežno zapremo, med pa mora pokriti vso površino prizme. Refraktometer je umerjen na $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Refraktometer usmerimo proti svetlobi in pogledamo skozi okular. Merjeno vrednost odčitamo v točki, kjer mejna črta seka skalo. Korekcijsko vrednost odčitamo na korekcijski skali, na spodnji strani refraktometra. Odčitano korekcijsko vrednost prištejemo ali odštejemo od izmerjene vrednosti. Ko opravimo meritve, odstranimo med s prizme z destilirano vodo in prizmo obrišemo do suhega.

Rezultat:

Odčitamo % vode s skale refraktometra ob upoštevanju korekcijske vrednosti.

3.3.4 Merjenje električne prevodnosti medu (Kropf in sod., 2008)

Princip:

Merjenje električne prevodnosti raztopine medu s konduktometrom.

Pribor:

- steklena palčka,
- mala plastična žlička,
- plastična čaša (50 ml),
- pipeta,
- konduktometer, Cyberscan 510.

Reagenti:

- destilirana voda

Izvedba:

Medu določimo vsebnost vode in preračunamo kakšna mora biti odtehta medu. Končna raztopina (50 g) mora vsebovati 20 ut. % suhe snovi. Določeno količino medu odtehtamo v plastično čašo in dolijemo destilirano vodo do 50 g ter med raztopimo. V raztopino potopimo predhodno umerjen konduktometer in odčitamo prevodnost raztopine. Pred merjenjem speremo konduktometer z destilirano vodo ter posušimo s papirnato brisačko. Aparat potopimo približno 4 cm globoko v raztopino medu in preverimo da na elektrodah ni zračnih mehurčkov. Elektrodo pomočimo v raztopino, tako da se ne dotika dna in počakamo, da se na zaslonu pokaže izmerjena vrednost. Izmerjeno vrednost delimo s tisoč. Rezultat je »električna prevodnost vzorca medu«. Enota je mS/cm (miliSiemens na centimeter), oznaka za specifično električno prevodnost pa χ .

3.4 STATISTIČNA ANALIZA

Vse podatke meritev, ki smo jih pridobili iz naših vzorcev smo zbrali in uredili v programu Microsoft Excel 2003. Te urejene podatke smo nato statistično obdelali v programu statistiXL. Zaradi zelo majhnega števila vzorcev smo lahko uporabili le malo statističnih metod.

Dve spremenljivki sta lahko v relaciji odvisnosti ali pa povezanosti. Pod pojmom odvisnost razumemo relacijo, kjer vrednosti ene spremenljivke vplivajo na vrednost druge spremenljivke. Pod pojmom povezanost oziroma soodvisnost, pa razumemo relacijo, ko se vrednosti obeh spremenljivk spreminjajo hkrati. Namen računanja povezanosti je izračunati mero, ki vrednoti jakost povezanosti dveh spremenljivk. Ena izmed mer povezanosti je korelacija, kamor spada tudi Pearsonov koeficient korelacije (r). Ker smo želeli izračunati medsebojno povezanost spremenljivk, smo izbrali koeficient korelacije po Pearsonu (r), ki je merilo za stopnjo povezanosti med dvema spremenljivkama in pove kako velika je korelacija. Vrednost koeficienta korelacije je definirana na intervalu od -1 do 1, kjer -1 pomeni popolno negativno linearno povezanost, 0 pomeni, da linearne povezanosti med spremenljivkami ni, 1 pa pomeni popolno in pozitivno linearno povezanost. Pearsonov korelacijski koeficient se uporablja, kadar so spremenljivke normalno porazdeljene. Koeficient determinacije (r^2) je kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (r) in je tako definiran na območju od 0 do 1, kjer vrednosti pod 0,5 pomenijo, da je povezava šibka, vrednosti med 0,5 in 0,8 pomenijo srednje močno povezavo, vrednosti nad 0,8 pa zelo močno povezavo (Košmelj, 2007).

4 REZULTATI

Praktični del raziskave je vključeval vzorčenje ter analizo vsebnosti elementov različnih delov rastlin ter nektarja in medu. Izbrali smo tri drevesne vrste, ki so znane kot bogat vir nektarja, to so lipa (*Tilia* spp.), pravi kostanj (*Castanea sativa*) in akacija (*Robinia pseudoacacia*). Vzorčenje posamezne rastlinske vrste je potekalo na različnih lokacijah, tistih na katerih je možno pridobiti čisti nektar in med te drevesne vrste. Vzorčili smo zemljo, listje, cvetje, cvetni prah, nektar in med. Število vzorcev je bilo odvisno od razširjenosti drevesne vrste v Sloveniji, predvsem pa od vremenskih razmer v času medenja. Vzorčili smo lahko le na lokacijah, kjer je bilo vreme primerno in medenje dovolj intenzivno.

Leta 2009 smo pridobili vzorce iz treh lokacij medenja lipe. Te lokacije so Modrejce, Sužid in Kočevje. Več krajev za vzorčenje v tem letu nismo mogli pridobiti, saj vremenske razmere niso dopuščale, da bi pridobili dovolj čiste vzorce lipovega nektarja in medu.

Leta 2009 smo se odločili tudi za vzorčenje kostanja, vendar smo zaradi slabega medenja kostanja leta 2009 pridobili le vzorce iz dveh lokacij v krajih Kostanjevica in Ženje. Vzorce iz krajev, kjer medi kostanj, smo se odločili pridobiti tudi leta 2010. To leto smo pridobili vzorce iz krajev Kresniški vrh, Kostanjevica, Ženje, Zgornje Prebukovje in Areh. Leta 2010 smo vzorčili tudi na krajih kjer intenzivno medi akacija in vzorčili na štirih lokacijah v krajih Velike Žablje, Mali Bakovci, Bogojina in Podgrad.

4.1 VSEBNOST ELEMENTOV V ZEMLJI, LISTJU, CVETJU IN CVETNEM PRAHU DOLOČENIH Z METODO XRF

V zemlji in rastlinskem materialu smo vsebnost elementov izmerili z metodo XRF in določili 9 elementov: K, Ca, Mn, Zn, Rb, Sr, Br, Fe, Cu.

4.1.1 Vsebnost elementov v zemlji

Preglednica 3: Vsebnost elementov v zemlji v času medenja lipe, leta 2009

Elementi v zemlji [µg/g]	Lokacija		
	Modrejce	Kočevje	Sužid
K	21100	7660	11900
Ca	7240	38400	9800
Mn	1560	745	1550
Zn	189	104	116
Rb	125	80,5	80,7
Sr	62,3	51,2	58,5
Br	16,4	9,69	12,9
Fe	48700	23500	32400
Cu	99,7	49,8	80,4

V preglednici 3 so zbrani podatki vsebnosti elementov v vzorcih zemlje pridobljenih na lokacijah medenja lipe. Iz preglednice lahko razberemo, da smo v zemlji izmerili najvišjo vsebnost elementov Fe, K, Ca. Povprečna vrednost Fe vseh treh lokacij znaša 34,9 mg/g. Pri ostalih elementih pa smo izmerili nekoliko nižje vsebnosti.

Preglednica 4: Vsebnost elementov v zemlji v času medenja kostanja, leta 2009 in 2010

Elementi v zemlji [µg/g]	Lokacija						
	Ženje		Kostanjevica		Kresniški Vrh	Zg. Prebukovje	Areh
	leto 2009	leto 2010	leto 2009	leto 2010	leto 2010	leto 2010	leto 2010
K	11700	19050	18000	17700	17700	30200	18500
Ca	5570	5445	3920	7080	8940	18750	11650
Mn	2620	2020	1100	1340	221	1100	716
Zn	69,7	81,4	86,5	141	69,2	121	118
Rb	72	103	111	127	102	188	102
Sr	61,8	65,8	173	294	27,7	106	136
Br	7,5	7,29	4,27	110	4,5	2,47	4,28
Fe	27200	35000	32600	40700	16800	17400	50800
Cu	51,2	76,1	74,7	261	68,7	64,5	61,1

Vzorčenje zemlje v času kostanjeve paše smo opravljali dve zaporedni leti, leta 2009 in 2010. V preglednici 4 so pri nekaterih elementih razvidna manjša odstopanja v vsebnosti posameznih elementov dveh različnih let na istem kraju. Do odstopanja je prišlo zaradi različnega časa in mikrolokacije vzorčenja. Pri nekaterih vzorcih pa so vrednosti med posameznimi leti popolnoma primerljive. Kot pri vzorcih zemlje v času lipove paše, je tudi tu vidno, da so bile v zemlji najvišje koncentracije K, Ca in Fe.

Preglednica 5: Vsebnost elementov v zemlji v času medenja akacije, leta 2010

Elementi v zemlji [µg/g]	Lokacija			
	Velike Žablje	Mali Bakovci	Bogojina	Podgrad
K	19600	22750	20900	11050
Ca	7430	8755	7145	8060
Mn	1310	637	952	818
Zn	104	91,6	98,1	82
Rb	123	106	93,7	77,1
Sr	90,7	125	89	51
Br	6,57	4,81	4,61	15
Fe	37500	43100	27700	23100
Cu	95,8	64,4	52,3	48,5

Tudi pri rezultatih vzorčenja zemlje na lokacijah akacijeve paše, kot je razvidno iz preglednice 5, je v zemlji največ elementov K, Ca in Fe. Povprečna vrednost Fe na vseh lokacijah je 32,9 mg/g. Ugotovili smo, da je na obeh lokacijah v Prekmurju več K, kot na Primorskih lokacijah.

4.1.2 Vsebnost elementov v listju

Preglednica 6: Vsebnost elementov v listju lipe, leta 2009

Elementi v listju [µg/g]	Lokacija		
	Modrejce	Kočevje	Sužid
K	11000	10000	9730
Ca	9710	10200	14800
Mn	223	26,1	211
Zn	14,9	15,8	17,5
Rb	10,7	9,64	11,1
Sr	21,2	5,94	20,3
Br	6,98	1,33	6,24
Fe	135	138	200
Cu	20	18,9	19,4

Pri vzorcih listja, ki smo jih pridobili na lokacijah z lipovo pašo, smo, kot je razvidno iz preglednice 6, izmerili najvišje vrednosti za elementa K in Ca. Pri Fe pa, kljub visokim vsebnostim v zemlji ni velikih odstopanj v primerjavi z drugimi elementi.

Preglednica 7: Vsebnost elementov v listju kostanja, leta 2009 in 2010

Elementi v listju [µg/g]	Lokacija						
	Ženje		Kostanjevica		Kresniški Vrh	Zg. Prebukovje	Areh
	2009	2010	2009	2010	2010	2010	2010
K	4320	6135	6090	19080	5980	6750	8450
Ca	2660	4470	5910	6925	6325	5210	3580
Mn	544	1010	922	754	322	149	425
Zn	20,9	24,4	41,7	35,6	20	18,2	17,3
Rb	13,5	9,92	12,4	10,8	4,31	5,11	25,9
Sr	4,42	4,78	7,49	3,61	2,86	5,2	7,57
Br	3,13	1,42	5,6	0,422	0,481	0,748	0,946
Fe	187	171	312	180	146	224	283
Cu	18,3	23,6	33,5	20,6	14,7	21,1	20

V preglednici 7 vidimo, da je v listju kostanja največ elementov K in Ca. Ravno tako, kot pri listju lipe, je tudi v kostanjevem listju vsebnost Fe relativno majhna.

Preglednica 8: Vsebnost elementov v listju akacije, leta 2010

Elementi v listju [$\mu\text{g/g}$]	Lokacija			
	Velike Žablje	Mali Bakovci	Bogojina	Podgrad
K	11900	14950	12500	11600
Ca	8120	9255	7760	6705
Mn	50	51,6	70,7	60,8
Zn	33,5	28,1	29,1	20,3
Rb	14,8	5,19	14,5	28
Sr	10,2	12,9	24,9	6,2
Br	1,3	1,29	1,99	2,36
Fe	161	122	137	133
Cu	35	20,5	26,7	27,1

Med vzorci iz različnih lokacij ni velikih razlik. Opazne razlike je videti pri vsebnosti Rb v vzorcih iz različnih lokacij. V preglednici 8 vidimo, da so na vseh štirih lokacijah vzorčenja akacijevih listov najvišje vrednosti za elementa K in Ca.

4.1.3 Vsebnost elementov v cvetju

Preglednica 9: Vsebnost elementov v cvetju lipe, leta 2009

Elementi v cvetju [$\mu\text{g/g}$]	Lokacija		
	Modrejce	Kočevje	Sužid
K	12400	10800	12100
Ca	10100	12300	10700
Mn	176	36,3	113
Zn	27	35,8	21
Rb	21,9	14,6	26,8
Sr	20,3	6,35	19,4
Br	5,7	1,66	4
Fe	142	124	108
Cu	26,9	28	18,3

V cvetju lipe najdemo največ elementov K in Ca. Vsebnost K se je gibala med 10,8 mg/g v Kočevju in 12,4 mg/g v Modrejcah. Vsebnost Ca pa je bila med 10,1 mg/g in 12,3 mg/g. Najmanjša je bila vsebnost Br, in sicer med 1,6 $\mu\text{g/g}$ in 5,7 $\mu\text{g/g}$.

Preglednica 10: Vsebnost elementov v cvetju kostanja, leta 2009 in 2010

Elementi v cvetju [µg/g]	Lokacija						
	Ženje		Kostanjevica		Kresniški Vrh	Zg. Prebukovje	Areh
	2009	2010	2009	2010	2010	2010	2010
K	4410	8845	7500	12370	9045	7835	8955
Ca	2270	1800	2150	5055	3680	3710	5475
Mn	271	151	260	427	275	83,3	416
Zn	18	17	11,9	16,9	18	19,7	15,3
Rb	11,5	14,1	30,7	26	22,9	9,69	28,1
Sr	4,56	2,38	2,29	3,01	1,78	5,99	15,5
Br	4,02	0,604	3,37	1,09	0,803	1,12	1,15
Fe	139	113	85,8	136	106	155	159
Cu	30,1	24,2	25,7	32,4	22,9	26,9	22,2

V preglednici 10 vidimo odstopanja med vsebnostjo elementov v cvetju kostanja leta 2009 in 2010. V vseh vzorcih je bilo največ K in Ca. Na dveh lokacijah, kjer smo vzorčili 2 leti, je bilo več elementov leta 2010.

Preglednica 11: Vsebnost elementov v cvetju akacije, leta 2010

Elementi v cvetju [µg/g]	Lokacija			
	Velike Žablje	Mali Bakovci	Bogojina	Podgrad
K	13600	22950	20900	17750
Ca	4255	3795	2575	3055
Mn	24,8	35,8	24,5	37,9
Zn	22,7	32,1	32,4	27,7
Rb	18,5	7,95	22,5	38,4
Sr	1,26	4,95	7,92	2,53
Br	0,581	0,892	1,72	1,07
Fe	127	140	141	134
Cu	23,3	20,4	28,6	24,3

Tudi v preglednici 11 vidimo, da imata elementa K in Ca najvišje vrednosti. Povprečje vseh štirih lokacij za K je 18,8 mg/g za Ca pa 3,4 mg/g. Najnižjo vsebnost ima Br med 0,581 µg/g in 1,71 µg/g.

4.1.4 Vsebnost elementov v cvetnem prahu

Preglednica 12: Vsebnost elementov v cvetnem prahu lipe, leta 2009

Elementi v cvetnem prahu [µg/g]	Lokacija		
	Modrejce	Kočevje	Sužid
K	5440	3990	4560
Ca	1470	1660	1580
Mn	101	119	106
Zn	66,7	74	74
Rb	16,2	52,9	13,8
Sr	1,78	2,01	1,4
Br	3,94	3,04	2,04
Fe	223	272	194
Cu	24,3	24,8	27,6

Iz preglednice 12 je razvidno da vsebuje največ elemena K cvetni prah iz Modrejce, Ca pa vzorec iz Kočevja, ki je vseboval tudi največ Mn, Rb, Sr in Fe. V vseh vzorcih je najmanjša vsebnost elementa Sr, ki se giblje med 1,4 µg/g in 2,01 µg/g.

Preglednica 13: Vsebnost elementov v cvetnem prahu kostanja, leta 2009 in 2010

Elementi v cvetnem prahu [µg/g]	Lokacija						
	Ženje		Kostanjevica		Kresniški Vrh	Zg. Prebukovje	Areh
	2009	2010	2009	2010	2010	2010	2010
K	4020	/	5750	5880	6210	/	/
Ca	1600	/	1430	1740	1330	/	/
Mn	179	/	95,8	106	155	/	/
Zn	6,14	/	62	68,9	77,2	/	/
Rb	18,9	/	42,3	39	28,7	/	/
Sr	2,61	/	1,66	0,755	0,842	/	/
Br	2,98	/	2,57	4,89	9,54	/	/
Fe	184	/	205	186	199	/	/
Cu	26	/	32,2	19,9	17,6	/	/

Pri vzorčenju cvetnega prahu kostanja smo pridobili samo štiri vzorce, saj v času vzorčenja na drugih lokacijah čebele v panj niso prinašale dovolj cvetnega prahu. V cvetnem prahu kostanja je bilo največ K in Ca, najmanj pa Sr.

Vzorcev cvetnega prahu akacije nismo mogli pridobiti, saj čebele niso prinašale dovolj cvetnega prahu na brado panja, da bi lahko pridobili zanesljive vzorce.

4.2 VSEBNOST ELEMENTOV V NEKTARJU IN MEDU DOLOČENIH Z METODO TXRF

Z metodo TXRF smo določili vsebnost elementov v nektarju in medu. Določali smo elemente K, Ca, Mn, Zn, Rb, Sr, Br, Fe, Cu. Pri vzorčenju nektarja smo uporabili metodo, ki smo jo razvili sami. Čebelo smo ujeli na bradi panja in ji iztisnili nektar iz mednega želodčka. Po končanem postopku je bila čebela nepoškodovana in se je lahko vrnila na pašo. Vzorce medu smo pridobili iz nezaleženega satja, v katerega so čebele polnile medičino samo v času najintenzivnejše paše. S tem postopkom vzorčenja medu in nektarja smo pridobili zelo čiste in vrstno značilne vzorce nektarja in medu posamezne medovite rastline, ki smo jo vzorčili.

4.2.1 Vsebnost elementov v nektarju

Preglednica 14: Vsebnost elementov v nektarju lipe, leta 2009

Elementi v nektarju [$\mu\text{g/g}$]	Lokacija		
	Modrejce	Kočevje	Sužid
K	1480	718	1410
Ca	60,9	33	71,5
Mn	10,2	3,27	7,82
Zn	1,36	1,93	0,708
Rb	8,32	8,01	8,02
Sr	/	/	/
Br	0,219	0,281	0,174
Fe	0,392	3,27	0,19
Cu	0,185	0,0562	0,272

Vzorce nektarja smo pridobili na vseh treh lokacijah vzorčenja v času lipove paše. Tudi vzorci nektarja so vsebovali največ K, in sicer sicer med 0,7 mg/g in 1,5 mg/g. Precej manj je bilo Ca, od 33 $\mu\text{g/g}$ do 71,5 $\mu\text{g/g}$, ter vseh ostalih elementov.

Preglednica 15: Vsebnost elementov v nektarju kostanja, leta 2009 in 2010

Elementi v nektarju [µg/g]	Lokacija						
	Ženje		Kostanjevica		Kresniški Vrh	Zg. Prebukovje	Areh
	2009	2010	2009	2010	2010	2010	2010
K	1290	1595	1160	2215	2895	1705	1700
Ca	91,4	116	70,4	73,35	118	79,75	54,15
Mn	19,9	21,75	9,78	8,15	30,9	6,405	7,865
Zn	0,378	1,375	1,32	4,095	5,13	0,6645	1,419
Rb	6,24	4,745	14,5	7,77	11,6	9,653	9,595
Sr	/	/	/	/	/	/	/
Br	0,127	0,3475	0,159	0,317	0,347	0,3505	0,344
Fe	0,352	2,05	1,94	4,02	5,98	7,635	3,22
Cu	0,169	/	0,19	/	/	/	/

V času kostanjeve paše smo leta 2009 zaradi slabih vremenskih razmer in posledično slabega medenja kostanja pridobili le dva vzorca nektarja. Leta 2010 pa smo pridobili pet vzorcev nektarja. V vseh sedmih vzorcih nektarja smo izmerili najvišje vrednosti za element K, sledi pa mu Ca. Vsebnost elementov pri vzorcih Ženje in Kostanjevica, ki smo jih vzorčili v dveh zaporednih letih, se nekoliko razlikujejo. Kljub isti lokaciji so bile vremenske razmere in fiziološko stanje rastlin nekoliko drugačno, zato je prišlo do majhnih odstopanj med vzorci.

Preglednica 16: Vsebnost elementov v nektarju akacije, leta 2010

Elementi v nektarju [µg/g]	Lokacija			
	Velike Žablje	Mali Bakovci	Bogojina	Podgrad
K	163,5	/	103,75	562,5
Ca	8,205	/	8,875	26,3
Mn	/	/	/	/
Zn	1,935	/	1,635	1,185
Rb	1,0755	/	0,923	0,947
Sr	/	/	/	/
Br	0,4195	/	0,4145	0,4085
Fe	2,62	/	2,53	1,0715
Cu	/	/	/	/

Kot nektar lipe in kostanja je vseboval tudi nektar akacije največ elementa K, nato Ca. Vzorca nektarja v kraju Mali Bakovci nismo mogli pridobiti, saj čebele niso prinašale v panj dovolj medicine.

4.2.2 Vsebnost elementov v medu

Preglednica 17: Vsebnost elementov v lipovem medu, leta 2009

Elementi v medu [µg/g]	Lokacija		
	Modrejce	Kočevje	Sužid
K	1845	1930	1080
Ca	68,6	80,7	6,09
Mn	6,405	6,205	3,965
Zn	1,52	4,37	1,12
Rb	4,28	7,925	3,32
Sr	4,265	3,135	2,035
Br	3,65	1,885	0,681
Fe	46,95	40,4	23,95
Cu	1,29	0,337	0,684

Tako kot v lipovem nektarju je bila tudi v lipovem medu najvišja vsebnost elementa K, med 1,1 mg/g in 1,8 mg/g, na drugem in tretjem mestu po vsebnosti pa Ca in Fe.

Preglednica 18: Vsebnost elementov v kostanjevem medu, leta 2009 in 2010

Elementi v medu [µg/g]	Lokacija						
	Ženje		Kostanjevica		Kresniški Vrh	Zg. Prebukovje	Areh
	2009	2010	2009	2010	2010	2010	2010
K	/	3290	3625	3565	5485	2500	3265
Ca	/	151	152,5	136	97,2	55	97,6
Mn	/	30,55	17,45	17,25	24,3	9,19	10,23
Zn	/	0,8295	1,85	1,525	1,1855	1,1155	1,0475
Rb	/	9,195	26,35	26,95	24,45	19,1	22,75
Sr	/	/	3,935	/	/	/	/
Br	/	0,363	0,6155	0,3215	0,9805	0,332	0,2775
Fe	/	1,805	23,23	3,03	2,795	2,4	2,215
Cu	/	/	0,8595	/	/	/	/

Leta 2009 smo pridobili le en vzorec kostanjevega medu, saj vremenske razmere drugje niso dopuščale, da bi čebelarji lahko pridelali čisti kostanjev med. Leta 2010, ko je bila sezona boljša, pa smo pridobili 5 vzorcev kostanjevega medu. Tudi v kostanjevem medu je bilo največ K (med 2,5 mg/g in 3,6 mg/g) nato Ca (med 55 µg/g in 152,2 µg/g). Medtem ko smo v vzorcih kostanjevega medu vzorčenega leta 2009 analizirali tudi elementa Sr in Cu, pa teh dveh v vzorcih leta 2010 nismo določili.

Preglednica 19: Vsebnost elementov v akacijevem medu, leta 2010

Elementi v medu [µg/g]	Lokacija			
	Velike Žablje	Mali Bakovci	Bogojina	Podgrad
K	476	238	211	729,5
Ca	15,15	13	52	32,65
Mn	0,626	/	/	1,25
Zn	1,41	0,969	0,943	1,0465
Rb	2,31	0,7885	0,638	1,75
Sr	/	/	/	/
Br	0,1595	0,303	0,268	0,374
Fe	1,945	2,265	2,5	1,625
Cu	/	/	/	/

Čeprav je bila tudi v akacijevem medu največja vsebnost elementov K in Ca, je bila njuna vsebnost precej manjša kot v lipovem in kostanjevem medu. Vsebnosti K so bile med 211 µg/g in 729,5 µg/g, Ca pa med 13 µg/g in 32,65 µg/g.

4.3 VSEBNOST ELEMENTOV V RAZLIČNIH VRSTAH SLOVENSKEGA MEDU

Rezultate za vsebnost elementov v naših vzorcih medu smo v preglednici 20 primerjali s podatki obsežne raziskave, opravljene v okviru doktorske disertacije (Kropf, 2009).

Preglednica 20: Primerjava vsebnosti elementov v slovenskem medu (Kropf, 2009) z našimi rezultati

Elementi v medu [µg/g]	Vrsta medu					
	akacijev		lipov		kostanjev	
	rezultati naših meritev	povprečje v slov. medu	rezultati naših meritev	povprečje v slov. medu	rezultati naših meritev	povprečje v slov. medu
K	211–729	170–780	1080–1930	471–2560	2500–5485	680–5520
Ca	13–32,65	2,89–108	6,09–80,7	20–126	55–152,5	66,4–270
Mn	0,626–1,25	0,06–10,3	3,96–6,405	1,3–7,8	9,19–30,55	2,9–66
Zn	0,943–1,41	0,04–5,96	1,12–4,37	0,28–1,5	0,829–1,85	0,45–9,9
Rb	0,638–2,31	0,20–2,5	3,32–7,925	1,2–12,2	9,19–26,95	3,9–35
Sr	/	/	2,03–4,27	/	3,94	0,30–0,38
Br	0,159–0,374	0,04–5,96	0,681–3,65	0,37–1,7	0,278–0,981	0,24–1,07
Fe	1,625–2,5	0,13–10	23,95–46,95	1,36	1,805–23,23	0,66–8
Cu	/	0,03–2,30	0,337–1,29	/	0,859	0,53–0,79

Iz preglednice 20 vidimo, da je večina naših rezultatov znotraj intervalov podanih za vsebnost posameznega elementa v različnih vrstah slovenskega medu. Nekoliko večje vsebnosti smo izmerili za vsebnost Zn, Br in Fe v lipovem medu in za vsebnost Sr in Fe v kostanjevem medu. Izmerjene vrednosti za akacijev med so pri vseh elementih znotraj intervalov vrednosti za slovenski med.

4.4 VSEBNOST VODE V NEKTARJU

Preglednica 21: Vsebnost vode v vzorcih nektarja

Kraj vzorčenja nektarja	Nektar	Leto vzorčenja	Vsebnost vode (g/100 g)
Velike Žablje	akacijev	2010	48,1
Bogojina	akacijev	2010	44,7
Podgrad	akacijev	2010	54,3
Kresniški vrh	kostanjev	2010	55,0
Kostanjevica	kostanjev	2010	60,0
Ženje	kostanjev	2010	67,1
Zgornje Prebukovje	kostanjev	2010	69,2
Areh	kostanjev	2010	59,7
Kostanjevica	kostanjev	2010	54,1
Ženje	kostanjev	2009	58,7

Vsebnost vode v analiziranih vzorcih nektarja (preglednica 21) se je gibala od 44,7 do 69,2 g/100 g. V povprečju je imel nektar akacije nekoliko manj vode (49,03 g/100 g) kot nektar kostanja (60,54 g/100 g).

4.5 VSEBNOST VODE V MEDU

Preglednica 22: Vsebnost vode v vzorcih medu

Kraj pridelave medu	Vrsta medu	Leto vzorčenja	Vsebnost vode (g/100 g)
Modrejce	lipa	2009	15,6
Sužid	lipa	2009	14,9
Kočevje	lipa	2009	16,2
Kostanjevica	kostanj	2009	14,2
Ženje	kostanj	2009	19,2
Kostanjevica	kostanj	2010	14,9
Ženje	kostanj	2010	17,9
Zgornje prebukovje	kostanj	2010	15,2
Areh	kostanj	2010	16,8
Kresniški Vrh	kostanj	2010	17,7
Bogojina	akacija	2010	17,2
Velike Žablje	akacija	2010	17,4
Podgrad	akacija	2010	16,3
Mali Bakovci	akacija	2010	16,3

Vsebnost vode v analiziranih vzorcih medu se je gibala v lipovem medu od 14,9 do 16,2 g/100 g, v kostanjevem medu od 14,2 do 19,2 g/100 g, v akacijevem medu pa od 16,3 do 17,4 g/100 g. Iz podatkov v preglednici 21 vidimo, da so vsi vzorci ustrezali Pravilniku o medu (2011), ki dovoljuje do 20 % vode v medu. Največjo vsebnost vode smo izmerili v kostanjevem medu letnika 2009, in sicer 19,2 g/100 g. Najmanjšo vsebnost vode pa je imel prav tako kostanj med letnika 2009, ki je vseboval le 14,2 g/100 g.

Med vrhunske kakovosti lahko vsebuje največ 18,6 % vode (Doner, 2003). Iz dobljenih rezultatov vidimo, da je samo en vzorec presegel to vrednost. Na osnovi tega lahko med, z izjemo enega vzorca, označimo kot normalno dozorel, oziroma ga v tem parametru smatramo za med vrhunske kakovosti.

4.6 REZULTATI MERJENJA ELEKTRIČNE PREVODNOSTI MEDU

Električno prevodnost (χ) v raztopinah medu smo merili s konduktometrom. Vrednosti meritev so zbrane v preglednici 22.

Preglednica 23: Električna prevodnost medu (mS/cm)

Kraj pridelave medu	Vrsta medu	Leto vzorčenja	Električna prevodnost (mS/cm)
Modrejce	lipa	2009	0,736
Sužid	lipa	2009	0,745
Kočevje	lipa	2009	0,839
Kostanjevica	kostanj	2009	1,571
Ženje	kostanj	2009	0,688
Kostanjevica	kostanj	2010	1,585
Ženje	kostanj	2010	1,537
Zgornje prebukovje	kostanj	2010	1,125
Areh	kostanj	2010	1,465
Kresniški Vrh	kostanj	2010	2,62
Bogojina	akacija	2010	0,169
Velike Žablje	akacija	2010	0,338
Podgrad	akacija	2010	0,387
Mali Bakovci	akacija	2010	0,183

Kot vidimo v preglednici 23, so vrednosti χ lipovega medu od 0,736 do 0,839 mS/cm. Po Pravilniku o medu (2011) za lipov med ni omejitve vrednosti, zato ugotavljamo, da vsi vzorci lipovega medu ustrezajo predpisanim vrednostim. Vrednosti χ kostanjevega medu so se gibale od 0,688 do 2,62 mS/cm. Po pravilniku o medu (2011) je določeno, da mora električna prevodnost kostanjevega medu znašati vsaj 0,80 mS/cm. Vsi vzorci razen vzorca kostanjevega medu iz kraja Ženja letnik 2009 so imeli električno prevodnost višjo od 0,8 mS/cm, zato ustrezajo predpisani vrednosti. Za akacijev med je po Pravilniku o medu

(2011) predpisano, da mora med iz nektarja, kamor spada akacijev med, električna prevodnost znašati največ 0,80 mS/cm. Vsi vzorci so imeli vrednosti od 0,169 do 0,387 mS/cm, kar ustreza predpisanim vrednostim za akacijev med.

4.7 KORELACIJE MED ANALIZIRANIMI VZORCI

Dobljene rezultate smo statistično obdelali. Izračunali smo Pearsonov koeficient korelacije (r), ki kaže stopnjo povezanosti med dvema spremenljivkama.

Za vsebnost vseh elementov smo izračunali korelacije med posameznimi vzorci (zemlja, listje, cvetje, cvetni prah, nektar, med). Tako smo za vsak element ter vsako drevesno vrsto izračunali korelacije med zemljo in listjem, listjem in cvetjem, listjem in cvetnim prahom, listjem in nektarjem, cvetjem in nektarjem ter nektarjem in medom.

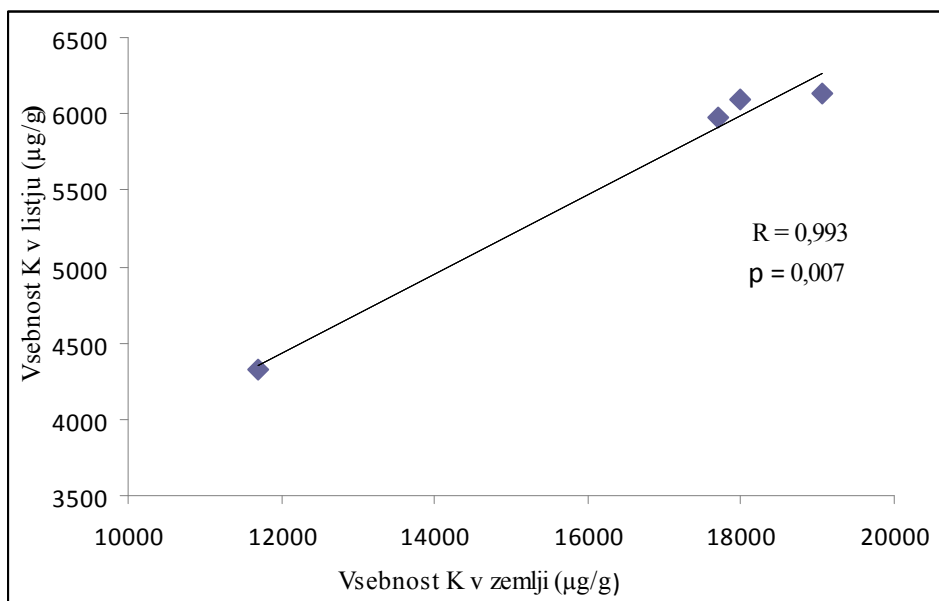
V preglednici 24 so zbrane tesne ($r \geq 0,7$) in statistično značilne zveze med vsebnostjo posameznega elementa v analiziranih vzorcih.

Preglednica 24: Statistično značilne zveze med vsebnostjo posameznega elementa v analiziranih vzorcih

Par parametrov	Element	Drevesna vrsta	Pearsonov korelacijski koeficient (r)	Značilnost (p)
zemlja – listje	Mn	lipa	0,999	0,028
zemlja – listje	Ca	akacija	0,998	0,042
zemlja – listje	Zn	akacija	0,976	0,024
listje – cvetje	Zn	akacija	0,999	0,030
listje – nektar	Zn	akacija	0,997	0,048
listje – cvetje	Rb	akacija	0,999	0,010
zemlja – listje	K	kostanj	0,993	0,007
listje – cvetje	K	kostanj	0,834	0,020
cvetje – nektar	K	kostanj	0,851	0,032
listje – nektar	K	kostanj	0,873	0,023
nektar – med	K	kostanj	0,918	0,028
zemlja – listje	Mn	kostanj	0,991	0,009
nektar – med	Mn	kostanj	0,946	0,015
zemlja – listje	Zn	kostanj	0,994	0,006
listje – nektar	Zn	kostanj	0,897	0,039
zemlja – listje	Fe	kostanj	1	0,018
listje – cvetje	Fe	kostanj	0,881	0,020
listje – cvetje	Rb	kostanj	1	0,003
nektar – med	Rb	kostanj	0,947	0,014

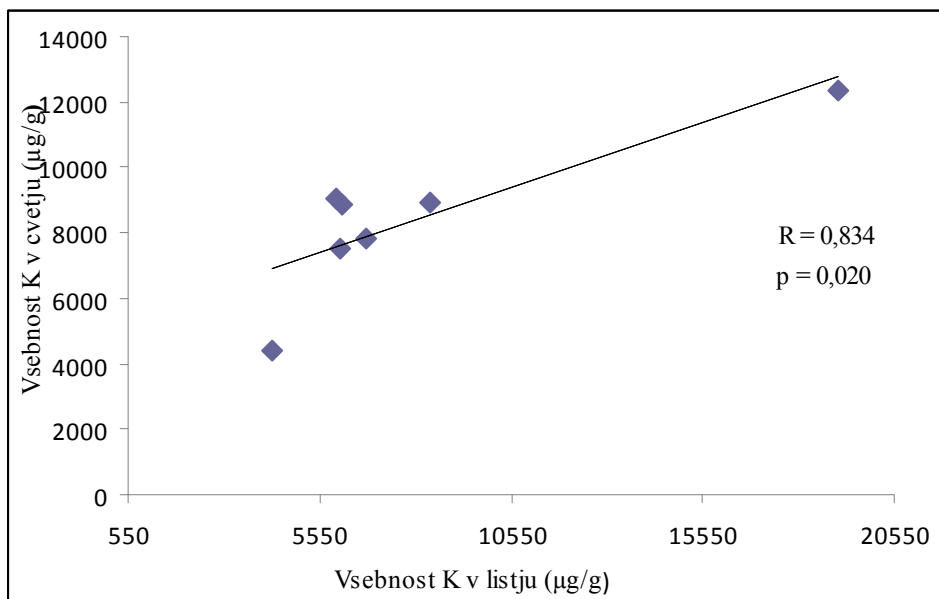
Glede na to, da smo tesno zvezo med vsemi pari vzorcev, dobili le za vsebnost K v kostanjevih vzorcih, so v spodnjih grafih prikazane te posamezne tesne zveze. V prilogi pa so prikazane še ostale najdene tesne zveze za vse tri drevesne vrste. Predstavljene so le tesne zveze, oz. zveze kjer so vrednosti r višje od 0,9 in so statistično značilne pri $p < 0,05$.

4.7.1 Korelacije za vsebnost elementa K v vzorcih z lokacij medenja kostanja



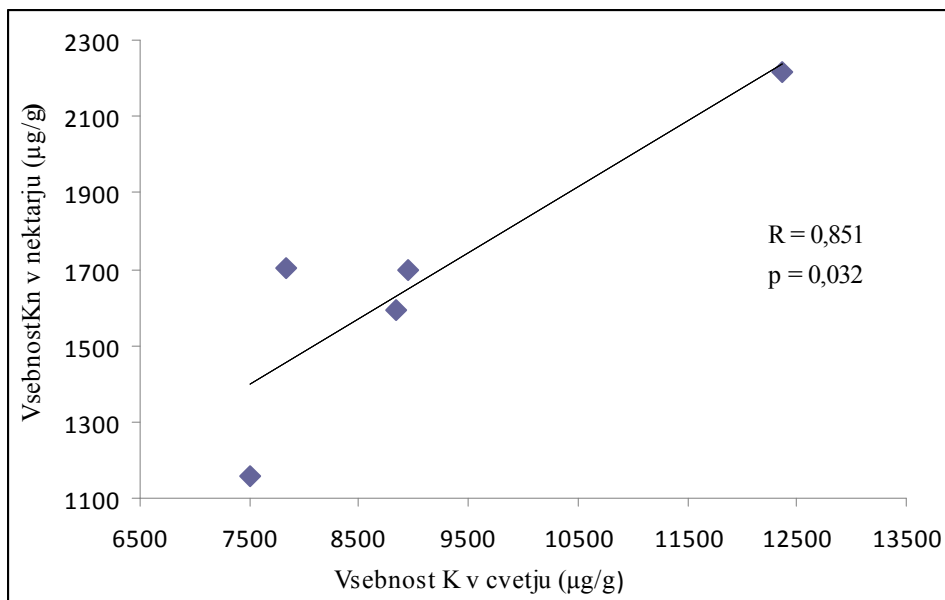
Slika 20: Zveza med vsebnostjo K v listju in zemlji na lokacijah medenja kostanja

Slika 20 prikazuje zvezo med vsebnostjo K v listju in zemlji. V grafu so vključeni vzorci iz krajev Kresniški Vrh (2010), Ženje (2010), Ženje (2009) in Kostanjevica (2009).



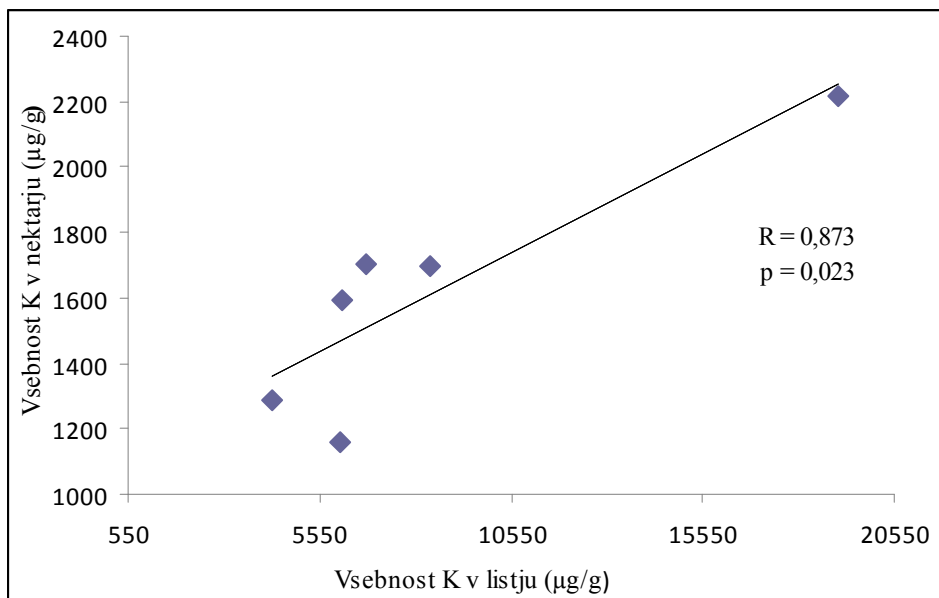
Slika 21: Zveza med vsebnostjo K v cvetju in listju na lokacijah medenja kostanja

Slika 21 prikazuje zvezo med vsebnostjo K v cvetju in listju in je vidna prav med vsemi vzorci iz lokacij medenja kostanja.



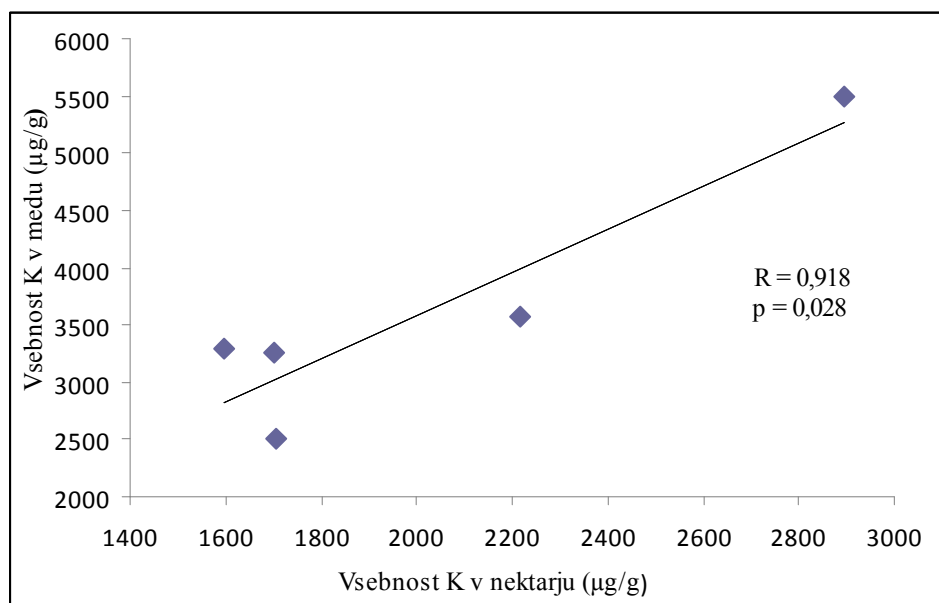
Slika 22: Zveza med vsebnostjo K v nektarju in cvetju na lokacijah medenja kostanja

Slika 22 prikazuje zvezo med vsebnostjo K v nektarju in cvetju. Vključeni so vzorci iz leta 2010 (Kostanjevica, Ženje, Zgornje Prebukovje, Areh in leta 2009 (Kostanjevica).



Slika 23: Zveza med vsebnostjo K v nektarju in listju na lokacijah medenja kostanja

Slika 23 prikazuje zvezo med vsebnostjo K v nektarju in listju, za vzorce Kostanjevica, Ženje, Zgornje Prebukovje, Areh iz leta 2010 in Kostanjevica in Ženje iz leta 2009.



Slika 24: Zveza med vsebnostjo K v medu in nektarju na lokacijah medenja kostanja

Slika 24 prikazuje zvezo med vsebnostjo K v medu in nektarju. V grafu so prikazani vzorci medu iz leta 2010 (Kresniški Vrh, Kostanjevica, Ženje, Zgornje Prebukovje, Areh)

5. RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V okviru diplomske naloge smo preučevali vpliv elementne sestave tal na elementno sestavo nektarja in medu. Vzorce za analizo smo pridobili na krajih, kjer so dobra rastišča in obilna medenja lipovega, kostanjevega in akacijevega drevja. Na vsaki lokaciji smo vzorčili zemljo, listje, cvetje, cvetni prah, nektar in med. Na področjih lipove paše smo vzorčili v krajih Modrejce, Sužid in Kočevje. Vzorčenja na vseh treh krajih lipove paše so potekala leta 2009. Na področjih kostanjeve paše smo leta 2009 vzorčili na dveh lokacijah v krajih Ženje in Kostanjevica, leta 2010 pa na petih lokacijah, v krajih Kresniški Vrh, Kostanjevica, Ženje, Zgornje Prebukovje in Areh. Leta 2009 smo namesto petih vzorcev iz področja kostanja pridobili le dva vzorca, zaradi neugodnih vremenskih razmer. Zaradi slabega medenja čebele niso prinašale dovolj nektarja, obenem pa zaradi slabega medenja tudi vrstna značilnost nektarja in kasneje medu ni bila dovolj dobra. Leta 2010 smo vzorčili dodatno na štirih lokacijah z akacijevo pašo. Vzorce smo pridobili iz krajev Velike Žablje, Mali Bakovci, Bogojina in Podgrad.

Vsem vzorcem zemlje, listja, cvetja in cvetnega prahu smo z metodo XRF določili elementno sestavo. Metoda je nedestruktivna in multielementna. S to metodo, ki je hitra in zanesljiva, smo tako lahko izmerili vsebnost devet elementov, to so: K, Ca, Mn, Zn, Rb, Sr, Br, Fe in Cu. Za določanje elementne sestave nektarja in medu pa smo uporabili metodo TXRF, ki je ravno tako hitra in zanesljiva metoda in smo z njo izmerili vsebnost istih devetih elementov.

V nektarju in medu smo izmerili tudi vsebnost vode. Rezultati analize vsebnosti vode v medu so pokazali, da so vsi analizirani vzorci ustrezali Pravilniku o medu (2011), ki dovoljuje največ 20 % vode. Normalno dozorel med vrhunske kakovosti lahko vsebuje največ 18,6 % vode (Doner, 2003). Na podlagi tega sklepamo, da vsi vzorci, razen enega, ustrezajo tudi pogoju za med vrhunske kakovosti. Največjo povprečnost vsebnost vode smo izmerili v akacijevem medu, najnižjo povprečno vsebnost vode pa v lipovem medu. Za vsebnost vode ne moremo trditi, da je povezana z vrsto medu, ampak je odvisna predvsem od časa točenja in posledično zrelosti medu, za kar pa je odgovoren predvsem vsak posamezni čebelar. Največjo vsebnost vode smo izmerili v kostanjevem medu letnika 2009, in sicer 19,2 g/100 g. Najmanjšo vsebnost vode pa je imel kostanjev med letnik 2009, ki je vseboval le 14,2 g/100 g.

Vzorcem medu smo izmerili tudi električno prevodnost χ . Pravilnik o medu predpisuje, da mora cvetlični oz. nektarni med, kamor spada tudi akacijev med, imeti χ največ 0,8 mS/cm. Za kostanjev med je predpisano, da mora biti χ višja od 0,8 mS/cm, za lipov med pa ni predpisanih omejitev vrednosti. Vsi vzorci akacijevega in lipovega medu so tako zadostili normativom za akacijev oz. lipov med. Pri kostanjevem medu en vzorec ni ustrezal predpisanim vrednostim električne prevodnosti, ostali vzorci pa so imeli vrednost χ nad 0,8 mS/cm in tako zadostili kriterijem za kostanjev med.

5.1.1 Prehajanje elementov

Za iskanje statistično značilnih in tesnih zvez za vsebnost oz. prehajanja elementov iz zemlje preko rastline v listje, cvetje, cvetni prah ter nektar in med, smo izračunali Pearsonov koeficient (r). Vrednosti višje od 0,7 pomenijo močno zvezo med dvema parametroma, vrednosti nad 0,9 pa zelo močno zvezo. Statistična značilnost je izračunana pri vseh predstavljenih vzorcih. Vrednost $p < 0,05$ pomeni da je povezava statistično značilna. Upoštevali smo samo močne zveze med dvema parametroma in istočasno statistično značilne pri $p < 0,05$. Kjer so bile vrednosti nižje od 0,7, pomeni, da je zveza le zmerna, in kjer ni bilo statistične značilnosti, rezultatov nismo upoštevali.

5.1.1.1 Prehajanje elementov pri lipi (*Tilia* spp.)

Za drevesno vrsto lipa smo v naši raziskavi v dveh letih uspeli dobiti samo vzorce iz treh lokacij. Vsi vzorci so bili pridobljeni leta 2009. Zaradi slabih vremenskih pogojev na ostalih lokacijah medenje ni bilo intenzivno in vzorci nektarja, cvetnega prahu ter medu niso bili vrstno značilni in so bili zato za našo raziskavo neuporabni. Zaradi majhnega števila vzorcev je bilo podatke težko statistično obdelati. Posledično smo pri lipi našli samo eno močno zvezo, to je za vsebnost elementa Mn v zemlji in listju. Predpostavljamo, da bi bilo pri večjem številu vzorcev teh zvez več.

Če primerjamo izmerjeno vsebnost elementov v naših vzorcih lipovega medu z vsebnostjo elementov v lipovem medu v raziskavi Kropf (2009), vidimo, da so vrednosti za vsebnost večine elementov (K, Ca, Mn in Rb) primerljive, medtem ko je bilo elementov Zn, Br in Fe v naših meritvah nekoliko več.

5.1.1.2 Prehajanje elementov pri akaciji (*Robinia pseudoacacia* L.)

Prehajanje elementov iz tal preko rastline v nektar, cvetni prah in med smo določali na štirih rastiščih akacijevih dreves. Vzorčenje je bilo opravljeno leta 2010. Statistični izračun je pokazal tesno zvezo pri elementih Ca, Zn in Rb. Statistično značilna je zveza med vsebnostjo elementa Ca v zemlji in listju, medtem ko zveze med ostalimi pari nismo mogli potrditi. Vsebnost Rb v cvetju pa je v zvezi z vsebnostjo Rb v listju.

Tesno zvezo med posameznimi vzorci smo dokazali za vsebnost Zn. Statistično značilen je prehod Zn iz zemlje v listje, iz listja v cvetje ter tudi iz listja v nektar. Prehod elementa v med pa ni statistično značilen. Verjetno bi z večjim številom vzorcev, pridobljenih v več letih, dokazali tudi statistično značilne prehode Zn in drugih elementov.

Vsebnosti elementov v naših vzorcih akacijevega medu so primerljive z meritvami drugih raziskovalcev. Rezultati vsebnosti elementov v slovenskem akacijevem medu (Kropf, 2009), so primerljivi z rezultati naših meritev. Vsebnost elementov v akacijevem medu je zelo majhna v primerjavi z vsebnostjo elementov npr. v kostanjevem medu. Da pri akaciji nismo mogli dokazati statistično značilne povezave prehajanja elementov iz zemlje v nektar in nato v med, verjetno ni vzrok samo v majhnem številu vzorcev, ampak je najverjetneje razlog tudi zelo majhna vsebnost elementov v akacijevem medu in s tem tudi

močno okrnjen transport elementov iz rastline v nektar in kasneje v med. Da ima akacijev nektar tako majhno vsebnosti elementov, je seveda pogojeno z rastlinsko vrsto. Značilno je, da akacija v času medenja izloča zelo velike količine nektarja v razmeroma kratkem času in to je morebiti tudi razlog nizke vsebnosti elementov v tem medu.

5.1.1.3 Prehajanje elementov pri kostanju (*Castanea sativa*)

Od vseh vzorčenih drevesnih vrst smo najbolj tesno zvezo med vsebnostjo elementov v zemlji, listju, cvetju, cvetnem prahu, nektarju in medu določili pri vzorcih iz kostanjevih rastišč. Statistično značilna je zveza med vsebnostjo Rb v listju in cvetju, ter nektarju in medu. Med vsebnostjo Rb v zemlji in listju ter v cvetju in nektarju pa nismo našli povezave. Določili smo tudi povezavo pri prehodu Mn, in sicer iz zemlje v listje ter iz nektarja v med. Vmesni prehodi Mn niso statistično značilni. Statistično je značilna še zveza med vsebnostjo Zn v zemlji in listju ter v listju in nektarju. Tesna zveza je tudi za vsebnost Fe v zemlji in listju ter njegove vsebnosti v listju in cvetju.

Pri kostanju smo ugotovili zvezo za vsebnost K v vseh analiziranih vzorcih. Statistično značilne zveze so bile: zemlja – listje, listje – cvetje, cvetje – nektar, listje – nektar ter tudi nektar – med. Tu lahko rečemo, da je vsebnost K v kostanjevem medu odvisna od vsebnosti K v zemlji, kjer drevesa kostanja rastejo.

Tudi vsebnost elementov v naših vzorcih kostanjevega medu je primerljiva s podatki, ki jih je objavila Kropf (2009). Podatki, ki kažejo, da je elementna sestava zelo podobna in značilna za kostanjev med, kažejo tudi, da so bili naši vzorci kostanjevega medu glede elementne sestave vrstno značilni. Eden izmed razlogov, da smo za kostanjev med našli največ tesnih zvez je verjetno največje število vzorcev kostanjevega medu. Drugi razlog pa je lahko tudi ta, da je kostanjev med najbogatejši po vsebnosti mineralov in je tako tudi prehajanje elementov iz tal preko rastline v med največje in je posledično tudi povezave lažje najti.

V hipotezi smo pričakovali, da elementna sestava tal vpliva na vsebnost posameznih elementov v različnih delih rastlin ter posledično na elementno sestavo nektarja in medu. Glede na dobljene rezultate lahko to hipotezo potrdimo le za element K za vzorce iz kostanjevih rastišč. Glede na to, da čebele proizvedejo med iz nektarja, smo pričakovali pozitivno zvezo med vsebnostjo elementov v nektarju in medu. To hipotezo, pa lahko potrdimo le za elemente K, Mn, Rb iz kostanjevih rastišč.

5.2 SKLEPI

Na podlagi rezultatov analiz lahko povzamemo naslednje sklepe:

- Izvirna metoda vzorčenja nektarja, ki smo jo razvili v okviru naše raziskave, omogoča odvzem vrstno značilnega nektarja iz čebeljega telesa.
- Metoda vzorčenja omogoča pridobitev večjega števila vzorcev nektarja, ne da bi poškodovali čebele.
- Pri lipovem medu nismo dokazali zvez med vsebnostjo posameznih elementov v zemlji in v medu.
- Pri akacijevem medu smo našli malo zvez med vsebnostjo posameznih elementov v zemlji, v drevesu in v medu.
- Pri kostanjevem medu smo našli močne zveze med vsebnostjo elementov K, Mn, Zn, Fe in Rb v zemlji in v posameznih delih rastline ter v nektarju in medu.
- Vsebnost K v kostanjevem medu je odvisna od vsebnosti K v zemlji.
- Med vsebnostjo elementov v zemlji in v cvetnem prahu iste rastline ni bilo statistično značilne zveze.
- Pri medu, ki vsebuje več elementov (kostanjev med), smo določili več statistično značilnih zvez med vsebnostjo elementov v zemlji in v delih rastline ter v nektarju in medu, kot pri medu, ki vsebuje malo elementov (akacijev med).
- Če bi uspeli pridobiti večje število vzorcev, bi podatke lahko bolje statistično obdelali in našli več povezav o prehajanju elementov.

6 POVZETEK

V nalogi z naslovom »Prehajanje elementov iz tal preko rastline v med pri različnih medovitih rastlinah«, smo analizirali zemljo, liste, cvetove, cvetni prah, nektar in med pri lipi (*Tilia spp.*), akaciji (*Robinia pseudoacacia L.*) in kostanju (*Castanea sativa*). Za izvedbo naloge smo razvili posebno metodo odvzemanja nektarja iz čebel. Z nežnim prijemom smo iz čebel iztisnili vsebino mednega želodčka, to je nektar, ki so ga prinašale iz paše v panj. Metoda se je izkazala za zelo uporabno, čeprav je počasna in smo bili pri delu izpostavljeni številnim pikom čebel.

V vseh odvzetih vzorcih zemlje, listja, cvetja, cvetnega prahu, nektarja in medu smo z metodo XRF oz. TXRF določili elemente K, Ca, Mn, Zn, Rb, Sr, Br, Fe in Cu. Rezultati so pokazali, da lahko pri medu, ki vsebuje več elementov (v našem primeru je bil to kostanjev med) določimo več statistično značilnih zvez med vsebnostjo elementov v zemlji in v delih rastlin ter v nektarju in medu, kot pri medu, ki vsebuje malo elementov (v našem primeru akacijev med).

Pri akaciji nismo mogli dokazati statistično značilne povezave prehajanja elementov iz zemlje preko rastline v nektar in nato v med. Predvidevamo, da je eden od razlogov tudi to, da je vsebnost elementov v akacijevem medu zelo majhna. Akacija v času medenja namreč izloča zelo veliko količino nektarja v razmeroma kratkem času in je zato transport elementov iz zemlje preko rastline v nektar in med okrnjen.

Ugotovili pa smo, da je vsebnost K, Mn in Rb v kostanjevem medu statistično povezana z vsebnostjo teh elementov v nektarju. Zato predvidevamo, da bi lahko z analizo nektarja napovedali kvaliteto medu glede na vsebnost elementov. Za K pa smo dokazali, da je vsebnost v medu odvisna od vsebnosti v zemlji, saj so statistično značilni vsi prehodi K iz zemlje preko rastline v med.

Prav tako menimo, da je uporabljena metoda pridobivanja vzorca nektarja zelo uporabna. Na ta način bi lahko z malo spretnosti, ob dobrem poznavanju čebel in medovitih rastlin, pridobili veliko vzorcev za analizo. V večjem številu vzorcev pa bi lažje dokazali povezavo med elementi v zemlji in elementi v posameznih delih rastline ter v nektarju in medu.

7 VIRI

- Arnon D. I., Stout R. R. 1939: The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology*, 14: 371–375.
- Bogdanov S. 2009. Harmonised methods of the International Honey Commission. Bern, Swiss Bee Research Center, International Honey Commission, World Network of Honey Science: 63 str.
<http://www.bee-hexagon.net/en/network.htm> (februar, 2011)
- Božič J. 1998. Nektarne paše. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 146–161.
- Božič J. 2008. Čebelja paša. V: Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje 1. Zdešar P. (ur.). Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije: 322–337.
- Božnar A., Senegačnik J. 1998. Med. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 376–413.
- Božnar A. 2011. Med. V: Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje 2. Zdešar P. (ur.). Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije: 299–323.
- Brus R. 2004. Drevesne vrste na Slovenskem. Ljubljana, Mladinska knjiga: 148–149, 264–265, 348–349.
- Buldini P. L., Cavalli S., Mevoli A., Sharma J. L. 2001. Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy and transition metals in honey. *Food Chemistry*, 73: 487–495.
- Caroli S., Forte G., Alessandrelli M., Cresti R., Spagnoli M., Dllio S., Pauwels J., Kramer G. N. 2000. A pilot study for the production of a certified reference material for trace elements in honey. *Microchemical Journal*, 67: 227–233.
- Crane E. 1980. A book of honey. Oxford, University Press: 193 str.
- Cuerda J. 2006. Vodnik po botaniki. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 20–21.
- Dermastia M. 2007. Pogled v rastline. Ljubljana, Nacionalni inštitut za biologijo: 94–108.
- Doberšek U. 2003. Določanje mineralov v medu z rentgensko fluorescenčno spektroskopijo. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 92 str.
- Doner L. W. 2003. Honey. V: Encyclopedia of food sciences and nutrition. Vol. 5. 2nd ed. Caballero B., Trugo L., Finglas P. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 3125–3130.

- Ernst W. H. O., Verkeij J. A. C., Schat H. 1992. Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica*, 41: 229–248.
- Forte G., D'Illo S., Caroli S. 2001. Honey as a candidate reference material for trace elements. *Journal of AOAC International*, 84, 6: 1972–1975.
- Fricks Y., Ericsson T., Sennerby-Forsse L. 2001. Seasonal variation of macronutrients in leaves stems and roots of *Salix dasyclados* Wimm: Grow at two nutrient levels. *Biomass and Bioenergy*, 21: 321–334.
- Golob T., Doberšek U., Kump., Nečemer M., 2005. Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry*, 91: 593–600.
- Golob T., Jamnik M., Bertonec J., Kropf U., Kandolf A. 2008. Fizikalno-kemijski parametri ter senzorične in mikroskopske značilnosti slovenskega medu. V: Med: značilnosti slovenskega medu. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije: 26–70.
- Gregorc A. 1998. Med. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 24–48.
- Jaklevic J. M., Giauque R. D. 1993. Energy –dispersive X-ray fluorescence analysis using X-ray tube excitation. V: *Handbook of X-Ray Spectrometry*. Van Grieken, R. E., Markowicz A. A. (ed.). New York, Marcel Dekker: 151–180.
- Javornik F., Kastelic L., Kranjc A., Mihelič J., Senegačnik E., Senegačnik J., Vidmar U. 1982. Čebelarstvo. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 210–224, 248–306.
- Klockenkämper R., von Bohlen A. 2001. Total-reflection X-ray fluorescence moving towards nanoanalysis: a survey. *Spectrochimica Acta, Part B*, 56: 2005–2018.
- Košmelj K. 2007. Uporabna statistika. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani: 239 str.
http://www.bf.uni-lj.si/agronomija/o-oddelku/katedre-in-druge-org-enote/za-statistiko/studijske-zadeve/Uporabna_statistika.pdf (junij, 2012).
- Kropf U. 2009. Elementna in izotopska sestava medu iz različnih geografskih regij Slovenije. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 200 str.
- Kropf U., Korošec M., Golob T. 2009. Med kot izvor biološko pomembnih mineralov: mineralno uravnoteženo živilo? V: Vloga mineralov v živilski tehnologiji in prehrani. 26. Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana 26. in 27. novembra 2009. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 179–192.

- Kropf U., Jamnik M., Bertonec J., Golob T. 2008. Linear regression model of the ash mass fraction and electrical conductivity for Slovenian honey. *Food Technology and Biotechnology*, 46, 3: 335–340.
- Kump P. 1994. Rentgenska fluorescenčna spektroskopija s totalnim odbojem (XTRF). *Vakuumist*, 14, 4: 5 str.
http://www.imt.si/dvst/1994/1994_4/1994_4_4_100dpi.pdf: 5str.
- Kump P. 2005. Rentgenska fluorescenca. *Kemija v šoli*, 17: 9–16.
- Kump P., Nečemer M., Smodiš B., Jačimović R. 1996. Multielement analysis of rubber samples by X-ray fluorescence. *Applied Spectroscopy*, 50: 1373–1377.
- Madeyczk M., Baralkiewicz D. 2008. Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Analytica Chimica Acta*, 617, 1–2: 11–17.
- Markowitz A. A. 1993. X-ray physics. V: *Handbook of X-ray spectrometry*. Van Grieken R. E., Markowicz A. A. (eds.). New York, Marcell Dekker; 1–74.
- Meglič M. 2004. Čebelji pridelki: pridobivanje in trženje. 1. izd. Brdo pri Lukovici, Čebelarska zveza Slovenije: 15–40.
- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. London, Academic Press: 79–102, 116–128.
- Molan P. C. 1996. Authenticity of honey. V: *Food authentication*. Ashurts P. R., Dennis M. J. (eds.). London, Blackie Academic & Professional; 257–303
- Nečemer M., Kump P., Rajčević M., Jačimović R., Budič B., Ponikvar M. 2003. Determination of sulfur and chlorine in fodder by X-ray fluorescence spectral analysis and comparison with other analytical methods. *Spectrochimica Acta, Part B*, 58: 1367–1373.
- Nečemer M. 2005. Optimizacija rentgenske fluorescenčne spektrometrije s totalnim odbojem za analizo sledov elementov. Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo: 64–79.
- Nečemer M., Kump P., Ščančar J., Jačimović R., Simčič J., Pelicon P., Budnar M., Jeran Z., Regvar M., Vogel-Mikuš K. 2008. Application of X-ray fluorescence analytical techniques in phytoremediation and plant biology studies. *Spectrochimica Acta, Part B*, 63: 1240–1247.
- Nečemer M., Kump P., Vogel-Mikuš K. 2011. Use x-ray fluorescence-based analytical techniques in phytoremediation. V: *Handbook of phytoremediation*. Golubev I. A. (ed.). New York, Nova Science Publishers: 331–358.

Perko D. 1998. The regionalization of Slovenia. *Geografski zbornik*, 38: 11–57.

Plestenjak A., Golob T. 2003. *Analiza kakovosti živil*. Ponatis 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 80–86.

Pravilnik o medu. 2011. Uradni list republike Slovenije, 21, 4: 345–347.

Rashed M. N., Soltan M. E. 2004. Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, 6: 725–735.

Seregin I. V., Ivanov V. B. 2001. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 48: 523–544.

Smodiš Škerl M. I. 2011. Zgradba in delovanje čebeljega telesa. V: *Čebelarjenje za vsakogar*. Kozmus P., Smodiš Škerl M. I., Nakrst M. Ljubljana, Kmečki glas: 15–34.

Taiz L., Zeiger E. 2002. *Plant physiology*. 3rd ed. Sunderland, Sinauer Associates: 68–84.

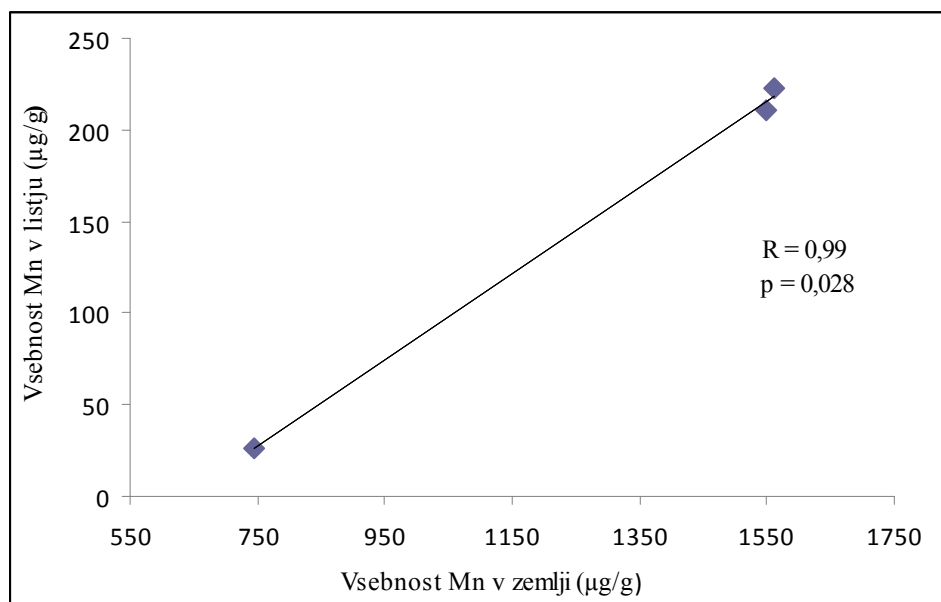
Theory, X-ray fluorescence (XRF). University of Minnesota.
<http://mxp.physics.umn.edu/s04/Projects/s04/theory.htm> (3.4.2006).

Terrab A., Gonzalez A. G., Diez M. J., Heredia F. J., 2003. Mineral content and electrical conductivity of the honeys produced in Northwest Morocco and their contribution to the characterisation of unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 637–643.

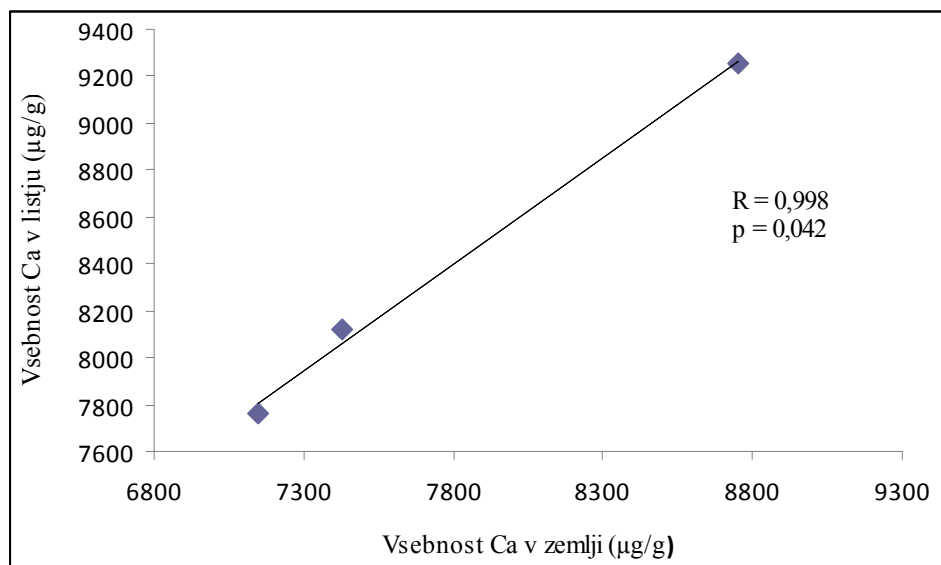
Vanhanen L. P., Emmertz A., Savage G. P. 2011. Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food Chemistry*, 128: 236–240.

ZAHVALA

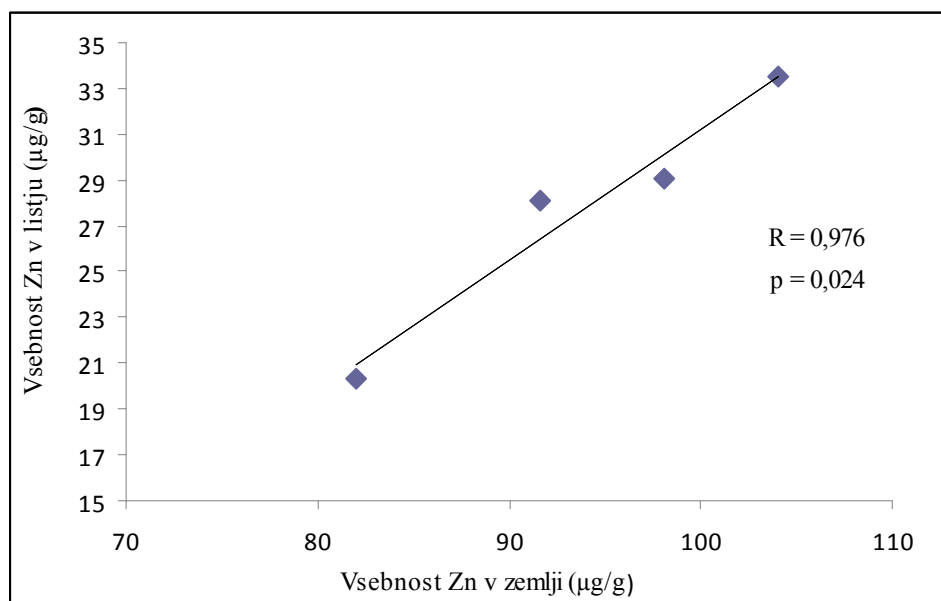
PRILOGE



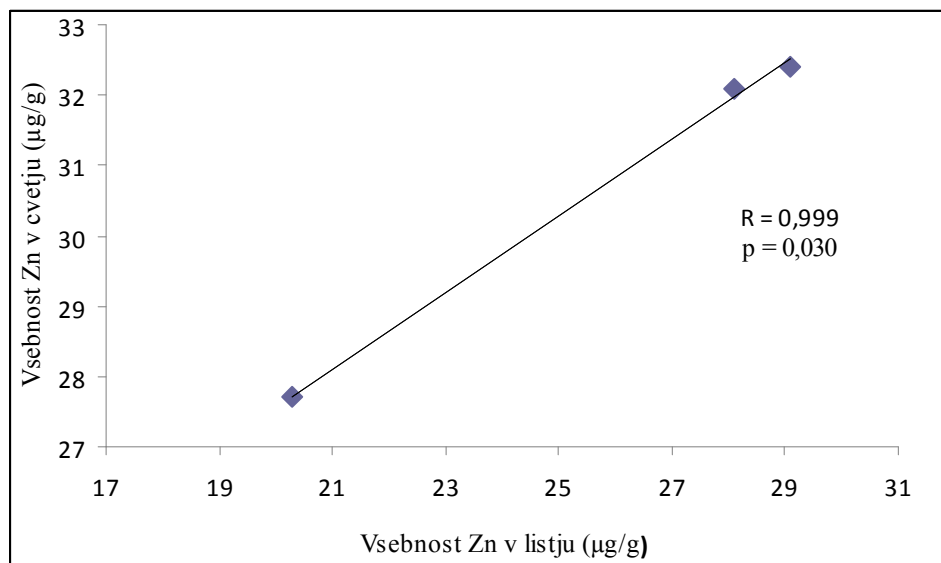
Priloga A 1: Zveza med vsebnostjo Mn v listju in zemlji na lokacijah medenja lipe, v grafu so vključeni kraji Modreje, Sužid in Kočevje



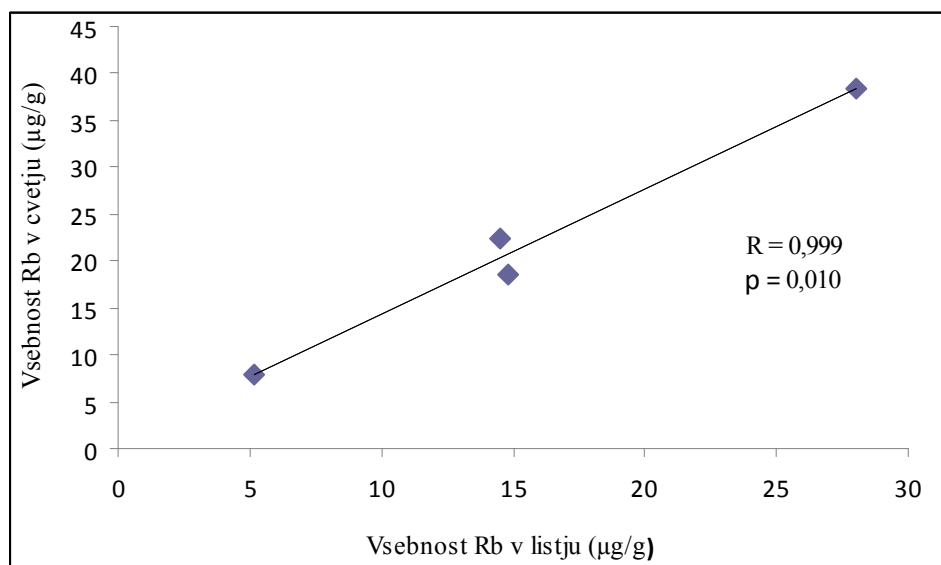
Priloga B 1: Zveza med vsebnostjo Ca v listju in zemlji na lokacijah medenja akacije, v grafu so vključene lokacije Velike Žablje, Mali Bakovci in Bogojina



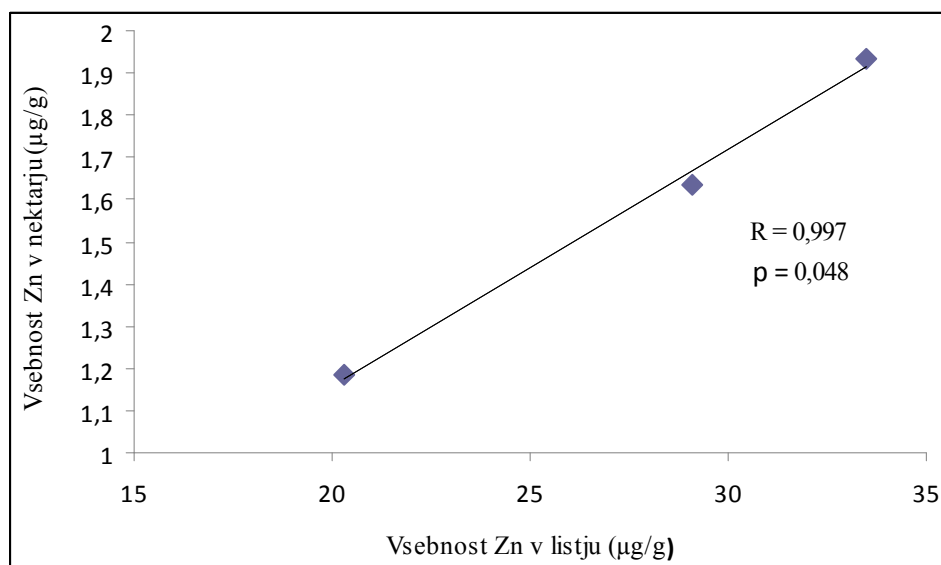
Priloga B 2: Zveza med vsebnostjo Zn v listju in zemlji na lokacijah medenja akacije, v grafu so vključeni kraji Velike Žablje, Mali Bakovci, Bogojina in Podgrad



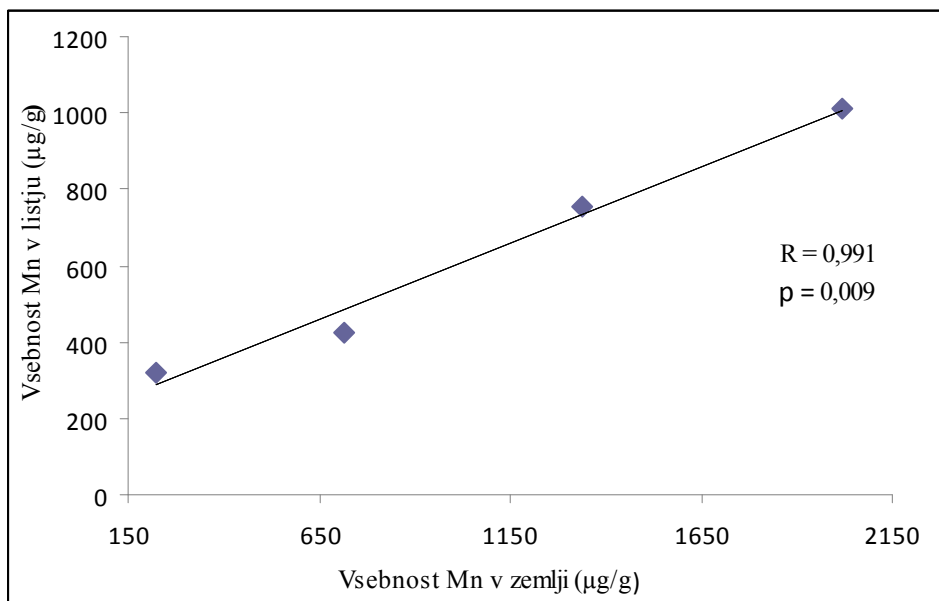
Priloga B 3: Zveza med vsebnostjo Zn v cvetju in listju akacije, v grafu so vključni kraji Mali Bakovci, Bogojina in Podgrad



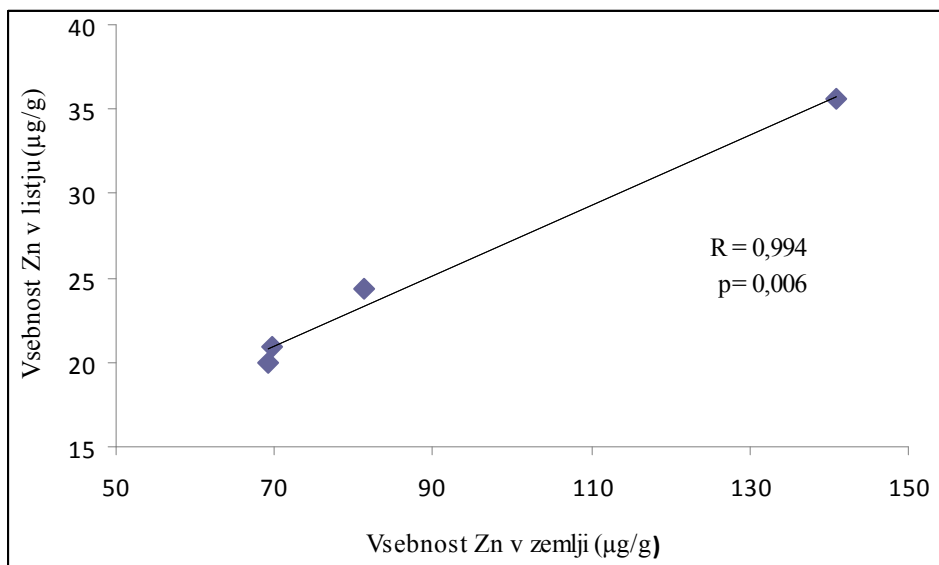
Priloga B 4: Zveza med vsebnostjo Rb v cvetju in listju akacije, v grafu so vključeni kraji Velika Žablje, Mali Bakovci, Bogojina in Podgrad



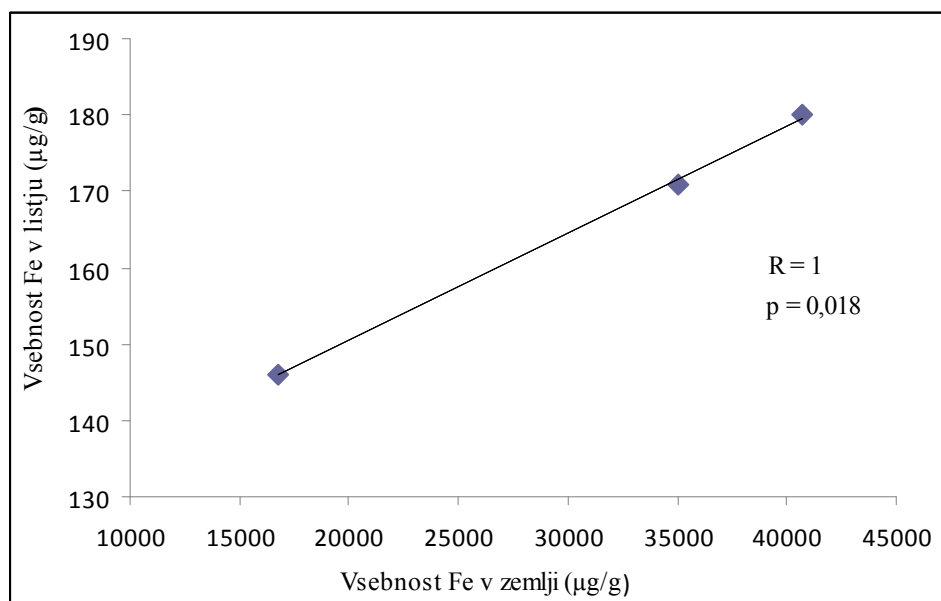
Priloga B 5: Zveza med vsebnostjo Zn v nektarju in listju akacije, v grafu so vključeni kraji Velike Žablje, Bogojina in Podgrad



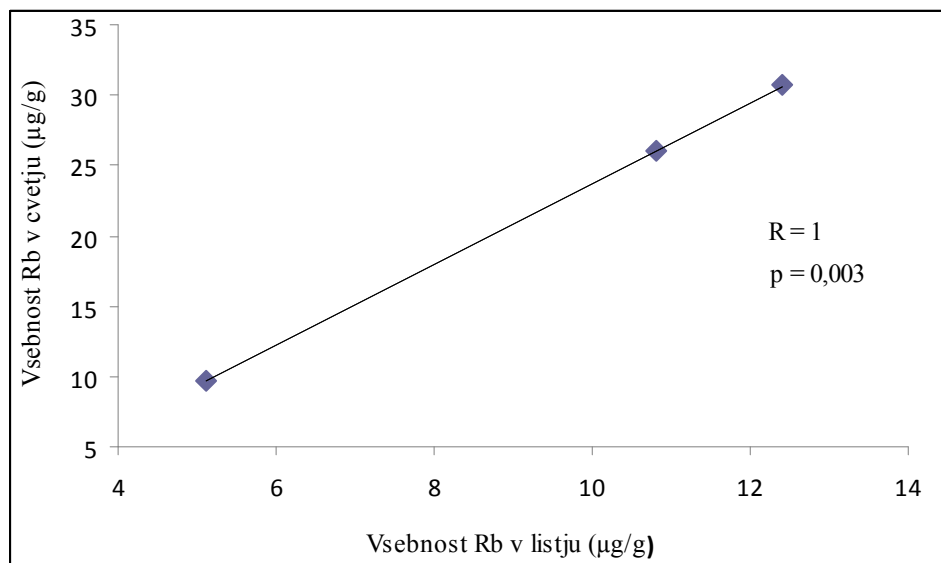
Priloga C 1: Zveza med vsebnostjo Mn v listju in zemlji na lokacijah medenja kostanja, v grafu so vključeni kraji iz leta 2010 Kresniški Vrh, Kostanjevica, Ženje in Areh



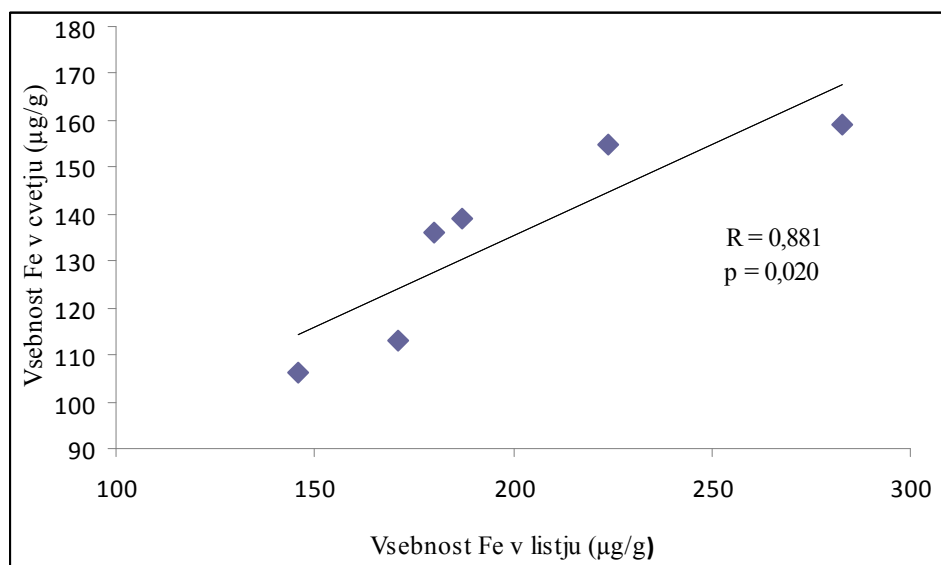
Priloga C 2: Zveza med vsebnostjo Zn v listju in zemlji na lokacijah medenja kostanja, v grafu so vključeni kraji Kresniški Vrh (2010), Kostanjevica (2010), Ženje (2010 in 2009)



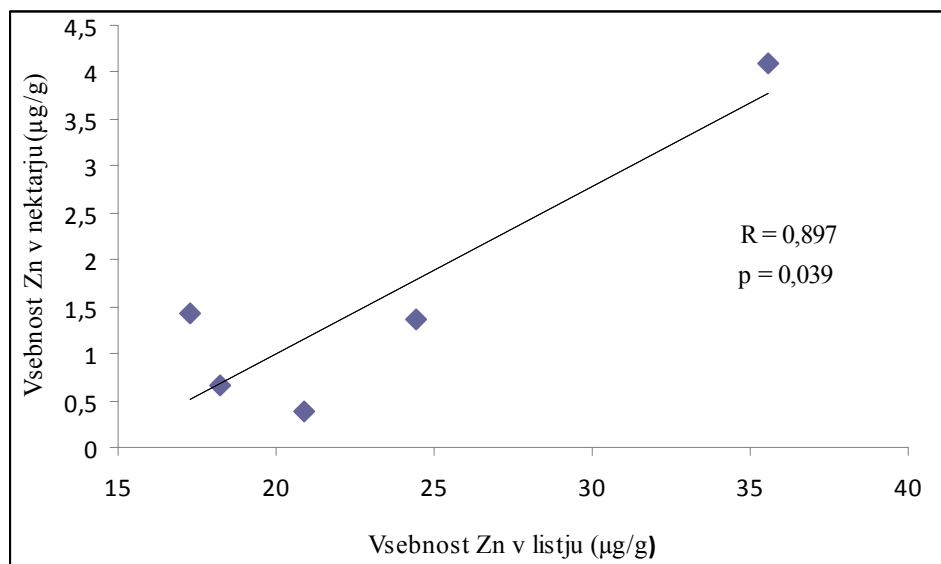
Priloga C 3: Zveza med vsebnostjo Fe v listju in zemlji na lokacijah medenja kostanja, v grafu so vključeni kraji iz leta 2010 Kresniški Vrh, Kostanjevica in Ženje



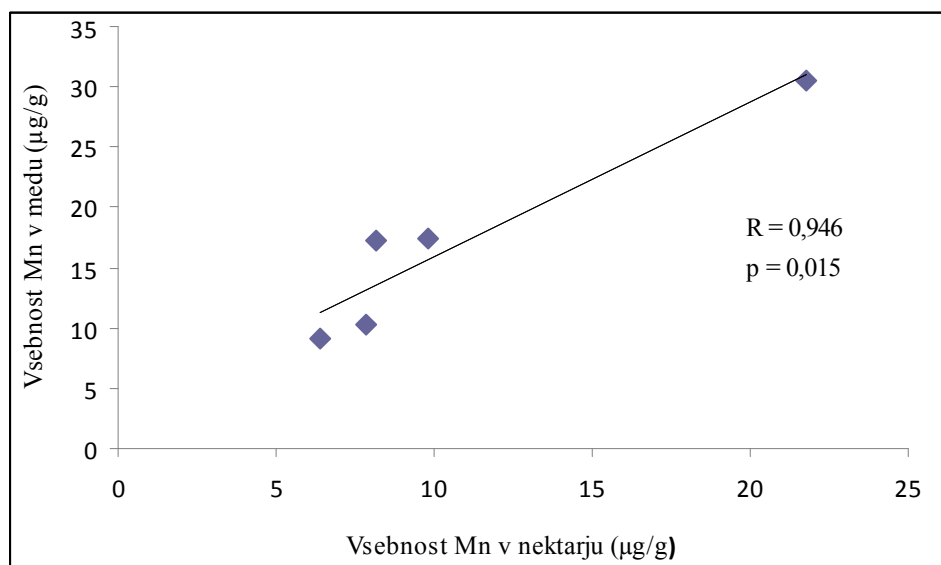
Priloga C 4: Zveza med vsebnostjo Rb v cvetju in listju kostanja, v grafu so vključeni kraji Kostanjevica (2010), Zgornje prebukovja (2010), Kostanjevica (2009)



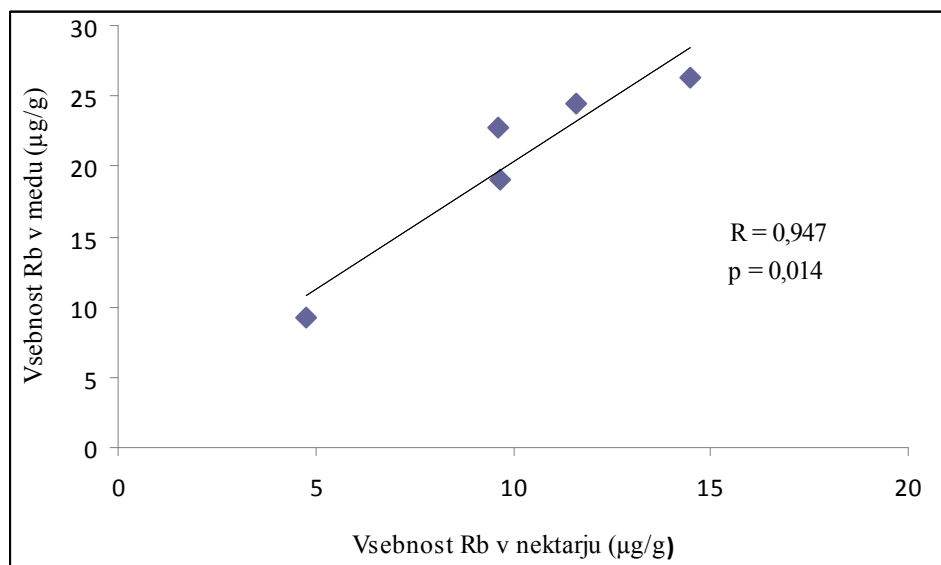
Priloga C 5: Zveza med vsebnostjo Fe v cvetju in listju na lokacijah medenja kostanja



Priloga C 6: Zveza med vsebnostjo Zn v nektarju in listju kostanja, v grafu so vključeni kraji Kostanjevica, Ženje, Zgornje Prebukovje, Areh in Ženje (2009)



Priloga C 7: Zveza med vsebnostjo Mn v medu in nektarju kostanja, v grafu so vključeni kraji vzorčenja kostanja iz leta 2010.



Priloga C 8: Zveza med vsebnostjo Rb v medu in nektarju kostanja, za vzorce pridobljene leta 2010 na območjih medenja kostanja