

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Petra KASENBURGER

**VSEBNOST SLADKORJEV TER PROSTIH IN SKUPNIH KISLIN V
RAZLIČNIH VRSTAH SLOVENSKEGA MEDU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**SUGARS, FREE AND TOTAL ACIDS CONTENT IN DIFFERENT
TYPES OF SLOVENIAN HONEY**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2006

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilstva. Opravljeno je bilo na Katedri za vrednotenje živil Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. dr. Terezijo Golob in za recenzenta doc. dr. Rajka Vidriha.

Mentorica: prof. dr. Terezija Golob

Recenzent: doc. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Petra Kasenburger

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn
DK UDK 638.16:543.61(043)=863
KG med/ kemijska sestava/ sladkorji/monosaharidi/ disaharidi/ trisaharidi/ HPAEC-PAD/ proste kisline/ laktoni/ skupne kisline
AV KASENBURGER, Petra
SA GOLOB, Terezija (mentorica) / VIDRIH, Rajko (recenzent)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2006
IN VSEBNOST SLADKORJEV TER PROSTIH IN SKUPNIH KISLIN V RAZLIČNIH VRSTAH SLOVENSKEGA MEDU
TD Diplomsko delo
OP IX, 73 str., 20 pregl., 12 sl., 76 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V 63 vzorcih štirih vrst slovenskega medu smo določili vsebnost mono-, di- in trisaharidov, laktonov ter prostih in skupnih kislin in vrednost pH. Vrste medu so bile predhodno določene s senzorično analizo. Vsebnost sladkorjev smo določali s kromatografsko metodo HPAEC-PAD, vsebnost kislin (laktoni, proste in skupne kisline) pa s titrimetrično metodo (AOAC 962.19, 1999). Dobljene rezultate smo primerjali z vrednostmi, ki jih predpisuje slovenska zakonodaja (Pravilnik o medu, 2004) in s podatki iz literature smo iskali zvezo med posameznimi parametri. Primerjava rezultatov z zahtevami slovenskega Pravilnika je pokazala, da so vsi vzorci medu ustrezali vsem predpisom (razen vsebnost invertnega sladkorja v dveh vzorcih akacijevega medu in saharoze v enem vzorcu gozdnega medu). S statistično analizo smo ugotovili, da obstajajo statistično značilne razlike ($P \leq 0,05$) v analiziranih vzorcih med naslednjimi obravnavanimi parametri: vsebnostjo glukoze, fruktoze, invertnega sladkorja, turanoze, prostih in skupnih kislin ter razmerjem F/G, medtem ko v vsebnosti ostalih parametrov ni statistično značilnih razlik. Na podlagi regresijske, korelacijske in statistične analize smo ugotovili sedem statistično močnih povezav pri stopnji tveganja 0,05. S statistično obdelanimi rezultati analiziranih parametrov lahko opredelimo, ali je med iz nektarja ali iz mane, ne moremo pa določiti vrste medu. Za slednje bi bile potrebne dodatne fizikalno-kemijske analize in pelodna analiza medu ter še večje število vzorcev.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 638.16:543.61(043)=863
CX honeys/ chemical composition/ sugars/ monosaccharides/ disaccharides/ trisaccharides/
HPAEC-PAD/ free acids/ lactones/ total acids
AU KASENBURGER, Petra
AA GOLOB, Terezija (supervisor) / VIDRIH, Rajko (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and
Technology
PY 2006
TI SUGARS, FREE AND TOTAL ACIDS CONTENT IN DIFFERENT TYPES OF
SLOVENIAN HONEY
DT graduation thesis (university studies)
NO IX, 73 p., 20 fig., 12 ann., 76 ref.
LA SL
AL sl/en
AB The content of mono-, di- and trisaccharides, lactones, free and total acids and pH
value were determined in 63 samples of four types of Slovenian honey. The botanical
origin of each sample was previously confirmed by sensory analysis. The sugar
separation and content was determined by HPAEC-PAD method, whereas the amount
of acids (lactones, free and total acids) was analyzed by titrimetric method (AOAC
962.19, 1999). The results were compared with the regulatory values of Slovenian
legislation (Pravilnik o medu, 2004) and data from the literature. Special attention was
given to possible correlation between particular parameters. The comparison of results
with the regulatory values showed that all samples of honey but three were in line with
all the regulations (the content of inverted sugar in two samples of acacia honey and
the sucrose value in one sample of forest honey). Statistical analysis showed that
statistically significant differences at $P \leq 0,05$ exist in samples within some considered
parameters: content of glucose, fructose, inverted sugar, turanose, free and total acids,
the F/G ratio whereas the rest of the parameters taken into account did not show any
statistical significant differences. The regression and correlation analysis helped only
in revealing the source of honey, but not its type. With statistically processed results of
the analysed parametrs we can determin if the honey consists of nectar or honeydew,
but the type of honey cannot be distinguished. For latter further physico-chemical
analysis and pollen analysis of a higher number of honey samples is needed.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 VRSTA MEDU	3
2.2 IZVOR MEDU	3
2.3 SESTAVA MEDU	5
2.3.1 Ogljikovi hidrati	6
2.3.2 Kisline	12
2.3.3 Encimi	14
2.4 ZNAČILNOSTI MEDU	15
2.4.1 Kristalizacija	15
2.4.2 Higroskopsnost	16
2.4.3 Optične lastnosti	16
2.5 KROMATOGRAFIJA	16
2.5.1 HPAEC-PAD kromatografija	16
2.6 POLARIMETRIČNA ANALIZA	19
3 MATERIALI IN METODE	20
3.1 MATERIAL	20
3.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE	20
3.2.1 Določanje kislosti s titrimetrično metodo (AOAC 962.19, 1999)	20
3.2.2 Določanje sladkorjev s HPAEC-PAD metodo (Nozal in sod., 2005)	21
3.2.3 Polarimetrično določanje saharoze (Plestenjak in Golob, 2000)	25
3.3 STATISTIČNA ANALIZA	26
4 REZULTATI Z RAZPRAVO	30
4.1 REZULTATI VSEBNOSTI RAZLIČNIH SLADKORJEV V MEDU	30
4.1.1 Vsebnost monosaharidov v različnih vrstah slovenskega medu po metodi HPAEC-PAD	35
4.1.2 Vsebnost disaharidov v različnih vrstah slovenskega medu po metodi HPAEC-PAD	38

4.1.3 Vsebnost trisaharidov v različnih vrstah slovenskega medu po metodi HPAEC-PAD	41
4.2 DOLOČANJE VSEBNOSTI SAHAROZE S KROMATOGRAFSKO (HPAEC-PAD) IN POLARIMETRIČNO METODO	44
4.3 REZULTATI VSEBNOSTI PROSTIH IN SKUPNIH KISLIN, LAKTONOV IN VREDNOSTI pH	45
4.4 REZULTATI STATISTIČNE ANALIZE	50
4.4.1 Levenov test homogenosti variance	50
4.4.2 Analiza variance (ANOVA)	50
4.4.3 Duncanov test	50
4.4.4 Analiza povezanosti spremenljivk	51
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	58
5.1 RAZPRAVA	58
5.2 SKLEPI	62
6 POVZETEK	64
7 VIRI	68

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Povprečne vrednosti fizikalno-kemijskih parametrov v poljskem akacijevem (nektar) in maninem medu (Popek, 2002)	4
Preglednica 2: Minimalne in maksimalne vsebnosti sestavin posameznih vrstah medu (Pravilnik o medu, 2004)	5
Preglednica 3: Sladkorji, ki so bili identificirani v medu (Doner, 2003)	7
Preglednica 4: Vsebnost različnih sladkorjev v različnih vrstah medu, različnega izvora in geografskega porekla	7
Preglednica 5: Vsebnost fruktoze, glukoze, njuna vsota in razmerje ter vsebnost saharoze v različnih sortah francoskega medu (Cotte in sod., 2004)	8
Preglednica 6: Vsebnost monosaharidov v medu glede na geografsko poreklo	9
Preglednica 7: Primerjava vsebnosti prostih in skupnih kislin, laktonov in vrednosti pH v španskem medu iz nektarja (cvetlični) in medu iz mane (Terrab in sod., 2002)	12
Preglednica 8: Vsebnost prostih in skupnih kislin ter vrednosti pH v medu glede na geografsko poreklo	14
Preglednica 9: Disociacijske konstante nekaterih tipičnih ogljikovih hidratov (v vodi pri 25 °C) (Analysis of carbohydrates by HPAE-PAD, 2000)	18
Preglednica 10: Vrste medu, število vzorcev in oznake posameznih vzorcev medu letnika 2005	20
Preglednica 11: Delovni pogoji črpalke	22
Preglednica 12: Podatki umeritvene krivulje standardnih sladkorjev	23
Preglednica 13: Vsebnost različnih sladkorjev v medu iz nektarja (akacijev in cvetlični) po metodi HPAEC-PAD z izračunanimi statističnimi parametri	32
Preglednica 14: Vsebnost različnih sladkorjev v medu iz mane (gozdni in smrekov) po metodi HPAEC-PAD z izračunanimi statističnimi parametri	33
Preglednica 15: Vsebnost saharoze (g/100 g) v medu določena s HPAEC-PAD in s polarimetrično metodo	44
Preglednica 16: Vsebnost prostih in skupnih kislin, laktonov ter vrednost pH v medu z izračunanimi statističnimi podatki	47
Preglednica 17: Duncanov test za vsebnost nekaterih sladkor, razmerje med fruktozo in glukozo, proste in skupne kisline v posamezni vrsti medu	51
Preglednica 18: Korelacijski koeficienti med analiziranimi parametri	52
Preglednica 19: Linearni regresijski modeli ter pripadajoče vrednosti R^2 in R za skupne in proste kisline	55
Preglednica 20: Linearni regresijski modeli ter pripadajoče vrednosti R^2 in R za invertni sladkor in fruktozo	56

KAZALO SLIK

Slika 1: Kromatogram standardne raztopine sladkorjev	24
Slika 2: Kromatogram vzorca medu (S 16)	25
Slika 3: Povprečne vsebnosti monosaharidov v medu glede na njegov izvor	34
Slika 4: Povprečne vsebnosti di- in trisaharidov v medu glede na njegov izvor	34
Slika 5: Vsebnost glukoze in fruktoze v akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu	36
Slika 6: Vsebnost disaharidov v akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu	38
Slika 7: Vsebnost trisaharidov v akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu	41
Slika 8: Vsebnost saharoze določena s polarimetrično metodo in HPAEC-PAD kromatografijo	45
Slika 9: Primerljivost različnih parametrov v medu glede na izvor in geografsko poreklo medu	46
Slika 10: Vsebnost laktonov, prostih in skupnih kislin v različnih vrstah analiziranega medu letnika 2005	48
Slika 11: Zveze med vsebnostjo skupnih in prostih kislin v posameznih vrstah medu	54
Slika 12: Zveza med vsebnostjo invertnega sladkorja in fruktoze v posameznih vrstah medu	56

KAZALO PRILOG

- Priloga A 1.** Vsebnost različnih sladkorjev, razmerja F/G ter vsote fruktoze in glukoze v akacijevem medu
- Priloga A 2.** Vsebnost različnih sladkorjev, razmerja F/G ter vsote fruktoze in glukoze v cvetličnem medu
- Priloga A 3.** Vsebnost različnih sladkorjev, razmerja F/G ter vsote fruktoze in glukoze v gozdnem medu
- Priloga A 4.** Vsebnost različnih sladkorjev, razmerja F/G ter vsote fruktoze in glukoze v smrekovem medu
- Priloga A 5.** Kromatogram za akacijev vzorec medu številka 26
- Priloga A 6.** Kromatogram za cvetlični vzorec medu številka 20
- Priloga A 7.** Kromatogram za gozdni vzorec medu številka 30
- Priloga A 8.** Kromatogram za smrekov vzorec medu številka 25
- Priloga B.** Vsebnost saharoze v štirih vrstah medu dobljena s polarimetrično metodo
- Priloga C 1.** Vrednost pH in vsebnost laktonov ter prostih in skupnih kislin v akacijevem medu
- Priloga C 2.** Vrednost pH in vsebnost laktonov ter prostih in skupnih kislin v cvetličnem medu
- Priloga C 3.** Vrednost pH in vsebnost laktonov ter prostih in skupnih kislin v gozdnem medu
- Priloga C 4.** Vrednost pH in vsebnost laktonov ter prostih in skupnih kislin v smrekovem medu

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ANOVA	analiza varianca (ang. analysis of variance)
E	električni potencial (mV)
FA	proste kisline
F/G	razmerje med fruktozo in glukozo
F+G	vsota fruktoze in glukoze, tj. invertni oz. reducirajoč sladkor
HPAEC-PAD	anionsko izmenjevalna tekočinska kromatografija visoke zmogljivosti s pulzno amperometrično detekcijo (ang. high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection)
interval	najmanjša in največja vrednost
KV	koeficient variabilnosti
LA	laktoni
meq/kg	enota za kislost, miliekvivalet na kilogram
n	število statističnih enot
nC	nano coulomb
psi	enota za tlak
R	Pearsonov koeficient korelacije
R ²	koeficient determinacije
SD	standardna deviacija
TA	skupne kisline
\bar{x}	povprečna vrednost
\bar{x}_m	povprečje vrednosti za med iz mane
\bar{x}_n	povprečje vrednosti za med iz nektarja

1 UVOD

Med je gosto tekoč ali kristaliziran produkt, ki ga proizvajajo čebele. Zagotovo je najpogostejši in tudi najbolj dostopen čebelji produkt. Čebele prinesejo nektar ali mano v panj, kjer mlade čebele prinesene kapljice deloma izsušijo, da se izloči odvečna voda. Pri zgoščanju medu čebele večkrat izbljuvajo kapljico medičine, da se suši na zraku in jo nato spet pogoltnjejo, obenem pa vanjo dodajo številne encime, ki spremenijo sladkorno sestavo medičine. Tako predelano medičino, ki se ji pravi med, čebele shranijo v celicah satja. Tu se nadaljuje zorenje medu. Do vrha napolnjene celice satja čebele pokrijejo z voščenimi pokrovcami (Bajc, 2004; Božnar in Senegačnik, 1998).

Med je naravno živilo in odlični naravni nadomestek sladkorja, ki poleg enostavnih sladkorjev (fruktoza in glukoza), vsebuje še manjši del saharoze in druge sestavljene sladkorje (maltoza, turanoza, melibioza, izomaltoza, maltotrioza, melecitoza, rafinoza, erloza, panoza, gentibioza, izomaltotrioza in drugi). Med njimi je najpogostejša melecitoza, ki je sestavni del maninih medov. Poleg že navedenih snovi med vsebuje še druge snovi, kot so organske kisline, aminokisline, beljakovine, encimi, voda, vitamini, dušikove spojine, barvila, minerali, trdni delci itd. Vsebnost kislin (prostih in skupnih) in vrednost pH sta odvisni predvsem od procesa in pogojev nastajanja medu. Vsebnosti posameznih sladkorjev in razmerja med njimi pa so odvisni od botaničnega porekla, sestave nektarja oziroma mane, klimatskih razmer in vrste čebel. Vrste, vsebnosti in razmerja sladkorjev določajo fizikalno kemijske lastnosti medu. Skupna vsebnost fruktoze in glukoze ter razmerje med njima sta tipična za posamezno vrsto medu.

1.1 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je bil na čim večjem številu vzorcev medu izmeriti vrednost pH in analizirati vsebnost prostih in skupnih kislin ter laktonov s titrimetrično metodo (AOAC 962.19, 1999). Dobljene rezultate smo primerjali z vrednostmi, ki jih predpisuje slovenska zakonodaja (Pravilnik o medu, 2004). Vsebnost sladkorjev smo določali z metodo HPAEC-PAD, vsebnost saharoze pa smo dodatno določili tudi polarimetrično. V analizo smo vključili štiri vrste medu. Rezultate smo primerjali med seboj, s podatki iz literature in iskali zveze med posameznimi parametri.

Delovna hipoteza:

Glede na slovenski Pravilnik o medu (2004) smo lahko predpostavili, da proste kisline v različnih vrstah medu ne bodo presegale 50 meq/kg. Predvidevali smo, da bo znašala vsebnost fruktoze in glukoze v medovih iz nektarja najmanj 60 g/100 g, v medovih iz mane pa najmanj 45 g/100 g (Pravilnik o medu, 2004) ter saharoze ne bo več kot 5 g/100 g oziroma 10 g/100 g v akacijevem medu. Pričakovali smo, da bodo vsebnosti kislin in sladkorjev ter razmerja med sladkorji v posameznih vrstah medu karakteristična za posamezno vrsto.

2 PREGLED OBJAV

2.1 VRSTA MEDU

Med je naravno sladko živilo, ki ga izdelajo čebele *Apis mellifera* iz nektarja cvetov, izločkov iz živih delov rastlin oziroma izločkov na živih delih rastlin. Čebele le-te zberejo, predelajo, premešajo z določenimi lastnimi snovmi (encimi), ga shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v pokritih celicah satja (Pravilnik o medu, 2004). Med je lahko tekoč, viskozen ali kristaliziran (Božnar, 2003).

Različne vrste medu so dobile ime po rastlinah, na katerih čebele nabirajo nektar oziroma mano (Plestenjak, 1999). Med se loči po geografskem in botaničnem izvoru, po načinu pridobivanja in letnem času, v katerem je bil pridobljen (Hermosín, 2003; Ojeda de Rodriguez in sod., 2004). Sortni med mora imeti značilen okus, vonj in barvo, vsebovati mora večino cvetnega prahu tiste vrste rastline, kateri pripada (Council Directive, 2001). V Sloveniji pridelujemo po navedbah Božnarja in Senegačnika (1998), naslednje sorte medu: ajdovega, akacijevga, cvetličnega, gozdnega, hojevega, kostanjevega, lipovega, smrekovega, škržatovega in žajbljevega. Ti medovi so različno obarvani, od svetlorumene do rumenkastorjave, različne viskoznosti, vonja, okusa in arome.

2.2 IZVOR MEDU

Delitev medu glede na izvor in način pridobivanja:

- (a) izvor medu (Da Costa Leite in sod., 2000; Pravilnik o medu, 2004):
 - (i.) cvetlični med ali nektar ali medicina, ki je pridobljen predvsem iz nektarja cvetov,
 - (ii.) gozdni med ali med iz mane, ki je pridobljen predvsem iz izločkov insektov na živih delih rastlin ali izločkov živih delov rastlin.

- (b) način pridobivanja medu (Pravilnik o medu, 2004):
 - (iii.) med v satju; čebele hranijo v novo zgrajenem satju brez zalege ali v tankih ploščah satja iz čistega čebeljega voska, in se daje v promet v celih pokritih satih ali kot del teh satov,
 - (iv.) med s satjem ali deli satja v medu,
 - (v.) samotok; med pridobljen z iztekanjem iz odkritih satov brez zalege,
 - (vi.) točeni med; pridobljen s centrifugiranjem odkritih satov brez zalege,
 - (vii.) prešani med; pridobljen s stiskanjem satov brez zalege, z ali brez uporabe toplote,
 - (viii.) filtrirani med; odstranjevanje tujih organskih in anorganskih primesi ima za posledico odstranitev znatnega dela cvetnega prahu.

Označbe, ki se nanašajo na izvor medu v prometu, je dovoljeno dopolniti z navedbo določenih cvetov ali rastlin, če med izhaja pretežno iz navedenega botaničnega izvora in ima ustrezne fizikalne, kemijske, mikroskopske in senzorične lastnosti. Tak med imenujemo sortni med, npr. akacijev, kostanjev, žajbljev... (Pravilnik o medu, 2004; Plestenjak, 1999).

Med iz nektarja ali cvetlični med pridelajo čebele iz nektarja cvetov različnih cvetlic, zaradi tega je njegova sestava različna. Cvetovi rastlin, ki jih oprahujejo žuželke, imajo posebne žleze, imenovane medovniki ali nektarji. Ti izločajo sladko, dišečo tekočino (nektar), s katero privabljajo oprahujevalce. Nektar je od 5 do 40 % vodna raztopina sladkorja (Gregorc, 2002). Slovenski cvetlični medovi imajo različno barvo, vonj in okus. Med, nabran na travniških cvetlicah in drugih cvetočih rastlinah, se imenuje mešani cvetlični ali travniški med. Med nektarne medove štejemo akacijevga, ajdovega, cvetličnega itd. (Božnar, 2003; Božnar in Senegačnik, 1998). Cvetlični med ima vonj in aromo cvetlice, iz katere izhaja, saj vsebuje precej cvetnega prahu. Barva je običajno svetlejša, kislost in vsebnost vode večja in okus slajši kot pri medu iz mane. Zelo majhen delež predstavljajo mineralne snovi, beljakovine (manj kot 0,2 %), eterična olja in posamezna zrnca cvetnega prahu (Bajc, 2004; Božnar, 1999; Gregorc, 2002).

Med iz mane ali gozdni med pridelajo čebele iz mane, ki jo izločajo kljunate žuželke (listne uši, kaparji, škržati). Te se hranijo s floemskimi sokovi na iglavcih in listavcih. Žuželčje telo vsrka predvsem sladkorje, preostanek pa izloči v obliki sladke kapljice – mana. Če so čebele nabrale mano pretežno na eni drevesni vrsti in ima med okus in vonj značilen za to rastlinsko vrsto, potem govorimo o sortnem medu. Sem spadata smrekov in hojev med (Božnar in Senegačnik, 1998; Pravilnik o medu, 2004; Sanz in sod., 2005). Manin med je temnejši od nektarjevega, bolj moten in adheziven, ima višjo vrednost pH, vsebuje več rudninskih snovi (kalij, magnezij in fosfor), saharoze, maltoze in različnih sladkorjev, aminokislin, amidov, encimov, vitamina C (Bajc, 2004; Božnar, 2003; Božnar, 1999).

Preglednica 1: Povprečne vrednosti fizikalno-kemijskih parametrov v poljskem akacijevem (nektar) in maninem medu (Popek, 2002)

Parametri	Med in njegov izvor	
	med iz nektarja	med iz mane
elektrolitska prevodnost (mS/cm)	2,19	9,97
pepel (%)	0,10	0,56
voda (%)	17,68	16,10
pH	3,75	4,24
kislost (meq/kg)	1,38	3,53
skupni sladkorji (g/100 g)	84,02	73,19
reducirajoči sladkorji (g/100 g)	77,28	69,07
saharoza (g/100 g)	6,13	3,89
viskoznost (mPas)	1,75	1,59

Primerjava povprečnih vrednosti sestave medu iz nektarja in mane prikazuje, da manin med vsebuje manj reducirajočih sladkorjev (glukoze in fruktoze), vendar ima zato več oligosaharidov, predvsem melecitoze in erloze (Földházi, 1994). Več pepela vsebuje med iz mane (Downey in sod., 2005). Sanz in sod. (2005) ter Soria in sod. (2004) še dodajajo, da ima med iz nektarja manj kislin, polifenolov, manjšo elektrolitsko prevodnost ter je svetlejšje barve.

2.3 SESTAVA MEDU

Sestava medu je po Whiteu (White, 1978) splet vplivov okolja, klime, botaničnega izvora in sposobnosti čebelarja, medtem ko so fizikalno-kemijske lastnosti odvisne od nektarja ali mane rastline. Posledica tega je pester spekter barv, arome, različne vsebnosti vode, ogljikovih hidratov in proteinov. Vrsta, količina in razmerje ogljikovih hidratov določajo fizikalno-kemijske lastnosti medu.

Ojeda de Rodríguez s sodelavci (2004) trdi, da je med ena najbolj kompleksnih mešanic ogljikovih hidratov in drugih komponent proizvedenih v naravi, s čimer se strinjata tudi Swallow in Low (1990).

Kemijske analize medu so se v zadnjih letih izjemno razvile. Na sodobnih aparataturah dajejo kvalitativne in kvantitativne podatke o medu, na osnovi katerih lahko zakonodajalec (EU, država) postavlja precej stroge pogoje glede kakovosti medu za prodajo. Ti pogoji so prikazani v preglednici 2. Slovenski Pravilnik o medu (2004) je usklajen z evropsko zakonodajo (Council Directive, 2001).

Preglednica 2: Minimalne in maksimalne vsebnosti sestavin posameznih vrstah medu (Pravilnik o medu, 2004)

Parameter	Vrsta medu	Vrednost	
		minimalna	maksimalna
fruktoza in glukoza (vsota)	cvetlični	60 g/100 g	
	gozdni, mešanica gozdnega in cvetličnega	45 g/100 g	
saharoza	splošno		5 g/100 g
	akacijev		10 g/100 g
voda	splošno		20 %
v vodi netopne snovi	splošno		0,1 %
elektrolitska prevodnost	nektarjev		0,8 mS/cm
	manin	0,8 mS/cm	
proste kisline	splošno		50 meq/kg
diastazno število	splošno	8	
HFM	splošno		40 mg/kg

Po navedbah nekaterih naj bi med vseboval več kot 200 različnih komponent (White, 1978). Glavne sestavine medu so ogljikovi hidrati (75-80 %), voda (17 %), organske kisline (0,1-1 %), mineralne snovi (0,1-1,5 %) in aminokisline (0,2-2 %) (Božnar, 2003). Poleg opisanih sestavin medu mnogo avtorjev (Anklam, 1998; Božnar, 2003; Cordella in sod., 2003; Council Directive, 2001; Doner, 2003; White, 1978) navaja prisotnost encimov, peloda, voska, flavonoidov, fenolnih komponent, aromatičnih snovi, lipidov, vitaminov (vitamin B₁, B₂ in C), terpenov, mineralov, pigmentov in proteinov.

2.3.1 Ogljikovi hidrati

Ogljikovi hidrati so ene izmed osnovnih komponent in najbolj razširjene organske spojine na zemlji ter prav tako sestavni del vseh živih bitij. Sestavljeni so iz ogljika, vodika in kisika. Ogljikovi hidrati so polihidroksi aldehydne ali ketonske molekule s splošno formulo (CH₂O)_n (Nelson in Cox, 2000; Stylianopoulos, 2005). So pomemben vir energije, potrebne za normalno delovanje celic. Poleg tega so pomembni gradniki, saj se v živi celici posredno ali neposredno razgradijo in iz nje nastanejo druge organske sestavine (Esti in sod., 1997; Klofutar, 1993; Nelson in Cox, 2000; Stylianopoulos, 2005; Tišler, 1991).

Organizacija za Prehrano in Kmetijstvo (FAO - Food and Agriculture Organization) in Svetovna Zdravstvena Organizacija (WHO - World Health Organization) sta se na konferenci o ogljikovih hidratih dogovorili, da beseda sladkor opisuje monosaharide in disaharide (Stylianopoulos, 2005).

Ogljikovi hidrati, ki jih vsebuje med, spadajo med enostavno zgrajene ogljikove hidrate. Ti so odgovorni za fizikalno-kemijske lastnosti, kot so viskoznost, kristalizacija in higroskopnost (Cavia in sod., 2002). Količina in razmerje med različnimi ogljikovimi hidrati v medu sta odvisna predvsem od botaničnega porekla, encimov, sestave in intenzivnosti izločanja nektarja, od klimatskih razmer, vrste čebel, fiziološkega stanja ter nenazadnje od moči čebelje družine (Cotte in sod., 2004; Esti in sod., 1997; Nanda in sod., 2003).

Ogljikove hidrate razvrščamo v štiri skupine, ki temeljijo na njihovi kemični strukturi in stopnji polimerizacije (Stylianopoulos, 2005):

- monosaharide,
- disaharide,
- oligosaharide,
- polisaharide.

Preglednica 3: Sladkorji, ki so bili identificirani v medu (Doner, 2003)

Monosaharidi	Disaharidi	Trisaharidi	Višji saharidi
fruktoza	saharoza	melecitoza	izomaltotrehaloza
glukoza	maltoza	maltotrioza	izomaltopentaoza
	maltuloza	izomaltotrioza	
	izomaltoza	3- α -izomaltozil glukoza	
	nigeroza	1-kestoza	
	turanoza	panoza	
	kojibioza	izopanoza	
	laminaribioza	erloza	
	α , β – trehaloza	teanderoza	
	gentibioza	centoza	
	palatinoza	laminaritrioza	
	celibioza	rafinoza	

Spodnja preglednica 4, kaže na večjo povprečno vsebnost monosaharidov v medu iz nektarja, disaharidov in trisaharidov pa je več v medu iz mane.

Doner (2003) pojasnjuje nastanek nekaterih sladkorjev kot posledico delovanja čebeljih encimov med procesom nastajanja medu. Nadalje trdi tudi, da so kisline v medu odgovorne za nastanek nekaterih sladkorjev.

Preglednica 4: Vsebnost različnih sladkorjev v različnih vrstah medu, različnega izvora in geografskega porekla

		Sladkorji (g/100 g)	Izvor medu			
			med iz nektarja		med iz mane	
			cvetlični (Nozal in sod., 2005)	akacijev (Cotte in sod., 2003)	gozdni (Nozal in sod., 2005)	kostanjev (Cotte in sod., 2003)
Število monosaharidnih enot	1	fruktoza	36,3	43,9	38,1	40,7
		glukoza	35,5	26,3	33,6	26,5
	2	saharoza	2,4	2,0	3,5	0,2
		turanoza	22,0	2,9	20,0	2,8
		nigeroza	12,2	–	16,8	–
		izomaltoza	13,6	0,9	16,4	1,8
		maltoza	10,4	2,6	13,3	1,5
		trehaloza	2,5	1,5	7,3	2,0
		gentibioza	1,2	0,03	2,0	0,2
	3	erloza	7,8	1,9	10,8	0,2
		panoza	3,5	0,2	4,2	0,2
		melecitoza	1,8	0,1	24,7	0,2
		maltotrioza	2,5	0,4	3,2	0,2
			izomaltotrioza	3,7	–	2,1

2.3.1.1 Monosaharidi

Monosaharidi ali preprosti sladkorji so najpreprostejša oblika ogljikovih hidratov in se ne morejo hidrolizirati v manjše enote. To so spojine z dvema do šestimi ogljikovimi atomi, eno karbonilno (C=O) in več hidroksilnimi (OH) skupinami. Tvorijo lahko pet ali šest členske obročje. Monosaharidi so derivati aldehydov ali ketonov, to je tudi njihova delitev glede na naravo karbonilne skupine. Aldoze so polihidroksialdehydi in ketoze polihidroksiketoni. So brezbarvne kristalinične spojine sladkega okusa, topne v vodi, težko topne v alkoholu in netopne v etru (Klofutar in sod., 1998; Klofutar, 1993; Nelson in Cox, 2000; Stylianopoulos, 2005; Tišler, 1991). S kemičnega in biološkega vidika so najpomembnejše heksoze in pentoze sestavni deli polisaharidov (Stylianopoulos, 2005).

Večina vrst medu je sestavljena predvsem iz monosaharidov in sicer fruktoze in glukoze. Mešanica glukoze in fruktoze se imenuje invertni ali reducirajoči sladkor in skupaj predstavlja od 85-95 % vseh ogljikovih hidratov v medu (Finola in sod., 2006; Božnar in Senegačnik, 1998). Esti in sodelavci (1997) trdijo, da je spodnja meja vsebnosti reducirajočih sladkorjev 65 g/100 g.

Fruktoza ali D(-) fruktoza je monosaharid iz šestih ogljikovih atomov, je ketoheksoza in je furanozne oblike. Med je vsebuje v povprečju okrog 40 %. Je zelo higroskopična, dobro topna v vodi in ne kristalizira hitro. Fruktoza suče ravnino polarizirane svetlobe v levo (Aurand in sod., 1987; Božnar in Senegačnik, 1998; Johnson, 1993).

Glukoza ali D(+) glukoza (dekstroza) je monosaharid iz šestih ogljikovih atomov, je aldoheksoza in je piranozne oblike. Med je vsebuje povprečno 34 %. Glukoza je slabše topna v vodi. Stabilna kristalna oblika je α -D glukoza monohidrat, ki kristalizira pri temperaturah nižjih od 50 °C. Viskoznost raztopine glukoze narašča s koncentracijo in pada s temperaturo. Glukoza suče ravnino polarizirane svetlobe v desno (Aurand in sod., 1987; Božnar in Senegačnik, 1998; Scott, 1993).

Preglednica 5: Vsebnost fruktoze, glukoze, njuna vsota in razmerje ter vsebnost saharoze v različnih sortah francoskega medu (Cotte in sod., 2004)

Parameter (g/100 g)	Vrsta medu				
	akacijev	kostanjev	hojev	sivkin	sončničen
fruktoza	43,9	40,7	38,2	38,5	40
glukoza	26,3	26,5	32,7	32,3	37,9
invertni sladkor	70,2	67,5	70,9	70,8	77,9
F/G	1,7	1,5	1,2	1,2	1,1
saharosa	2,0	0,2	0,5	4,7	0,1

Batsoulis in sodelavci (2005) navajajo naslednje vsebnosti glukoze in fruktoze v grškem medu: 27-44 % fruktoze in 22-38 % glukoze v medovih iz nektarja ter 29-38 % fruktoze in

19-32 % glukoze v medovih iz mane. V povprečju znaša vsebnost invertnega sladkorja v medu iz nektarja 65,5 % in 59 % v medu iz mane. Sklepamo lahko, da medovi iz mane vsebujejo manj invertnega sladkorja kot medovi iz nektarja, kar je razvidno tudi v slovenskem Pravilniku (2004).

Razmerje med fruktozo in glukozo je karakteristično za posamezno sorto medu, zaradi različne vsebnosti invertnega sladkorja. Anklam (1998) trdi, da je v veliki meri odvisno od botaničnega izvora. Običajno velja, da je v medu več fruktoze kot glukoze. Izjema so ogrščni, regratov in bršljanov med (Božnar in Senegačnik, 1998; Cavia in sod., 2002).

Ojeda de Rodríguez in sod. (2004) ter White (1980) navajajo povprečno vrednost razmerja med fruktozo in glukozo (F/G) 1,2. Finola in sod. (2006) pa poročajo o nekoliko višjem deležu, 1,3. Kot vzrok navajajo sortnost in večjo aromatičnost medu (fruktoza je bolj sladka od glukoze). Vsi, Finola in sod. (2006), Ojeda de Rodríguez in sod. (2004) ter White in Doner (1980), trdijo, da razmerje F/G vpliva na hitrost kristalizacije medu. Večje kot je razmerje več fruktoze vsebuje med glede na glukozo, torej bo stopnja kristalizacije manjša. Tak med bo ostal dlje časa tekoč. Vzrok temu je, da se glukozo slabše topi v vodi kot fruktoza.

Preglednica 6: Vsebnost monosaharidov v medu glede na geografsko poreklo

Parameter (g/100 g)	Geografsko poreklo medu				
	argentinski (Finola in sod., 2006)	italijanski (Esti in sod., 1997)	slovenski (Golob in Plestenjak, 1999)	španski (Sanz in sod., 2005)	venezuelski (Ojeda de Rodríguez in sod., 2004)
fruktoza	41,1	40,6	40,3	35,8	40,5
glukoza	31,7	33,5	29,5	29,7	34,7
F + G	72,8	74,1	69,7	65,5	75,2
F/G	1,29	1,21	1,37	1,2	1,17
saharoza	–	1,09	1,69	–	3,41

– podatek ni naveden; podatki za argentinski med so izračunani kot povprečje cvetličnih vrst medu; podatki za italijanski med so 75 % cvetlične vrste; podatki slovenskega medu so povprečje akacijevega, cvetličnega, gozdnega, hojevega, kostanjevega in lipovega medu; podatki za španski med so povprečje cvetličnega, akacijevega, maninega ter mešanih medov; venezuelski med je povprečje petih vrst medov (*Citrullus vulgaris*, *Curcubita maxima*, *Achras sapota*, *Passiflora* sp. *Annona muricaria*, *Persea americana*).

Iz preglednic 4, 5 in 6 je razvidno, da je razmerje F/G tem večje, čim večja je vsebnost fruktoze glede na glukozo. Večje razmerje F/G vpliva na manjšo stopnjo kristalizacije. Iz istih preglednic lahko sklepamo, da bo francoski med ostal najdlje tekoč, sledi slovenski. Med različnimi sortami medu pa akacijev in kostanjev.

Golob in Plestenjak (1999a) navajata, da sta s fruktozo bogata akacijev in kostanjev med, kjer je razmerje F/G 1,5 za akacijev in 1,42 za kostanjev. Sledijo gozdni (1,31), cvetlični (1,29), mešani (1,26), lipov (1,24) in hojev (1,24).

2.3.1.2 Disaharidi

Ta skupina ogljikovih hidratov je sestavljena iz dveh monosaharidov povezanih z glikozidno vezjo, ki poteka od enega ogljikovega atoma monosaharida na enega od ogljikovih atomov drugega monosaharida. Najpogostejši glikozidni vezi sta 1-2 in 1-4 (Stylianopoulos, 2005; Tišler, 1991). V medu se nahajajo disaharidi naštetih v preglednici 3. Najpomembnejša in najbolj zastopana disaharida sta saharoza in maltoza.

Saharoza je disaharid, ki je sestavljen iz dveh različnih fragmentov, in sicer glukoze in fruktoze, D-glukopiranoze in D-fruktofuranoze. Povezani sta z α , β -1,2- glikozidno vezjo med ogljikovim atomom C1 v D-glukozi in ogljikovim atomom C2 v D-fruktozi. Saharoza je dobro topna v vodi, topnost narašča s temperaturo. Zanj je značilno, da je optično aktivna, desnosučna spojina ter prijetnega okusa celo pri večjih koncentracijah. Pod vplivom čebeljega encima saharaze in vode se razgradi do glukoze in fruktoze, zato je njena vsebnost v medu majhna, v povprečju pod 5 g/100 g. Slovenski pravilnik (2004) dovoljuje v medu iz nektarja do 5 % saharoze. Izjeme so akacijev, sivkin in manin med, kjer je dovoljeno do 10 g/100 g saharoze. Povečane koncentracije saharoze nakazujejo na potvorbo medu (Anklam, 1998; Brand-Miller, 2005; Božnar in Senegačnik, 1998; Klofutar, 1993). Količina saharoze se lahko zmanjša med skladiščenjem medu pri višji temperaturi zaradi prisotnosti encima invertaze, ki bo saharozo konvertirala v fruktozo in glukozo (White, 1992). Večja količina saharoze je zaznana, če so bile čebele spomladi preveč nahranjene s sladkorji (Anklam, 1998).

Maltoza je disaharid sestavljen iz dveh molekul glukoz, ki sta med seboj povezani z α -1,4-glikozidno vezjo (prva glukoza je preko mesta α vezana na drugo glukozo na mestu 4). Je dobro topna v vodi in najbolj zastopan disaharid v medu poleg saharoze (Aurand in sod., 1987). Vsebnost maltoze se spreminja glede na geografsko poreklo. V brazilskih medovih so jo našli 3,05 % (Da Costa Leite in sod., 2000), madžarskih 3,36 % (Földházi, 1994), španskih 9,7 % (Nozal in sod., 2005), kanadskih 1,01 % (Swallow in Low, 1990) in ameriških 7,31 % (Doner, 1977). Slednji podatki so izračunani kot povprečje velikega števila vzorcev medu različnih vrst.

Palatinozo sestavlja glukozna enota, ki se preko mesta α veže na mesto 6 v fruktozni enoti (Swallow in Low, 1990). Turanoza je disaharid sestavljen iz glukozne in fruktozne enote, ki sta med seboj povezani z glikozidno vezjo (glukoza je preko mesta α vezana na fruktozo na mestu 3) (Da Costa Leite in sod., 2000). Gentibioza je disaharid sestavljen iz dveh molekul glukoze, kjer se prva glukoza poveže preko mesta β na drugo glukozo na mestu 6 (Swallow in Low, 1990). Izomaltoza je sestavljena prav tako kot gentibioza iz dveh molekul glukoze, le da se tukaj prva glukoza veže na drugo preko mesta α (Swallow in Low, 1990).

2.3.1.3 Oligosaharidi

Sestavljeni so iz verig s kovalentno povezavo od treh do devetih monosaharidnih enot. Delimo jih na trioze, tetroze, pentoze itd., odvisno od števila ogljikovih atomov v molekuli (Stylianopoulos, 2005). Intenziteta okusa oligosaharidov se zmanjšuje z naraščajočo molsko maso oligosaharida (Belitz in Grosch, 1999).

V medu se nahaja večina oligosaharidov, naštetih v preglednici 3, v obliki trisaharidov. V brazilskem medu je največji delež trisaharidov v obliki maltotrioze, 0,79 %, in melecitoze, 0,33 %, (Da Costa Leite in sod., 2000), v kanadskih je največ erloze, 2,63 %, in maltotrioze, 0,07 %, (Swallow in Low, 1990), prav tako je tudi v francoskih največ erloze, 1,17 %, in maltotrioze, 0,26 %, (Cotte in sod., 2003).

Melecitoza je trisaharid, v katerem fruktoza na vsaki strani veže molekulo glukoze: glukoza-fruktoza-glukoza. V vodi se raztaplja precej slabše kot glukoza, zato hitro kristalizira. To in večja molekulska teža melecitoze v primerjavi z drugimi sladkorji sta vzrok, da se iz iztočenega medu izloča na dno posode v obliki belih kristalov. Pri blagi hidrolizi razpade v glukozo in turanozo (tako imenovano izomero saharoze). Medovi z melecitozo so večinoma desnosučni (Božnar in Senegačnik, 1998). V brazilskih medovih (Da Costa Leite in sod., 2000) so jo našli 0,21-0,37 %, kar je več kot v kanadskih 0,04 %, in bistveno manj kot v španskih, 5,88 %, (Nozal in sod., 2005). Rezultati španskega medu kažejo na veliko vsebnost melecitoze v medu iz mane (gozdni), kar 24,7 % (Nazol in sod., 2005). Da Costa Leite s sodelavci (2000) trdi, da je prisotnost melecitoze v medu iz nektarja posledica kontaminacije z mano. Cotte s sodelavci (2004) pa pojasnjuje prisotnost melecitoze v maninem medu kot posledico encima listne uši, ki konvertira saharozo v melecitozo.

Maltotriozo sestavljajo tri enote glukoze. Glukozne enote so povezane z glikozidno vezjo preko mesta α na mestu 4 (Da Costa Leite in sod., 2000). Panoza je sestavljena iz treh glukoznih enot, ki se povezujejo na naslednji način: prva glukoza se preko mesta α veže na mesto 6 v drugi glukozi, ki je preko α mesta vezana na mesto 4 v tretji enoti glukoze (Da Costa Leite in sod., 2000). Erloza je sestavljena iz dveh enot glukoze in ene enote fruktoze, ki so med seboj povezane z glikozidno vezjo (Swallow in Low, 1990). Rafinozo sestavljajo galaktozna, glukozna in fruktozna enota (Da Costa Leite in sod., 2000).

2.3.1.4 Polisaharidi

Sestavljeni so iz več kot devetih monosaharidnih gradbenih enot povezanih z glikozidno vezjo (Stylianopoulos, 2005). V mnogih primerih je D-glukoza edini monosaharid, ki sestavlja polimerno molekulo (Klofutar, 1993). Teh vrst ogljikovih hidratov ni v naravnem medu. S pomočjo njih se lahko odkrije, če je bil med ponarejen, in sicer s kromatografijo ali masno spektroskopijo. S slednjo se določa razmerje $^{13}C/^{12}C$. Razmerje kaže na dodane količine primešanega koruznega sirupa ali sirupa sladkornega trsa (Božnar in Senegačnik, 1998).

2.3.2 Kisline

Med je kislno živilo, z vrednostjo pH med 3,2 in 6,5. Kisline dajejo medu značilen okus in aromo, prispevajo k njegovi obstojnosti proti mikroorganizmom, povečajo število kemijskih reakcij ter antibakterijsko in antioksidativno aktivnost (White, 1975).

V medu so poleg anorganskih kislin, od katerih je najpomembnejša fosforjeva, določili precejšnje število organskih kislin, katerih količina je manjša od 0,5 % (Božnar in Senegačnik, 1998; Doner, 2003; White, 1975). Organske kisline so: očetna, maslena, citronska, mravljična, butirična, mlečna, maleinska, jabolčna, oksalna, piroglutaminska, fumarna, jantarjeva, glikolna, piruvična in vinska (Anklam, 1998; Božnar in Senegačnik, 1998; Doner, 2003; White in Doner, 1980). Med organskimi kislinami prispeva največjo kislost glukonska kislina. Ta kislina nastane pri encimski pretvorbi glukoze z encimom glukoza oksidaza, ki izvira iz čebeljih žlez (Cavia in sod., 2006; Esti in sod., 1997). Zanj je znano, da jo je največ in da je v ravnotežju z glukonolaktoni (Cavia in sod., 2006). Viri ostalih kislin niso znani. Nekateri med njimi so intermediati bioloških procesov in lahko pridejo v med z nektarjem ali mano (Terrab in sod., 2002). V italijanskih medovih (Anklam, 1998) so našli naslednje kisline: glukonsko (2-12 g/kg), piruvično (9-78 mg/kg), maleinsko (69-145 mg/kg), citrsko (64-160 mg/kg), jantarno (12-48 mg/kg) in fumarno kislino (0,5-2,6 mg/kg).

Preglednica 7: Primerjava vsebnosti prostih in skupnih kislin, laktonov in vrednosti pH v španskem medu iz nektarja (cvetlični) in medu iz mane (Terrab in sod., 2002)

Parametri	Med in njegov izvor	
	med iz nektarja	med iz mane
pH	3,72	4,28
proste kisline (meq/kg)	29,8	88,6
laktoni (meq/kg)	12,1	8,08
skupne kisline (meq/kg)	41,9	96,7

Vrednost pH izraža aktivnost medu. Disocirane kisline prispevajo največji delež k aktivni kislosti, medtem ko ostale substance z lastnostmi kislin ne vplivajo bistveno na kislost medu (Popek, 2002). Doner (1977) ter Cavia in sod. (2002) ugotavljajo, da lahko kisel pH medu vpliva na nastanek di- in trisaharidov iz monosaharidov. Vrednost pH ima velik pomen med ekstrakcijo in skladiščenjem medu, zaradi vpliva na teksturo, stabilnost in obstojnost medu. Odvisna je od prisotnosti organskih kislin, ki so v ravnotežju z njihovimi ustreznimi laktoni ali estri in nekaterimi anorganskimi ioni, kot so fosfat, sulfat in klorid (Finola in sod., 2006; Özcan in sod., 2005; Terrab in sod., 2002). Cavia in sod. (2006) navajajo parametre, ki vplivajo na vrednost pH medu. Ti so diisocirane kisline, minerali, encimska aktivnost, tekstura in mikroorganizmi.

Medovi z veliko vsebnostjo mineralnih snovi, predvsem manini, dajo običajno večjo vrednost pH. Med iz mane je manj kislega okusa, čeprav vsebuje več kislin kot med iz nektarja (White in Landis Doner, 1980). Slednjo trditev podpira preglednica 7, kjer rezultati kažejo večjo vrednost pH pri medu iz mane.

Kislina in laktone se v medu določa titrimetrično. Proste kisline se sprostijo ob titraciji z NaOH, laktoni pa ob titraciji s HCl. Vsebnost laktonov oziroma laktonska kislina je presežek kislosti, ko med postane alkalen.

Proste kisline so eden najpomembnejših parametrov za kontrolo kakovosti medu (Cavia in sod., 2006). Cavia in sod. (2006) ter White (1975) poročajo o povečanju vsebnosti prostih kislin s časom in med fermentacijo. Vzrok so osmofilne kvasovke, ki lahko živijo v močno koncentriranih sladkornih raztopinah. Te pretvarjajo sladkor v alkohol, kasneje pa lahko nastane kislina in ogljikov dioksid.

Laktoni so organske spojine, ki nastanejo kot produkt reakcije med alkoholom in kislino. So ciklični estri in predstavljajo aromatske substance v sadju, mlečni maščobi itd. Zanje velja, da so rezerva kislosti (dodatek vode povzroči hidrolizo, ki vodi v nastanek kisline) (White in Landis Doner, 1980). V medu jo najdemo v obliki glukono- δ -lakton, ki je v ravnotežju s pripadajočo glukonsko kislino (Belitz in Grosch, 1999).

Skupna koncentracija kislin v medu in vrednost pH medu sta odvisni predvsem od pogojev nastanka in ne od vrste medu. Koncentracija kisline je odvisna tudi od časa med nabiranjem nektarja ali mane, končne specifične teže medu (zgoščen med v celicah) v satovju in izvora medu (Božnar in Senegačnik, 1998).

Glede na kislost medu se lahko z veliko zanesljivostjo sklepa o pristnosti medu. Ponarejenemu medu z manjšo kislostjo je bil dodan neinvertni sladkor. Pri dodatku invertnega sladkorja je med znatno bolj kisel in kislina sorazmerna količini kisline, ki je bila porabljena za hidrolizo. Vrednost pH takšnega medu je okrog 3,1 ali manj. Pri industrijskem kislinskem hidroliziranju del saharoze ter del nastalega invertnega sladkorja razpade v levulinsko in mravljično kislino. Ti dve še povečata kislost (Božnar in Senegačnik, 1998).

Preglednica 8: Vsebnost prostih in skupnih kislin ter vrednosti pH v medu glede na geografsko poreklo

Parametri	Geografsko poreklo medu		
	indijski (Nanda in sod., 2003)	irski (Downey in sod., 2005)	španski (Sanz in sod., 2005)
pH	–	4,1	4,09
proste kisline (meq/kg)	23,4	32,6	34,0
laktoni (meq/kg)	15,8	4,5	3,9
skupne kisline (meq/kg)	39,2	37	37,9

– podatek ni naveden; podatki za indijski med so izračunani kot povprečje šestih vrst medov (evkaliptusov, citrusov, sončničen, cvetlični, *Brassica campestris*, *Trifolium alexandrinum*); podatki za irski med so izračunani kot povprečje 25 različnih vzorcev medu, letnika 2000/01; podatki za španski med so izračunani kot povprečje cvetličnih, akacijevih, maninih ter mešanih medov.

Slovenski Pravilnik o medu (2004) dovoljuje maksimalno količino prostih kislin 50 mg/kg medu. Koncentraciji laktonov in skupnih kislin nista določeni.

2.3.3 Encimi

Encimi so beljakovine, ki nastajajo v živih organizmih in delujejo kot katalizatorji v biokemičnih reakcijah (Crofton, 1999). So med najpomembnejšimi naravnimi sestavinami medu, saj pomagajo pri nastajanju medu iz medičine. Izvirajo iz žlez čebel (goltna, slinska) in rastlin (Božnar, 2003; Doner, 2003). Božnar (2003), Doner (2003) in Honey: A reference guide to nature's sweetener (2005) navajajo tri glavne encime v medu. To so diastaza (amilaza), invertaza (glukozidaza) in glukoza oksidaza. Encima katalaza in kislina fosfataza sta prisotni v manjših količinah.

Encim invertaza se imenuje tudi saharaza ali glukozidaza. Delno izvira iz nektarja, največ pa iz čebelje slin. Njegovo delovanje se začne v medičini in se močno okrepi v čebelji medeni golši. Je najbolj tipičen encim v medu, ki pretvarja disaharid, saharozo, v monosaharida, glukozo in fruktozo. Proces se imenuje inverzija, od tod tudi ime encimu. Zelo pomemben je za kristalizacijo, saj saharoza hitro kristalizira. α -glukozidaza in β -glukozidaza katalizirata reakcije, ki vodijo preko transglukozilacijskih reakcij v nastanek različnih sladkorjev (nigeroza, maltoza, izomaltoza, turanoza, trehaloza, erloza, laminaribioza, gentibioza) (Honey: A reference guide ..., 2005; Božnar, 2003; Doner, 2003; Doner, 1977; Swallow in Low, 1994).

Encim glukoza oksidaza izvira iz čebel in je odgovoren za antibakterijsko delovanje medu. Glukoza se pretvarja v glukonolakton, ta pa se z delovanjem glukoza oksidaze razgradi v

glukonsko kislino in vodikov peroksid. Glukonska kislina je odgovorna za nizko vrednost pH, ki pomaga pri stabilizaciji medu pred fermentacijo (Honey: A reference guide ..., 2005; Doner, 2003).

Katalaza ali hidrogen peroksidaza pretvarja vodikov peroksid v vodo in kisik (Honey: A reference guide ..., 2005; Doner, 2003).

Kisla fosfataza odstranjuje fosfat iz organskih fosfatov. Raziskave kažejo na izvor iz kvasovk v rahlo fermentiranem medu, bolj verjetna možnost pa je v izvoru peloda in nektarja določenih rastlin. Iz slednje študije lahko sklepamo, da je odvisna od botaničnega porekla (Honey: A reference guide ..., 2005; Doner, 2003).

Diastazo izločajo v med čebele v obliki mešanice α - in β -amilaze. Encim pretvarja molekule škroba v dekstrine, oligo- in disaharide. Med ne vsebuje škroba, zato njegova vloga ni znana. Znano pa je, da se aktivnost diastaze med segrevanjem manjša in da jo je lahko izmeriti. Pravilnik (2004) določa, da v medu po obdelavi in mešanju, aktivnost diastaze, izražene kot diastazno število, ne sme biti manjše od 8.

2.4 ZNAČILNOSTI MEDU

2.4.1 Kristalizacija

Kristalizacija medu je naraven pojav, do katerega pride slej ko prej, odvisno od vrste medu. Pomeni nastanek in rast kristalov. Pogoj za kristalizacijo je prekoračenje topnosti (Božnar, 2003; White, 1978). Kristalizacija medu in velikost formiranih kristalov sta odvisni od mnogo faktorjev: razmerja med fruktozo in glukozo (F/G), količine vode, prisotnosti mikro kristalizacijskih jeder, temperature in časa shranjevanja, postopka pridobivanja medu. Kristalizacija vpliva na celotno konsistenco medu. Med kristalizacijo medu obstajata določen čas tako tekoča kot kristalna faza, na koncu pa lahko postane med v celoti trden, čeprav kristalizira le glukoza. V tekoči fazi se vodna aktivnost poveča v primerjavi z originalnim tekočim medom. Vzrok kristalizacije je velika količina sladkorja (več kot 70 %) glede na vodo (20 %). Glukoza povzroča prenasičenost, zato se pričnejo izločati kristalčki glukoze v stabilni obliki glukoze monohidrata (Cavia in sod., 2002; Honey: A reference Guide ..., 2005; Tosi in sod., 2004).

Tendenco kristalizacije medu lahko predvidimo z dvema parametroma, in sicer z razmerjem med fruktozo in glukozo ter razmerjem med glukozo in vodo (Manikis in Thrasivoulou, 2001, cit. po Finola in sod., 2006). Večje kot je razmerje med fruktozo in glukozo, težje med kristalizira. Med z razmerjem fruktoza-glukoza 1,5 ali več ostane zelo dolgo tekoč (Božnar, 2003). Med, ki kristalizira hitreje, vsebuje več kot 28-30 g/100 g glukoze, razmerje glukoza-voda (F/V) je 2,1 ali več, F/G pa manjše od 1,14 (White, 1975). Med iz mane, ki vsebuje sladkorje trehalozo, rafinozo in predvsem melecitozo, kristalizira zelo hitro (White in Landis

Doner, 1980). Kristaliziran med se utekočini s segrevanjem pri temperaturi 40 °C. Reakcija je reverzibilna, torej se lahko kristalizacija ponovno pojavi (Božnar, 2003). Kristalizacijo se prepreči s filtracijo, ultrazvokom in elektromagnetnimi valovi, vendar prihaja pri zadnjih dveh do mehaničnih poškodb glukoze ter poškodb encimov (Božnar in Senegačnik, 1998).

2.4.2 Higroskopnost

Higroskopnost je lastnost medu, da vsrka in zadrži vlogo oziroma vodo iz svoje okolice. S tehnološkega stališča je ta lastnost zelo pomembna. Če pride med v stik z atmosfersko vlago, jo absorbira in se tako razredči, da omogoča alkoholno vrenje kvasovkam (Božnar in Senegačnik, 1998). Finola s sod. (2006) navaja, da je med z vsebnostjo vode nad 21 % podvržen fermentaciji osmofilnih kvasovk, s čimer se strinja tudi Božnar (2003). Obe navajata, da je vsebnost vode v medu odvisna od časa pobiranja medu, klime in panja, Doner (2003) pa še dodaja faktorja moč čebelje družine in botanični izvor. Posamezne vrste sladkorjev različno vežejo vodo, fruktoza jo veže močnejše kot glukoza. S poskusi so ugotovili, da med povprečne sestave pri temperaturi 20 °C veže vlogo iz svoje okolice, če je te več kot 60 %, oddaja pa vodo, če je relativna vlaga v zraku manjša od 60 % (Božnar in Senegačnik, 1998).

2.4.3 Optične lastnosti

Med suče ravnino polarizirane svetlobe. To je ena od lastnosti, ki je odvisna od sladkorjev v medu, njihovih tipov in relativnih razmerij. Na splošno velja ugotovitev, da so medovi iz nektarja levosučni, medovi iz mane pa desnосуčni. Desnosučni so tudi potvorjeni medovi. Tako je zato, ker v medovih iz nektarja nad desnосуčnostjo glukoze, ki je v manjšini, prevladuje levosučna fruktoza, ki se nahaja v večjih količinah, pa tudi njena rotacija je močnejša kot pri glukozi. Medovi iz mane imajo pogosto manj fruktoze in več glukoze, dostikrat vsebujejo že omenjeno desnосуčno melecitozo ali erlozo, kar skupaj z glukozo povečata desnосуčnost (Božnar in Senegačnik, 1998).

2.5 KROMATOLOGRAFIJA

2.5.1 HPAEC-PAD kromatografija

Kromatografija je separacijski proces, analiza kromatografije pa postopek za ločitev posameznih komponent vzorca z ustrežno detekcijo s ciljem kvalitativne in kvantitativne določitve (Žorž, 1991). Osnova ločevanja v kromatografskem sistemu je porazdelitev snovi (topljenca) med obema fazama, do katere pride zaradi različno močnih vezi na stacionarno fazo oziroma zaradi različne topnosti v stacionarni in mobilni fazi (Kregar, 1996). Ogljikove hidrate se lahko analizira s številnimi metodami, ki se med seboj razlikujejo in temeljijo na

fizikalni, kemijski ali encimski karakteristiki. Tankoplastna, plinska, ionska in tekočinska kromatografija so tipične za analizo ogljikovih hidratov (Anklam, 1998).

Swallow in Low (1990) sta z uporabo HPAEC-PAD kromatografije zaznala in izmerila vsebnost 20 sladkorjev, vključno z nekaterimi redkimi oligosaharidi (izopanoza, laminaritrioza).

Metodo HPAEC-PAD odlikuje hitrost, občutljivost, ločljivost, majhna množina nederivatiziranega vzorca in večkratna uporaba kolone (Lee, 1996).

2.5.1.1 Metoda HPAEC-PAD

HPAEC-PAD – Razlaga kratice: high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection, high-pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection ali anionsko izmenjevalna tekočinska kromatografija visoke zmogljivosti s pulzno amperometrično detekcijo.

HPAEC je poleg reverzno-fazne in gelsko-permeatne kromatografije ena izmed treh prevladujočih oblik kromatografske separacije. Razvita je bila konec 1960. leta in je odlična zveza med tekočinsko kromatografijo in elektrokemično detekcijo ter omogoča ločitev nederivatiziranih ogljikovih hidratov v kompleksnem matriksu, kot na primer v hrani, pijači itd. (Lee, 1996; Moreno-Arribas in Polo, 2003).

HPAEC kromatografija temelji na šibki kislinski naravi/stopnji ogljikovih hidratov z uporabo močne anionsko izmenjevalne stacionarne faze. S tem karakterizira visoko mehnično in kemično stabilnost ter značilno selektivnost stacionarne faze. Stacionarna faza je polimerno anionsko izmenjevalna faza in zagotavlja stabilnost pri velikem razponu vrednosti pH, s tem pa je tudi učinkovita separacijska tehnika za ogljikove hidrate in podobne komponente (Cataldi in sod., 2000; Analysis of carbohydrates by HPAE-PAD, 2000; Janel in sod., 1998).

Ta tip kromatografije se uporablja za analizo kisljih ogljikovih hidratov in glikopeptidov. Ogljikovi hidrati so šibke kisline s pK_a vrednostjo med 12 in 14. To so pri Dionex-u (Analysis of carbohydrates by HPAE-PAD, 2000) dokazali ravno s preiskavo vrednosti pK_a nevtralnih monosaharidov. Rezultati so prikazani v preglednici 1 in dokazujejo zgornjo trditev. Pri visoki vrednosti pH so ogljikovi hidrati vsaj delno ali v celoti ionizirani, odvisno od njihove vrednosti pK_a . To je pogoj, da se ločujejo z anionskim izmenjevalnim mehanizmom. Ta mehanizem ne sme vsebovati klasične silicijeve kolone, ker je matriks nestabilen v alkalni raztopini pri visokem pH ($pH > 8,5$). Nevtralni ali kationski deli vzorca eluirajo v matriks ali pa blizu praznega (void) volumna kolone ter tako ne motijo analize ogljikovih hidratov (Cataldi in sod., 2000; Analysis of carbohydrates by HPAE-PAD, 2000; Johnson in LaCourse, 1990).

Preglednica 9: Disociacijske konstante nekaterih tipičnih ogljikovih hidratov (v vodi pri 25 °C) (Analysis of carbohydrates by HPAEC-PAD, 2000)

Sladkor	pK _a
fruktoza	12,03
manosa	12,08
ksiloza	12,15
glukoza	12,28
galaktoza	12,39
dulcitoza	12,43
sorbitol	13,60
α-metil glukozid	13,71

Osnovne komponente HPAEC-PAD sistema so: rezervoar z mobilno fazo, črpalka, injektor, kolona, detektor in rekorder za zapis signala (Moreno-Arribas in Polo, 2003; Prošek, 1992; Rouessac in Rouessac, 2000; Žorž, 1991).

Črpalka dovaja vzorec raztopljen v mobilni fazi (topilo, v našem primeru NaOH/H₂O), skozi injektor v kolono. Zagotavljati mora enakomeren in konstanten pretok (0,1–10 mL/min), visoke tlake (do 6000 psi) ter biti odporna na korozijo (Moreno-Arribas in Polo, 2003; Skoog in sod., 2004).

Kolona je bistveni del tega sistema. Najpogosteje je izdelana iz nerjavečega jekla (prokron), zaprta in zatesnjena s posebnimi elementi ter napolnjena s stacionarno fazo. Premer kolone je 2-5 mm, dolžina 15-25 cm in velikost delcev stacionarne faze 3-10 μm. Slednji dve (dolžina kolone in velikost delcev) sta pogojeni/omejeni s pritiskom, ki je potreben za pretok topila (mobilne faze) skozi kolono in je obratno sorazmeren velikosti delcev stacionarne faze. Povezave med injektorjem in kolono ter kolono in detektorjem so tako kratke, kot je to le mogoče (Moreno-Arribas in Polo, 2003; Skoog in sod., 2004; Žorž, 1991).

Injektor dovaja vzorec v kolono naenkrat, v čim manjšem tekočinskem segmentu, ki je definiran in ponovljiv. Doziranje je avtomatsko, volumni doziranja različni, vendar tekom analize isti in s tem tudi koncentracije vzorcev (Prošek, 1992; Žorž, 1991).

Po ločitvi na koloni se komponente (signal) zazna s pomočjo detektorja. Detektor meri spremembo neke fizikalne količine, ki jo povzroči prehod komponente (eluent) skozi merilno pretočno celico z majhnim volumnom (pod 10 μL), da ne pride do razširitve vrhov, v električni signal. Signal se s pomočjo računalnika pretvori v analogni oziroma digitalni zapis, kot elucijski diagram - kromatogram. Detektorjev za analizo ogljikovih hidratov v HPAEC tehniki je veliko, vendar velja, da je pulzno amperometrični detektor najbolj natančen (Jensen, 1998; Kregar, 1996; Žorž, 1991).

Pulzna amperometrična detekcija temelji na mehanizmu elektrokatalitične oksidacije na površini zlate elektrode, kjer se katalizira polarna alifatska zmes v alkalnem mediju. Ta vrsta detekcije omogoča selektivno in občutljivo detekcijo reduciranih in nereduciranih sladkorjev, alditolov, oligosaharidov in podobnih komponent, kot so: deoksi sladkorji, amino sladkorji, N-acetilirani amino sladkorji, kisli sladkorji itd. (Cataldi in sod., 2000; Johnson in LaCourse, 1990).

Ogljikovi hidrati se pri visokem pH, zaradi delovanja pozitivnega električnega potenciala, elektrokatalitično oksidirajo na površini zlate elektrode. Tok, ki se pri tem proizvaja, je sorazmeren koncentraciji ogljikovih hidratov, na ta način pa se le-ti zaznajo in kvantificirajo. Če se dovaja le en potencial na elektrodo, potem oksidacijski produkti zastrupljajo površino elektrode, kar povzroči izgubo signala. To se prepreči s čiščenjem elektrode s serijo potencialov, ki se aplicirajo v znanem časovnem obdobju z znanimi potenciali po detekciji prvega potenciala, ki nam izmeri ogljikov hidrat (Analysis of carbohydrates by HPAE-PAD, 2000; Optimal settings for PAD ..., 1998).

2.6 POLARIMETRIČNA ANALIZA

Služi za določanje čistosti in koncentracije raztopin optično aktivnih snovi. Kot sukanja nihajne ravnine polarizirane svetlobe je odvisen od valovne dolžine svetlobe, dolžine poti žarka, temperature raztopine in koncentracije raztopljenega sladkorja. Ker je specifičen zasuk posameznih sladkorjev poznan, lahko na osnovi kota zasuka določimo vrsto in izračunamo koncentracijo sladkorja. Polarimetrično določanje sladkorjev je preprosta, hitra metoda, vendar manj natančna metoda od kromatografije. Uporabljamo jo za kontrolno ugotavljanje vsebnosti saharoze v medu, primerna pa je tudi v analitiki topnih mono-, di-, oligo-, in polisaharodov (Plestenjak, 1993).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIAL

Analizirali smo 63 vzorcev slovenskega medu letnik 2005. Vzorci so imeli različno botanično in geografsko poreklo. Vzorce smo označili in grupirali glede na vrsto medu.

Preglednica 10: Vrste medu, število vzorcev in oznake posameznih vzorcev medu letnika 2005

Vzorci medu	Število vzorcev	Oznaka vzorcev
akacijev	17	A 16, A 17, A 18, A 19, A 20, A 21, A 22, A 23, A 24, A 25, A 26, A 27, A 28, A 29, A 30, A 31, A 40
cvetlični	18	C 16, C 17, C 18, C 19, C 20, C 21, C 22, C 23, C 24, C 25, C 26, C 27, C 28, C 29, C 31, C 40, C 41, C 42
gozdni	15	G 16, G 17, G 18, G 19, G 20, G 21, G 22, G 23, G 24, G 25, G 26, G 27, G 28, G 29, G 30
smrekov	13	S 16, S 17, S 18, S 19, S 20, S 21, S 22, S 23, S 24, S 25, S 26, S 40, S 41

Vrsta medu je bila potrjena s senzorično analizo, izvedeno na originalnem, nesegetem medu ter z izmerjeno vrednostjo elektrolitske prevodnosti. Senzorično smo ocenili barvo, konsistenco, vonj in okus. Vzorci medu so bili shranjeni v zaprtih plastičnih lončkih, v temnem prostoru, pri sobni temperaturi. V času analize so bili stari približno 6-10 mesecev.

3.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE

3.2.1 Določanje kislosti s titrimetrično metodo (AOAC 962.19, 1999)

Princip:

Titracija vzorca z 0,05 M NaOH do pH 8,5, dodatek 10 mL 0,05 M NaOH in ponovna titracija z 0,05 M HCl do pH 8,3.

Reagenti:

- 0,05 M NaOH
- 0,05 M HCl

Izvedba:

- Vzorec: v čašo odtehtamo 10 g vzorca in ga raztopimo v 75 mL destilirane vode, dodamo magnet in damo na električno mešalo. Po kalibraciji pH metra potopimo elektrode pH metra v raztopino in zabeležimo pH vrednost. Titriramo z 0,05 M NaOH do pH 8,5. Dodamo 10 mL 0,05 M NaOH in titriramo do pH 8,3 z 0,05 M HCl.
- Slepri vzorec: Titracija 85 mL destilirane vode z 0,05 M NaOH do pH 8,5.

Računi:

Kislost izrazimo kot miliekvivalent/kg vzorca.

- Proste kisline:
$$FA = (a - b) \cdot c (NaOH) \cdot 100 \quad \dots(1)$$

a = mL 0,05 M NaOH pri 1. titraciji vzorca

b = mL 0,05 M NaOH pri titraciji slepega vzorca

- Laktoni:
$$LA = (10 - mL\ 0,05\ M\ HCl\ pri\ 2.\ titraciji\ vzorca) \cdot c (HCl) \cdot 100 \quad \dots(2)$$

- Skupne kisline:
$$TA = FA + LA \quad \dots(3)$$

3.2.2 Določanje sladkorjev s HPAEC-PAD metodo (Nozal in sod., 2005)

Namen:

S HPAEC-PAD metodo ločimo posamezne sladkorje v vzorcih medu. Kvantitativno ovrednotimo vsebnost glukoze, fruktoze, melicitoze, maltotrioze, gentibioze, rafinoze, turanoze, izomaltoze, erloze, maltoze, palatinoze, izomaltotrioze, panoze in saharoze.

Princip:

Vzorci medu raztopimo v dvakrat destilirani vodi. Raztopino prefiltriramo in analiziramo z anionsko izmenjevalno kromatografijo visoke zmogljivosti (HPAEC) s pulzno amperometrično detekcijo (PAD).

Reagenti in material:

- Mobilna faza: 400 mM natrijev hidroksid in voda MiliQ (90/10). Mešanico pred uporabo razplinimo in premešamo (ultrazvočna kopel) ter počakamo, da se temperatura stabilizira. Pripravimo jo v takšni količini, da bo zadostovala za analizo celotne serije vzorcev.

- Standardne raztopine sladkorjev: analitsko čiste standarde (Sigma) pripravljamo vsakega posebej. V 10 mL bučki odtehtamo naslednje standarde: 3,45 mg glukoze, 4,15 mg fruktoze, 3 mg turanoze, 3 mg izomaltoze, 3 mg palatinoze, 3 mg izomaltotrioze, 3 mg panoze, 3 mg saharoze, 2 mg maltoze, 2 mg erloze, 2 mg rafinoze, 2 mg gentibioze, 2 mg maltotrioze in 2 mg melicitoze. Bučko dopolnimo do oznake z dvakrat destilirano vodo in jo damo v ultrazvočno kopel za 5 minut.

Aparature in pribor:

- Tekočinski kromatograf Waters 2690 s kvarterno črpalko, avtomatskim podajalnikom vzorcev in elektrokemijskim detektorjem Coulochem III (Pulse Mode), proizvajalca Esa.
- Kolona: anionsko izmenjevalna kolona RCX-10, proizvajalca Hamilton, dolžina 250 mm, širina 4,1 mm, velikost delcev 7 μm .
- Filtri za filtracijo (Millipore) vzorcev in standardov so vsebovali najlonsko membrano z velikostjo por 0,45 μm .

Delovni pogoji:

Preglednica 11: Delovni pogoji črpalke

Čas (min)	Pretok (mL/min)	Topilo A (% 400 mM NaOH)	Topilo B (% H ₂ O)
0	0,8	10	90
10	0,8	10	90
15	0,8	25	75
20	1,0	30	70
25	1,2	30	70
40	1,2	30	70
45	0,8	10	90

Program za detektor:

E1 = 200 mV, $t_1 = 500$ ms, $t_d = 300$ ms

E2 = -1000mV, $t_2 = 10$ ms

E3 = 600 mV, $t_3 = 1$ ms

E4 = -100 mV, $t_4 = 10$ ms

E1 pomeni analitski električni potencial oksidacije, E2 primeren električni potencial za kondicioniranje elektrode pri povečani oksidaciji in E3 ter E4 sta primerna potenciala za kondicioniranje elektrode z redukcijo. t_1 , t_2 , t_3 in t_4 so časi potrebni za potek električnega potenciala, t_d pa čas zamude pri prvem potencialu.

Temperatura kolone je bila 25 °C. Volumen injiciranega vzorca je bil 25 μL . Občutljivost smo pri 14 min zamenjali z 20 nC na 500 nC, zaradi boljše detekcije di- in tri- saharidov.

Priprava vzorcev za analizo:

V majhno čašo odtehtamo 100 mg medu na 0,0001 g natančno, ga raztopimo v dvakrat destilirani vodi, razplinimo in premešamo v ultrazvočni kopeli (10 min). Dobro raztopljen med prenesemo kvantitativno v 50 mL bučko in dopolnimo do oznake z dvakrat destilirano vodo. Tako pripravljeno raztopino medu prefiltriramo skozi filter s porami velikosti 0,45 µm v vijalo. Vijalo takoj zapremo.

Izvedba analize:

Umeritveno krivuljo naredimo vedno, kadar imamo večje število vzorcev s širokim koncentracijskim razponom. Pripravimo in analiziramo raztopine standardnih sladkorjev z znanimi koncentracijami, ki pokrivajo ves interval pričakovanih koncentracij. Za umeritveno krivuljo injiciramo naslednje volumne, in sicer za oligosaharide (občutljivost je 500 nC): 5, 10 in 15 µL ter za monosaharida (občutljivost je 20 nC): 25, 45 in 65 µL.

Vzorci analiziramo v dveh ponovitvah.

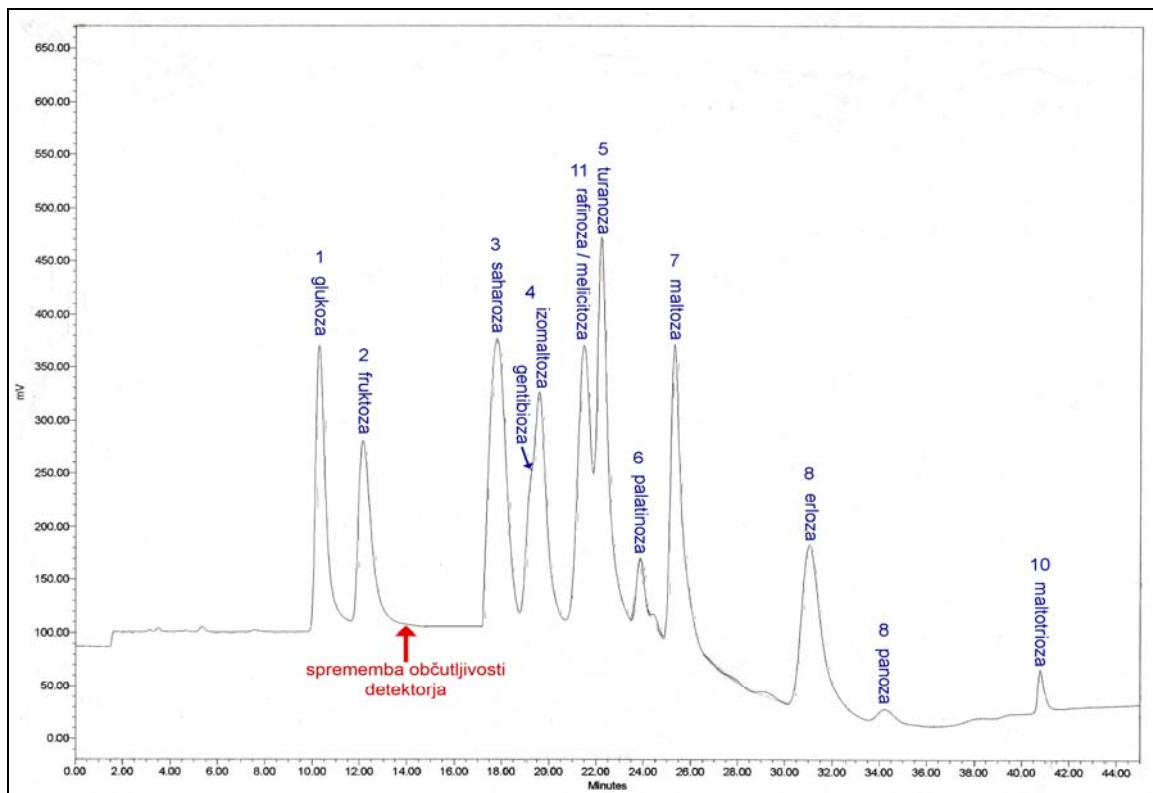
Izračun podatkov:

Sladkorje kvantitativno ovrednotimo glede na primerjavo površin vrhov standardov in vzorcev. Pri preračunanju upoštevamo tudi dejansko maso odtehtanega vzorca medu in faktor razredčitve (v našem primeru 5). Rezultate za posamezne sladkorje podamo v g/100 g. Standardne raztopine znanih koncentracij sladkorjev nam dajo umeritveno krivuljo z enačbo $y = a \cdot x + b$, kjer je x koncentracija določenega standardnega sladkorja, a naklon premice, b presečišče premice z osjo y in y površina pika. Podatki za vsak standardni sladkor so prikazani v preglednici 12.

Preglednica 12: Podatki umeritvene krivulje standardnih sladkorjev

Sladkor (g/100 g)	Koncentracijsko območje (µg/ml)	Naklon a	Presečišče b	Korelacijski koeficient R^2
glukoza	350,0 – 900,0	9858	706939	0,9992
fruktoza	400,0 - 1100,0	6673	961408	0,9977
saharoza	21,0 - 63,5	187882	200000	0,9985
izomaltoza	30,5 - 61,5	167772	300000	0,9868
gentibioza	24,0 – 41,5	297408	100000	0,9923
rafinoza	24,0 – 40,0	131729	19307	0,9996
melicitoza	24,0 – 60,0	127065	682104	0,9998
turanoza	30,0 – 90,0	337832	500000	0,9998
palatinoza	20,0 – 40,0	165009	200000	0,9995
maltoza	21,0 – 64,0	216177	200000	0,9976
erloza	20,5 – 41,0	142298	100000	0,9941
panoza	20,5 – 41,0	208578	200000	0,9998
maltotrioza	25,0 – 50,0	134055	100000	0,9984

Koncentracijo določenega standardnega sladkorja v določenem vzorcu medu izračunamo na naslednji način: Računalnik nam da površino pika standardnega sladkorja (npr. panoze) v določenem vzorcu medu (npr. A 16). Površino vnesemo v enačbo umeritvene krivulje, namesto y pišemo površino, naklon in presečišče sta dani v preglednici 12. Izračunan x je koncentracija določenega sladkorja (panoza) v vzorcu medu (A 16).

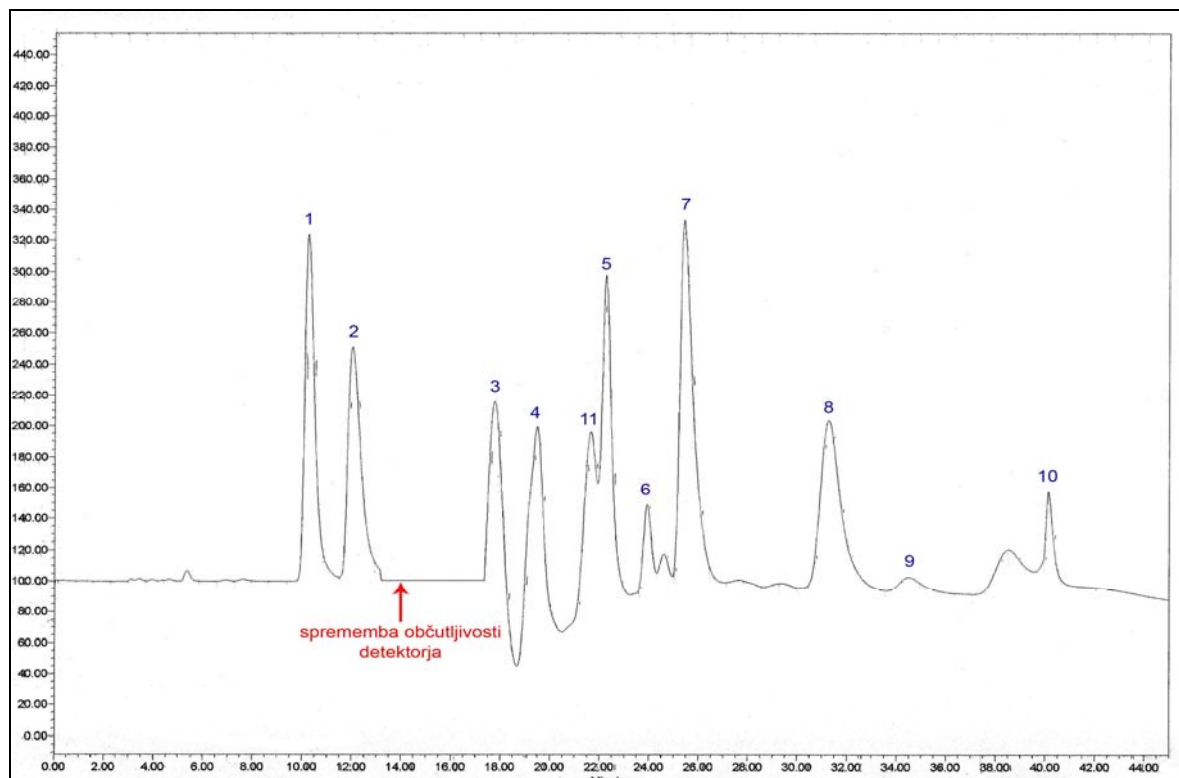


Slika 1: Kromatogram standardne raztopine sladkorjev

Označba sladkorjev na kromatogramih:

- 1 glukoza
- 2 fruktoza
- 3 saharoza
- 4 izomaltoza z gentibiozo
- 5 turanoza
- 6 palatinoza
- 7 maltoza
- 8 erloza
- 9 panoza
- 10 maltotrioza
- 11 rafinoza + melicitoza

Sladkorje smo identificirali na osnovi retencijskih časov, ki so značilni za posamezen sladkor. Uporabili smo tudi Metodo standardnega dodatka, pri kateri se doda določen standardni sladkor v vzorec, pri čemer se pik tega sladkorja poveča.



Slika 2: Kromatogram vzorca medu (S 16)

3.2.3 Polarimetrično določanje saharoze (Plestenjak in Golob, 2000)

Princip:

Merjenje kota zasuka bistre raztopine medu pred in po inverziji na polarimetru v območju 175-180 kotnih stopinj.

Reagenti:

- Al-kaša: pripravimo nasičeno vodno raztopino AlCl_3 ali $\text{Al}(\text{SO}_4)_3$, oborimo s konc. NH_3 , filtriramo, filtrat spiramo z destilirano vodo, dokler reakcija na Cl^- ali SO_4^- ni negativna (AgNO_3 oz. BaCl_2). Al-kašo speremo s filtrirnega papirja v steklenico s toliko destilirane vode, da dobimo suspenzijo.
- Koncentrirana HCl
- 8 M NaOH

Izvedba:

Pripravimo osnovno raztopino: 50 g medu raztopimo v 250 mL destilirane vode.

- Določanje direktnega sladkorja – pred inverzijo
V 100 mL merilno bučko odpipetiramo 50 mL osnovne raztopine medu, dodamo 3 mL Al-kaše, dopolnimo do 100 mL, premešamo in prefiltriramo skozi filtrirni papir – modri trak ter nato polarimetriramo v območju 175-180.
- Določanje celokupnega sladkorja – po inverziji
V 100 mL merilno bučko odpipetiramo 50 mL osnovne raztopine medu, dodamo 25 mL destilirane vode ter 5 mL konc. HCl. Postavimo za 5 min v termostat pri 67-70 °C. Hitro ohladimo pod tekočo vodo, nevtraliziramo z 8 M NaOH ob prisotnosti lakmus papirja. Dodamo 3 mL Al-kaše in dopolnimo z destilirano vodo do 100 mL. Premešamo, prefiltriramo skozi filtrni papir – modri trak in polarimetriramo v istem območju.

Račun:

$$\% \text{ saharoze} = (\text{kot zasuka pred inverzijo} - \text{kot zasuka po inverziji}) \cdot 5,725 \quad \dots(4)$$

3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Rezultate fizikalno-kemijskih analiz medov smo statistično obdelali s pomočjo računalniškega programa Microsoft Excel. Za ugotavljanje razlik med posameznimi vrstami medu smo uporabljali analizo variance.

Dobljene rezultate smo statistično obdelali in ovrednotili z naslednjimi statističnimi parametri:

- povprečna vrednost (\bar{x})
- standardna deviacija (SD)
- koeficient variabilnosti (KV)
- Pearsonov koeficient korelacije (R)
- koeficient determinacije (R^2)
- Levenov test homogenosti variance
- analiza variacije – ANOVA
- Duncanov test

Povprečna vrednost ali aritmetična sredina

To povprečje je najpogosteje uporabljena srednja vrednost. Izračunamo jo tako, da vsoto vseh vrednosti enot (x_i) v statistični množici delimo s številom enot (n). Vsota vseh odklonov od povprečja je vedno nič (Nemec, 2000).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^n x_i \quad \dots(5)$$

Standardni odklon ali standardna deviacija

Standardni odklon je pozitivna vrednost kvadratnega korena iz variance (s^2), enačba (6). Varianca je osnovna mera razpršenosti podatkov okoli aritmetične sredine in je povprečje kvadratov odklonov posameznih vrednosti od aritmetične sredine. Izračunamo jo po enačbi (7) (Adamič, 1989).

$$SD = \sqrt{s^2} \quad \dots(6)$$

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \quad \dots(7)$$

Koeficient variacije ali variabilnosti

Absolutne mere variacije, kot sta varianca in standardni odklon, za primerjavo variiranja več statističnih spremenljivk z različnimi povprečnimi vrednostmi, običajno niso primerne. Objektivno primerjavo takšnih statističnih spremenljivk nam omogoča koeficient variabilnosti. Izračunamo ga po enačbi (8) tako, da standardni odklon delimo z aritmetično sredino in to izrazimo v odstotkih (Adamič, 1989).

$$KV (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad \dots(8)$$

Pearsonov koeficient korelacije (R)

Koeficient korelacije je merilo stopnje povezanosti med opazovanima spremenljivkama, ki sta naključni, med seboj povezni, vendar ne nujno odvisni ena od druge. Zavzema lahko vrednosti med -1 in $+1$. Vrednost $+1$ oz. -1 dobimo, če gre za največjo pozitivno (vrednost ene spremenljivke narašča z vrednostjo druge) oz. negativno (vrednost druge pada) korelacijo. Enak je razmerju med kovarianco (c_{xy}), ki jo izračunamo po enačbi (10) in zmnožkom standardnih odklonov obeh spremenljivk x in y (SD_x in SD_y), kot je prikazano v enačbi (9) (Adamič, 1989).

$$R = \frac{c_{xy}}{SD_x \times SD_y} \quad \dots(9)$$

$$c_{xy} = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \times \sum y}{n}}{n - 1} \quad \dots(10)$$

Koeficient determinacije (R^2)

Koeficient determinacije je merilo povezanosti in izraža odstotek variabilnosti odvisne številske spremenljivke (y), ki je pojasnjen z regresijskim modelom ene ali več neodvisnih številskih spremenljivk (x). V primeru linearnega regresijskega modela je koeficient determinacije enak kvadratu Pearsonovega korelacijskega koeficienta (Košmelj in sod., 2002; Košmelj, 2001).

Levenov test homogenosti variance

S pomočjo tega testa ugotavljamo ali so variance v vseh obravnavanih statističnih vzorcih enake, torej če so vzorci homogeni. Prednost Levenovega testa je manjša občutljivost za morebitna odstopanja podatkov od normalne porazdelitve, zato je primeren tudi ko za obravnavano spremenljivko ne moremo privzeti normalne porazdelitve. Ničelna hipoteza Levenovega testa pravi, da ni razlik med variancami med vrstami, alternativna pa, da med vsaj enim parom varianc obstaja statistično značilna razlika. Vrednost statistične značilnosti, ki nam jo da test, pove, katera izmed domnev je pravilna. Vrednost statistične značilnosti, ki je manjša od stopnje tveganja $0,05$ vodi k sprejetju alternativne hipoteze, vrednost večja od $0,05$ pa k potrditvi ničelne. Kadar je sprejeta ničelna hipoteza, se potrди homogenost vzorcev. V primeru, da vzorci niso homogeni, ne moremo nadaljevati z analizo variance (Adamič, 1989).

Analiza variance (ANOVA)

Pri uporabi te analize domnevamo, da se variance statističnih vzorcev med seboj statistično ne razlikujejo. Enakost varianc med vzorci imenujemo homogenost varianc in smo predhodno preverili z Levenovim testom. Ničelna hipoteza pravi, da vsi statistični vzorci izhajajo iz populacije z enakim povprečjem, alternativna pa, da med opazovanimi statističnimi vzorci obstajata vsaj dva, katerih povprečji sta statistično različni. Kadar je vrednost signifikance manjša od 0,05, sklepamo, da vzorci pripadajo različnim populacijam oz., da med statističnimi vzorci obstaja vsaj en par, ki ima različni povprečji. S tem je zavržena ničelna hipoteza, ki pravi, da razlike ne obstajajo (Adamič, 1989).

Duncanov test

Duncanov test je zaključni test, namenjen analizi vzorcev, za katere je znano, da so homogeni (Levenov test) in ne pripadajo isti populaciji (ANOVA). S pomočjo tega testa razdelimo posamezne vzorce v več podskupin, v katerih se vzorci glede na opazovano statistično spremenljivko statistično značilno ne razlikujejo.

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

Praktičen del naloge je obsegal kvantitativno ovrednotenje različnih sladkorjev, določanje vsebnosti prostih kislin, laktonov in merjenje vrednosti pH v 63 izbranih vzorcih slovenskega medu letnika 2005. Analizirali smo 17 vzorcev akacijevega, 18 vzorcev cvetličnega, 15 vzorcev gozdnega in 13 vzorcev smrekovega medu. Vzorci medu so bili pridobljeni neposredno od čebelarjev in nato hranjeni v ustrezni embalaži, pri sobni temperaturi, zaščiteni pred svetlobo. V času eksperimentalnega določanja so bili stari od 6 do 10 mesecev. Vrsta medu je bila predhodno določena s strani čebelarjev, na Katedri za vrednotenje živil pa je bila opravljena še senzorična analiza, ki je potrdila vrsto medu. Analize smo opravili v dveh vzporednih določitvah. Vrednosti opravljenih kemijskih analiz so predstavljene v preglednicah 13-20, slikah 3-11 in prilogah A1-A8, B in C1-C4. Opisali smo jih z osnovnimi statističnimi parametri, jih z različnimi metodami statistično obdelali ter iskali morebitne povezave med analiziranimi parametri. Rezultate smo primerjali tudi z razpoložljivo tujo in domačo literaturo.

4.1 REZULTATI VSEBNOSTI RAZLIČNIH SLADKORJEV V MEDU

Po izvoru delimo med na med iz mane in nektarja. Akacijev in cvetlični med uvrščamo med med iz nektarja, gozdnega in smrekovega pa med manin med.

V preglednici 13 in 14 so zbrani rezultati kemijskih analiz določanja vsebnosti različnih sladkorjev v 63 vzorcih medu štirih vrst z metodo HPAEC-PAD. Podane so povprečne vrednosti teh sladkorjev, intervali oz. najmanjša in največja vrednost, standardna deviacija in koeficienti variabilnosti. Poleg analiziranih sladkorjev, ki so bili: fruktoza, glukoza, saharoza, maltoza, palatinoza, turanoza, gentibioza z izomaltozo, rafinoza, melecitoza, maltotrioza, panoza in erloza, vsebujeta preglednici 13 in 14 še izračunano skupno vsebnost fruktoze in glukoze, imenovano tudi invertni sladkor, in razmerje med glukozo in fruktozo. Opisane parametre smo primerjali glede na izvor in vrsto medu.

V medu smo analizirali vsebnost trinajstih različnih sladkorjev. Rafinoza in melecitoza sta se pojavljali predvsem v maninih medovih, kar trdijo tudi Da Costa Leite in sod. (2000), zato ju je bilo v akacijevem in cvetličnem medu malo ali nič. To je bil tudi vzrok, da smo ju pisali kot rafinoza/melecitoza. Elucijska časa rafinoze in melecitoze sta si tako podobna, da sta na slikah kromatogramov označena kot en pik.

Z uporabljeno mobilno fazo in pogoji ločbe, kakršne smo uporabili pri našem delu, nismo uspeli ločiti gentibioze in izomaltoze v medu, zato smo ju zapisali kot gentibioza z izomaltozo. Po navedbah literature (Cotte in sod., 2004; Nozal in sod., 2005; Swallow in Low, 1990) vsebujejo medovi več izomaltoze kot gentibioze.

V preglednici 13 so navedeni podatki za različne sladkorje v medu iz nektarja, akacijeve in cvetlične vrste. Iz preglednice lahko razberemo, da med iz nektarja vsebuje povprečno 83,9 g monosaharidov, 12,5 g disaharidov in 3,6 g trisaharidov na 100 g vseh saharidov oz. v 100 g nektarjevega medu je skupno 78,95 g sladkorjev, od tega 66,14 g/100 g monosaharidov, 9,93 g/100 g disaharidov in 2,88 g/100 g trisaharidov. Akacijev med je vseboval največ invertnega sladkorja, prav tako je bilo razmerje F/G večje kot pri cvetličnem, 1,45, ki jasno nakazuje, da je bilo fruktoze več v primerjavi z glukozo. Akacijev med bo kristaliziral kasneje v primerjavi s cvetličnim, katerega razmerje F/G je 1,23. Vsebnost maltotrioze, panoze, palatinoze in turanoze so podobne tako v akacijevem kot v cvetličnem medu. Akacijev med je vseboval enkrat več erloze kot cvetlični. Slednji je vseboval manj saharoze, maltoze ter gentibioze z izomaltozo v primerjavi s cvetličnim medom. Iz priloge A 3 in A 4 je razvidno, da smo v akacijevem medu zaznali v dveh vzorcih medu merljive količine rafinoze in melecitoze, v sedmih je bila le zaznana, v osmih pa je bila količina obeh pod mejo zaznave oz. ju ni bilo. V štirih vzorcih cvetličnega medu nista bili zaznani niti rafinoza niti melecitoza, pri desetih smo ju le zaznali in v štirih smo ju količinsko določili. Zaradi teh dejavnikov nismo mogli izračunati pravega povprečja rafinoze in melecitoze, zato ju pišemo kot rafinoza/melecitoza.

Razmeroma veliki razponi intervalov oz. minimalne in maksimalne vrednosti kažejo na veliko variabilnost glede na izvor medu kot tudi znotraj posameznega izvora in vrste medu. Največji koeficient variabilnosti pri različnih sladkorjih v nektarjevem medu je bil določen pri vsebnosti saharoze v cvetličnem medu in sicer 49,3 %, z 20 % nižjo vrednostjo ji sledi KV vsebnosti gentibioze z izomaltozo v cvetličnem medu, ki znaša 40,1 %.

Preglednica 13: Vsebnost različnih sladkorjev v medu iz nektarja (akacijev in cvetlični) po metodi HPAEC-PAD z izračunanimi statističnimi parametri

		Vrsta medu						
		akacija			cvetlični			\bar{x}_n
		$\bar{x} \pm SD$	interval	KV (%)	$\bar{x} \pm SD$	interval	KV (%)	
Vrsta sladkorja								
Vsebnost sladkorjev (g/100 g)	glukoza	27,24 ± 3,39	21,77-36,05	12,46	31,51 ± 4,54	23,83- 47,17	14,40	29,37
	fruktoza	39,29 ± 3,11	33,35-45,10	7,92	35,25 ± 2,34	29,75-39,23	6,64	37,27
	F+G	66,53 ± 5,96	56,05-75,79	8,96	65,76 ± 4,57	53,58-78,65	13,49	66,14
	F/G	1,45 ± 0,21	1,10-1,63	7,59	1,14 ± 0,15	0,65-1,32	13,16	1,23
	maltotrioza	0,73 ± 0,14	0,53-1,17	19,13	0,66 ± 0,14	0,49-0,98	21,80	1,39
	panoza	0,58 ± 0,02	0,54-0,61	3,26	0,60 ± 0,05	0,52-0,70	7,67	0,59
	erloza	2,16 ± 0,68	0,98-3,66	31,39	1,04 ± 0,31	0,57-1,64	29,65	1,6
	maltoza	2,34 ± 0,49	1,49-2,98	21,14	1,87 ± 0,39	1,12-2,97	20,69	2,10
	palatinoza	0,87 ± 0,05	0,78-0,97	5,89	0,91 ± 0,11	0,74-1,12	12,11	0,89
	turanoza	1,72 ± 0,29	1,19-2,44	16,89	1,51 ± 0,21	1,07-1,88	14,05	1,61
	rafinoza/ melecitoza	*	0-0,40	/	*	0-0,67	/	/
	saharoza	4,22 ± 2,08	1,92-8,28	49,29	2,71 ± 0,91	1,31-4,35	33,58	3,46
	gentibioza z izomaltozo	1,94 ± 0,63	1,12-3,39	32,47	1,77 ± 0,71	0,89-3,03	40,11	1,85

* - zaznan sladkor; / - vrednosti ni mogoče izračunati; n - število vzorcev; \bar{x} - povprečna vrednost (g/100g); \bar{x}_n - povprečna vsebnost sladkorja v nektarjevih medovih; SD - standardna deviacija (g/100g); interval - minimalna in maksimalna vrednost (g/100g); KV - koeficient variabilnosti; F+G - vsota fruktoze in glukoze; F/G - razmerje med fruktozo in glukozo

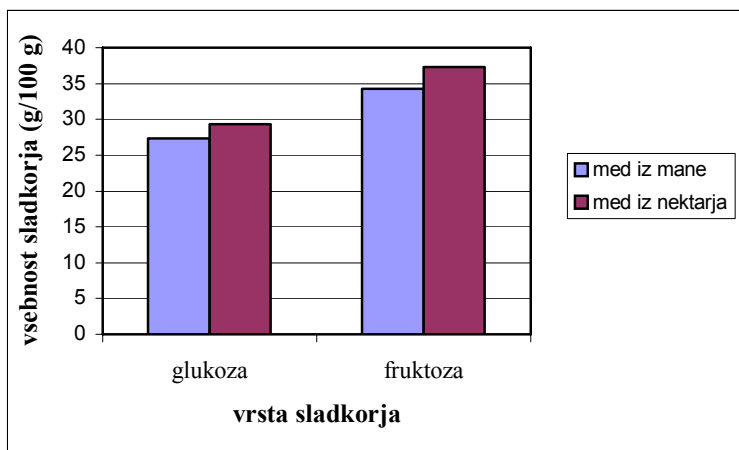
Podatki iz preglednice 14 kažejo prav tako kot preglednica 13 podatke o vsebnosti različnih vrst sladkorjev, le da ti veljajo za med iz mane (gozdni, smrekov). Med iz mane vsebuje v povprečju 77,2 g/100 g monosaharidov, 12,2 g/100 g disaharidov in 10,6 g/100 g trisaharidov na 100 g vseh saharidov oz. 61,59 g/100 g mono-, 9,71 g/100 g di-, 8,44 g/100 g trisaharidov in 79,74 g/100 g skupnih sladkorjev. Invertnega sladkorja je vseboval smrekov med več kot gozdni, povprečno 63,56 g/100 g. Razmerje med fruktozo in glukozo je bilo v smrekovem medu 1,36, kar je nekoliko večje kot pri gozdnem. Obe vrsti medu sta vsebovali podobne količine maltotrioze, panoze, palatinoze, turanoze in rafinoze. Erloze, maltoze, saharoze ter gentibioze z izomaltozo je vseboval gozdni med več kot smrekov. Za gozdni med bi lahko dejali, da je vseboval več oz. enako količino vseh vrst sladkorjev, izjemi sta bili fruktoza in melecitoza, ki ju je vseboval nekoliko manj v primerjavi s smrekovim.

Največji koeficient variabilnosti pri različnih sladkorjih v maninem medu je bil določen pri vsebnosti rafinoze, ki je znašal 67,4 % v gozdnem medu, z nekoliko nižjo vrednostjo KV ji je sledila melecitoza, prav tako v gozdnem medu.

Preglednica 14: Vsebnost različnih sladkorjev v medu iz mane (gozdni in smrekovi) po metodi HPAEC-PAD z izračunanimi statističnimi parametri

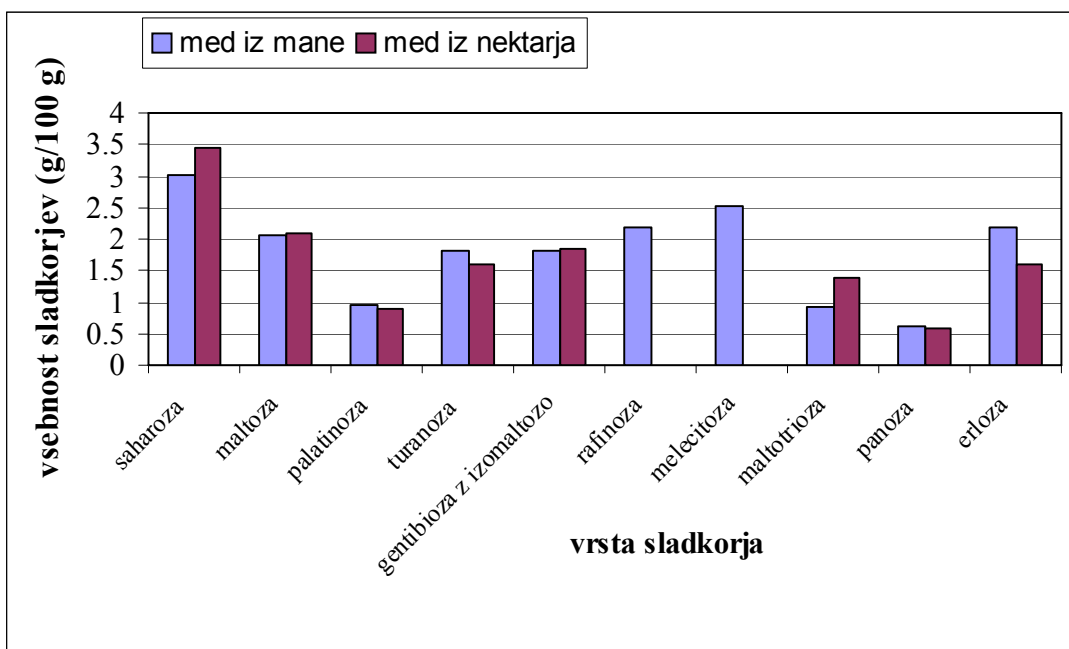
		Med iz mane						
		gozdni			smrekovi			\bar{x}_m
Vrsta sladkorja	Vsebnost sladkorjev (g/100 g)	$\bar{x} \pm SD$	interval	KV (%)	$\bar{x} \pm SD$	interval	KV (%)	
		glukoza		27,63 ± 2,38	23,05-31,22	8,61	26,95 ± 2,48	23,03-31,36
fruktoza		32,00 ± 3,07	24,64-36,74	9,58	36,61 ± 4,21	27,99-43,18	11,51	34,30
F+G		59,63 ± 4,87	48,97-66,44	8,17	63,56 ± 6,14	52,16-73,69	9,66	61,59
F/G		1,16 ± 0,10	1,01-1,36	8,62	1,36 ± 0,11	1,04-1,41	8,09	1,26
maltotrioza		0,86 ± 0,32	0,52-1,74	36,54	0,97 ± 0,40	0,55-2,14	41,43	0,91
panoza		0,60 ± 0,03	0,52-0,66	5,07	0,62 ± 0,09	0,51-0,89	14,33	0,61
erloza		2,54 ± 1,49	0,88-5,35	58,71	1,84 ± 0,99	0,70-3,59	53,77	2,19
maltoza		2,20 ± 0,69	0,70-3,88	31,62	1,93 ± 0,65	0,68-3,23	33,70	2,06
palatinoza		0,93 ± 0,10	0,75-1,17	10,74	1,00 ± 0,35	0,65-2,15	35,32	0,96
turanoza		1,95 ± 0,45	1,26-2,77	23,24	1,70 ± 0,37	1,11-3,06	22,01	1,82
rafinoza		2,18 ± 1,47	0,33-6,11	67,43	2,23 ± 1,43	0,80-5,52	64,12	2,20
melecitoza		2,33 ± 1,50	0,60-6,59	64,38	2,72 ± 1,69	1,04-6,61	62,13	2,52
saharoza		3,54 ± 1,06	1,71-5,61	29,94	2,52 ± 0,69	1,12-3,78	27,38	3,03
gentibioza z izomaltozo		2,02 ± 0,64	0,52-3,23	31,68	1,64 ± 0,43	0,59-2,55	26,22	1,83

n - število vzorcev; \bar{x} - povprečna vrednost (g/100g); \bar{x}_m - povprečna vsebnost sladkorjev v maninih medovih; SD - standardna deviacija (g/100g); interval - minimalna in maksimalna vrednost; KV - koeficient variabilnosti; F+G - vsota fruktoze in glukoze; F/G - razmerje med fruktozo in glukozo



Slika 3: Povprečne vsebnosti monosaharidov v medu glede na njegov izvor

Iz slike 3 lahko razberemo, da vsebuje med iz nektarja več monosaharidov, glukoze in fruktoze, posledično tudi več invertnega oz. reducirajočega sladkorja. Na osnovi tega lahko sklepamo, da bo med iz nektarja imel večje razmerje F/G kot med iz mane. Od di- in trisaharidov vsebuje med iz nektarja več le saharoze, maltoze in maltotrioze ter enako količino gentibioze z izomaltozo, ne vsebuje oz. vsebuje zelo majhno količino rafinoze in melecitoze. Ostalih di- in trisaharidov vsebuje več med iz mane, kar je tudi iz obravnavane literature jasno razbrati.



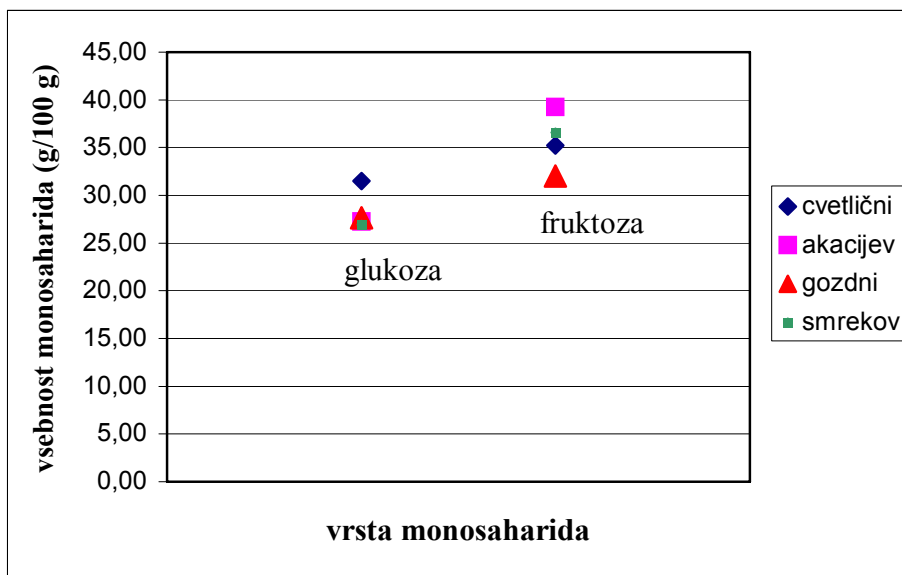
Slika 4: Povprečne vsebnosti di- in trisaharidov v medu glede na njegov izvor

White in Landis Doner (1980) navajata podatke za ameriški med iz mane in nektarja. Oba izvora medov vsebujeta večjo količino maltoze v primerjavi z našimi podatki za manin in nektarjev med. Ameriški manin med ima manj saharoze (0,8 g/100 g), fruktoze (31,8 g/100 g), glukoze (26,08 g/100 g) in invertnega sladkorja, medtem ko med iz nektarja vsebuje več fruktoze (38,19 g/100 g), glukoze, invertnega sladkorja ter manj saharoze v primerjavi z našimi rezultati. Marini in sod. (2004) poročajo o nekoliko večjih, vendar zelo dobro primerljivih vsebnostih invertnega sladkorja, fruktoze in glukoze v italijanskih maninih medovih. Popek (2002) navaja podatke za poljski manin in nektarjev med, ki sta vsebovala več invertnega sladkorja v primerjavi z našim povprečjem maninih in nektarjevih medov. Poljska medova sta vsebovala tudi več saharoze glede na naše rezultate. Weston in Brocklebank (1999) z Nove Zelandije poročata o vsebnosti monosaharidov v manininih medovih, ki znaša 78,5 g/100 g, kar je nekoliko več kot pri nas (77,2 g/100 g), in o vsebnosti oligosaharidov 21,5 g/100 g, kar je manj kot pri nas (22,8 g/100 g) glede na 100 g sladkorjev. Földhazi (1994) poroča o precej večjih vrednostih invertnega sladkorja (81,09 g/100 g) v madžarskem medu iz nektarja in o enaki v medu iz mane v primerjavi z našimi rezultati. Večje vsebnosti navaja za maltozo in melecitozo ter manjše za saharozo v medu obeh izvorov v primerjavi z našim. Madžarski nektarjev med je vseboval več glukoze (33,75 g/100 g) in fruktoze (47,34 g/100 g) ter manj glukoze (32,20 g/100 g) in fruktoze (29,50 g/100 g) v maninem medu v primerjavi z našimi rezultati. Golob in Plestenjak (1999a) navajata podatke za nektarjev med, ki ga sestavljata prav tako kot našega akacijev in cvetlični med. Vsebnosti invertnega sladkorja (70,88 g/100 g), fruktoze (41,17 g/100 g) in melecitoze (3,86 g/100 g) so večje, vsebnost saharoze (1,96 g/100 g) je manjša in glukoze (29,71 g/100 g) dokaj primerljiva.

Vsi omenjeni avtorji so dobili podobne rezultate za med iz mane in nektarja. Medovi iz mane so vsebovali manj monosaharidov in več oligosaharidov, predvsem melecitoze. Medova iz nektarja sta vsebovala povprečno največ monosaharida, čeprav smo drugo največjo vrednost fruktoze (43,18 g/100 g) določili v medu iz mane (smrekovem, S 21). To kaže na dejavnik mešanja vrst medov in da čebelar ne more v celoti pretočiti meda ene vrste. Poleg senzorične analize je dobro za zanesljivejšo potrditev sortnosti opraviti še druge analize, kot sta pelodna in analiza sladkorjev.

4.1.1 Vsebnost monosaharidov v različnih vrstah slovenskega medu po metodi HPAEC-PAD

Monosaharida v medu sta fruktoza in glukoza, ki sta tudi najpogosteje zastopana v disaharidih in trisaharidih v medovih. Spodnja slika 4 in preglednici 13 in 14 prikazujejo vsebnost glukoze in fruktoze v štirih vrstah slovenskega medu.



Slika 5: Vsebnost glukoze in fruktoze v akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu

Iz slike 5 je razvidno, da je v vseh vrstah analiziranega medu v povprečju največ monosaharida fruktoze. Povprečna vsebnost fruktoze se je v posameznih vrstah medu gibala od 32 g/100 g v gozdnem do 39,29 g/100 g v akacijevem medu. Statistična analiza je pokazala, da se vsebnosti fruktoze med posameznimi vrstami medu statistično značilno razlikujejo. Akacijev med, ki ima največjo povprečno vsebnost fruktoze, se statistično značilno razlikuje od cvetličnega, gozdnega in smrekovega medu. Med vrednostma fruktoze v cvetličnem in smrekovem medu ni statističnih razlik, njuni vrednosti znašata 35,25 g/100 g oz. 36,61 g/100 g. Najmanjšo vsebnost fruktoze ima gozdni med, ki se statistično razlikuje od ostalih vrst.

Največje razlike med minimalno in maksimalno vsebnostjo fruktoze so bile v smrekovem medu z največjim koeficientom variabilnosti, najmanjše pa so bile določene v cvetličnem medu. Pri slednjem ne gre spregledati, da cvetlični med nakazuje večjo homogenost statistične enote fruktoze kot smrekov. Najmanjša vsebnost fruktoze je bila določena v vzorcu G 25, in sicer 24,64 g/100 g, in največja pa 45,1 g/100 g vzorcu A 19.

Akacijev, cvetlični in gozdni med, letnikov 1996 (Golob in Plestenjak, 1999a) in 2001 (Žolnir, 2002), je vseboval več fruktoze, medtem ko je bila pri smrekovem medu letnika 2001 vsebnost manjša v primerjavi s podatki letnika 2005 za iste vrste medu. Tudi Földhazi (1994) ter Cotte in sod. (2004) poročajo o večji vsebnosti fruktoze v madžarskem oz. francoskem akacijevem medu, Nozal in sod. (2005) pa o večji v španskem cvetličnem in gozdnem medu. Marini in sod. (2004) ter Földhazi (1994) poročajo o manjši vsebnosti fruktoze v italijanskem oz. madžarskem maninem medu, glede na naš smrekov med in večji kot v slovenskem gozdnem medu letnika 2005. Večje povprečne vsebnosti fruktoze so bile določene v

kanadskem (vrste: lucerna, Alsike, Canola, Trefoil) (Swallow in Low, 1990), venezuelskem (vrste: *Citrullus vulgaris*, *Curcubita maxima*, *Achras sapota*, *Passiflora sp.*, *Annona muricaria*, *Persea americana*) (Ojeda de Rodríguez in sod., 2004) in italijanskem (75 % nektarjev med) (Esti in sod., 1997) medu.

Iz preglednic 13 in 14 lahko razberemo povprečno vsebnost glukoze v posameznih vrstah medu. Vsebnost glukoze se giblje od 26,95 g/100 g v smrekovem do 31,51 g/100 g v cvetličnem medu. Statistična analiza je pokazala, da obstajajo statistične razlike med vrstami medu. Cvetlični med se statistično značilno razlikuje od akacijevga, gozdnega in smrekovega medu, medtem ko se akacijev, gozdni in smrekov med seboj ne razlikujejo. Cvetlični med je imel najširši interval vsebnosti glukoze z največjim koeficientom variabilnosti, 14,4 %, gozdni pa najožjega, kar ima za posledico največjo zgoščenost podatkov. Najmanjša vsebnost glukoze, 21,77 g/100 g, je bila v vzorcu A 23, največja, 47,17 g/100 g, pa v C 42. Vzorec C 42 je bil kraški cvetlični med, ki je vseboval tudi žepek., kar je pokazala senzorična analiza.

Golob in Plestenjak (1999a) poročata o akacijevem, cvetličnem in gozdnem medu, letnik 1996. V primerjavi z istimi vrstami medu, letnik 2005, je akacijev med vseboval več glukoze, cvetlični manj in gozdni le nekoliko manj. Akacijev, cvetlični, gozdni in smrekov med, letnik 2001, so vsebovali več glukoze kot med letnika 2005 (Žolnir, 2002). Tudi Földhazi (1994) poroča o večjih vsebnostih glukoze v akacijevem in cvetličnem medu. Nozal in sod. (2005) navajajo večje vsebnosti za gozdni in cvetlični med, Cotte in sod. (2004) pa manjše za akacijev med. Esti in sod. (1997) ter Ojeda de Rodríguez in sod. (2004) navajajo večje povprečne vrednosti v italijanskem oz. venezuelskem medu.

Pravilnik (2004) predpisuje skupno vsebnosti glukoze in fruktoze tj. invertni sladkor za cvetlični med oz. med iz nektarja najmanj 60 g/100 g, medtem ko za gozdni med oz. med iz nektarja (čisti ali mešanica s cvetličnim) najmanj 45 g/100 g. Naši povprečni podatki ustrezajo tej zahtevi. Največji delež invertnega sladkorja vsebuje akacijev, najmanj pa gozdni med. Pri akacijevem medu tej zahtevi ne ustrezajo trije vzorci medu od sedemnajstih, medtem ko cvetlični, gozdni in smrekovi ustrezajo v celoti.

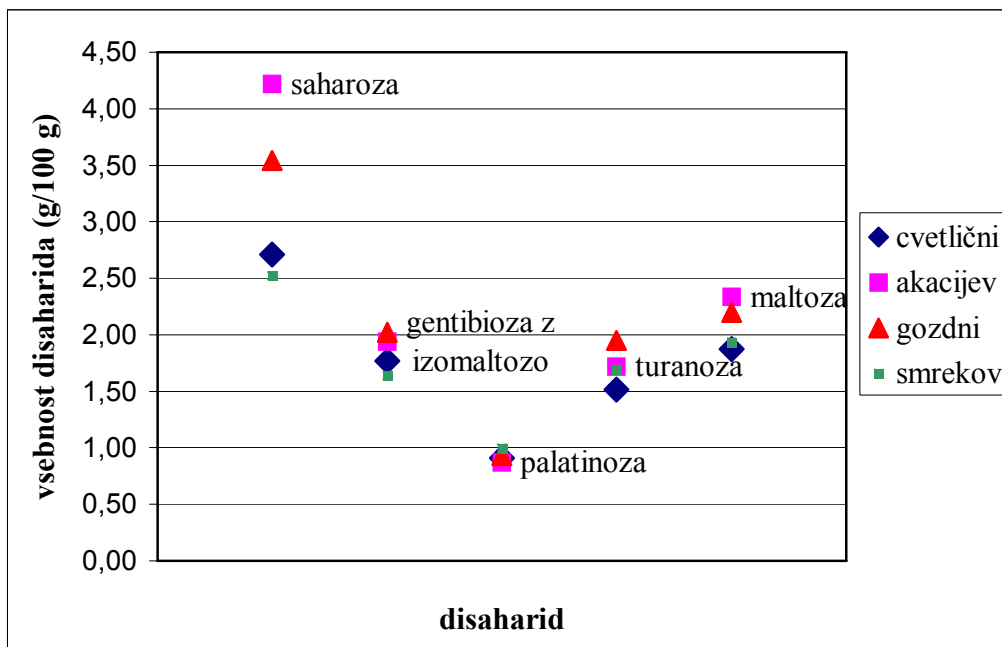
Če primerjamo naše podatke o vsebnosti invertnega sladkorja za akacijev med, katerega povprečje je mogoče razbrati iz preglednice 13 (66,53 g/100 g), ugotovimo, da ga vsebuje poljski (Popek, 2002), francoski (Cotte in sod., 2004) in madžarski (Földhazi, 1994) med več. Poljski ga vsebuje 77,28 g/100 g, francoski 70,2 g/100 g in madžarski 80,03 g/100 g. Žolnir (2002) v svoji diplomski nalogi navaja večje vsebnosti invertnega sladkorja v akacijevem, cvetličnem in gozdnem medu ter manjšo v smrekovem. Tudi Földhazi (1994) ter Golob in Plestenjak (1999a) navajajo večje vsebnosti v akacijevem in cvetličnem medu, slednji dve navajata tudi večjo vsebnosti v gozdnem medu. Ojeda de Rodríguez in sod. (2004), Nozal in sod. (2005) ter Esti in sod. (1997) poročajo o večji povprečni vsebnosti v venezuelskem, španskem in italijanskem medu.

Razmerje med fruktozo in glukozo je v vseh vrstah medu večje od ena, izjemi sta dva cvetlična medova. Iz slike 4 je razvidno, da vse vrste medu vsebujejo več fruktoze kot glukoze. To razmerje vpliva na hitrost kristalizacije medu, ki je hitrejša, čim nižje je to razmerje. Največje razmerje F/G je pri akacijevem medu, povprečno 1,45, najnižje pa v cvetličnem, 1,14.

Cotte s sod. (2004) poroča o zelo visokem razmerju, dobljenem z metodo HPAEC-PAD v akacijevem medu, 1,7. Tudi ostali (Golob in Plestenjak, 1999a; Földhazi, 1994; Žolnir, 2002) poročajo o določitvi najvišjega razmerja v akacijevem medu v primerjavi z ostalimi vrstami. Žolnir (2002) navaja med akacijevim, cvetličnim, gozdnim in smrekovim medom najnižje razmerje, dobljeno z metodo HPLC, v smrekovem, 1,19. Tudi Földhazi (1994) navaja najnižje razmerje, dobljeno z metodo HPLC, v maninem medu, medtem ko Golob in Plestenjak (1999a), dobljeno z metodo masne frakcije, v cvetličnem, ki je bilo 1,29, med akacijevim, cvetličnim in gozdnim medom.

4.1.2 Vsebnost disaharidov v različnih vrstah slovenskega medu po metodi HPAEC-PAD

V vzorcih medu letnika 2005 smo identificirali in ovrednotili naslednje disaharide: saharozo, gentibiozo z izomaltozo, palatinozo, turanozo in maltozo. Povprečne vsebnosti disaharidov analiziranih v štirih vrstah medov so napisane v preglednici 13 in 14.



Slika 6: Vsebnost disaharidov v akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu

Iz slike 6 je razvidno, da je v vseh vrstah analiziranega slovenskega medu letnik 2005 v povprečju največ disaharida saharoze. Sledijo maltoza, gentibioza z izomaltozo, turanoza in palatinoza. Med analiziranimi vrstami medu so največje razlike v vsebnosti saharoze, medtem ko je vsebnost palatinoze skoraj v vseh vrstah enaka.

Iz preglednic 13 in 14 lahko razberemo povprečno vsebnost saharoze v posameznih vrstah medu. Njena vrednost se giblje od 2,52 g/100 g v smrekovem do 4,22 g/100 g v akacijevem medu. Statistična analiza je pokazala, da se vsebnost saharoze med posameznimi vrstami medu statistično značilno ne razlikuje. Najširši interval območij je bil pri vrednosti saharoze v akacijevem medu z največjim koeficientom variabilnosti, 49,3 %, najožji in posledično največja zgoščenost podatkov pa je bila v smrekovem. Najmanjša vsebnost je bila določena v vzorcu S 21 (1,12 g/100 g), največja pa v A 18 (8,28 g/100 g).

Slovenski Pravilnik o medu (2004) dovoljuje 5 g saharoze v 100 g medu. Izjema je akacijev med z največjo dovoljeno vsebnostjo 10 g saharoze v 100 g medu. Analizirani vzorci akacijevga, cvetličnega, gozdnega in smrekovega medu izpolnjujejo ta pogoj v celoti.

Golob in Plestenjak (1999a) navajata podatke o vsebnosti saharoze v akacijevem, cvetličnem in gozdnem medu, ki so dosti manjše od naših analiziranih vsebnosti, medtem ko Popek (2002) poroča o večji vsebnosti tega disaharida v akacijevem medu. Cotte s sod. (2004), Földhazi (1994) in Žolnir (2002) poročajo o manjši vsebnosti saharoze v akacijevem medu v primerjavi z našim, medtem ko slednja dva, Nozal s sod. (2005) ter Da Costa Leite s sod. (2000) o manjši vrednosti saharoze v cvetličnem medu. Nozal in sod. (2005) ter Žolnir (2002) navajajo enako oz. manjšo vsebnost saharoze v gozdnem medu, slednja pa tudi manjšo v gozdnem in smrekovem medu. Vsi navedeni avtorji so izvajali analize z naslednjimi metodami: HPAEC-PAD (Cotte in sod., 2004; Nozal in sod., 2005), HPLC (Da Costa Leite in sod., 2004; Földhazi, 1994; Golob in Plestenjak, 1999a; Žolnir, 2002) in Codex Standard (1981) (Popek, 2002).

Povprečna vsebnost maltoze se giblje od 1,87 g/100 g v cvetličnem do 2,34 g/100 g v akacijevem medu. Statistična analiza je pokazala, da se vsebnost maltoze med posameznimi vrstami medu statistično značilno ne razlikuje. Najširši interval območij pripada smrekovem medu z največjim koeficientom variabilnosti, najožji pa je bil v cvetličnem. Največjo vsebnost maltoze, 3,88 g/100 g, smo določili v vzorcu G 24, najmanjšo, 0,68 g/100 g, pa v S 20.

Slovenski med, letnik 2001 (Žolnir, 2002), je vseboval več maltoze v akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu v primerjavi z medom istih vrst, letnika 2005. Tudi Földhazi (1994) poroča o večjih vsebnostih v akacijevem in cvetličnem, Nozal in sod. (2005) v gozdnem in cvetličnem ter Cotte in sod. (2004) o le nekoliko večjih v akacijevem medu. Swallow in Low (1990) navajata manjšo povprečno vrednost maltoze v kanadskih medovih, ki je znašala 1,01 g/100 g, Da Costa Leite in sod. (2000) pa pišejo o večji v brazilskih medovih, 3,05 g/100 g, v primerjavi z našimi štirimi vrstami. Slednji avtorji poročajo tudi o več maltoze v cvetličnem medu kot smo jo določili v naših vzorcih letnika 2005.

Interval povprečnih vsebnost palatinoze se giblje med 0,87 g/100 g v akacijevem in 1 g/100 g v smrekovem medu. Vsebnost palatinoze se med posameznimi vrstami medu statistično značilno ne razlikuje. V smrekovem medu je bil določen najširši interval območij vrednosti palatinoze s koeficientom variabilnosti, 35,3 %. Izstopajoče velik KV smrekovega medu je dokaz velike variabilnosti vzorcev znotraj vrste. Najmanjša in največja vsebnost palatinoze sta bili določeni v smrekovem medu, in sicer najmanjša, 0,65 g/100 g, v vzorcu S 24 in največja, 2,15 g/100 g, v S 20. Najmanjši koeficient variabilnosti je bil določen v akacijevem medu.

Cotte in sod. (2004) navajajo manjšo vsebnost palatinoze v akacijevem medu v primerjavi z našim. Isti avtor poroča o njenem povprečju v francoskem medu, ki je prav tako manjše kot v naših vrstah medu. Swallow in Low (1990) poročata o vsebnosti palatinoze, ki je bila določena le v eni vrsti medu (lucerna), v ostalih pa je bila le zaznana. Tudi ta količina je bila manjša od naše.

Območje povprečne vsebnosti turanoze se giblje od 1,51 g/100 g v cvetličnem do 1,95 g/100 g v gozdnem medu. Vsebnost turanoze se med posameznimi vrstami medu statistično značilno razlikuje. Gozdni med ima največji koeficient variabilnost, 23,2 %, in se statistično značilno ne razlikuje od smrekovega in akacijevga medu. Cvetlični med se statistično značilno razlikuje od gozdnega, medtem ko se od akacijevga in smrekovega ne razlikuje. Največja vsebnost, 3,06 g/100 g, je bila določena v vzorcu S 23, najmanjša, 1,07 g/100 g, pa v C 22.

Cotte in sod. (2004) poročajo o večji vsebnosti turanoze v akacijevem, Da Costa Leite in sod. (2000) o večji v cvetličnem, Nozal in sod. (2005) pa o večji v cvetličnem in gozdnem medu v primerjavi z našimi vzorci letnika 2005.

Povprečna vsebnost gentibioze z izomaltozo se giblje od 1,64 g/100 g v smrekovem do 2,02 g/100 g v gozdnem medu. S statistično analizo smo ugotovili, da se njuni vsebnosti med posameznimi vrstami medu statistično značilno ne razlikujeta. Največje razlike znotraj vrste so v cvetličnem medu z največjim koeficientom variabilnosti, 40,1 %, najmanjše pa v cvetličnem, 26,2 %. Najmanjša vsebnost, 0,52 g/100 g, je bila določena v vzorcu G 18, največja, 3,39 g/100 g, pa v A 18.

V primerjavi z medovi letnika 2005 navajajo Nozal in sod. (2005) večjo vsebnost v cvetličnem (14,8 g/100 g) in gozdnem (18,4 g/100 g) medu, Cotte in sod. (2004) pa so ju določili manj v akacijevem medu.

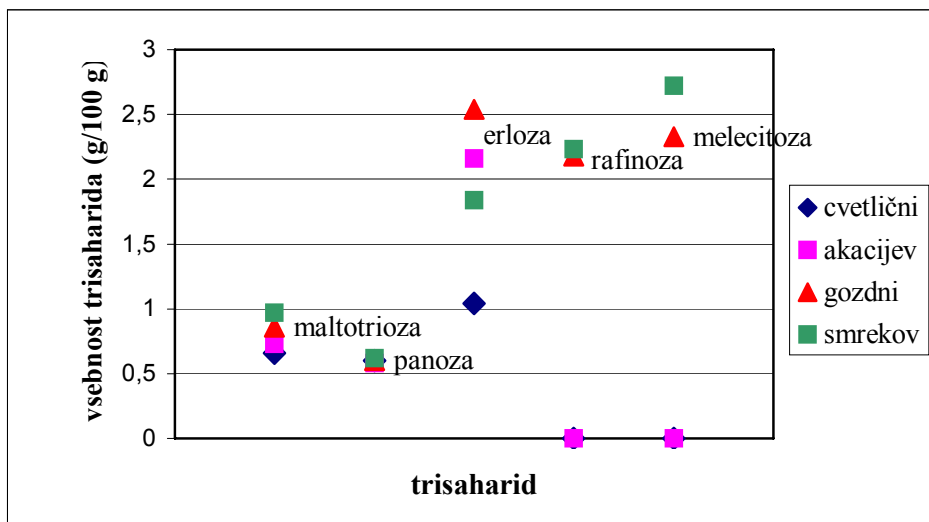
Iz slike 6 lahko jasno razberemo, da med iz mane povprečno vsebuje več naslednjih treh disaharidov: palatinoza, turanoza, gentibioza z izomaltozo, čeprav je v nektarjevem medu vsebnost skupnih disaharidov večja. Vzrok je lahko podoben kot pri monosaharidih, in sicer, da je praktično nemogoče dobiti popolnoma čist sortni med, saj čebelarji ne moremo zapovedati, kje naj se pasejo. Prav tako čebelarji ne točijo na sezono več kot dvakrat, nekateri celo le enkrat in je razumljivo, da bo v medu prisotne različne rastlinske vrste.

Za natančnejše rezultate in zanesljivejšo sliko sestave sladkorjev v posameznih vrstah slovenskega medu bi bilo potrebno analizirati veliko večje število vzorcev, različnih letnikov in geografskega izvora. To pa je preobsežno in predolgo delo za eno diplomsko nalogo.

4.1.3 Vsebnost trisaharidov v različnih vrstah slovenskega medu po metodi HPAEC-PAD

Trisaharidi, ki so bili identificirani v medu, so zapisani v preglednici 3. Od naštetih smo mi določili maltotriozo, panozo, erlozo, rafinozo in melecitozo. Za slednji dve navajajo Da Costa Leite in sod. (2000), da je značilen primer trisaharida, ki naj bi bil prisoten le v medu iz mane. Podatki o povprečni vsebnosti trisaharidov v akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu so zapisani v preglednici 13 in 14.

Iz slike 7 je vidno, da vsebnost trisaharidov izjemno niha. Največja nihanja so pri vsebnostih melecitoze, rafinoze in erloze, medtem ko je vsebnost maltotrioze in panoze v vseh vrstah medu izjemno podobna, še posebej panoze. KV so bili za vse trisaharide največji pri gozdnem medu, znašali so 64,4 % pri melecitozi, 67,4 % rafinozi in 58,7 % erlozi. Iz podatkov lahko sklepamo, da se gozdni medovi po vsebnosti trisaharidov izredno razlikujejo znotraj vrste. Največ trisaharidov vsebujejo povprečno medovi iz mane, kot navaja tudi razpoložljiva literatura.



Slika 7: Vsebnost trisaharidov v akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu

Izmed petih analiziranih trisaharidov je največjo vrednost dosegla melecitoza v smrekovem medu, povprečno 2,72 g/100 g. Pravega povprečja za cvetlični in akacijev med nismo mogli izračunati, ker smo pri nekaterih vzorcih medu melecitozo le zaznali in ne tudi količinsko

določili. V teh medovih melecitoze niti nismo pričakovali. V smrekovem medu je bila določena tudi največja vrednost, in sicer, 6,61 g/100 g, v vzorcu S 23. Statistična analiza je pokazala, da se vsebnost melecitoze med posameznimi vrstami medu statistično značilno ne razlikuje.

Földhazi (1994) poroča o enaki vsebnosti melecitoze v akacijevem ter večji v cvetličnem in maninem medu (6,17 g/100 g). Večjo vsebnost melecitoze v akacijevem, cvetličnem in gozdnem medu navajata tudi Golob in Plestenjak (1999a), medtem ko jo Žolnir (2002) le v akacijevem in gozdnem, enako v cvetličnem in manjšo v smrekovem. Cotte s sod. (2004) jo je določil več v akacijevem (0,1 g/100 g), Da Costa Leite s sod. (2000) v cvetličnem (0,37 g/100 g), Nozal s sod. (2005) v cvetličnem in gozdnem. Slednji vrednosti sta bili precej večji od naših (1,8 oz. 24,7 g/100 g). Swallow in Low (1990) navajata povprečno vrednost melecitoze v kanadskem medu, ki je bila 0,04 g/100 g.

Največja povprečna vsebnost rafinoze je bila v smrekovem medu in je znašala 2,23 g/100 g. Povprečnih vsebnosti v akacijevem in cvetličnem medu nismo mogli izračunati, ker smo pri nekaterih vzorcih rafinozo le zaznali, kar pomeni, da vsebnost v le-teh ni bila nič ampak majhna, vendar še vedno pod mejo detekcije. Največji koeficient variabilnosti smo izračunali pri gozdnem medu, 67,4 %, kar pomeni, da se vzorci znotraj vrste izjemno razlikujejo. Med posameznimi vrstami medu ni statističnih razlik v vsebnosti tega trisaharida. Največ, 6,11 g/100 g, ga je bilo v vzorcu G 30.

Cotte s sod. (2004) poroča o vsebnosti rafinoze v akacijevem medu, ki je enaka naši, Da Costa Leite s sod. (2000) pa o večji v cvetličnem medu. V brazilskem medu je bilo povprečno določene rafinoze 0,15 g/100 g (Da Costa Leite in sod., 2000), v francoskem pa 1,23 (Cotte in sod., 2004) kar je manj v primerjavi z našim gozdnim in smrekovim ter več v primerjavi s cvetličnim in akacijevim medom.

Povprečna vsebnost erloze se je gibala od 1,04 g/100 g v cvetličnem do 2,54 g/100 g v gozdnem medu. Vsebnost erloze se statistično značilno ne razlikuje med posameznimi vrstami medu. Največja variabilnost znotraj vrste je bila določena v gozdnem medu s koeficientom variabilnosti 58,7 %. Največja vsebnost, 5,35 g/100 g, je bila v vzorcu G 21, najmanjša, 0,57 g/100 g, pa v C 40, ki je mešanica med cvetličnim in škržatovim medom.

Nozal s sod. (2005) je določil vsebnost erloze v gozdnem in cvetličnem medu, ki sta, v primerjavi z našimi vzorci iste vrste, večji. Iz Francije poroča Cotte s sod. (2004) o manjši vsebnosti le-te v akacijevem medu. Povprečne vsebnosti erloze v medovih različnih dežel se zelo razlikujejo: 2,63 g/100 g v kanadskih (Swallow in Low, 1990), 10,75 g/100 g v španskih (Nozal in sod., 2005) in 1,32 g/100 g v francoskih (Cotte in sod., 2004). Kanadski in španski medovi so vsebovali več erloze glede na naš akacijev, cvetlični, gozdni in smrekov med, medtem ko je bila vsebnost erloze v francoskem medu večja le od cvetličnega.

Smrekov med je vseboval povprečno največ panoze (0,62 g/100 g), akacijev pa najmanj (0,58 g/100 g). S statistično analizo smo ugotovili, da se vsebnost panoze statistično značilno ne razlikuje med posameznimi vrstami medu. Največji koeficient variabilnosti je bil določen pri smrekovem medu in je znašal 14,3 %. Najmanjša in največja vsebnost panoze je bila v smrekovem medu, in sicer najmanjša, 0,51 g/100 g, v vzorcu S 21 in največja, 0,89 g/100 g, pa v S 20.

Nozal s sod. (2005) navaja večjo vsebnost panoze v cvetličnem (3,5 g/100 g) in gozdnem (4,2 g/100 g), Cotte s sod. (2004) manjšo v akacijevem in Da Costa Leite s sod. (2000) večjo v cvetličnem medu, kot smo jo določili v vzorcih letnika 2005. Swallow in Low (1990) navajata povprečno vsebnost panoze v kanadskih medovih, ki je bila 0,06 g/100 g.

Smrekov med vsebuje največje povprečje maltotrioze, ki je bilo 0,97 g/100 g, ter največji koeficient variabilnosti, 41,4 %. V posameznih vrstah medu se vsebnost maltotrioze statistično značilno ne razlikuje. Najmanj maltotrioze, 0,49 g/100 g, je bilo določene v vzorcu C 42, ki vsebuje tudi žepek, največ, 2,14 g/100 g, pa v S 41.

Cotte s sod. (2004) navaja manjšo vsebnost maltotrioze za akacijev med (0,4 g/100 g), Nozal s sod. (2005) večjo v cvetličnem (2,5 g/100 g) in gozdnem (3,2 g/100 g) ter Da Costa Leite s sod. (2000) večjo v cvetličnem medu (0,81 g/100 g). Povprečna vsebnost maltotrioze je bila 0,7 g/100 g v brazilskih (Da Costa Leite in sod., 2000), 0,37 g/100 g v francoskih (Cotte in sod., 2004), 0,07 g/100 g v kanadskih (Swallow in Low, 1990) in 2,98 g/100 g v španskih (Nozal in sod., 2005) medovih, v naših vzorcih pa 0,8 g/100 g.

4.2 DOLOČANJE VSEBNOSTI SAHAROZE S KROMATOGRFSKO (HPAEC-PAD) IN POLARIMETRIČNO METODO

V štirih vrstah medu (akacijev, cvetlični, gozdni, smrekov) smo določali vsebnost saharoze s HPAEC-PAD metodo. Poleg te analize smo za primerjavo uporabili še polarimetrično metodo ter nato primerjali vsebnosti saharoze, določene z obema metodama.

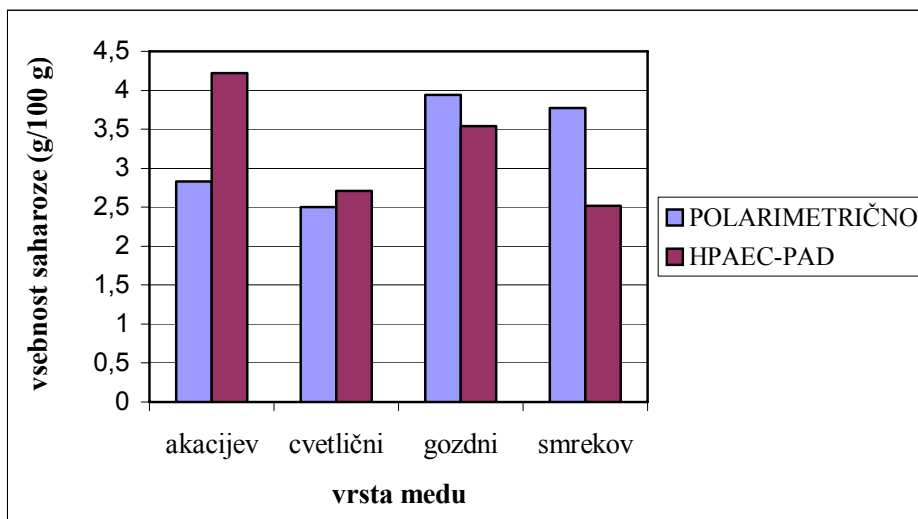
Preglednica 15: Vsebnost saharoze (g/100 g) v medu določena s HPAEC-PAD in s polarimetrično metodo

Vrsta medu	n	Metoda					
		HPAEC-PAD			polarimetrična		
		saharaza (%)			saharaza (%)		
	$\bar{x} \pm SD$	interval	KV (%)	$\bar{x} \pm SD$	interval	KV (%)	
akacijev	17	4,22 ± 2,08	1,92-8,28	49,29	2,83 ± 1,56	1,15-6,87	55,12
cvetlični	18	2,71 ± 0,91	1,31-4,35	33,58	2,5 ± 1,22	0,57-5,44	48,80
gozdni	15	3,54 ± 1,06	1,71-5,61	29,94	3,94 ± 1,87	0,90-7,60	47,46
smrekov	13	2,52 ± 0,69	1,12-3,78	27,38	3,77 ± 1,42	1,43-6,55	37,67

n - število vzorcev; \bar{x} - povprečna vrednost; SD - standardna deviacija; interval - minimalna in maksimalna vrednost; KV - koeficient variabilnosti

Preglednica 15 in slika 8 prikazujeta povprečno vsebnost saharoze, dobljeno z metodama HPAEC-PAD in polarimetrično. Kot je razvidno iz preglednice 15, je vsebnost saharoze dobljena s polarimetrično metodo v medu iz nektarja manjša, medtem ko je vsebnost saharoze v medu iz mane pri isti metodi večja. Največji razpon intervala pri metodi HPAEC-PAD je bil pri akacijevem medu, pri polarimetrični metodi pa je bil največji pri gozdnem medu. KV so bili pri vseh štirih vrstah medu pri metodi HPAEC-PAD veliki, vendar so bili pri polarimetrični metodi še večji.

Glede na dobljene rezultate in prebrano literaturo lahko sklepamo, da je HPAEC-PAD kromatografija natančnejša in manj agresivna. Polarimetrična metoda se bolj uporablja za rutinsko preverjanje vsebnosti saharoze v medu (glede na predpise), ob razpoložljivosti sodobnih natančnejših metod pa le redko še za določanje absolutne vsebnosti saharoze v medu. Prednost je le v tem, da je cenejša. Zahteva pa dobro vpeljanega analitika. Rezultati v medu iz mane in nektarja so pri polarimetrični metodi večji oz. manjši kot pri HPAEC-PAD. Vzrok je princip delovanja same metode in njena natančnost, viskoznost in barva medu ter encimska razgradnja saharoze.



Slika 8: Vsebnost saharoze določena s polarimetrično metodo in HPAEC-PAD kromatografijo

Iz slike 8 je razvidna vsebnost saharoze v štirih vrstah medu, ki je bila opravljena s HPAEC-PAD in polarimetrično. Veliko odstopanje saharoze je v akacijevem in smrekovem medu glede na polarimetrično metodo in HPAEC-PAD kromatografijo. Najboljše ujemanje rezultatov uporabljenih metod je bilo pri cvetličnem medu. Največ saharoze smo polarimetrično določili v gozdnem medu, povprečno 3,9 %, najmanj pa v cvetličnem medu, povprečno 2,5 %.

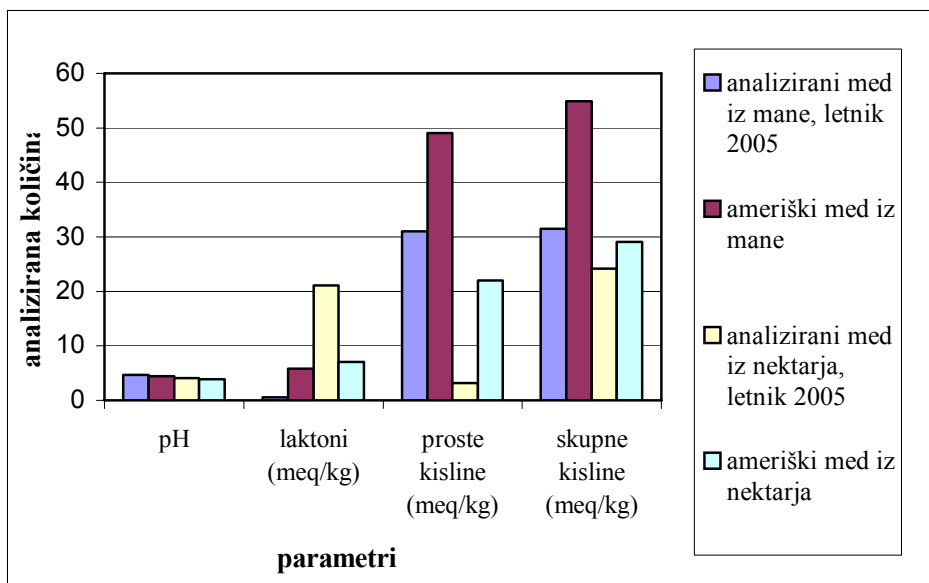
4.3 REZULTATI VSEBNOSTI PROSTIH IN SKUPNIH KISLIN, LAKTONOV IN VREDNOSTI pH

V prilogi C1- C4 so zbrani podatki določanja vsebnosti prostih in skupnih kislin, vrednost pH ter laktonov v štirih vrstah (akacijev, cvetlični, gozdni, smrekov) medu.

Rezultati kemijskih analiz so pokazali, da imajo medovi iz mane (gozdni in smrekov) v primerjavi z medovi iz nektarja (akacijev in cvetlični) večje vrednosti pH, več prostih in skupnih kislin, vendar manjšo vsebnost laktonov. Sklepamo lahko, da se med iz mane karakteristično razlikuje od medu iz nektarja.

Povprečne vrednosti pH in vsebnosti laktonov, prostih in skupnih kislin v analiziranem maninem in nektarjevem medu ter ameriškem (White in Landis Doner, 1980) medu iz mane in nektarja so prikazane na sliki 9. White in Landis Doner (1980) navajata rezultate raziskav o razlikah med medom iz mane in nektarja. Tako kot naši analizirani vzorci vsebujejo ameriški medovi iz mane večje količine prostih in skupnih kislin, večjo vrednost pH in manjšo vsebnost laktonov v primerjavi z medovi iz nektarja. Ameriški medovi iz nektarja in mane so dokaj primerljivi z analiziranimi slovenskimi medovi istega izvora, letnika 2005 v vrednosti pH,

medtem ko se v ostalih parametrih vrednosti precej razlikujejo. Največja primerljivost med slovenskim nektarjevim in ameriškim nektarjevim medom je v vsebnosti skupnih kislin, čeprav so v vsebnosti laktonov in prostih kislin precejšnje razlike. O večjih povprečnih vrednostih prostih kislin v maninih francoskih medovih poročajo tudi Devillers in sod. (2003).



Slika 9: Primerljivost različnih parametrov v medu glede na izvor in geografsko poreklo medu

V preglednici 16 so zbrani rezultati kemijskih analiz določanja vrednosti pH, vsebnosti prostih kislin in laktonov. Poleg kemijskih analiz vsebuje preglednica 16 izračunano vsoto prostih kislin in laktonov, imenovano skupne kisline. Podane so povprečne vrednosti vseh določitev, intervali oz. najmanjša in največja vrednost, standardna deviacija in koeficient variabilnosti.

Preglednica 16: Vsebnost prostih in skupnih kislin, laktonov ter vrednost pH v medu z izračunanimi statističnimi podatki

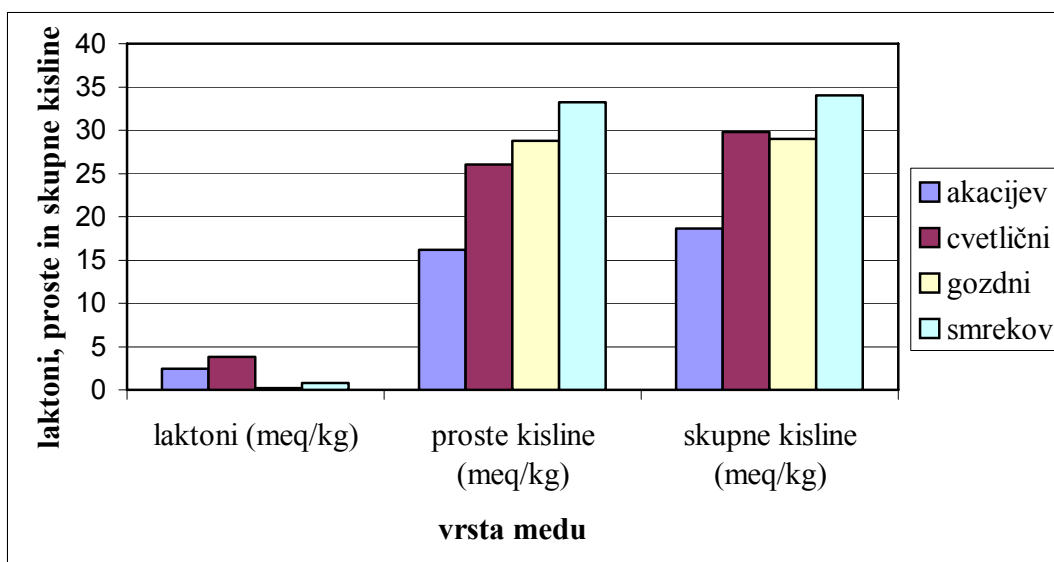
Parametri določanja	Statistični parametri	Vrsta medu			
		akacijev	cvetlični	gozdni	smrekov
proste kisline (meq/kg)	$\bar{x} \pm SD$	16,18 ± 4,68	26,06 ± 8,68	28,79 ± 7,31	33,25 ± 7,42
	interval	8,43-23,34	13,44-43,65	16,8-44	18,85-45,8
	KV (%)	28,92	33,31	25,39	22,32
laktoni (meq/kg)	$\bar{x} \pm SD$	2,48 ± 0,71	3,82 ± 1,26	0,22 ± 0,41	0,81 ± 1,06
	interval	1,04-3,96	0,7-5,46	0-1,65	0-3,64
	KV (%)	28,64	32,98	186,36	130,86
skupne kisline (meq/kg)	$\bar{x} \pm SD$	18,66 ± 4,85	29,77 ± 8,16	29,02 ± 7,48	34,05 ± 7,56
	interval	11,48-26,44	15,95-46,87	16,8-44,9	20,67-46,25
	KV (%)	25,99	28,89	25,76	22,2
pH vrednost	$\bar{x} \pm SD$	3,91 ± 0,14	4,32 ± 0,26	4,71 ± 0,21	4,64 ± 0,22
	interval	3,63-4,17	3,98-4,92	4,39-5,11	4,32-4,99
	KV (%)	3,58	6,02	4,46	4,74

\bar{x} - povprečna vrednost; SD - standardna deviacija; interval - minimalna in maksimalna vrednost; KV - koeficient variabilnosti

Iz preglednice 16 lahko razberemo povprečne vrednosti pH posameznih vrst medu, ki se gibljejo od 3,91 v akacijevem do 4,71 v gozdnem medu. Statistična analiza je pokazala, da se vrednost pH med posameznimi vrstami medu statistično značilno ne razlikuje. Najširši interval pH vrednosti je bil določen pri cvetličnem medu, ki ima največji koeficient variabilnosti, 6 %. Razmeroma majhen KV vrednosti pH posameznih vrst kažejo na dejstvo, da se pH vrednost znotraj posamezne vrste bistveno ne spreminja in je, z manjšimi odstopanji, tipična za vsako vrsto posebej. Najmanjša variabilnost pa je bila ugotovljena pri akacijevem medu, 3,6 %. Najmanjša vrednost pH je bila določena prav tako pri vzorcu akacijevnega medu, A 16, in sicer 3,91, najvišja, 5,11, pa pri gozdnem medu G 29.

Golob in Plestenjak (1999a) navajata vrednosti pH za akacijev, cvetlični in gozdni med. Najmanjša vrednost pH je bila v akacijevem medu (3,73) in največja v gozdnem (4,73). Vrednosti sta primerljivi z našimi rezultati. Škorjak (2004) v svoji diplomski nalogi navaja podatke za enake vrste medu, kot smo jih analizirali mi. Ravno tako je ugotovila, da ima akacijev med najmanjšo vrednost pH (4,19), ki je bil tudi najbolj kisel, največja pa v gozdnem (4,83), ki je bila le nekoliko večja od smrekovega (4,82) medu. Downey s sod. (2005) poroča o povprečni vrednosti pH v irskih medovih, ki je znašala 4,1, Ojeda de Rodríguez s sod. (2004) je za venezuelski med določila vrednost pH 3,65, in Esti s sod. (1997) za italijanski med 3,5. Vrednosti so primerljive z našimi analizami akacijevnega medu. Devillers s sod.

(2003) navaja vrednosti pH za akacijev (3,9), ki je enaka naši vrednosti in smrekov med (5,15), ki ima višji pH kot analiziran smrekov med. Marini s sod. (2004) poroča o večji vrednosti pH, 5,3, v italijanskih medovih iz mane.



Slika 10: Vsebnost laktonov, prostih in skupnih kislin v različnih vrstah analiziranega medu letnika 2005

Iz slike 10 je razvidno, da smrekov med vsebuje največ prostih kislin, povprečno 33,25 meq/kg, veliko jih vsebujeta tudi gozdni, 28,79 meq/kg, in cvetlični, 26,06 meq/kg, najmanj pa akacijev med in sicer 16,18 meq/kg. Cvetlični med vsebuje največ laktonov, 3,82 meq/kg, v akacijevem jih je 2,48 meq/kg, malo pa smo jih določili v smrekovem, 0,81 meq/kg, in gozdnem medu, 0,22 meq/kg. Skupnih kislin, ki predstavljajo vsoto laktonov in prostih kislin, je bilo največ, 34,05 meq/kg, v smrekovem medu, sledita cvetlični z 29,77 meq/kg in gozdni z 29,02 meq/kg, najmanj pa v akacijevem medu, 18,66 meq/kg.

Statistična analiza je pokazala, da se vrednost prostih kislin med posameznimi vrstami medu statistično značilno razlikuje. Smrekov med z največjo povprečno vrednostjo skupnih kislin se statistično značilno razlikuje od akacijevga in cvetličnega medu ter se statistično značilno ne razlikuje od gozdnega. Največja razlika med najmanjšo in največjo vsebnostjo prostih kislin je bila določena pri cvetličnem medu, ki ima največji koeficient variabilnosti, 33,3 %. Najmanjša variabilnost pa je bila izračunana pri smrekovem medu, 22,3 %. Najmanjša vsebnost prostih kislin je bila določena pri vzorcu akacijevga medu, A 20, in sicer 8,43 meq/kg, največja, 45,8 meq/kg, pa pri smrekovem medu S 23. Vsi vzorci ustrezajo zahtevam Pravilnika o medu (2004), ki dovoljuje do 50 miliekvivalentov prostih kislin na kilogram medu.

Francoski med (Devillers in sod., 2003) vsebuje manj prostih kislin v akacijevem (8,86 meq/kg) in smrekovem (24,24 meq/kg) medu glede na enaki analizirani vrsti medu. Škorjak

(2004) in Žolnir (2002) navajata v svojih diplomskih nalogah manjše vsebnosti prostih kislin v akacijevem (8,53 meq/kg oz. 13,47 meq/kg), cvetličnem (19,03 meq/kg oz. 19,32 meq/kg), gozdnem (24,58 meq/kg oz. 22,22 meq/kg) in smrekovem (22,50 meq/kg oz. 32,04) medu. Downey s sod. (2005) navaja večji razpon, od 23,8 meq/kg do 42,1 meq/kg, za vsebnost prostih kislin v irskem medu v primerjavi z našimi rezultati. Ōzcan s sod. (2005) navaja povprečno vsebnost prostih kislin v turškem medu, ki je bila 22,8 meq/kg. Terrab s sod. (2002) navaja povprečno vsebnost prostih kislin v maroškem medu iz mane (hrast, cedra), ki je bila 88 meq/kg, ter o zelo velikem razpon le-te, 61-102 meq/kg.

Vsebnost laktonov se med posameznimi vrstami medu statistično značilno ne razlikuje. Največja razlika med minimalno in maksimalno vsebnostjo laktonov je bila določena pri gozdnem medu, ki ima največji koeficient variabilnosti, 186,4 %, nekoliko manjšo ima smrekov med, 130,9 %. Najmanjša variabilnost pa je bila 28,6 % pri akacijevem medu. Najmanjša vrednost laktonov je bila 0 meq/kg pri desetih vzorcih gozdnega in treh vzorcih smrekovega medu, največja pa je bila določena pri cvetličnem medu C 19, 5,46 meq/kg.

Terrab s sod. (2002) in Sanz s sod. (2005) navajata večje vsebnosti laktonov v maroškem oz. španskem medu v primerjavi z našimi rezultati. Maroški jih je vseboval povprečno 9,74 meq/kg, španski pa 3,91 meq/kg. Maroški med iz mane je imel več kot 0 meq laktonov v kg medu. Tudi Downey s sod. (2005) poroča o večji povprečni vsebnosti laktonov v irskem medu, ki je bila 4,5 meq/kg, njen interval pa od 0,2 meq/kg do 14,9 meq/kg. Soria s sod. (2004) je določil med 0 in 13,9 meq/kg, vrednosti laktonov v medu iz Madrida. Nanda s sod. (2003) poroča o zelo veliki povprečni vsebnosti laktonov v indijskem medu, ki je znašala 15,8 meq/kg. Škorjak (2004) in Žolnir (2002) sta v svojih diplomskih nalogah določali večje vsebnosti laktonov v medu v primerjavi z našimi rezultati. Tudi Marini s sod. (2004) poroča iz Italije o večji vsebnosti laktonov v medu iz mane, ki je znašala 1,99 meq/kg, in višji v medu iz nektarja.

S statistično analizo smo ugotovili, da se vsebnost skupnih kislin med posameznimi vrstami medu statistično značilno razlikuje. Akacijev med, ki ima najmanjšo povprečno vsebnost skupnih kislin, se statistično značilno razlikuje od ostalih vrst. Največja razlika med minimalno in maksimalno vsebnostjo skupnih kislin je bila določena pri cvetličnem medu, ki ima največji koeficient variabilnosti, 28,9 %, najmanjša variabilnost je bila 22,2 % pri smrekovem medu. Najmanj skupnih kislin smo določili v akacijevem medu vzorca A 20, 11,48 meq/kg, največ, 46,87 meq/kg, pa v vzorcu cvetličnega medu C 26.

Nanda s sod. (2003) piše o večji vsebnosti skupnih kislin v indijskem medu, Downey s sod. (2005) v irskem, Ojeda de Rodríguez s sod. (2004) v venezuelskem medu in Sanz s sod. (2005) v španskem v primerjavi z našimi rezultati. Marini s sod. (2004) je v italijanskem medu iz mane določil manj skupnih kislin, in sicer 28,52 meq/kg. Precejšen razpon med maksimalno in minimalno vsebnostjo skupnih kislin je bil določen v maroškem medu iz mane, poroča Terrab s sod. (2002) (med 69,5 meq/kg in 110,5 meq/kg). Golob in Plestenjak (1999a) sta v medovih letnika 1996 določili več skupnih kislin v akacijevem ter manj v cvetličnem in

gozdnem medu v primerjavi z našimi rezultati. Slovenski med letnika 2001 (Žolnir, 2002) je vseboval enako količino skupnih kislin v smrekovem, nekoliko manjšo v akacijevem ter precej manjšo v cvetličnem in gozdnem medu v primerjavi z vzorci letnika 2005. Vsebnost skupnih kislin v slovenskem medu letnika 2000 (Škorjak, 2004) je primerljiva pri gozdnem medu, medtem ko je v akacijevem, cvetličnem in smrekovem njihova vsebnost manjša v primerjavi z medom letnika 2005.

4.4 REZULTATI STATISTIČNE ANALIZE

4.4.1 Levenov test homogenosti variance

Levenov test za rezultate analiz sladkorjev, razmerja med fruktozo in glukozo, invertnega sladkorja, vrednosti pH, laktonov ter prostih in skupnih kislin smo opravili s pomočjo programa za statistično obdelavo podatkov SPSS. Podal nam je statistično značilnost za vsak parameter posebej. Parametri s statistično značilnostjo večjo od 0,05, ki je statistično značilno izbrana meja, so bili: proste in skupne kisline, glukoz, fruktoza, invertni sladkor, razmerje med fruktozo in glukozo, panoza, maltoza, palatinoza, turanoza in gentibioza. Pri teh parametrih je bilo tveganje zavrnitve ničelne hipotezo preveliko. S tem smo potrdili, da so variance statističnih vzorcev parametrov s signifikanco večjo od 0,05 v štirih vrstah medu med seboj primerljive, torej smemo vzorce medsebojno primerjati z dejansko analizo variance, ki sledi.

4.4.2 Analiza variance (ANOVA)

Na osnovi vrednosti signifikance manjše od 0,05 pri prostih in skupnih kislinah, glukoz, fruktozi, turanozi, invertnem sladkorju, razmerju med fruktozo in glukozo, ki jo je po izračunu podal test, smo zavrnili ničelno hipotezo pri 0,05 stopnji tveganja. Posledično smo sprejeli hipotezo, ki pravi, da sta med štirimi vrstami medu vsaj dve, ki se statistično značilno razlikujeta glede na povprečno vsebnost opisanih parametrov, lahko pa jih je tudi več. Za nadaljnje razvrščanje vzorcev v skupine s podobnimi statističnimi značilnostmi smo uporabili Duncanov test.

4.4.3 Duncanov test

Duncanov test je zaključni test, namenjen vzorcem, za katere je znano, da so homogeni (Levenov test homogene variance), a ne pripadajo isti populaciji (ANOVA). Rezultati Duncanovega testa so podani v preglednici 17. Štiri preiskovane vrste medu se po Duncanovi analizi razvrsti v tri razrede: a, b in c. Parametri, ki niso opisani v preglednici 17, se statistično značilno ne razlikujejo med posameznimi vrstami medu.

Preglednica 17: Duncanov test za vsebnost nekaterih sladkorjev, razmerje med fruktozo in glukozo, proste in skupne kisline v posamezni vrsti medu

		Vrsta medu			
		akacijev	cvetlični	gozdni	smrekov
parameter	glukoza	a	b	a	a
	fruktoza	a	b	c	b
	invertni sladkor (F+G)	a	a	b	a
	F/G	a	b	b	c
	turanoza	a, b	a	b	a, b
	proste kisline	a	b	b, c	c
	skupne kisline	a	b	b	b

a, b, c - vrste medu uvrščene v različne razrede, ki se med seboj statistično značilno razlikujejo glede na povprečne vrednosti parametrov

Vrste medu, ki so uvrščene v različne razrede, se statistično značilno razlikujejo glede na povprečno vsebnost glukoze, fruktoze, turanoze, invertnega sladkorja, razmerja F/G ter prostih ali skupnih kislin, vrste v istem razredu pa ne. Iz preglednice lahko razberemo, da se vsebnost glukoze v cvetličnem medu statistično značilno razlikuje od akacijevga, gozdnega in smrekovega medu. Vidimo, da se cvetlični med v vsebnosti prostih kislin statistično značilno razlikuje od akacijevga in smrekovega, medtem ko se od gozdnega ne, tako kot se gozdni ne razlikuje od smrekovega in cvetličnega, od akacijevga pa se.

4.4.4 Analiza povezanosti spremenljivk

Vrednost Pearsonovega korelacijskega koeficienta za vse analizirane parametre smo določili s statističnim programom SPSS za 63 vzorcev medu štirih različnih vrst. Izračunani Pearsonovi korelacijski koeficienti so podani v preglednici 18 in nam povedo, kakšne so povezave med posameznimi neodvisnimi, analiziranimi parametri. Razvidno je, da so med posameznimi parametri pozitivne in negativne zveze.

Vidimo, da je vsebnost skupnih kislin v negativni korelaciji s fruktozo, invertnim sladkorjem, razmerjem med fruktozo in glukozo, panozo, erlozo, palatinozo, turanozo, saharozo, gentibiozo z izomaltozo in laktoni ter v pozitivni korelaciji z vrednostjo pH, prostimi kislinami, glukozo, maltotriozo, maltozo, rafinozo in melecitozo. Iz tega bi lahko sklepali, da je med iz nektarja bolj sladek in manj kisel, obratno velja za med iz mane.

Preglednica 18: Korelacijski koeficienti med analiziranimi parametri

parameter	pH	FA	LA	TA	glukoza	fruktoza	F/G	F+G	maltotrioza	panoza	erloza	maltoza	palatinoza	turanoza	saharoza	rafinoza	melecitoza	gentibioza z izomaltozo
pH	1	0,24	-0,49**	0,14	-0,19	-0,52**	-0,29*	-0,48**	0,35**	0,31*	-0,13	-0,23	0,30*	0,16	-0,14	0,38**	0,40**	0,13
FA		1	-0,29*	0,97**	0,09	-0,29*	0,34**	-0,13	0,14	-0,00	0,01	0,13	-0,03	-0,01	-0,39**	0,43**	0,44**	-0,28*
LA			1	-0,15	0,35**	0,17	-0,12	0,34**	-0,27*	-0,17	0,36**	-0,09	-0,20	0,34**	-0,07	0,47**	0,49**	-0,11
TA				1	0,17	-0,25*	0,38**	-0,06	0,12	-0,01	-0,03	0,12	-0,04	-0,06	0,40**	0,33*	0,33*	-0,28*
glukoza					1	0,15	-0,66**	0,74**	-0,35**	-0,24	-0,37**	-0,12	-0,12	-0,23	-0,34**	-0,20	-0,22	-0,21
fruktoza						1	0,61**	0,77**	-0,35**	-0,12	-0,21	-0,05	0,01	-0,05	0,02	-0,26	-0,25	-0,03
F/G							1	-0,01	0,00	0,10	0,12	0,08	0,09	0,13	0,31*	-0,08	-0,06	0,15
F+G								1	0,46**	-0,24	0,38**	-0,16	-0,07	-0,18	-0,20	-0,23	0,30	-0,15
maltotrioza									1	0,07	0,38**	0,21	-0,12	0,32*	0,16	0,24	0,26	0,10
panoza										1	0,01	-0,06	0,88**	0,25	0,13	0,02	0,02	0,43**
erloza											1	0,59**	-0,06	0,38**	0,50**	0,24	0,24	0,13
maltoza												1	-0,18	0,48**	0,60**	0,23	0,22	0,35**
palatinoza													1	0,16	-0,00	0,00	0,00	0,30*
turanoza														1	0,53**	0,55**	0,53**	0,70**
saharoza															1	-0,09	-0,10	0,71**
rafinoza																1	0,99**	0,09
melecitoza																	1	0,08
gentibioza z izomaltozo																		1

FA - proste kisline; LA - laktoni; TA - skupne kisline; F/G - razmerje med fruktozo in glukozo; F+G - vsota fruktoze in glukoze, tj. invertni sladkor; - nad številom pomeni negativno korelacijo; *oz.** zveza je statistično značilna pri 0,01oz. 0,05 stopnji tveganja; obarvana polja - med parametri je močna zveza

Ugotovili smo tudi, da je vsebnost glukoze v negativni korelaciji z vsemi di- in trisaharidi, kar je razumljivo, saj so le-ti sestavljeni iz glukoznih molekul. Tudi fruktoza je v negativni korelaciji z vsemi trisaharidi in disaharidi, z izjemo saharoze in palatinoze. Di- in trisaharidi so zgrajeni iz fruktoznih enot, zato so v negativni korelaciji s fruktozo.

Oba monosaharida, fruktoza in glukoza, sta v pozitivni korelaciji z laktoni in negativni z vrednostjo pH, iz česar lahko sklepamo, da bodo medovi iz nektarja vsebovali več laktonov in imeli manjšo vrednost pH v primerjavi z medovi iz mane, saj imajo ti manj laktonov in večjo vrednost pH.

Vsebnost melecitoze je v negativni korelaciji z laktoni, glukozo, fruktozo, invertnim sladkorjem, F/G in saharozo ter v pozitivni z vrednostjo pH, prostimi in skupnimi kislinami, vsemi trisaharidi in disaharidi, z izjemo saharoze. Na osnovi teh povezav lahko sklepamo, da je vsebnost melecitoze značilna predvsem za medove iz mane in ne toliko za nektarjeve medove. Podobne korelacije ima tudi rafinoza, za katero lahko trdimo podobno, da se visoka vsebnost rafinoze pojavlja pretežno v maninih medovih.

Na osnovi Personovega korelacijskega koeficienta (R), ki je pri linearni zvezi enak kvadratnemu korenu determinacijskega koeficienta, smo ovrednotili stopnjo povezanosti med posameznima, neodvisnima spremenljivkama. Med spremenljivkama smo iskali zvezo, ki bo močna (večja od 0,7). Našli smo sedem močnih povezav, ki so bile statistično značilne pri 0,05 stopnji tveganja. Te povezave so bile naslednje: proste in skupne kisline (0,97), glukoza in invertni sladkor (0,74), fruktoza in invertni sladkor (0,77), panoza in palatinoza (0,88), turanoza in gentibioza z izomaltozo (0,70), saharoza in gentibioza z izomaltozo (0,71) ter rafinoza in melecitoza (0,99).

Povezanost spremenljivk je naključna, odvisna od napak pri merjenju, na obe delujejo biološki in drugi dejavniki (geografska lega, klima, ravnanje čebelarja) variabilnosti. Vse močne povezave med spremenljivkama so pozitivne, kar pomeni, da vrednost ene spremenljivke narašča z vrednostjo druge.

Statistično močna in odvisna (pri regresiji) korelacijska povezava je med prostimi in skupnimi kislinami. V našem primeru je neodvisna regresijska spremenljivka vsebnost prostih kislin (x), kar pomeni, da večja vsebnost prostih kislin v medu zagotovo doprinese k povečanju skupnih kislin (y), česar pa v obratni smeri ne moremo trditi z gotovostjo. Skupne kisline se povečajo tudi z vsebnostjo laktonov, saj so vsota slednjih in prostih kislin. Skupne kisline smo zato izbrali za odvisno spremenljivko.

Statistično močna in odvisna (pri regresiji) korelacijska povezava je med fruktozo in invertnim sladkorjem ter glukozo in invertnim sladkorjem. V našem primeru sta neodvisni regresijski spremenljivki fruktoza in glukoza, odvisni pa je invertni sladkor, kar pomeni, da večja vsebnost fruktoze ali glukoze v medu zagotovo doprinese k povečanju invertnega sladkorja, česar v obratni smeri ne moremo trditi z gotovostjo. Količina invertnega sladkorja

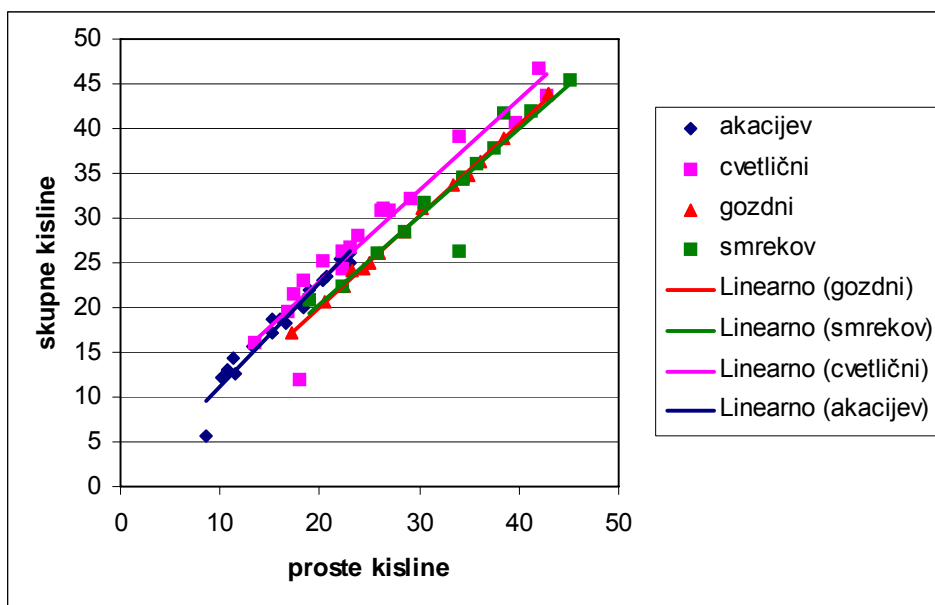
je odvisna od izvora medu. Poveča se lahko z razgradnjo di- in trisaharidov, ki so sestavljeni iz glukoznih in fruktoznih enot.

Korelacijska povezava fruktoza in razmerje F/G ter glukoza in razmerje F/G je le zmerna ter odvisna pri regresiji. Tudi tukaj sta neodvisni regresijski spremenljivki fruktoza in glukoza. Povezava fruktoza in razmerje F/G pomeni, da povečanje fruktoze pomeni tudi povečano razmerje med njo in glukozo, medtem ko pri povezavi glukoza in razmerje F/G pomeni, da povečanje glukoze pomeni zmanjšanje razmerja med fruktozo in njo, kar kaže tudi negativna povezava med njima.

Močna in pozitivna povezava je še med: panozo in palatinozo, rafinozo in melecitozo, turanozo in gentibiozo z izomaltozo ter saharozo in gentibiozo z izomaltozo.

Z metodo linearne regresije smo določili enačbo premice. Analize smo opravili z računalniškim programom Excel, ki je poleg grafičnih izrisov podal tudi izračunane enačbe premic in vrednosti koeficientov determinacije (R^2), ki nam povedo, kolikšen delež variabilnosti odvisne spremenljivke pojasnjuje vsebnost neodvisne spremenljivke.

Slika 11 prikazuje odvisnost skupnih kislin od vsebnosti prostih kislin v analiziranih štirih vrstah medu. Odnos med spremenljivkama štirih v raziskavo vključenih vrst medu opisuje linearni regresijski model opisan v preglednici 19. Izredno velike vrednosti regresijskega koeficienta in odseka premice na ordinatni osi sta posledici velikih vrednosti spremenljivk.



Slika 11: Zveze med vsebnostjo skupnih in prostih kislin v posameznih vrstah medu

Preglednica 19: Linearni regresijski modeli ter pripadajoče vrednosti R^2 in R za skupne in proste kisline

Vrsta medu	Linearni regresijski model ($y = b \cdot x + a$)	Koeficient determinacije (R^2)	Koeficient korelacije (R)
akacijev	$y = 1,1501 \cdot x - 0,2944$	0,9508	0,9751
cvetlični	$y = 1,0218 \cdot x + 2,5168$	0,9215	0,9599
gozdni	$y = 1,0203 \cdot x - 0,3540$	0,9985	0,9992
smrekov	$y = 0,9841 \cdot x + 0,5646$	0,8929	0,9449

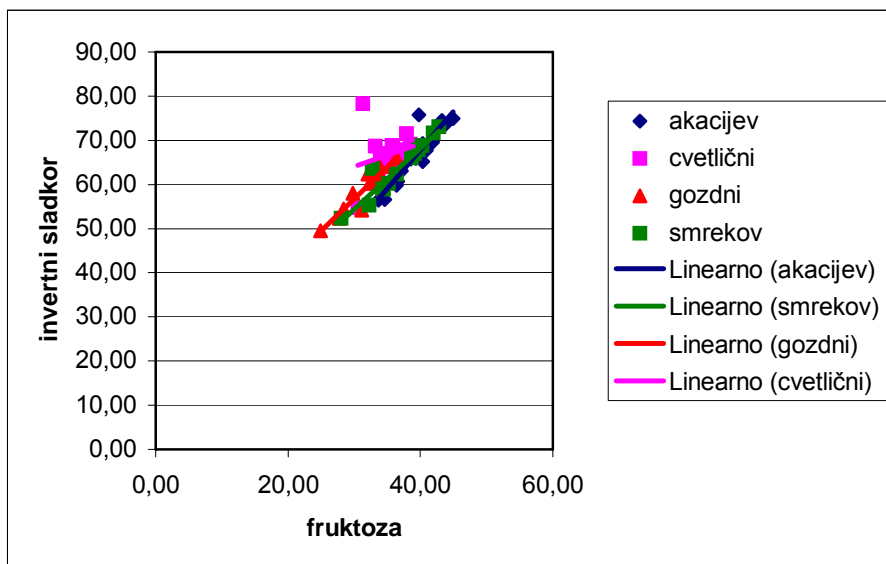
Regresijski model za vsebnost skupnih in prostih kislin v akacijevem medu je sestavljen iz 17 vzorcev, v cvetličnem iz 18, gozdnem iz 15 in smrekovem iz 13 vzorcev medu. Regresijski modeli so linearni, zato smo lahko s kvadratnim korenjenjem determinacijskih koeficientov (R^2) izračunali tudi korelacijskega (R).

Vse premice so naraščajoče, kar kažejo pozitivno predznačeni regresijski naklonski koeficienti b . Večji naklonski koeficienti b kažejo, v katerih sortah medu igrajo proste kisline večjo vlogo glede na delež skupnih kislin.

Vrednosti parametrov a predstavljajo povprečne deleže skupnih kislin, ki bi jih izmerili, če v medu ne bi bilo prostih kislin. Na grafih so te vrednosti vidne kot odseki, ki jih regresijske premice opišejo na ordinatni osi.

Vrednosti determinacijskih koeficientov se med vrstami medu spreminjajo, na splošno pa velja, da so velike. V smrekovem medu tako vsebnost prostih kislin pojasnjuje 89,3 % variabilnost skupnih kislin, kar pomeni, da obstaja 10,7 % variabilnost skupnih kislin nepojasnjenih, ob poznavanju le vsebnosti prostih kislin, medtem ko je nepojasnjenih v gozdnem medu le 0,15 %. Na osnovi Pearsonovega koeficienta pa smo prišli do ugotovitve, da je korelacija med prostimi in skupnimi kislinami močna v vseh primerih, saj so vsi R večji od 0,70, kar je spodnja mejna vrednost močnih korelacij.

Slika 12 prikazuje odvisnost invertnega sladkorja od vsebnosti fruktoze v analiziranih štirih vrstah medu. Odnos med spremenljivkama v medu opisuje linearni regresijski model opisan v preglednici 20. Izredno velike vrednosti regresijskega koeficienta in odseka premice na ordinatni osi sta posledici velikih vrednosti spremenljivk.



Slika 12: Zveza med vsebnostjo invertnega sladkorja in fruktoze v posameznih vrstah medu

Preglednica 20: Linearni regresijski modeli ter pripadajoče vrednosti R^2 in R za invertni sladkor in fruktozo

Vrsta medu	Linearni regresijski model ($y = b \cdot x + a$)	Koeficient determinacije (R^2)	Koeficient korelacije (R)
akacijev	$y = 1,7423 \cdot x - 1,9217$	0,8248	0,2872
cvetlični	$y = 0,5066 \cdot x + 48,905$	0,0667	0,2583
gozdni	$y = 1,4591 \cdot x - 12,932$	0,8448	0,9191
smrekov	$y = 1,3866 \cdot x + 12,801$	0,9063	0,9520

Regresijski modeli za fruktozo in invertni sladkor so sestavljeni tako kot pri regresijskem modelu prostih in skupnih kislin. Regresijski modeli so linearni. Vse premice so naraščajoče. Vrednosti parametrov a predstavljajo povprečne deleže invertnega sladkorja, ki bi jih izmerili, če v medu ne bi bilo fruktoze. Iz preglednice 20 je razvidno, da vsebuje cvetlični med podobno količino fruktoze in glukoze, v primerjavi z ostalimi vrstami, ki vsebujejo bistveno več fruktoze glede na glukozo. Vrednosti determinacijskih koeficientov se med vrstami medu spreminjajo. V smrekovem medu tako vsebnost fruktoze pojasnjuje 90,6 % variabilnost invertnega sladkorja, kar pomeni, da obstaja 9,4 % variabilnost invertnega sladkorja nepojasnjena, ob poznavanju le vsebnosti fruktoze, medtem ko je nepojasnenih v cvetličnem medu celo 93,3 %. Na osnovi Pearsonovega koeficienta pa smo prišli do ugotovitve, da je korelacija med fruktozo in invertnim sladkorjem močna v akacijevem, gozdnem in smrekovem.

Podobne regresijske enačbe dobimo tudi za odvisnost invertnega sladkorja od glukoze, le da so pri tem koeficienti determinacije smrekovega, gozdnega in cvetličnega medu povprečno 0,74, akacijev pa je 0,85. Smrekov in gozdni med imata precej nižji vrednostni parameter a (6,7 oz. 10,9) v primerjavi z akacijevim in cvetličnim medom (22,4 oz. 39,3). Iz česar lahko sklepamo, da vsebujeta smrekov in gozdni med večji delež glukoze v invertnem sladkorju kot akacijev in cvetlični.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Eksperimentalni del raziskave je obsegal kvantitativno ovrednotenje različnih vrst sladkorjev, prostih in skupnih kislin, laktonov in določitev vrednosti pH v vzorcih slovenskega medu, letnik 2005, v štirih najpogosteje zastopanih vrstah pri nas: akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem. Dobljene rezultate smo primerjali z vrednostmi, ki jih predpisuje slovenski Pravilnik o medu (2004). Temu je sledila statistična analiza, s katero smo proučili, ali obstajajo razlike znotraj posamezne vrste in med vrstami, na koncu pa smo ovrednotili medsebojne zveze med posameznimi spremenljivkami.

Rezultati kemijskih analiz in statistične obdelave so pokazali variabilnost določenih analiziranih parametrov (glukoze, fruktoze, turanoze, invertnega sladkorja, razmerja F/G ter prostih in skupnih kislin) med različnimi vrstami, medtem ko so vsi analizirani parametri pokazali variabilnost znotraj posamezne vrste medu.

Kromatografska metoda HPAEC-PAD, v našem primeru za določanje različnih sladkorjev, je hitra, zanesljiva, ponovljiva, občutljiva, zahteva majhno (1,5 mL) količino nederivatiziranega vzorca in omogoča večkratno uporabo vzorca. Menimo, tako kot mnogo avtorjev člankov, da je metoda primerna za tovrstno analizo.

Vse analizirane vrste medu so vsebovale v povprečju največ monosaharida fruktoze. Po podatkih literature se te vrednosti gibajo od 31,8 g/100 g v medu iz mane (White in Landis Doner, 1980) do 49,6 g/100 g v akacijevem medu (Földhazi, 1994). Rezultati analiz so pokazali, da so vsebovali analizirani vzorci medu povprečno 35,8 g/100 g in da so se povprečne vsebnosti gibale od 32 g/100 g v gozdnem do 39,3 g/100 g v akacijevem medu. Statistična analiza je pokazala, da se vsebnost fruktoze med posameznimi vrstami medu statistično značilno razlikuje.

Tudi vsebnost glukoze je bila v analiziranih vzorcih zelo različna, od 27 g/100 g v smrekovem do 31,5 g/100 g v cvetličnem medu. Povprečno so jo vzorci vsebovali 28,5 g/100 g. Statistične razlike med posameznimi vrstami medu so bile statistično značilne. Manjša vsebnost glukoze v medu iz mane (smrekov, gozdni) je lahko bila posledica večje količine glukonske kisline oz. oksidacije glukoze z encimom glukoza oksidaza. Med iz mane vsebuje manj glukoze in več skupnih kislin kot med iz nektarja.

Pomemben parameter kakovosti medu, predpisan tudi v Pravilniku o medu (2004), je vsota fruktoze in glukoze (F+G) tj. invertni ali reducirajoč sladkor. Pravilnik določa za cvetlični (nektarjev) med najmanj 60 g/100 g, medtem ko za gozdni med (manin; čisti ali mešanica s cvetličnim) najmanj 45 g/100 g. Naši podatki za smrekov, gozdni in cvetlični med so ustrezali tej zahtevi v celoti, medtem ko dva vzorca pri akacijevem medu nista ustrezala. Največji delež invertnega sladkorja, 75,7 g/100 g, je vseboval akacijev, najmanjšega, 49,5 g/100 g, pa gozdni

med. Povprečna vsebnost invertnega sladkorja v naših vzorcih je bila od 49 g/100 g v gozdnem do 78,7 g/100 g v cvetličnem medu.

Iz vsebnosti glukoze in fruktoze smo izračunali razmerje F/G, to je parameter, ki nam pove, kakšno stopnjo kristalizacije ima med. Veliko razmerje F/G, več kot 1,2, pomeni, da bo med počasi oz. težko kristaliziral. V naših vzorcih smo izračunali F/G v intervalu od 0,65 v cvetličnem do 1,63 v akacijevem medu. Največje razmerje F/G smo določili za akacijev in smrekov medu, povprečno 1,45 in 1,36, ki bosta počasi oz. težko kristalizirala, najmanjše razmerje F/G pa smo izračunali za cvetlični med, 1,14. To je posledica velike vsebnosti glukoze v cvetličnem medu, ki zaradi slabe topnosti povzroča kristalizacijo. Prav tako kot mi, tudi podatki iz literature navajajo veliko razmerje F/G v akacijevem medu (Cotte in sod., 2004; Golob in Plestenjak, 1999a; Földhazi, 1994; Žolnir, 2002).

Vsebnost saharoze v medu je parameter, ki kaže na potvorbo medu s sladkorjem, zato je v Pravilniku o medu (2004) predpisana največja dovoljena vsebnost saharoze, in sicer, do 5 g/100 g saharoze v medu, pri gozdnem (manin; čisti ali mešanica s cvetličnim), akacijevem in sivkinem pa do 10 g/100 g. V analiziranih vzorcih je bila vsebnost saharoze v območju med 1,1 g/100 g v smrekovem in 8,3 g/100 g v akacijevem medu in tako ustrezala predpisom, z izjemo enega gozdnega vzorca medu. Med posameznimi vrstami medu nismo ugotovili statistično značilnih razlik v vsebnosti saharoze. Primerjava z rezultati predhodnih raziskav kaže, da so enake vrste medu vsebovale manj saharoze v primerjavi z našimi.

Maltoza je bil drugi najbolj zastopan disaharid v štirih vrstah slovenskega medu, letnik 2005. Podatki iz literature navajajo v istih vrstah medu večjo vsebnost maltoze, od 2,6 g/100 g v cvetličnem (Da Costa Leite in sod., 2000) do 13,3 g/100 g v gozdnem medu (Nozal in sod., 2005). Rezultati naše analize so pokazali povprečne vrednosti v območju od 1,9 g/100 g v cvetličnem do 2,3 g/100 g v akacijevem medu, statistična analiza pa, da se vrste medu med seboj statistično značilno niso razlikovale. V analiziranih vzorcih je bila vsebnost maltoze v območju od 0,7 g/100 g v smrekovem do 3,9 g/100 g v gozdnem.

Povprečne vsebnosti palatinoze so se v analiziranih vzorcih medu gibale med 0,9 g/100 g v akacijevem in 1 g/100 g v smrekovem medu. Vzorci različnih vrst medu se v vsebnosti palatinoze statistično značilno niso razlikovali med seboj. Podatki iz literature (Cotte in sod., 2004; Swallow in Low, 1990) podajajo manjše vrednosti oz. le zaznane vsebnosti tega disaharida v francoskem in kanadskem medu.

Vsebnost turanoze je v analiziranih vzorcih medu znašala od 1,1 do 3,1 g/100 g, le-ti pa se med seboj niso statistično značilno razlikovali. Cvetlični med se ni razlikoval od akacijevga in smrekovega, razlikoval pa se je od gozdnega, le-ta pa se ni razlikoval od smrekovega in akacijevga medu. Podatki literature navajajo večjo vsebnost turanoze v akacijevem (Cotte in sod., 2004), cvetličnem (Da Costa Leite in sod., 2000; Nozal in sod., 2005) in gozdnem medu (Nozal in sod., 2005).

Z izbranim topilom in pogoji ločbe, s katerimi smo analizirali vsebnost sladkorjev v medu, nismo uspeli ločiti gentibioze in izomaltoze, zato smo ju zapisali skupaj. Njuna vsebnost je bila od 0,5 do 3,4 g/100 g, največ ju je bilo v gozdnem medu. Vrste medu se glede na njuno vsebnost statistično značilno niso razlikovale. V primerjavi z našimi podatki navaja Nozal s sod. (2005) večjo vrednost v cvetličnem in gozdnem, Cotte s sod. (2004) pa manjšo v akacijevem medu.

Melecitoza je bila najbolj zastopan trisaharid v medu iz mane (smrekovem in gozdnem), medtem ko je v medu iz nektarja (akacijev in cvetlični) ni bilo oz. je bila količina pod mejo detekcije. Vendar, če gledamo rezultate za posamezen vzorec, vidimo, da vsebujejo vzorci cvetličnega (4 vzorci) in akacijevega medu (2 vzorca) merljive količine melecitoze. Menimo, da je bila v teh vzorcih medu prisotna tudi mana. Podatki literature podajajo večje vsebnosti melecitoze v medu iz mane in tudi nektarja.

Poleg melecitoze je tudi rafinoza tipičen trisaharid, prisoten v maninih medovih (Da Costa Leite in sod., 2000). Tudi tukaj nismo mogli izračunati pravega povprečja za nektarjev med. Problem je bil tudi v tem, da sta elucijska časa melecitoze in rafinoze zelo skupaj, kar je še dodatno otežilo zaznavo. KV je bil pri gozdnem in smrekovem medu dokaj velik, kar nakazuje, da so se vzorci znotraj vrste izjemno razlikovali, medtem ko se vrste med sabo statistično značilno niso. V literaturi smo našli večje vsebnosti v primerjavi z našim nektarjevim medom in manjše glede na manin izvor.

Povprečna vsebnost erloze v naših vzorcih je bila od 1 g/100 g v cvetličnem do 2,5 g/100 g v gozdnem medu, statistična analiza pa ni zaznala razlik med posameznimi vrstami medu. Nozal s sod. (2005) navaja večjo povprečno vsebnost erloze v cvetličnem, 7,8 g/100 g, in v gozdnem medu, 10,8 g/100 g. Swallow in Low (1990) navajata večjo vsebnost v kanadskem medu, ki je bila 2,6 g/100 g, Cotte s sod. (2004) pa v francoskem medu, 1,3 g/100 g, kar je več le od našega cvetličnega medu.

Panoza je najbolj enakomerno razporejen trisaharid v vseh štirih vrstah medu, kar je razvidno tudi iz KV. Določili smo jo v razponu od 0,5 do 0,9 g/100 g, povprečno največ v smrekovem medu. Glede na njeno vsebnost je statistična analiza pokazala, da se vzorci medu med seboj statistično značilno ne razlikujejo. Iz literature smo zasledili večje vsebnosti v cvetličnem in gozdnem medu (Nozal in sod., 2005, Da Costa Leite in sod., 2000) ter manjšo v akacijevem (Cotte in sod., 2004).

Največja vsebnost maltotrioze smo določili v medu iz mane, smrekovem in gozdnem, ter ugotovili, da se statistično značilno ni razlikovala med posameznimi vrstami medu. Njen interval se je gibal med 0,5 in 2,1 g/100 g. Podatki literature v primerjavi z našimi analizami navajajo manjšo vsebnost v akacijevem ter večjo v cvetličnem in gozdnem. Brazilski, francoski in kanadski med vsebuje manj maltotrioze v primerjavi z našimi podatki, medtem ko jo španski vsebuje več.

Sestava sladkorjev (mono-, di- in trisaharidov) ni bila dovolj za identifikacijo botaničnega porekla medu. Na osnovi sestave in količine mono-, di- in trisaharidov oz. predvsem glede na mono- in oligosaharide (di- in trisaharidi) v medu smo lahko ločili med glede na izvor, torej na manin in nektarjev. Manini medovi so vsebovali več oligosaharidov, ki nastanejo s hidrolizo saharoze v reducirajoče monosaharide. Nadalje s pomočjo transglukozidacije in transfruktozidacije iz monosaharidov nastanejo oligosaharidi. Obratno pa nektarjevi medovi vsebujejo več monosaharidov. Torej med iz mane vsebuje manj fruktoze, glukoze in saharoze ter več trisaharidov kot med iz nektarja. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Doner (1977), White (1978) in Földhazi (1994).

Vrednost pH je pomemben parameter kakovosti medu. Terrab s sod. (2002) navaja, da so tekstura, stabilnost in obstojnost medu odvisne od vrednosti pH, le-ta pa je odvisna od prisotnih organskih kislin. Organske kisline so v ravnotežju z njihovimi pripadajočimi laktoni, estri in nekaterimi anorganskimi ioni, kot so fosfat, sulfat in klorid. V analiziranih vzorcih medu smo določili povprečno vrednost pH 4,1 za med iz nektarja in 4,7 za med iz mane, najmanjšo v akacijevem medu (3,6) in največjo v gozdnem medu (5,4).

Proste kisline prispevajo bistveni delež k skupnim kislinam medu. Analizirani vzorci medu so zajemali interval od 8,5 do 45,3 meq/kg ter ustrezajo zahtevi Pravilnika o medu (2004), ki dovoljuje do 50 miliekvivalentov prostih kislin v kg medu. Vsebnost prostih kislin se je statistično značilno razlikovala med posameznimi vrstami medu.

Vsebnost laktonov oz. laktonska kislost predstavlja presežek kislosti, ko med postane alkalen. Analizirani vzorci medu so je vsebovali od 0 meq/kg v gozdnem in smrekovem do 5,5 meq/kg v cvetličnem oz. povprečno od 0,2 meq/kg v gozdnem do 3,8 meq/kg v cvetličnem medu. Vsebnost laktonov je zelo variabilen parameter s koeficientom variacije 186 % pri gozdnem medu.

Vsebnost skupnih kislin, ki predstavlja vsoto prostih kislin in laktonov, je lahko pokazatelj morebitne alkoholne fermentacije ali produkcije očetne kisline. V naši analizi smo jih določili povprečno od 18,7 meq/kg v akacijevem do 33,7 meq/kg v smrekovem medu.

Vrednost pH, laktoni, proste in skupne kisline ne povedo nič o botaničnem poreklu, ampak lahko na osnovi njihove vsebnosti sklepamo o izvoru medu. Rezultati naše raziskave so pokazali, da vsebuje med iz mane več prostih in skupnih kislin, manj laktonov ter večjo vrednost pH kot med iz nektarja. Podobne rezultate navajata tudi White in Landis Doner (1980).

Iz dobljenih rezultatov vseh opravljenih analiz, lahko vidimo, kakšne so razlike med posameznimi vrstami medu:

- Za akacijev med je bila značilna največja vsebnost fruktoze in največje razmerje F/G. Zaradi tega akacijev med običajno ne kristalizira. Akacijev med je vseboval tudi največ saharoze, maltoze in skupnih sladkorjev ter najmanj panoze, palatinoze, prostih in skupnih kislin ter

najmanjšo vrednost pH. Prav tako ni vseboval oz. le minimalno količino melecitoze in rafinoze.

- Cvetlični med je imel najmanjše razmerje F/G, zato pogosto in hitro kristalizira. Vseboval je največ invertnega sladkorja, glukoze in laktonov, vendar najmanj skupnih sladkorjev. Prav tako tudi ta vrsta medu ni vsebovala oz. le minimalno količino melecitoze in rafinoze.

- Gozdni med je vseboval najmanj laktonov in imel največjo vrednost pH. Vseboval je največ erloze, turanoze, gentibioze z izomaltozo ter dosti melecitoze in rafinoze. Najmanj pa fruktoze in invertnega sladkorja.

- Smrekov med je imel relativno veliko skupnih sladkorjev, invertnega sladkorja, melecitoze, rafinoze ter veliko razmerje F/G in vrednost pH. Vseboval je največ prostih in skupnih kislin, maltotrioze, panoze in palatinoze ter najmanj saharoze in gentibioze z izomaltozo.

S korelacijsko analizo smo ugotovili povezanost različnih parametrov. Koeficienti korelacije so zbrani v preglednici 18. Našli smo sedem močnih povezav: proste in skupne kisline, glukoza in invertni sladkor, fruktoza in invertni sladkor, panoza in palatinoza, turanoza in gentibioza z izomaltozo, saharoza in gentibioza z izomaltozo ter rafinoza in melecitoza, ki so statistično značilne pri 5 % stopnji tveganja. Vse povezave so linearne in pozitivne, kar pomeni, da večja vsebnost enega parametra v medu zagotovo doprinese k povečanju drugega. Odvisne povezave med posameznimi parametri pa so: fruktoza in invertni sladkor, fruktoza in razmerje F/G, glukoza in invertni sladkor, glukoza in razmerje F/G, proste in skupne kisline.

5.2 SKLEPI

Na podlagi rezultatov analiz vsebnosti različnih sladkorjev, laktonov, prostih in skupnih kislin ter merjenjem pH vrednosti, v štirih vrstah medu ter rezultatov statistične analize le-teh, smo povzeli naslednje sklepe:

- Med je koncentrirana vodna raztopina raznolike mešanice sladkorjev, med katerimi prevladujeta fruktoza in glukoza,
- HPAEC-PAD metoda je primerna, saj smo uspeli ločiti in ovrednotiti 12 sladkorjev,
- Med nekaterimi vrstami medov so statistično značilne razlike ($P \leq 0,05$), in sicer v vsebnosti naslednjih parametrov: glukoze, fruktoze, invertnega sladkorja, turanoze, prostih in skupnih kislin ter razmerja F/G, medtem ko se vsebnost ostalih parametrov med posameznimi vrstami medu statistično značilno ne razlikuje,
- S pomočjo statistične analize smo določili sedem močnih povezav, ki so statistično značilne pri 0,05 stopnji tveganja. Te povezave so med prostimi in skupnimi kislinami, glukozo in invertnim sladkorjem, fruktozo in invertnim sladkorjem, panozo in palatinozo, turanozo in gentibiozo z izomaltozo, saharozo in gentibiozo z izomaltozo ter rafinozo in melecitozo,
- Med iz mane vsebuje manj fruktoze, glukoze, saharoze, invertnega sladkorja in laktonov, vsebuje pa več disaharidov (palatinoza, turanoza), trisaharidov (maltotrioza,

panoza, erloza, rafinoza in melecitoza), prostih in skupnih kislin ter ima višjo vrednost pH kot med iz nektarja,

- Vsebnosti saharoze do 5 g/100 g v cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu ter do 10 g/100 g v akacijevem kažejo na pristnost in ustreznost analiziranih vzorcev medu s slovenskim Pravilnikom o medu (2004), z izjemo enega vzorca, ki vsebuje več kot 5 g reducirajočih sladkorjev v 100 g gozdnega medu,
- Saharozo smo določali tudi s polarimetrično metodo, ki se uporablja za rutinsko preverjanje saharoze v medu glede na predpise. Dobljeni rezultati so bistveno bolj variirali od rezultatov dobljenih z metodo HPAEC-PAD,
- Medovi ustrezajo zahtevam slovenskega Pravilnika o medu (2004) glede zahteve o vsebnosti najmanj 45 g reducirajočih sladkorjev v 100 g maninega medu in najmanj 60 g reducirajočih sladkorjev v 100 g nektarjevega medu. Dva vzorca akacijevga medu nista ustrezala tem zahtevam,
- Glede vsebnosti prostih kislin vsi analizirani vzorci medu ustrezajo zahtevam slovenskega Pravilnika o medu (2004), ki dovoljuje največ 50 meq prostih kislin v kg medu,
- Z določitvijo vsebnosti različnih sladkorjev, vrednosti pH, laktonov, prostih in skupnih kislin ni mogoče natančno ugotoviti vrste medu, ker se nekateri parametri statistično značilno ne razlikujejo med seboj. Potrebne so še dodatne fizikalno-kemijske analize in pelodna analiza medu. Na osnovi teh testov pa lahko opredelimo izvor medu (nektarjev ali manin),
- Povprečne vsebnosti večine analiziranih sladkorjev ne moremo primerjati s slovensko literaturo, saj je naša raziskava prva, ki je zajela toliko različnih sladkorjev.

6 POVZETEK

Med je popolnoma naraven proizvod čebeljega izvora ter eno redkih živil, ki ohranja svoje lastnosti brez dodatka konzervansov. Med je koncentrirana vodna raztopina mešanice sladkorjev, med katerimi prevladujeta monosaharida fruktoza in glukoza. Poleg sladkorjev vsebuje še encime, kisline, vitamine, minerale, beljakovine, flavonoide, aromatične snovi, antibakterijske snovi itd. Kemijska sestava medu je odvisna od sestave nektarja oz. mane, od vrste medu in od zunanjih vplivov, geografskega porekla in pogojev nastanka medu.

Osnovni namen diplomskega dela je bil ovrednotiti delež različnih sladkorjev, vrednost pH, laktone, proste in skupne kisline v najpogosteje zastopanih vrstah slovenskega medu, letnik 2005, dobljene rezultate primerjati z vrednostmi, ki jih predpisuje slovenski Pravilnik o medu (2004) in s podatki iz literature ter poiskali zveze med posameznimi parametri.

Analize smo opravili v 63 vzorcih slovenskega medu letnika 2005, štirih različnih vrst: akacijevem, cvetličnem, gozdnem in smrekovem medu. Vrste medu so bile predhodno določene s senzorično analizo.

Vsebnost različnih sladkorjev smo določali z metodo HPAEC-PAD, saharozo pa še dodatno s polarimetrično metodo. Na podlagi rezultatov kemijske analize smo izračunali vsebnost skupnih sladkorjev, invertnega sladkorja in razmerje F/G, ki pomembno vpliva na kristalizacijo medu. Za analizo prostih kislin, laktonov in merjenje vrednosti pH smo uporabili titrimetrično metodo (AOAC 962.19, 1999), vsebnost skupnih kislin pa izračunali kot vsoto prostih kislin in laktonov. Vse te rezultate smo statistično obdelali in ugotavljali, če se parametri, ki smo jih določali razlikujejo med in v posameznih vrstah medu in kakšne so te razlike.

Na podlagi statistične analize smo ugotovili, da so v vsebnosti glukoze, fruktoze, invertnega sladkorja, turanoze in razmerju F/G statistično značilne razlike ($P \leq 0,05$) med posameznimi vrstami medu, medtem ko v vsebnosti ostalih sladkorjev ni statistično značilnih razlik.

Akacijev med je vseboval največ fruktoze, skupnih sladkorjev, saharoze, maltoze in je imel največje razmerje F/G. Cvetlični med je vseboval največ glukoze in invertnega sladkorja. Gozdni med je imel največ erloze, turanoze in gentibioze z izomaltozo. Največ maltotrioze, panoze, palatinoze, rafinoze in melecitoze pa je vseboval smrekov med.

Intervalno območje vseh določitev fruktoze je bilo med 24,6 g/100 g in 45,1 g/100 g, največ tega sladkorja je bilo v akacijevem medu.

Vsebnost glukoze se je v vseh analiziranih vzorcih medu gibala od 21,8 g/100 g do 47,2 g/100 g, največ jo je bilo v cvetličnem medu.

Izračunana skupna vrednost invertnega sladkorja v analiziranih vzorcih je znašala med 49 g/100 g in 78,6 g/100 g, Pravilnik o medu (2004) pa določa najmanj 60 g invertnega sladkorja v 100 g medu iz nektarja in najmanj 45 g invertnega sladkorja v 100 g maninega ali mešanega medu. Dva vzorca akacijevnega medu nista ustrezala zahtevam Pravilnika.

Razmerje F/G za vse analizirane vzorce je bilo v intervalnem območju od 0,65 do 1,63, največje je bilo določeno pri akacijevem medu in pomeni, da ima ta vrsta medu nizko stopnjo kristalizacije. Največje razmerje F/G v akacijevem medu so ugotovili tudi Cotte in sod. (2004), Golob in Plestenjak (1999a), Földhazi (1994) ter Žolnir (2002).

Primerjava povprečne vsebnosti fruktoze, glukoze, saharoze in invertnega sladkorja v naših vzorcih s podatki slovenskih avtorjev (Golob in Plestenjak, 1999a; Žolnir, 2002) je pokazala, da je bilo v nektarjevem medu letnika 2005 več saharoze, manj fruktoze, približno enako glukoze, manj invertnega sladkorja, v medu iz mane pa so bile te vrednosti primerljive z vzorci letnika 1996 in 2001.

Eksperimentalni podatki vseh določitev vsebnosti saharoze so bili med vrednostma 1,1 in 8,3 g/100 g. Ker vsebnosti saharoze v cvetličnem, smrekovem in gozdnem medu ne presegajo 5 g/100 g, razen v enem gozdnem vzorcu, ter vrednost saharoze v akacijevem medu ne 10 g/100 g, lahko zaključimo, da vzorci medu ustrezajo zahtevam Pravilnika o medu (2004), ki predpisuje ti meji, z eno izjemo pri gozdnem medu, za katero lahko sklepamo, da je bil vzorec morda potvorjen ali pa mu je bil primešan akacijev med. Slednji trditvi bi morali preveriti s specifično elektrolitsko prevodnostjo ter morda opraviti še pelodno analizo.

Najmanjša vsebnost maltoze je znašala 0,7 g/100 g in je bila določena v smrekovem medu, največja pa 3,9 g/100 g v gozdnem. Primerjava vsebnosti maltoze v naših vzorcih s podatki tujih avtorjev, kaže, da je le-ta manjša v vseh naših vrstah medu.

Vsebnosti ostalih disaharidov so bile: za palatinozo od 0,6 g/100 g do 2,1 g/100 g, za turanozo od 1,1 do 3,1 g/100 g in gentibiozo z izomaltozo od 0,5 do 3,4 g/100 g.

Vsebnost trisaharidov melecitoze in rafinoze, ki prevladujeta v medovih iz mane, sta se v vseh analiziranih vzorcih medu gibali od 0 do 6,6 g/100 g oz. 0 do 6,1 g/100 g. Vrednost erloze je bila med 0,6 in 5,3 g/100 g, panoze med 0,5 in 0,9 g/100 g ter maltotrioze med 0,5 in 2,1 g/100 g.

Primerjava vsebnosti disaharidov (maltoza, palatinoza, turanoza) in trisaharidov (maltotrioza, panoza, erloza, melecitoza, rafinoza) v naših vzorcih s podatki tujih avtorjev je pokazala, da je sestava sladkorjev odvisna od botaničnega in geografskega porekla medu, saj so se podatki med seboj zelo razlikovali.

Proučevane štiri vrste medu (akacijev, cvetlični, gozdni in smrekov) so se statistično značilno razlikovale ($P \leq 0,05$) glede na povprečno vrednost prostih in skupnih kislin, medtem ko se

glede na vsebnost laktonov in vrednost pH statistično značilno niso razlikovale. Največjo vrednost pH je imel gozdni med, največ prostih in skupnih kislin je vseboval smrekov med, največ laktonov cvetlični med.

Vrednosti pH smo določili v intervalu med 3,6 in 5,1. Tudi podatki literature navajajo najmanjšo vrednost pH v akacijevem medu in večjo v medu iz mane, kar je primerljivo z našimi rezultati. Vemo, da vrednost pH medu med skladiščenjem vpliva na teksturo, stabilnost in obstojnost medu, in je odvisna od prisotnih organskih kislin, ki so v ravnotežju z njihovimi pripadajočimi laktoni, estri in nekaterimi anorganskimi ioni (fosfat, sulfat, klorid).

Vsebnost prostih kislin v analiziranih vzorcih je bila v intervalu od 8,4 do 45,8 meq/kg, največ prostih kislin smo določili v smrekovem medu. Vsi vzorci štirih vrst medu so ustrezali zahtevam Pravilnika o medu (2004), ki dovoljuje do 50 meq prostih kislin v kg medu.

Eksperimentalni podatki vseh določitev vsebnosti laktonov (laktonska kislost) so bili med vrednostma 0 in 3,8 meq/kg. Laktonska kislost predstavlja presežek kislosti, ko med postane alkalen.

Izračunana vsebnost skupnih kislin (vsota prostih kislin in laktonov) v analiziranih vzorcih je bila v razponu od 11,5 do 46,9 meq/kg.

Na podlagi regresijske, korelacijske in statistične analize smo ugotovili sedem statistično močnih povezav pri stopnji tveganja 0,05. Zveze so bile med vsebnostjo prostih in skupnih kislin, glukoze in invertnega sladkorja, fruktoze in invertnega sladkorja, panoze in palatinoze, turanoze in gentibioze z izomaltozo, saharoze in gentibioze z izomaltozo ter rafinoze in melecitoze. Povezanost spremenljivk je bila naključna, odvisna od napak pri merjenju, na obe spremenljivki delujejo biološki in drugi dejavniki variabilnosti. Vse močne povezave med spremenljivkama so bile pozitivne kar pomeni, da je vrednost ene spremenljivke naraščala z vrednostjo druge.

Našli smo tudi odvisne povezave med glukozo in invertnim sladkorjem, fruktozo in invertnim sladkorjem, glukozo in razmerjem F/G, fruktozo in razmerjem F/G, prostimi in skupnimi kislinami. Neodvisne spremenljivke so bile fruktoza, glukoza, proste kisline; od njih oz. njihove vsebnosti odvisne pa invertni sladkor, razmerje F/G, skupne kisline. Za invertni sladkor vemo, da je vsota fruktoze in glukoze, skupne kisline so vsota prostih kislin in laktonov, razmerje F/G pa je odvisno od fruktoze in glukoze, zato lahko sklepamo o odvisnosti med njima. Večja vsebnost neodvisne spremenljivke zagotovo doprinese k povečanju odvisne, česar pa v obratni smeri ne moremo trditi z gotovostjo.

Predpostavljene hipoteze o vrednostih, ki jih predpisuje slovenski Pravilnik o medu (2004), lahko potrdimo, čeprav nekaj vzorcev medu ne ustreza le-tem. Na osnovi opravljenih testov lahko opredelimo le izvor medu in ne tudi vrste, saj se nekateri parametri statistično značilno

ne razlikujejo med seboj. Potrebne so še dodatne fizikalno-kemijske analize in pelodna analiza medu.

Za akacijev med smo ugotovili, da je imel največje razmerje F/G, kar je tudi karakteristična posebnost te vrste.

Prispevek diplomske naloge:

- vpeljava kromatografske metode za določene sladkorje v medu,
- število analiz je bilo obsežno, še vedno pa je to osnova za nadaljnje analize vsebnosti sladkorjev v slovenskem medu, katerih rezultati bodo dopolnili široko zbirko podatkov. Namen slednje je zanesljivo prepoznavanje/določanje botaničnega in morda tudi geografskega izvora medu,
- določitev številnih sladkorjev, ki jih prej v slovenskem medu še nismo,
- boljše poznavanje spektra in vsebnosti di- in trisaharidov v slovenskem medu.

7 VIRI

AOAC Official Method 962.19. Acidity (free, lactone, and total) of honey. 1999. V: Official methods of analysis of AOAC International. Vol. II. 16th ed. 5th revision. Cunniff P. (ed.). Gaithersburg, AOAC International: Chapter 44, p. 31

Adamič Š. 1989. Temelji biostatistike. 2. izd. Ljubljana, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani: 27-36, 44-48, 113-122

Analysis of carbohydrates by high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAE-PAD). Technical note 20. 2000. Sunnyvale, CA, Dionex Corporation: 13 str.

Anklam E. 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. Food Chemistry, 63, 4: 549-562

Aurand L.W., Woods A.E., Wells M.R. 1987. Food composition and analysis. New York, AVI Publishing Company: 100-176, 283-346

Bajc M. 2004. Med. Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije (2002)
<http://www.slovenski-cebelarji.com/cvet-cebela-cebelarstvo-obranovic> (marec 2006): 1 str.

Batsoulis A.N., Siatis N.G., Kimbaris A.C., Alissandrakis E.K., Pappas C.S., Tarantilis P.A., Harizanis P.C., Polissiou M.G. 2005. FT-Raman spectroscopic simultaneous determination of fructose and glucose in honey. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 207-210

Belitz H.D., Grosch W. 1999. Food chemistry. 2nd ed. Berlin, Springer-Verlag: 350, 821-829

Božnar A. 2003. Mikrobiologija medu. V: Mikrobiologija živil živalskega izvora. Bem Z., Adamič J., Žlender B., Smole-Možina S., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 582-586

Božnar M. 1999. Spoznavanje medu. V: Pridelava in kontrola medu v okviru kolektivne blagovne znamke za slovenski med. Golob T. (ur.) Ljubljana, Čebelarstva zveza Slovenije in Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 45-48

Božnar A., Senegačnik J. 1998. Med. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Založba Kmečki glas: 376-414

Brand-Miller J. 2005. Sucrose: nutrition role, absorption and metabolism. V: Encyclopedia of human nutrition. Vol. 4. 2nd ed. Caballero B., Allen L., Prentice A. (eds.). Amsterdam, Elsevier, Academic Press: 204-205

Cavia M.M., Fernández-Muiño M.A., Alonso-Torre S.R., Huidobro J.F., Sancho M.T. 2006. Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, on line: 6 str.

Cavia M.M., Fernández-Muiño M.A., Gómez-Alonso E., Montes-Pérez M.J., Huidobro J.F., Sancho M.T. 2002. Evolution of fructose and glucose in honey over one year: influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 78: 157-161

Cordella C.B.Y., Militão J.S.L.T., Clément M.C., Cabrol-Bass D. 2003. Honey characterization and adulteration detection by pattern recognition applied on HPAEC-PAD profiles. 1. Honey floral species characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3234-3242

Cordella C.B.Y., Militão J.S.L.T., Cabrol-Bass D. 2003a. A simple method for automated pretreatment of usable chromatographic profiles in pattern-recognition procedures: application to HPAEC-PAD chromatograms of honeys. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 377: 214-219

Cotte J.F., Casabianca H., Chardon S., Lheritier J., Grenier-Loustalot M.F. 2004. Chromatographic analysis of sugars applied to the characterisation of monofloral honey. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380, 4: 698-705

Cotte J.F., Casabianca H., Chardon S., Lheritier J., Grenier-Loustalot M.F. 2003. Application of carbohydrate analysis to verify honey authenticity. *Journal of Chromatography A*, 1021: 145-155

Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. Composition criteria for honey. 2002. *Official Journal of the European Communities*, L 10: 47-52

Crofton I. (ed.). 1999. *Družinska enciklopedija Guinness*. 6. slo. izd. Žnideršič M. (ur.). Ljubljana, Slovenska knjiga: 196 str.

Da Costa Leite J.M., Trugo L.C., Costa L.S.M., Quinteiro L.M.C., Barth O.M., Dutra V.M.L., de Maria C.A.B. 2000. Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. *Food Chemistry*, 70, 1: 93-98

Devillers J., Doré J., Marengo M., Poirier-Duchène F., Galand N., Viel C. 2002. Chemometrical analysis of 18 metallic and nonmetallic elements found in honeys sold in France. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5998-6007

Doner L.W. 2003. Honey. V: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Vol. 5. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Elsevier Science Ltd., Academic press: 3125-3130

Doner L.W. 1977. The sugar of honey - A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28: 443-456

Downey G., Hussey K., Kelly J.D., Walshe T.F., Martin P.G. 2005. Preliminary contribution to the characterisation of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. *Food Chemistry*, 91: 347-354

Esti M., Panfili G., Marconi E., Trivisonno M.C. 1997. Valorization of the honeys from the Molise region through physico-chemical, organoleptic and nutritional assessment. *Food Chemistry*, 58, 1-2: 125-128

Finola M.S., Lasagno M.C., Marioli J.M. 2006. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, on line: 5 str.

Földházi G. 1994. Analysis and quantitation of sugar in honey of different botanical origin using high performance liquid chromatography. *Acta Alimentaria*, 23: 299-311

Golob T., Plestenjak A. 1999. The physico-chemical characteristics of Slovenian honey. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani*, 73: 209-217

Golob T., Plestenjak A. 1999a. Quality of Slovene honey. *Food Technology and Biotechnology*, 37, 3: 195-201

Gregorc A. 2002. Medonosna čebela in osnove čebelarjenja. Ljubljana, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani: 90-120

Hermosín I., Chicón R.M., Cabezudo M.D. 2003. Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83: 263-268

Honey: A reference guide to nature's sweetener. 2005. Longmont, (USA), National Honey Board
<http://www.nhb.org/download/fastst/HoneyReferenceGuide.pdf> (marec 2006): 8 str.

Jahnel J.B., Ilieva P., Frimmel F.H. 1998. HPAE-PAD – a sensitive method for the determination of carbohydrates. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 360: 827-829

Jensen M. B. 1998. An integrated approach to instruction in liquid chromatography and electrochemistry. Moorhead, MN, Concordia College, Department of Chemistry
<http://www.cord.edu/faculty/jensen/poster/> (november 2005): 16 str.

Johnson J.M. 1993. Fructose. V: *Encyclopedia of food science, food technology and nutrition*. Vol. 3. Macrae R., Robinson R.K., Sadler M.J. (eds.). London, Academic Press: 2080-2081

Johnson D.C., LaCourse W.R. 1990. Liquid chromatography with pulsed electrochemical detection. *Analytical Chemistry*, 62, 10: 589A-597A

Klofutar C., Šmalc A., Rudan-Tasič D. 1998. Laboratorijske vaje iz kemije. 3 izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 268-274

Klofutar C. 1993. Fizikalno kemijske lastnosti ogljikovih hidratov. V: Ogljikovi hidrati. 15. Bitenčevi živilski dnevi '93. Ljubljana, 10.-11. junij 1993. Plestenjak A., Žlender B., Hribar J., Zelenik-Blatnik M. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 1-10

Košmelj B., Arh F., Urbanc D., Ferligoj A., Omladič M. 2002. Statistični terminološki slovar. Razširjena izdaja z dodanim slovarjem ustreznikov v angleščini. 1. izd. Ljubljana, Študentska založba: 13, 53-54

Košmelj B. 2001. Uporabna statistika. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 48-52

Kregar I. 1996. Kromatografske metode. V: Biotehnologija. Osnovna znanja. Raspor P. (ur.). Ljubljana, BIA: 609-623

Lee Y.C. 1996. Carbohydrate analyses with high-performance anion-exchange chromatography. *Journal of Chromatography A*, 720: 137-149

Manikis I., Thrasivoulou A. 2001. La relación entre las características físico-químicas de la miel y los paramezros de sensibilidad a la cristalización. *Apiacta*: 106-112

Marini F., Magri A.L., Balestrieri F., Fabretti F., Marini D. 2004. Supervised pattern recognition applied to the discrimination of the floral origin of six types of Italian honey samples. *Analytica Chimica Acta*, 515, 1: 117-125

Moreno-Arribas M.V., Polo M.C. 2003. High-performance liquid chromatography. V: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Vol. 2. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Elsevier Science Ltd., Academic press: 1274-1280

Nanda V., Sarkar B.C., Sharma H.K., Bawa A.S. 2003. Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16: 613-619

Nelson D.L., Cox M.M. 2000. *Lehninger: Principles of biochemistry*. 3rd ed. New York, Worth Publishers: 293-295

Nemec J. 2000. *Statistika: obrazci in tabele*. Maribor, Fakulteta za kmetijstvo: 43-51

Nozal M.J., Bernal J.L., Toribio L., Alamo M., Diego J.C., Tapia J. 2005. The use of carbohydrate profiles and chemometric in the characterization of natural honeys of identical geographical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 3095-3100

Ojeda de Rodríguez G., Sulbarán de Ferrer B., Ferrer A., Rodríguez B. 2004. Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*, 84: 499-502

Optimal settings for pulsed amperometric detection of carbohydrates using the Dionex ED 40 electrochemical detector, Technical note 21. 1998. Sunnyvale, CA, Dionex Corporation: 4 str.

Özcan M., Arslan D., Ceylan D.A. 2006. Effect of inverted saccharose on some properties of honey. *Food Chemistry*, on line: 6 str.

Plestenjak A., Golob T. 2000. Analiza kakovosti živil. 2.izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 80-86

Plestenjak A. 1999. Fizikalno-kemijske lastnosti medu, zakonodaja, vzorčenje. V: Pridelava in kontrola medu v okviru kolektivne blagovne znamke za slovenski med. Golob T. (ur.) Ljubljana, Čebelarstva zveza Slovenije in Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 14-17

Plestenjak A. 1993. Analitika ogljikovih hidratov. V: Ogljikovi hidrati. 15. Bitenčevi živilski dnevi '93. Ljubljana, 10.-11. junij 1993. Plestenjak A., Žlender B., Hribar J., Zelenik-Blatnik M. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 21-31

Popek S. 2002. A procedure to identify a honey type. *Food Chemistry*, 79: 401-406

Pravilnik o medu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 31: 3611-3612

Prošek M. 1992. Kromatografske metode v biotehnologiji. V: Biotehnologija. Raspor P. (ur.). Ljubljana, BIA: 341-354

Rouessac F., Rouessac A. 2000. Chemical analysis: modern instrumental methods and techniques. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd.: 46-64

Sanz M.L., Gonzalez M., de Lorenzo C., Sanz J., Martínez-Castro I. 2005. A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chemistry*, 91: 313-317

Scott F.W. 1993. Glucose. V: Encyclopedia of food science, food technology and nutrition. Vol. 4. Macrae R., Robinson R. K., Sadler M.J. (eds.). London, Academic Press: 2201-2206

Skoog D.A., West D.M., Holler F.J., Crouch S.R. 2004. Foundations of analytical chemistry. 8th ed. Belmont, Thomson Brooks/cole: 973-989

Soria A.C., González M., de Lorenzo C., Martínez-Castro, Sanz J. 2004. Characterization of artisanal honeys from Madrid (Central Spain) on the basis of their melissopalynological, physicochemical and volatile composition data. *Food Chemistry*, 85: 121-130

Stylianopoulos C.L. 2005. Carbohydrates: Chemistry and classification. V: Encyclopedia of human nutrition. Vol. 1. 2nd ed. Caballero B., Allen L., Prentice A. (eds.). Amsterdam, Elsevier, Academic Press: 303-308

Swallow K.W., Low N.H. 1994. Determination of honey authenticity by anion-exchange liquid chromatography. Journal of AOAC International, 77, 3: 695-701

Swallow K.W., Low N.H. 1990. Analysis and quantitation of the carbohydrates in honey using high-performance liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 38: 1828-1832

Škorjak M. 2004. Vsebnost skupnih kislin in laktonov v medu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 22-27

Tišler M. 1991. Organska kemija. 3. izd. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 344-366

Weston R.J., Brocklebank L.K. 1999. The oligosaccharide composition of some New Zealand honeys. Food Chemistry, 64: 33-37

White J.W., Jr. 1992. Internal standard stable carbon isotope ratio method for determination of C-4 plant sugars in honey: collaborative trial study, and evaluation of improved protein preparation procedure. Journal of AOAC International, 75: 543-548

White J.W., Jr. 1978. Honey. Advances in Food Research, 24: 287-374

White J.W., Jr. 1975. Composition of honey. V: Honey: A comprehensive survey. Crane E. (ed.). London, Heinemann: 157-206

White J.W., Jr., Landis Doner W. 1980. Honey composition and properties. Washington, US Department of Agriculture, Agriculture handbook 335
http://www.maarec.cas.psu.edu/bkCD/Products_Hive/honey_com.html (april 2006): 12 str.

Žolnir I. 2002. Vsebnost sladkorjev, prostih in skupnih kislin v medu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 62 str.

Žorž M. 1991. HPLC. Ljubljana, Smozaložba: 154 str.

ZAHVALA

Zahvala gre vsem, ki so tako ali drugače prispevali k mojemu diplomskemu delu, še posebej hvala mentorici prof. dr. Tereziji Golob za strokovno pomoč in vzpodbudo, ki sem ju bila deležna na vseh področjih priprave te diplomske naloge.

Zahvala velja neuradni, pa vendar čisto pravi mentorici Mojci Jamnik, za vodstvo med praktičnim delom in številne uporabne nasvete ter vzpodbudo, ki sem jo bila deležna pri pisanju diplomske naloge.

Hvala Katedri za vrednotenje živil v celoti za prijaznost, nesebično pomoč in strokovne nasvete.

Zadnja, a zagotovo ne najmanj pomembna zahvala pa velja družini, ki je z razumevanjem sprejela vse in mi vedno želela le najboljše.

PRILOGE

Priloga A 1. Vsebnost različnih sladkorjev, razmerja F/G ter vsote fruktoze in glukoze v gozdnem medu

sladkor (g/100 g) vzorec	glukoza	fruktoza	F+G	F/G	maltotrioza	panoza	erloza	maltoza	palatinoza	turanoza	rafinoza	saharozna	gentiozina z izomaltozo	melecitoza
G 16	28,41	33,06	61,47	1,16	0,68	0,52	4,38	1,50	0,78	1,27	0,68	1,71	0,92	0,95
	28,73	33,32	62,04	1,16	0,67	0,52	4,50	1,50	0,78	1,26	0,65	1,72	0,89	0,94
G 17	29,37	36,11	65,48	1,23	0,52	0,61	1,02	1,74	0,94	1,53	1,06	2,72	1,98	1,36
	29,70	36,74	66,44	1,24	0,52	0,61	1,00	1,76	0,95	1,50	0,95	2,82	1,76	1,25
G 18	25,37	34,42	59,79	1,36	0,83	0,63	1,29	1,74	0,93	1,60	1,27	2,31	1,58	1,58
	25,05	33,88	58,93	1,35	0,84	0,63	1,30	1,75	0,93	1,61	1,28	2,32	0,52	1,59
G 19	27,69	33,40	61,08	1,21	0,74	0,59	1,28	1,75	0,95	1,64	2,98	2,39	1,68	3,35
	27,42	32,99	60,42	1,20	0,79	0,59	1,28	1,76	0,94	1,65	2,87	2,39	1,65	3,23
G 20	27,81	32,38	60,19	1,16	0,77	0,63	3,16	2,13	0,97	2,62	2,95	4,47	3,05	3,32
	27,85	32,35	60,20	1,16	0,80	0,62	3,16	2,17	0,98	2,61	2,91	4,63	3,23	3,28
G 21	24,73	27,81	52,55	1,12	1,09	0,60	5,35	2,94	0,83	1,96	2,36	4,70	2,07	2,71
	24,58	27,65	52,24	1,12	1,14	0,60	5,29	0,70	0,83	1,99	2,41	4,68	2,08	2,75
G 22	30,07	31,76	61,83	1,06	0,74	0,66	1,07	2,30	1,16	1,68	0,33	3,48	2,57	0,60
	30,57	32,30	62,88	1,06	0,76	0,66	1,09	2,29	1,17	1,70	0,34	3,39	2,64	0,61
G 23	28,39	33,83	62,22	1,19	0,66	0,60	2,98	2,42	0,96	2,50	3,69	4,22	2,19	4,08
	28,56	33,80	62,37	1,18	0,66	0,60	3,13	2,53	0,94	2,51	3,64	4,18	2,23	4,04
G 24	26,19	28,60	54,79	1,09	1,27	0,61	4,84	3,73	0,85	1,91	1,46	5,59	1,92	1,77
	26,03	28,19	54,21	1,08	1,23	0,61	5,00	3,88	0,85	1,93	1,49	5,61	1,92	1,80
G 25	24,88	25,21	50,09	1,01	0,82	0,56	3,59	2,60	0,76	1,34	1,09	4,22	1,25	1,39
	24,33	24,64	48,97	1,01	0,85	0,56	3,62	2,63	0,75	1,32	1,07	4,16	1,23	1,37
G 26	23,05	31,26	54,31	1,36	0,57	0,62	0,88	1,92	0,99	1,82	1,56	3,10	2,43	1,88
	23,21	30,90	54,11	1,33	0,58	0,61	0,89	2,04	1,00	1,84	1,59	3,15	2,42	1,91
G 27	28,02	29,78	57,79	1,06	1,17	0,60	2,97	2,59	0,98	2,03	2,55	3,13	2,09	2,90
	28,17	29,93	58,10	1,06	1,17	0,60	2,98	2,68	0,98	2,05	2,58	3,21	2,15	2,93
G 28	28,08	35,77	63,85	1,27	0,52	0,57	1,37	2,01	1,03	2,18	1,58	4,83	2,96	1,90
	28,82	35,51	64,32	1,23	0,53	0,57	1,45	2,02	1,03	2,20	1,58	4,63	2,87	1,90
G 29	30,63	33,56	64,19	1,10	1,74	0,61	1,30	1,41	0,92	2,77	0,60	3,27	2,26	0,88
	30,83	33,81	64,63	1,10	1,67	0,60	1,33	1,35	0,91	2,67	0,62	3,29	2,19	0,90
G 30	31,22	33,82	65,03	1,08	0,81	0,60	2,31	3,03	0,95	2,35	6,11	2,95	1,98	6,59
	31,04	33,32	64,35	1,07	0,78	0,59	2,30	3,06	0,95	2,50	5,83	2,90	1,98	6,30
\bar{x}	27,63	32,00	59,63	1,16	0,86	0,60	2,54	2,20	0,93	1,95	2,18	3,54	2,02	2,33
SD	2,38	3,07	4,87	0,10	0,32	0,03	1,49	0,69	0,10	0,45	1,47	1,06	0,64	1,50
KV (%)	8,61	9,58	8,17	8,62	36,54	5,07	58,71	31,62	10,74	23,24	67,43	29,94	31,68	64,38
MIN	23,05	24,64	48,97	1,01	0,52	0,52	0,88	0,70	0,75	1,26	0,33	1,71	0,52	0,60
MAX	31,22	36,74	66,44	1,36	1,74	0,66	5,35	3,88	1,17	2,77	6,11	5,61	3,23	6,59

Priloga A 2. Vsebnost različnih sladkorjev, razmerja F/G ter vsote fruktoze in glukoze v smrekovem medu

sladkor (g/100 g) vzorec	glukoza	fruktoza	F+G	F/G	maltotrioza	panoza	erloza	maltoza	palatinoza	turanoza	rafinoza	saharaza	gentioza z izomaltozo	melecitoza
S 16	29,52	41,71	71,23	1,41	0,92	0,58	2,29	2,20	0,96	1,66	1,43	2,52	1,56	1,78
	29,85	42,20	72,05	1,41	0,93	0,58	2,24	2,29	0,98	1,67	1,46	2,58	1,59	1,82
S 17	25,23	35,38	60,61	1,40	0,92	0,61	2,47	2,14	0,96	1,58	1,84	2,45	1,48	2,27
	24,91	34,91	59,82	1,40	0,92	0,62	2,45	2,08	0,95	1,59	1,74	2,53	1,59	2,16
S 18	27,55	38,81	66,36	1,41	0,74	0,60	0,74	1,76	1,01	1,68	1,34	2,62	1,83	1,67
	27,29	38,43	65,72	1,41	0,74	0,61	0,75	1,79	1,02	1,68	1,39	2,64	1,89	1,74
S 19	27,78	39,14	66,92	1,41	1,07	0,66	1,62	2,50	1,08	1,91	1,12	3,48	2,55	1,42
	27,82	39,20	67,01	1,41	1,10	0,66	1,48	2,45	1,06	1,87	1,10	3,45	2,52	1,39
S 20	24,65	34,52	59,18	1,40	0,55	0,89	2,28	0,68	2,10	1,47	0,80	2,01	1,56	1,04
	24,50	34,30	58,81	1,40	0,56	0,89	2,36	0,69	2,15	1,49	0,80	2,04	1,57	1,04
S 21	30,00	42,43	72,43	1,41	0,55	0,51	1,06	1,01	0,71	1,11	0,97	1,12	0,61	1,24
	30,51	43,18	73,69	1,42	0,55	0,51	1,02	1,02	0,71	1,11	0,98	1,13	0,59	1,25
S 22	28,46	40,14	68,59	1,41	1,18	0,62	3,23	2,60	0,94	1,79	2,03	2,74	1,47	2,49
	28,62	40,39	69,01	1,41	1,21	0,62	3,28	2,57	0,95	1,81	2,09	2,83	1,75	2,56
S 23	26,03	36,56	62,59	1,40	0,91	0,61	3,04	3,21	0,92	2,43	5,52	3,07	1,92	6,61
	25,86	36,32	62,18	1,40	0,94	0,61	2,98	3,23	0,92	3,06	5,38	3,02	1,93	6,44
S 24	24,82	34,78	59,60	1,40	0,70	0,58	0,70	1,69	0,65	1,77	4,79	2,41	1,74	5,75
	24,27	33,96	58,23	1,40	0,70	0,57	0,72	1,70	0,96	1,81	4,84	2,40	1,75	5,81
S 25	23,03	32,12	55,15	1,39	1,30	0,56	1,11	1,78	0,81	1,47	2,22	1,77	1,31	2,71
	23,19	32,36	55,54	1,40	1,23	0,56	1,14	1,80	0,82	1,47	2,21	1,77	1,28	2,70
S 26	28,09	39,59	67,68	1,41	0,81	0,58	0,84	1,41	0,91	1,56	2,79	1,97	1,53	3,38
	28,24	39,82	68,06	1,41	0,78	0,58	0,82	1,43	0,92	1,55	2,86	1,97	1,54	3,47
S 40	30,49	31,73	62,21	1,04	0,86	0,63	1,09	2,09	0,99	1,63	1,11	2,71	1,94	1,41
	31,36	33,75	65,11	1,08	0,85	0,64	1,16	2,07	0,99	1,61	1,12	2,72	1,91	1,42
S 41	24,59	27,99	52,57	1,14	2,12	0,59	3,47	2,03	0,73	1,63	2,95	3,72	1,57	3,58
	24,09	28,07	52,16	1,16	2,14	0,58	3,59	2,02	0,72	1,68	2,99	3,78	1,69	3,63
\bar{x}	26,95	36,61	63,56	1,36	0,97	0,62	1,84	1,93	1,00	1,70	2,23	2,52	1,64	2,72
SD	2,48	4,21	6,14	0,11	0,40	0,09	0,99	0,65	0,35	0,37	1,43	0,69	0,43	1,69
KV (%)	9,22	11,51	9,66	8,09	41,43	14,33	53,77	33,70	35,32	22,01	64,12	27,38	26,22	62,13
MIN	36,61	27,99	52,16	1,04	0,55	0,51	0,70	0,68	0,65	1,11	0,80	1,12	0,59	1,04
MAX	4,21	43,18	73,69	1,41	2,14	0,89	3,59	3,23	2,15	3,06	5,52	3,78	2,55	6,61

Priloga A 3. Vsebnost različnih sladkorjev, razmerja F/G ter vsote fruktoze in glukoze v akacijevem medu

sladkor (g/100 g) vzorec	glukoza	fruktoza	F+G	F/G	maltotrijoza	panoza	erjoza	maltoza	palatinoza	turanoza	rafinjoza/ melicitoza	saharjoza	gentiojoza z izomaltozo
A 16	30,08	43,97	74,04	1,46	0,60	0,56	1,98	2,50	0,84	1,44	*	4,31	1,26
	29,75	43,61	73,36	1,47	0,61	0,56	1,93	2,48	0,84	1,43	*	4,03	1,16
A 17	27,57	41,60	69,16	1,51	0,71	0,59	3,06	2,60	0,91	2,07	**	6,90	2,78
	27,78	42,19	69,96	1,52	0,73	0,59	3,12	2,80	0,91	2,10	**	6,80	2,68
A 18	24,93	40,26	65,19	1,61	0,73	0,60	3,66	2,89	0,83	2,44	*	8,27	3,39
	24,79	40,47	65,27	1,63	0,74	0,60	3,59	2,82	0,83	2,40	*	8,28	3,33
A 19	29,98	45,10	75,08	1,50	0,73	0,58	1,62	1,51	0,87	1,60	**	2,16	1,56
	29,88	44,85	74,73	1,50	0,72	0,58	1,64	1,49	0,87	1,61	**	2,15	1,54
A 20	26,59	40,63	67,22	1,53	0,72	0,58	2,83	2,61	0,88	1,76	**	6,24	2,10
	26,91	41,18	68,09	1,53	0,76	0,57	2,87	2,82	0,88	1,77	**	6,14	2,10
A 21	23,30	36,02	59,32	1,55	0,64	0,59	3,26	2,49	0,91	1,88	0,06/0,32	6,53	2,25
	23,53	36,71	60,24	1,56	0,63	0,60	3,14	2,48	0,84	1,86	**	6,47	2,16
A 22	23,82	36,08	59,90	1,52	0,89	0,61	2,40	2,66	0,88	1,71	*	7,71	2,55
	24,46	37,09	61,55	1,52	0,87	0,59	2,36	2,74	0,89	1,73	*	7,87	2,69
A 23	21,77	34,63	56,41	1,59	0,75	0,57	1,90	1,69	0,80	1,40	*	2,37	1,29
	22,16	34,60	56,76	1,56	0,79	0,56	1,96	1,72	0,80	1,41	*	2,39	1,33
A 24	26,42	39,18	65,60	1,48	0,97	0,61	1,92	2,46	0,96	1,89	*	3,93	2,51
	26,56	39,49	66,04	1,49	0,97	0,61	1,91	2,49	0,97	1,91	*	4,17	2,48
A 25	27,31	38,84	66,15	1,42	0,68	0,60	2,30	2,09	0,83	1,79	**	2,85	1,84
	27,07	38,36	65,43	1,42	0,69	0,60	2,26	2,03	0,81	1,77	**	2,72	1,80
A 26	31,30	43,21	74,51	1,38	0,54	0,56	1,86	1,91	0,85	1,51	**	2,52	1,31
	31,22	43,27	74,50	1,39	0,55	0,56	1,93	1,92	0,87	1,52	**	2,43	1,30
A 27	27,83	37,51	65,35	1,35	0,67	0,58	1,66	2,94	0,88	1,81	*	4,22	1,84
	27,58	37,14	64,73	1,35	0,67	0,58	1,72	2,91	0,89	1,80	*	4,32	1,87
A 28	29,01	40,52	69,53	1,40	0,66	0,59	1,42	1,69	0,88	1,53	**	2,10	1,44
	28,83	40,17	69,01	1,39	0,67	0,59	1,24	1,69	0,88	1,53	**	2,14	1,34
A 29	26,08	37,51	63,59	1,44	0,78	0,60	2,12	2,92	0,93	1,77	*	3,54	2,10
	25,77	36,76	62,53	1,43	0,80	0,60	2,17	2,92	0,94	1,81	*	3,51	2,18
A 30	28,42	39,54	67,96	1,39	0,70	0,59	2,12	2,77	0,95	1,92	*	3,90	2,34
	27,98	38,52	66,50	1,38	0,70	0,60	2,07	2,98	0,96	1,97	*	4,08	2,34
A 31	22,97	33,95	56,92	1,48	1,00	0,56	1,67	1,68	0,82	1,42	**	2,37	1,16
	22,70	33,35	56,05	1,47	1,17	0,56	1,66	1,72	0,82	1,40	**	2,34	1,12
A40	36,05	39,74	75,78	1,10	0,53	0,54	1,09	2,05	0,78	1,19	0,13/0,40	1,94	1,36
	35,79	39,82	75,61	1,11	0,55	0,54	0,98	2,00	0,79	1,20	0,12/0,38	1,92	1,36
\bar{x}	27,24	39,29	66,53	1,45	0,73	0,58	2,16	2,34	0,87	1,72	/	4,22	1,94
SD	3,39	3,11	5,96	0,11	0,14	0,02	0,68	0,49	0,05	0,29	/	2,08	0,63
KV (%)	12,46	7,92	8,96	7,59	19,13	3,26	31,39	21,14	5,89	16,89	/	49,29	32,47
MIN	21,77	33,35	56,05	1,10	0,53	0,54	0,98	1,49	0,78	1,19	0,06/0,32	1,92	1,12
MAX	36,05	45,10	75,79	1,63	1,17	0,61	3,66	2,98	0,97	2,44	0,13/0,40	8,28	3,39

Priloga A 4. Vsebnost različnih sladkorjev, razmerja F/G ter vsote fruktoze in glukoze v cvetličnem medu

sladkor (g/100 g) vzorec	glukoza	fruktoza	F+G	F/G	maltotroza	panoza	erloza	maltoza	palatinoza	turanoza	rafinoza/ melecitoza	saharaza	gentiozoza z izomaltozo
C 16	32,98	35,63	68,61	1,08	0,94	0,55	1,14	1,80	0,76	1,39	*	3,00	1,01
	33,20	35,86	69,06	1,08	0,93	0,55	1,27	1,83	0,77	1,38	*	3,08	1,05
C 17	30,08	33,34	63,43	1,11	0,66	0,59	1,20	2,10	0,85	1,41	**	2,25	1,30
	29,94	33,11	63,05	1,11	0,77	0,61	1,13	2,15	0,85	1,41	**	2,27	1,27
C 18	29,77	33,32	63,08	1,12	0,53	0,57	0,64	1,77	0,86	1,35	*	1,73	1,31
	30,07	34,00	64,07	1,13	0,53	0,57	0,65	1,75	0,86	1,35	*	1,75	1,29
C 19	31,77	34,73	66,50	1,09	0,52	0,58	0,88	2,05	0,89	1,42	**	1,85	1,35
	32,35	35,05	67,41	1,08	0,51	0,59	0,92	2,05	0,89	1,43	**	1,84	1,37
C 20	30,29	34,56	64,85	1,14	0,60	0,61	0,87	2,02	0,97	1,57	**	2,40	1,63
	30,50	35,19	65,69	1,15	0,60	0,61	0,90	2,01	0,97	1,55	**	2,41	1,66
C 21	29,67	37,66	67,34	1,27	0,60	0,57	1,39	1,96	0,87	1,47	**	2,27	1,47
	30,18	38,21	68,39	1,27	0,60	0,57	1,44	1,97	0,88	1,47	**	2,29	1,46
C 22	28,63	36,34	64,97	1,27	0,52	0,52	0,70	1,12	0,74	1,08	**	1,32	0,91
	28,38	36,17	64,56	1,27	0,52	0,52	0,71	1,13	0,74	1,07	**	1,31	0,89
C 23	29,49	35,03	64,52	1,19	0,69	0,61	1,16	1,96	0,99	1,60	*	2,71	1,80
	29,26	34,58	63,84	1,18	0,71	0,61	1,13	1,97	0,96	1,62	*	2,72	1,84
C 24	28,67	36,63	65,30	1,28	0,64	0,60	1,41	1,91	0,92	1,57	**	2,39	1,51
	28,72	36,82	65,54	1,28	0,65	0,60	1,44	1,92	0,92	1,56	**	2,37	1,49
C 25	29,46	38,70	68,15	1,31	0,91	0,69	1,64	2,20	1,04	1,88	**	3,44	2,39
	29,70	39,23	68,93	1,32	0,89	0,68	1,62	2,21	1,03	1,87	**	3,32	2,31
C 26	33,45	37,60	71,05	1,12	0,57	0,57	1,53	2,84	0,94	1,54	0,11/0,11	3,06	1,73
	33,98	38,14	72,13	1,12	0,57	0,58	1,51	2,97	0,93	1,54	0,10/0,10	3,05	1,74
C 27	32,90	35,86	68,76	1,09	0,58	0,56	0,94	2,23	0,78	1,26	*	2,36	1,04
	32,76	35,83	68,59	1,09	0,59	0,57	0,96	2,28	0,78	1,23	*	2,36	0,97
C 28	35,85	33,68	69,54	0,94	0,57	0,56	0,80	1,48	0,88	1,57	0,67/0,67	1,83	1,38
	35,13	32,62	67,75	0,93	0,57	0,56	0,80	1,50	0,88	1,57	0,67/0,67	1,82	1,34
C 29	29,06	36,09	65,16	1,24	0,65	0,63	1,00	1,88	1,09	1,84	**	4,15	3,03
	29,30	36,51	65,80	1,25	0,65	0,64	1,02	1,83	1,10	1,85	**	4,24	2,97
C 31	30,83	38,67	69,50	1,25	0,68	0,62	0,89	1,65	1,12	1,82	**	4,11	2,94
	30,59	38,18	68,77	1,25	0,67	0,63	0,60	1,68	1,11	1,80	**	4,09	2,78
C 40	24,49	31,37	55,86	1,28	0,97	0,70	0,57	1,55	0,91	1,62	0,17/0,17	4,34	2,96
	23,83	29,75	53,58	1,25	0,98	0,70	0,58	1,59	0,91	1,60	0,19/0,19	4,35	2,94
C 41	32,97	33,69	66,66	1,02	0,63	0,62	0,90	1,71	1,01	1,69	0,13/0,13	3,71	2,95
	32,28	34,15	66,43	1,06	0,63	0,61	0,87	1,69	1,00	1,69	0,13/0,13	3,68	2,92
C 42	46,79	31,86	78,65	0,68	0,49	0,55	1,05	1,36	0,75	1,24	**	1,84	1,29
	47,17	30,70	77,87	0,65	0,50	0,55	1,03	1,32	0,74	1,24	**	1,83	1,29
\bar{x}	31,51	35,25	66,76	1,14	0,66	0,60	1,04	1,87	0,91	1,51	/	2,71	1,77
SD	4,54	2,34	4,57	0,15	0,14	0,05	0,31	0,39	0,11	0,21	/	0,91	0,71
KV (%)	14,40	6,64	6,84	13,16	21,80	7,67	29,65	20,69	12,11	14,05	/	33,58	40,11
MIN	23,83	29,75	53,58	0,65	0,49	0,52	0,57	1,12	0,74	1,07	0,10/0,10	1,31	0,89
MAX	47,17	39,23	78,65	1,32	0,98	0,70	1,64	2,97	1,12	1,88	0,67/0,67	4,35	3,03

LEGENDA:

Vrsta medu:

- A akacijev med,
- C cvetlični med,
- G gozdni med,
- S smrekov med.

Oznake:

- F+G je invertni sladkor,
- F/G je razmerje med fruktozo in glukozo.

Številka vzorca:

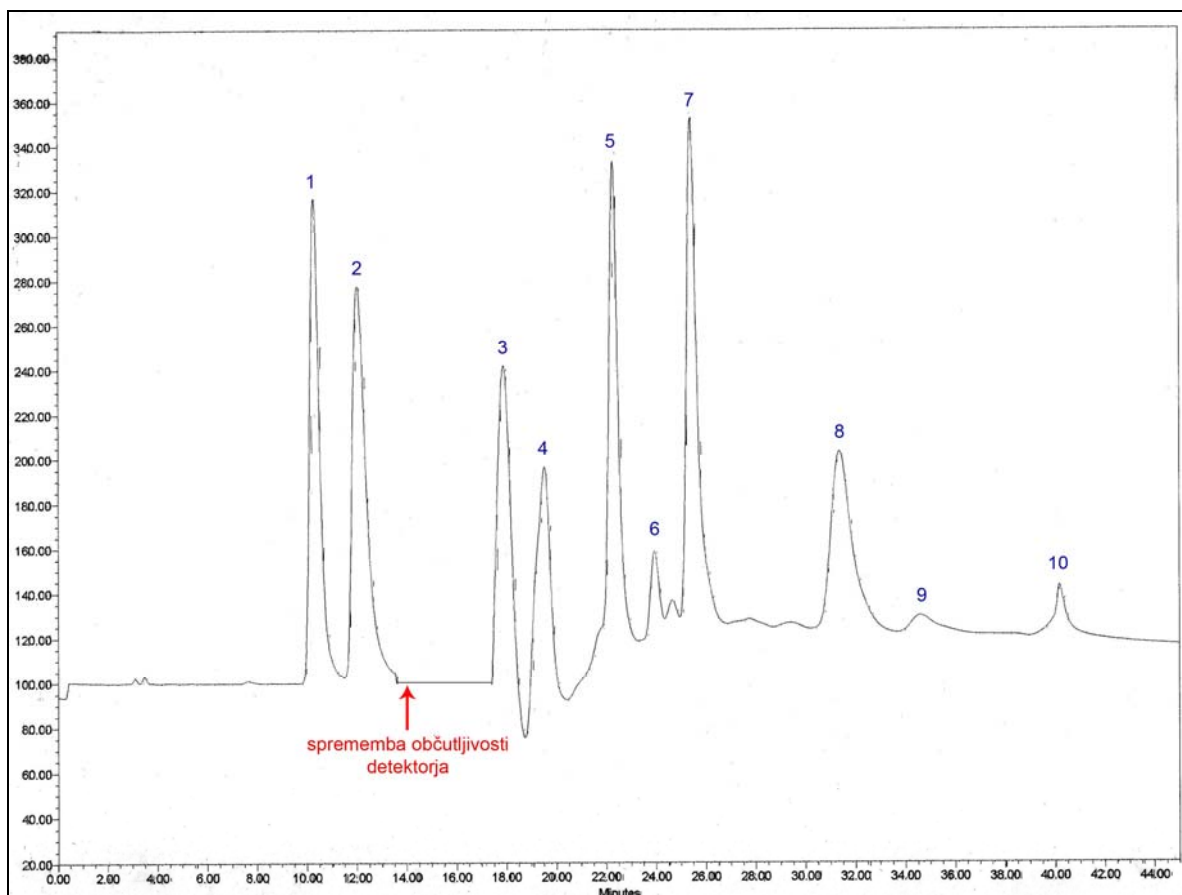
Številka za oznako vrste medu je zaporedna številka na Katedri za vrednotenje živila.

Vrednosti parametrov:

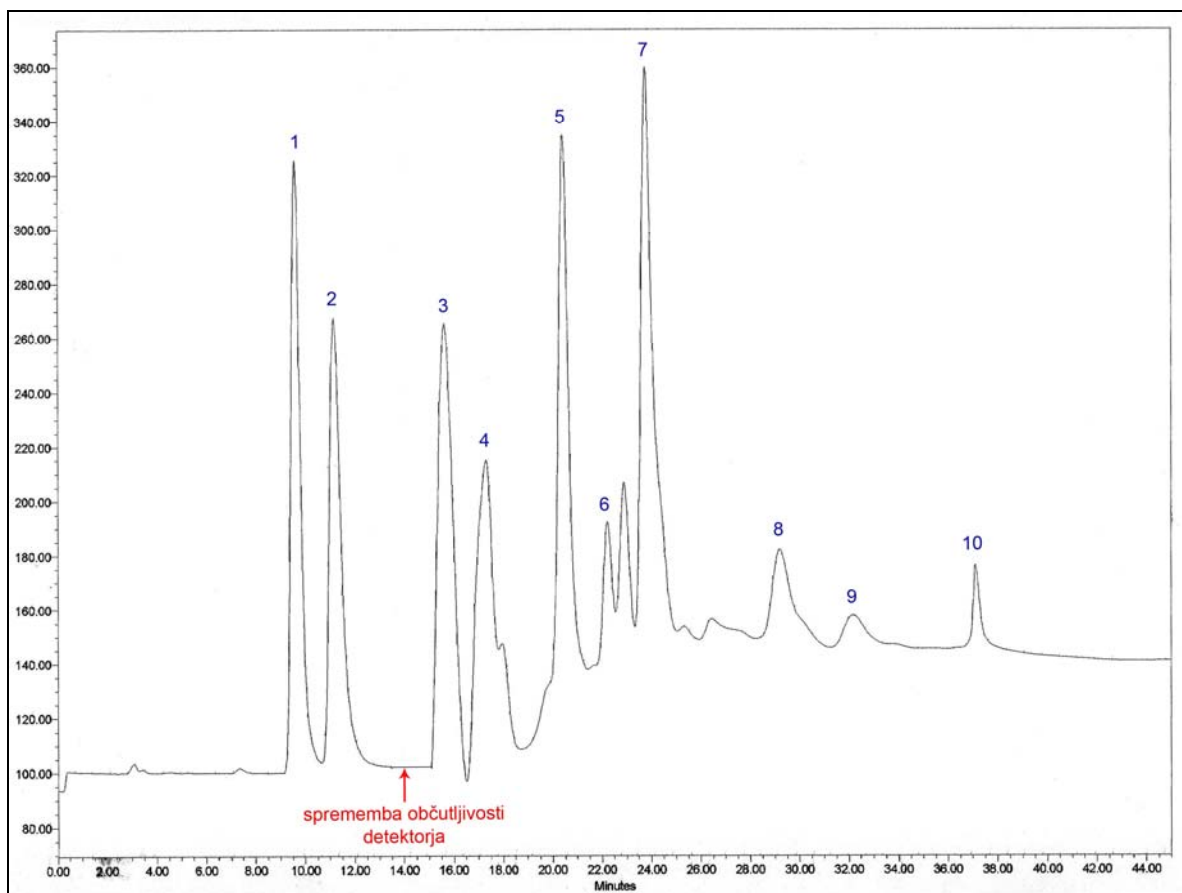
- različni sladkorji g/100 g,
- * vsebnost sladkorja je nič,
- ** vsebnost sladkorja je zelo mala oz. pod mejo detekcije.

Kratice:

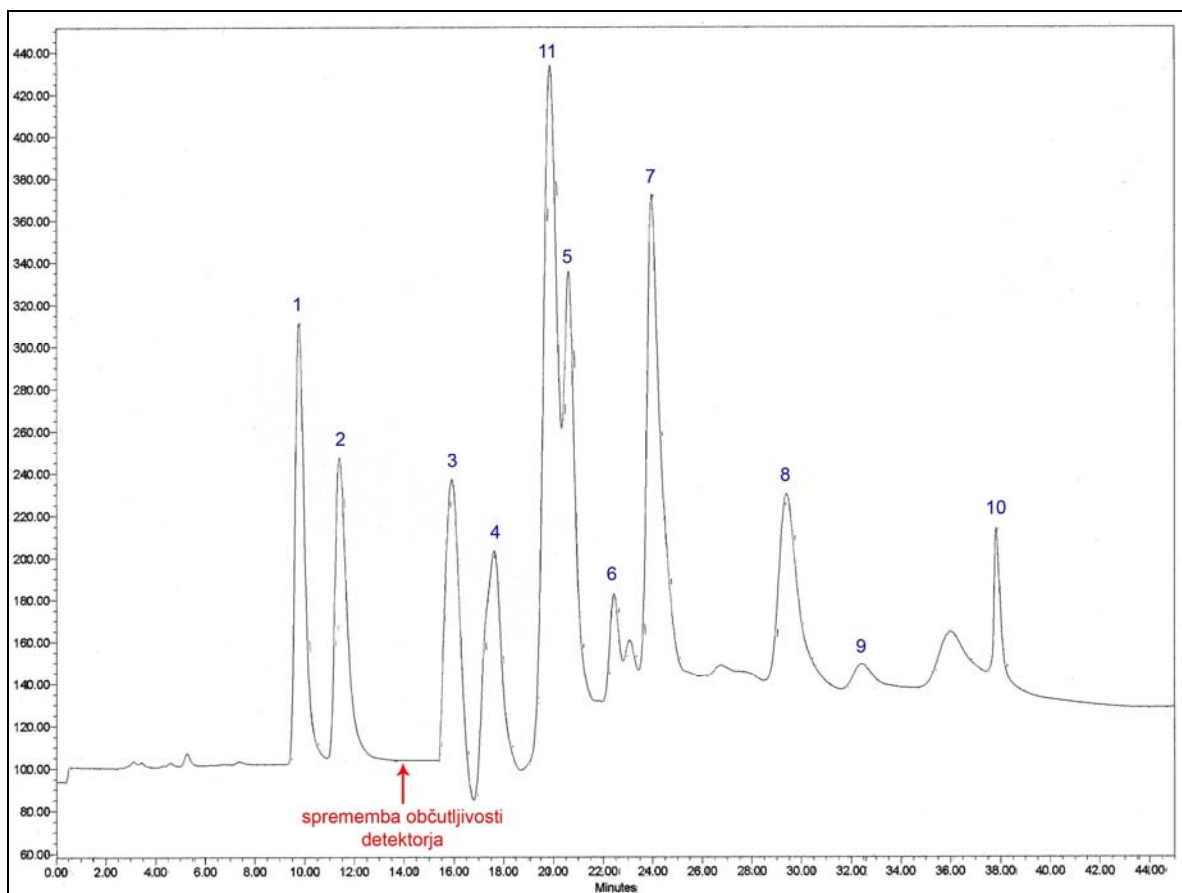
- KV; koeficient variabilnosti,
- MAX; maksimalna oz. največja vrednost,
- MIN; minimalna oz. najmanjša vrednost,
- SD; standardni odklon,
- \bar{x} ; povprečna vrednost.



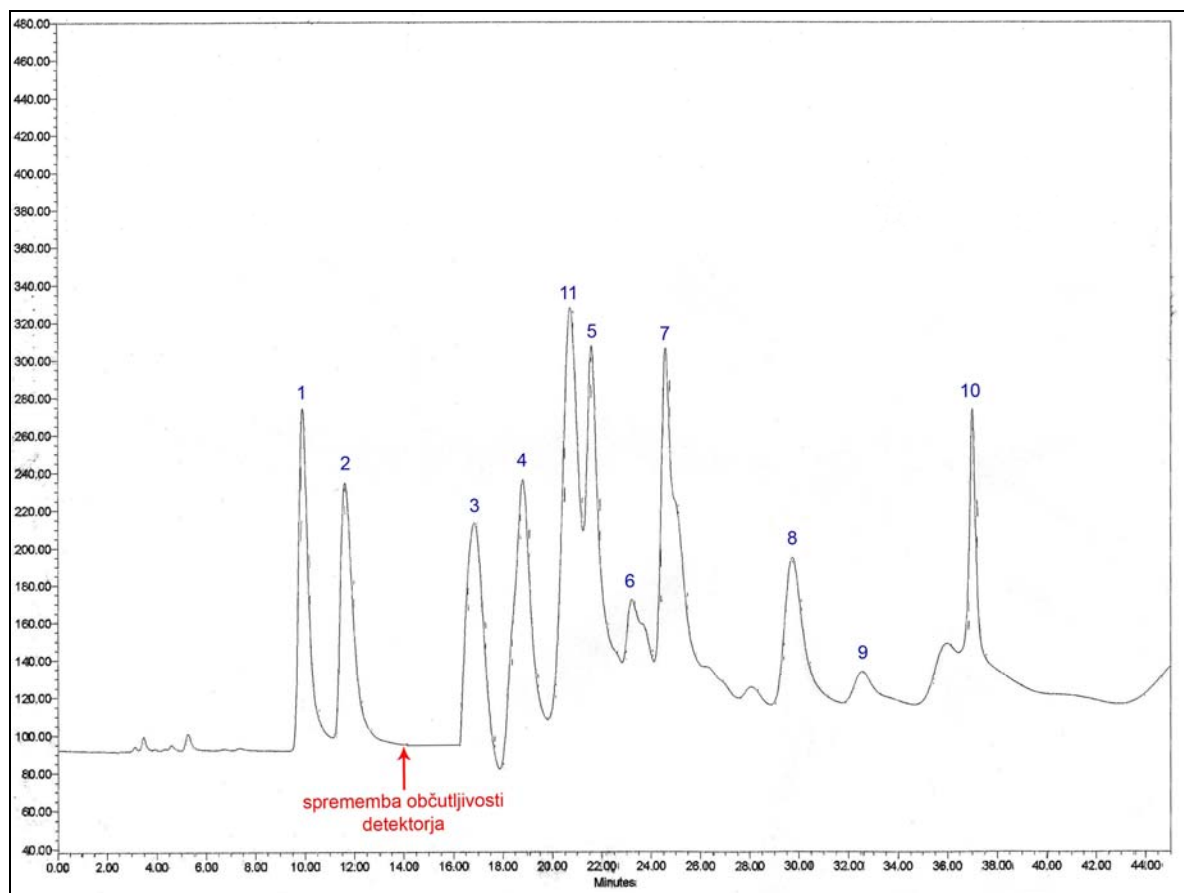
Priloga A 5. Kromatogram za akacijev vzorec medu številka 26



Priloga A 6. Kromatogram za cvetlični vzorec medu številka 20



Priloga A 7. Kromatogram za gozdni vzorec medu številka 30



Priloga A 8. Kromatogram za smrekov vzorec medu številka 25

Označba sladkorjev na kromatogramih:

- 1 glukoza
- 2 fruktoza
- 3 saharoza
- 4 izomaltoza z gentibiozo
- 5 turanoza
- 6 palatinoza
- 7 maltoza
- 8 erloza
- 9 panoza
- 10 maltotrijoza
- 11 rafinoza + melicitoza

Priloga B. Vsebnost saharoze v štirih vrstah medu dobljena s polarimetrično metodo

vzorci akacijevega medu	% sah	vzorci cvetličnega medu	% sah	vzorci gozdnega medu	% sah	vzorci smrekovega medu	% sah
A 16	3,15	C 16	2,29	G 16	3,25	S 16	3,95
	3,44		2		3,60		4,25
A 17	6,87	C 17	2,58	G 17	1,20	S 17	3,40
	6,58		2,86		0,90		3,65
A 18	5,44	C 18	0,86	G 18	3,30	S 18	2,20
	5,44		1,15		3		2,25
A 19	4,87	C 19	2,29	G 19	2,45	S 19	3
	4,58		2		2,70		3,6
A 20	3,72	C 20	2,86	G 20	3,20	S 20	2,10
	3,72		3,15		3,10		2,35
A 21	1,72	C 21	2	G 21	6,70	S 21	6,10
	1,72		2		6,50		6,55
A 22	1,15	C 22	1,72	G 22	1,60	S 22	5,30
	1,15		1,43		1,80		5,15
A 23	1,15	C 23	2,86	G 23	4,90	S 23	5,10
	1,15		2,86		4,90		5,60
A 24	3,15	C 24	2,86	G 24	7,30	S 24	4,30
	3,15		2,58		7,50		4,30
A 25	2,86	C 25	3,44	G 25	7,10	S 25	5,20
	2,86		3,15		7,60		5
A 26	2,29	C 26	3,15	G 26	2,75	S 26	3,15
	2,29		2,86		2,35		2,80
A 27	2,86	C 27	2	G 27	4,10	S 40	2,58
	2,58		2,29		4,20		2,86
A 28	2,58	C 28	1,72	G 28	3,55	S 41	1,43
	2,58		1,43		3,85		1,72
A 29	1,15	C 29	1,43	G 29	3,85	\bar{x}	3,77
	1,15		1,72		3,90	SD	1,42
A 30	1,43	C 31	0,86	G 30	3,45	KV (%)	37,67
	1,43		0,57		3,50	MIN	1,43
A 31	2	C 40	5,44	\bar{x}	3,94	MAX	6,55
	2		5,15	SD	1,87		
A 40	2	C 41	5,44	KV (%)	47,46		
	2		5,15	MIN	0,9		
\bar{x}	2,83	C 42	2	MAX	7,6		
			2				
SD	1,56	\bar{x}	2,5				
KV (%)	55,12	SD	1,22				
MAX	6,87	KV (%)	48,8				
		MIN	0,57				
		MAX	5,44				

Priloga C 1. Vrednost pH in vsebnost laktonov ter prostih in skupnih kislin v akacijevem medu

parameter vzorec	pH	proste kisline (meq/kg)	laktoni (meq/kg)	skupne kisline (meq/kg)
A 16	3,63	22,94	2,13	25,07
	3,67	23,34	1,58	24,92
A 17	4,13	10,95	2,12	13,07
	4,10	10,49	2,66	13,15
A 18	4,03	11,41	1,29	12,70
	3,98	11,46	1,04	12,50
A 19	3,90	14,92	1,98	16,90
	3,87	15,52	1,88	17,40
A 20	4,17	8,63	2,85	11,48
	4,13	8,43	3,10	11,53
A 21	4,07	10,17	1,88	12,05
	4,05	10,17	2,03	12,20
A 22	3,94	11,25	3,35	14,60
	3,93	11,30	3,00	14,30
A 23	3,78	18,29	1,93	20,22
	3,74	18,49	1,43	19,92
A 24	3,99	15,25	3,50	18,75
	3,97	15,40	3,05	18,45
A 25	3,72	20,38	3,05	23,43
	3,70	20,63	2,46	23,09
A 26	3,99	13,34	2,36	15,70
	3,95	13,19	2,41	15,60
A 27	3,82	21,78	3,96	25,74
	3,77	22,33	2,97	25,30
A 28	3,86	23,07	3,37	26,44
	3,87	22,97	2,97	25,94
A 29	3,78	20,68	2,62	23,30
	3,82	20,13	2,82	22,95
A 30	3,96	16,51	1,67	18,18
	3,95	16,86	1,38	18,24
A 31	3,90	16,06	2,66	18,72
	3,91	15,95	2,81	18,76
A40	3,93	19,07	2,86	21,93
	3,94	18,87	3,00	21,87
\bar{x}	3,91	16,18	2,48	18,66
SD	0,14	4,68	0,71	4,85
KV (%)	3,58	28,92	28,63	25,99
MIN	3,63	1,04	1,04	11,48
MAX	4,17	3,96	3,96	26,44

Priloga C 2. Vrednost pH in vsebnost laktonov ter prostih in skupnih kislin v cvetličnem medu

parameter vzorec	pH	proste kisline (meq/kg)	laktoni (meq/kg)	skupne kisline (meq/kg)
C 16	4,07	20,70	4,35	25,05
	4,11	20,10	5,14	25,24
C 17	4,08	39,25	1,30	40,55
	4,08	40,10	0,70	41,80
C 18	4,56	22,12	5,10	27,21
	4,55	22,27	5	27,27
C 19	4,02	34,07	4,92	38,99
	4,07	33,87	5,46	39,33
C 20	4,61	16,61	2,71	19,32
	4,59	16,81	3,05	19,86
C 21	4,43	17,29	4,18	21,47
	4,46	17,39	3,99	21,38
C 22	4,25	26,81	3,91	30,72
	4,23	27,12	4,06	31,18
C 23	4,4	26,31	4,8	31,11
	4,44	26,01	4,65	30,66
C 24	4,42	18,40	4,48	22,88
	4,39	18,24	4,92	23,16
C 25	4,21	23,94	4,05	27,99
	4,18	23,89	4,35	28,24
C 26	3,98	42,02	4,70	46,72
	3,98	41,92	4,95	46,87
C 27	4,05	42,70	0,95	43,65
	4,04	42,65	1,00	43,65
C 28	4,44	22,92	3,89	26,81
	4,44	23,08	3,54	26,62
C 29	4,24	26,31	4,85	31,16
	4,23	26,51	4,65	31,16
C 31	4,34	22,52	4,00	26,52
	4,33	22,47	4,55	27,02
C 40	4,92	28,99	3,10	32,09
	4,86	29,39	2,95	32,34
C 41	4,72	13,49	2,46	15,95
	4,74	13,44	2,81	16,25
C 42	4,05	22,14	3,83	25,97
	4,04	22,45	4,09	26,54
\bar{x}	4,32	25,95	3,82	29,77
SD	0,26	8,48	1,26	8,17
KV (%)	6,02	32,68	32,98	27,44
MIN	3,98	13,44	0,7	15,95
MAX	4,92	42,70	5,46	46,87

Priloga C 3. Vrednost pH in vsebnost laktonov ter prostih in skupnih kislin v gozdnem medu

parameter vzorec	pH	proste kisline (meq/kg)	laktoni (meq/kg)	skupne kisline (meq/kg)
G 16	4,45	34,60	0	34,60
	4,42	35,15	0	35,15
G 17	4,63	24,70	0	24,70
	4,61	24,20	0	24,20
G 18	4,92	22,70	0	22,70
	4,92	22,15	0	22,15
G 19	4,83	20,45	0	20,45
	4,83	20,65	0	20,65
G 20	4,46	24,80	0	24,80
	4,46	25,15	0	25,15
G 21	4,81	25,70	0	25,70
	4,79	26,30	0	26,30
G 22	4,79	33,30	0,40	33,70
	4,79	33,40	0,40	33,80
G 23	4,52	24,85	0	24,85
	4,50	25,10	0	25,10
G 24	4,64	38,10	0,8	38,90
	4,62	38,85	0	38,85
G 25	4,71	36,15	0	36,15
	4,70	36,25	0,40	36,65
G 26	4,93	22,70	1,65	24,35
	4,91	23,90	0,15	24,05
G 27	4,64	30,35	0,35	30,70
	4,66	31,30	1,05	31,35
G 28	4,96	16,80	0	16,80
	4,94	17,40	0	17,40
G 29	5,11	28,80	0	28,80
	5,09	28,15	0	28,15
G 30	4,39	43,10	0,90	44,00
	4,39	43,00	0,65	43,65
\bar{x}	3,91	25,95	0,22	28,79
SD	0,21	8,48	0,41	7,31
KV (%)	3,58	25,06	186,36	25,39
MIN	3,63	16,8	0	16,80
MAX	4,17	43,10	1,65	44,00

Priloga C 4. Vrednost pH in vsebnost laktonov ter prostih in skupnih kislin v smrekovem medu

parameter vzorec	pH	proste kisline (meq/kg)	laktoni (meq/kg)	skupne kisline (meq/kg)
S 16	4,58	30,10	1,35	31,45
	4,60	30,80	1,20	32
S 17	4,48	34,40	0	34,40
	4,47	34,45	0,35	34,80
S 18	4,68	28,55	0	28,55
	4,67	28,60	0	28,60
S 19	4,40	33,90	0	33,90
	4,36	34,65	0	34,65
S 20	4,99	21,95	0	21,95
	4,99	22,70	0	22,70
S 21	4,52	41,10	1,1	42,20
	4,48	41,25	0,35	41,60
S 22	4,54	35,85	0,55	36,40
	4,51	35,75	0	35,75
S 23	4,33	45,35	0,45	45,80
	4,32	44,85	0	44,85
S 24	4,65	33,60	1,90	35,50
	4,64	34,40	2,60	37
S 25	4,85	37,65	0	37,65
	4,86	37,50	0,40	37,90
S 26	4,95	25,80	0,20	26
	4,92	25,85	0,20	26,05
S 40	4,47	38,20	3,64	41,84
	4,44	38,65	3	41,65
S 41	4,96	18,85	1,82	20,67
	4,98	19,20	2,02	21,22
\bar{x}	4,64	32,84	0,81	33,66
SD	0,22	7,28	1,06	7,37
KV (%)	4,74	18,85	130,86	21,89
MIN	4,32	45,35	0	20,67
MAX	4,99	22,17	3,64	45,8