

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Lidija POTOČNIK

**VPLIV VRSTE IN LETNIKA MEDU NA VSEBNOST
BELJAKOVIN IN PROLINA TER IZBRANE
FIZIKALNE PARAMETRE**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Lidija POTOČNIK

**VPLIV VRSTE IN LETNIKA MEDU NA VSEBNOST BELJAKOVIN IN
PROLINA TER IZBRANE FIZIKALNE PARAMETRE**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**INFLUENCE OF THE TYPE AND HARVEST YEAR OF HONEY ON
THE PROTEIN AND PROLINE CONTENT, AND SOME PHYSICAL
PARAMETERS**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Katedri za tehnologijo mesa in 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 recenzentko doc. dr. Natašo Šegatin.

Mentorica: prof. dr. Terezija Golob

Recenzent: doc. dr. Nataša Šegatin

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Lidija Potočnik

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn
DK UDK 638.162:638.165 (043) = 163.6
KG med/slovenski med/vrste medu/akacijev med/cvetlični med/lipov med/kostanjev med/gozdni med/vsebnost vode/električna prevodnost/specifični kot zasuka/prolin/skupne beljakovine
AV POTOČNIK, Lidija
SA GOLOB, Terezija (mentorica)/ ŠEGATIN, Nataša (recenzentka)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2009
IN VPLIV VRSTE IN LETNIKA MEDU NA VSEBNOST BELJAKOVIN IN PROLINA TER IZBRANE FIZIKALNE PARAMETRE
TD Diplomsko delo
OP IX, 60 str., 10 pregl., 20 sl., 3 pril., 86 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI V okviru diplomskega dela smo v 100 vzorcih medu določili vsebnost aminokisline prolina, skupnih beljakovin in vode ter izmerili električno prevodnost in specifični kot zasuka.. Medovi so bili slovenskega porekla, petih različnih vrst: akacijev, cvetlični, lipov, kostanjev in gozdni, ter dveh letnikov, 2007 in 2008. Vsebnost vode v medu smo določali z ročnim refraktometrom, električno prevodnost smo merili s konduktometrom, specifični kot zasuka pa s polarimetrom. Vsebnost prolina smo določali z Oughovo fotometrično metodo, modificirano po Bogdanovu, za določitev vsebnosti skupnih beljakovin pa smo uporabili Kjeldahlovo metodo. Dobljene rezultate smo primerjali z vrednostmi, ki jih predpisuje slovenska zakonodaja (Pravilnik o medu, 2004) in s podatki iz literature, ter jih statistično obdelali. Primerjava rezultatov z zahtevami slovenskega Pravilnika je pokazala, da so vsi vzorci medu ustrezali predpisom (razen električna prevodnost v treh vzorcih cvetličnega medu). Ugotovili smo, da se intervalno območje vseh določitev prolina nahaja med 193 mg/kg in 1096 mg/kg, vsebnost skupnih beljakovin pa od 0,093 g/100 g do 0,613 g/100 g. Lipov med (413,4 mg/kg) se v po vsebnosti prolina statistično značilno razlikuje od cvetličnega (652,4 mg/kg), gozdnega (655,8 mg/kg) ter kostanjevega medu (825,22 mg/kg). Na podlagi statistične analize smo ugotovili, da je zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in prolina za vseh 100 vzorcev statistično značilna pri 0,01 stopnji tveganja, ta zveza je močna ($r = 0,714$). Ugotovili smo tudi zvezo med električno prevodnostjo in vsebnostjo skupnih beljakovin.

KEY WORDS INFORMATION

DN Dn
DC UDC 638.162:638.165 (043) = 163.6
CX honeys/slovenian honey/honey types/acacia honey/floral honey/lime honey/chestnut honey/forest honey/water content/electrical conductivity/specific rotation/proline/total proteins
AU POTOČNIK, Lidija
AA GOLOB, Terezija (supervisor)/ ŠEGATIN, Nataša (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2009
TY INFLUENCE OF THE TYPE AND HARVEST YEAR OF HONEY ON THE PROTEIN AND PROLINE CONTENT, AND SOME PHYSICAL PARAMETERS
DT Graduation thesis (university studies)
NO IX, 60 p., 10 tab., 20 fig., 3 ann., 86 ref.
LA sl
AL sl/en
AB In the context of the present diploma thesis, the content of aminoacid prolin, total proteins and some physicochemical parameters, like water content, electrical conductivity and specific rotation were determined. These parameters were determined in 100 samples of five types of Slovenian honey: acacia, floral, lime, chestnut and forest, collected in the years of 2007 and 2008. Water content was determined with refractometer, electrical conductivity with conductometer, specific rotation was measured polarimetric. The total amount of proline was measured spectrophotometrically by the Ough method, modified by Bodanov; the total amount of protein was determined by the Kjeldahl method. The results were compared with the regulatory values of Slovenian legislation (Pravilnik o medu, 2004) and data from literature. The comparison of results with regulatory values showed that all samples of honey, but three, were in line with all the regulations (electrical conductivity in three samples of floral honey). The estimated values of proline and protein content were within intervals 193-1096 mg/kg and 0.093 do 0.613 g/100 g, respectively. The lime honeys statistically significantly differed from the floral, forest and chestnut honeys in the proline content. The positive correlation between proline content and total protein was determined, as well as between electrical conductivity and total protein content.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS INFORMATION.....	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VII
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	IX
1 UVOD.....	1
1.1 NAMEN DELA	1
2 PREGLED OBJAV.....	2
2.1 PRIDELAVA MEDU V SLOVENIJI.....	2
2.2 ŽIVLJENJE ČEBEL IN BIOLOŠKI NASTANEK MEDU	3
2.3 IZVOR MEDU.....	4
2.3.1 Nektar.....	4
2.3.2 Mana.....	4
2.4 VRSTE MEDU	5
2.4.1 Akacijev med.....	6
2.4.2 Cvetlični med.....	7
2.4.3 Kostanjev med	8
2.4.4 Lipov med	9
2.4.5 Gozdni med.....	10
2.5 SESTAVA MEDU.....	11
2.5.1 Ogljikovi hidrati v medu	11
2.5.2 Voda v medu.....	12
2.5.3 Beljakovine v medu	13
2.5.4 Aminokisline v medu	13
2.6 OPIS FIZIKALNOKEMIJSKIH METOD	15
2.6.1 Refraktometrija	15
2.6.2 Električna prevodnost	16
2.6.3 Spektrofotometrija	17
2.6.4 Polarimetrija	18
3 MATERIALI IN METODE DELA.....	21
3.1 VZOREC	21
3.2 FIZIKALNOKEMIJSKE METODE	21
3.2.1 Določanje vsebnosti vode v medu (Golob in Plestenjak, 2003)	22
3.2.2 Merjenje električne prevodnosti medu (Golob in Plestenjak, 2003)	22
3.2.3 Določanje vsebnosti skupnih beljakovin.....	23
3.2.4 Določanje vsebnosti prolina	25
3.2.5 Merjenje specifičnega kota zasuka medu s polarimetrom (Junk in Pancoast, 1973).....	26
3.3 STATISTIČNA ANALIZA	27
3.3.1 Enovzorčna analiza	27
3.3.2 Večvzorčna analiza ene spremenljivke	29
3.3.3 Analiza povezanosti dveh spremenljivk.....	31
4 REZULTATI.....	34
4.1 REZULTATI FIZIKALNOKEMIJSKIH ANALIZ	34
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	39
5.1 RAZPRAVA	39

5.1.1 Primerjava različnih vrst medu (večvzorčna analiza).....	39
5.1.2 Korelacije med posameznimi parametri.....	40
5.1.3 Vpliv letnika	46
5.1.4 Primerjava rezultatov z domačo in tujo literaturo	48
6 POVZETEK.....	53
VIRI	55
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Vrste medu različnih letnikov, število vzorcev in njihove oznake	21
Preglednica 2: Mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti (Seljak, 1996)	32
Preglednica 3: Rezultati fizikalnokemijskih analiz za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008 z izračunanimi statističnimi parametri	34
Preglednica 4: Rezultati Duncanovega testa za vsebnost prolina v različnih vrstah medu letnika 2007	40
Preglednica 5: Rezultati bivariatne analize, izvedene na vzorcih slovenskega medu letnikov 2007 in 2008	41
Preglednica 6: Linearni regresijski modeli ter pripadajoče vrednosti r^2 in r za obravnavane vrste medu letnikov 2007 in 2008	43
Preglednica 7: Enačbe regresijskih modelov ter vrednosti koeficientov determinacije in korelacije	45
Preglednica 8: Povprečne vrednosti analiziranih parametrov za obravnavane vzorce medu letnikov 2007 in 2008	46
Preglednica 9: Povprečne vrednosti električne prevodnosti (mS/cm) in nekateri statistični parametri vzorcev različnih vrst medu	49
Preglednica 10: Povprečne vrednosti specifičnega kota zasuka ($^{\circ} \text{cm}^3/\text{gdm}$) za različne vrste medu različnega geografskega porekla	50

KAZALO SLIK

Slika 1: Akacija (Čebelarstva zveza Slovenije, 2009)	6
Slika 2: Akacijev med (Čebelarstvo Grom, 2008)	7
Slika 3: Cvetlični med (Kraševka, 2008)	7
Slika 4: Pravi kostanj (Podjetje Ledinek, 2005)	8
Slika 5: Kostanjev med (Čebelarstvo Lužar, 2007)	9
Slika 6: Lipa (Lekarna Mozirje, 2009)	9
Slika 7: Lipov med (Pčelarsko gazdinstvo "Balint", 2007)	10
Slika 8: Gozdni med (Istranka, 2008)	10
Slika 9: Prolin (Tišler, 1991)	13
Slika 10: Ročni refraktometer (Nimatic, 2009)	16
Slika 11: Polarimeter (Den Hartog, 2009)	19
Slika 12: Vsebnost vode za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008	35
Slika 13: Električna prevodnost za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008	36
Slika 14: Prikaz izmerjenega specifičnega kota zasuka za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008 s pomočjo okvirja z ročaji	37
Slika 15: Vsebnost skupnih beljakovin za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008	38
Slika 16: Vsebnost prolina za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008	38
Slika 17: Zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in prolina za analizirane vzorce medu letnikov 2007 in 2008	42
Slika 18: Zveze med vsebnostjo skupnih beljakovin in prolina za različne vrste medu letnikov 2007 in 2008	43
Slika 19: Zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in vrednostjo električne prevodnosti za analizirane vzorce medu letnikov 2007 in 2008	44
Slika 20: Zveze med vsebnostjo skupnih beljakovin in vrednostjo električne prevodnosti za posamezne vrste medu letnikov 2007 in 2008	45

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ANOVA	analiza variance (ang. analysis of variance)
c	koncentracija raztopine, izražena v mol/l
EP (χ)	električna prevodnost
c_{xy}	kovarianca
KV	koeficient variance
max	največja vrednost
Me	mediana
min	najmanjša vrednost
mS/cm	miliSiemens na centimeter
n	število vzorcev
r	Pearsonov koeficient korelacije
r^2	koeficient determinacije
RSA	spodobnost odstranjevanja prostih radikalov (ang. radical scavening activity)
SD	standardna deviacije
sig.	Signifikanca, statistična značilnost
$\bar{x}$	povprečna vrednost
σ	varianca
(+)	desnosučna spojina
(-)	levosučna spojina
°	kotna stopinja
→	smer poteka reakcije
$[\alpha]$	kot zasuka linearno polarizirane svetlobe (°)
$[\alpha]_D^{20}$	specifični kot zasuka linearno polarizirane svetlobe pri valovni dolžini natrijeve D linije in pri 20 °C vodne raztopine (°cm ³ /gdm)

1 UVOD

Koristi medu za človekovo zdravje so že zelo dolgo poznane. Ateneus, grški filozof, je poročal, da je Demokrit (500 p.n.š.) dnevno uporabljal med, saj je bil prepričan, da vpliva na daljše življenje in boljšo plodnost. Demokrit, Hipokrat in Disokrit so verjeli, da je med pomembna snov, ki daje telesu moč in spodbuja zdravje (Rüdiger, 1977).

Ena izmed najstarejših gospodarskih dejavnosti na Slovenskem je prav gotovo čebelarstvo. Čebela je s svojimi proizvodi človeka zanimala že od nekdaj in med je verjetno prvi čebelji proizvod, ki ga je človek uporabljal že v pradavnini. Med je bil zelo cenjen, dokler ljudje niso spoznali sladkorja, ki ga s tehnološkim procesom pridobivamo iz sladkornega trsa in pese. V novejšem času je med spet dobil svoje pravo mesto v prehrani, saj je bogat s snovmi, ki jih sladkor ne vsebuje.

Na območju Slovenije čebelarimo z avtohtono čebelo, ki se imenuje kranjska sivka ali *Apis mellifera carnica*. Čebele so tesno povezane z rastlinami, saj jim le-te dajejo potrebno hrano, se pravi nektar, mano in cvetni prah. Po drugi strani pa čebele s svojim letanjem s cveta na cvet prenašajo cvetni prah z rastline na rastlino in jih na ta način oprašijo.

Med je zelo kompleksno živilo, saj vsebuje več kot 200 različnih fitokemijskih sestavin – biološko aktivnih snovi, katerih sestava je odvisna od botaničnega in tudi od geografskega porekla medu. Glavne sestavine medu so ogljikovi hidrati, predvsem glukoza in fruktoza, voda in mineralne snovi. Snovi, ki so v medu prisotne v manjših količinah in imajo antioksidativne lastnosti, so fenolne spojine in flavonoidi, nekateri encimi, askorbinska kislina, α -tokoferol, karotenoidi, organske kisline, produkti Maillardove reakcije, aminokisline in proteini (Gheldof in sod., 2002).

Med vsebuje majhno količino beljakovin, običajno manj kot 0,5 g/100 g, zato jim ne pripisujemo posebne prehranske vrednosti. Majhna količina dušikovih spojin v medu je tako rastlinskega kot tudi živalskega izvora.

1.1 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je bil določiti vsebnost beljakovin, prolina in vode ter izmeriti električno prevodnost in specifični kot zasuka (rotacijo) v vzorcih slovenskega medu različnih vrst (akacijev, cvetlični, gozdni, lipov in kostanjev med) dveh različnih letnikov.

Eksperimentalne podatke vseh obravnavanih parametrov smo statistično obdelali in preverili, ali obstaja zveza med vsebnostjo beljakovin in prolina v vzorcih medu iste vrste. Primerjali smo vrednosti specifičnega kota zasuka vzorcev medu med posameznimi vrstami in ugotavljali, ali med letnikoma obstajajo značilne razlike v analiziranih parametrih.

Pričakovali smo, da bomo z analizo 100 vzorcev medu petih različnih vrst in dveh različnih letnikov potrdili karakteristične vrednosti analiziranih parametrov v različnih vrstah medu. Predvidevali smo, da med vsebnostjo beljakovin in prolina obstaja močna zveza ter da bo na analizirane parametre v vzorcih vplival tudi letnik pridelave.

2 PREGLED OBJAV

2.1 PRIDELAVA MEDU V SLOVENIJI

Med evolucijo in po zadnji ledeni dobi se je na območju današnje Slovenije izoblikoval zelo raznovrsten življenjski prostor s posebno klimo, z bogato rastjo številnih rastlinskih vrst in z gosto poseljenostjo živalskih vrst. Pestrost rastlinskih vrst je tudi posledica geološke raznovrstnosti, dobre vodnatosti in menjajočih se vremenskih ritmov (Zdešar, 2008).

Po mnenju znanstvenikov je v Sloveniji najboljše izvorno območje kranjske rase čebel, ki ima odlične lastnosti za pridelavo medu v tukajšnjih in podobnih razmerah. V našem prostoru je tudi edino stičišče vseh ekotipov oziroma različkov kranjske čebele. V Sloveniji je čebelarstvo znano že iz obdobja, ko so ta prostor poseljevali Iliri in Kelti. Po naselitvi naših prednikov je vzreja čebel postala tradicionalna, tako da slovenski čebelarji že poldrugo tisočletje oskrbujejo zelo veliko število čebeljih družin (Zdešar, 2008).

Naravne razmere za vzrejo čebel so pri nas zelo dobre, nekoliko manj pa razmere za pridelavo medu, predvsem zaradi spremenljivih naravnih danosti. Razmerje med listavci in iglavci je ugodno (50 : 50), tla so dokaj rodovitna, padavine so kljub nihanjem dokaj dobro razporejene in tudi naravnih ujm do najnovejših razmer ni bilo prav veliko. Tudi toplote je dovolj in relief je ugoden. Na nekaj več kot dva milijona hektarjev površine je dovolj pašnih virov, največ v gozdovih, preostanek pa je pestro porazdeljen med posevke ter na paše na travnikih in gozdnem robu. Pomladne razvojne paše so zelo dobre in v fenološkem zaporedju prehitevajo ena drugo. Medonosne paše so spremenljive, od dobrih, zadovoljivih, do zelo slabih, ponavadi pa se pojavljajo strnjeno od druge polovice aprila do konca junija. S prenehanjem razcveta lip in kostanja zadnje dni junija in prvi teden julija so medonosne paše končane. V ciklično nepredvidljivih ugodnih letih medenja iglavcev se dvakrat do trikrat v desetletju medenje v najboljših sestojih iglavcev podaljša še v julij in celo v avgust (Zdešar, 2008).

Slovenci smo znani kot narod dobrih čebelarjev, približno 7000 čebelark in čebelarjev pridela od 12 do 22 kg medu na čebeljo družino. Večina, od 60 do 85 %, medu izvira iz nektarja in mane, ki ju čebele naberejo v gozdovih. Pašne razmere se ves čas spreminjajo. Dolgoročno je po količini pridelka na prvem mestu smrekova manina bera, med tem ko so najbolj zanesljive vsakoletne paše na kostanju, lipi, cveticah in akaciji. V zadnjih letih se zelo povečuje delež nektarne in manine bere na javorjih. Vse pogostejša je tudi bera na oljni ogrščici, ki je odlična razvojna in medonosna paša. Zdešar (2008) predvideva, da se bo zaradi podnebnih sprememb zmanjševal delež iglavcev, zato bo manjši tudi delež vrstnega medu iz mane (smrekovega in hojevega), več bo mešanega maninega medu, precej več težav pa naj bi bilo z oskrbo in ohranjanjem čebeljih družin.

2.2 ŽIVLJENJE ČEBEL IN BIOLOŠKI NASTANEK MEDU

Po zoološki sistematiki spadajo čebele v razred žuželk. Večina izmed približno 20.000 vrst, ki so predstavnice rodu čebele (*Apis*), so čebele samotarke. Za pridelavo medu, cvetnega prahu in voska pa je pomembna predvsem vrsta medonosnih čebel (*Apis mellifera*). Le te živijo v visoko razvitih socialnih skupnostih – družinah z 20.000 do 80.000 člani. Med njimi je ena matica, nekaj sto trotoev, ostalo pa predstavljajo neproduktivne čebele delavke (Gregorc, 2002).

Za prebivalce panja je značilna delitev dela, ki je genetsko pogojena (matica, troti, delavke) in hkrati specifična za posamezne linije, kar je najbolj razvidno iz življenja delavk. Čeprav živijo čebele delavke v poletnem obdobju le od 15 do 35 dni, se njihova vloga, torej aktivnosti, ves čas spreminjajo. Določene so s starostjo, predvsem z razvojem posameznih žlez: čeljustne, slinske, krmilne, prsne, voskovne. Ko se iz ličinke oz. bube izleže mladica, začne spremljati matico pri izleganju jajčec in hkrati prevzame skrb za novo zalego. V tem času krmilne in čeljustne žleze intenzivno izločajo matični mleček. Ta predstavlja glavni vir energije matici in je pomemben dodatek v prehrani ličink, sicer pa ličinke kar 80 % fizioloških potreb pokrijejo s cvetnim prahom in medom. Fazi razvoja sledi obdobje panjske -hišne čebele z razvitimi voskovnimi žlezami in žlezami slinavkami. Panjske čebele opravljajo številna opravila, med drugim gradijo satje, čistijo panj, ga z utripanjem kril prezračujejo, odstranjujejo odvečno vlago, uravnavajo temperaturo in kar je za nastanek medu najpomembneje, poskrbijo za medicino (mana, nektar) in cvetni prah, ki ga ob vrnitvi v panj prevzamejo od starejših predstavnic svojega delavskega razreda. Slednje imenujemo nabiralke - pašne čebele, ker se posvečajo le še paši (Božič, 1998; Gregorc, 1998; Gregorc, 2002).

Pašne čebele nabirajo med v posebne koške, ki se nahajajo na zadnjem delu nog. V panju ga panjske čebele shranijo v satne celice, od koder ga predvsem za potrebe zalege jemljejo mladice, viški pa predstavljajo zalogo za zimo oziroma brezpašno obdobje (Gregorc, 2002).

Med pašo nabrane sladke sokove – medicino čebele skladiščijo v medni golši, ki je nekakšen podaljšek požiralnika. V panju vsebino izbljuvajo, posesajo jo panjske čebele in prične se približno 20 minut trajajoč postopek ponavljajočega bljuvanja sladke kapljice na konico rilčka (jezička) in srkanja v medno golšo (Božič, 1998).

Med tem poteka:

- izhlapevanje vode, saj se vsebnost vode z začetnih 60 % zmanjša na 30-35 % in
- vnašanje slin, ki jo obilno izločata žlezi slinavki v glavi in oprsju. Slina je bogata zlasti s prebavnimi encimi, ki pospešujejo biokemično razgradnjo sestavljenih sladkorjev nektarja in mane do enostavne, invertne oblike, dostopne metabolizmu čebel (Gregorc, 2002).

Po odlaganju predelane medicine v satje sledi proces zorenja. Fizikalno osnovo zorenja predstavlja dokončno izhlapevanje vode na približno 18 %, biokemično zorenje pa je posledica delovanja prisotnih encimov na strukturo sladkorjev (Božnar in Senegačnik, 1998).

Izredno kompleksna sestava medu je torej posledica snovi, ki izvirajo iz rastlin, komponent, ki jih dodajo čebele, sprememb, ki potekajo med zorenjem, in seveda podnebnih razmer, okolja ter dela čebelarja (Božič, 1998; Božnar in Senegačnik, 1998; Gregorc, 1998; Gregorc, 2002).

2.3 IZVOR MEDU

Od zgodnje pomladi do poznega poletja ponuja narava bogat vir sladkih sokov, ki ga s pridom izkoriščajo tudi čebele. Ti sokovi se spreminjajo glede na cvetenje različnih rastlin in pojavljanje mane. Med pašo nabrani nektar in mano, katerih skupni izraz je medicina, čebele v panju predelajo v med (Slovar slovenskega knjižnega jezika, 1995).

2.3.1 Nektar

Nektar je od 5 do 40 % raztopina sladkorjev, ki jo izločajo posebne žleze cvetočih rastlin, imenovane medovniki. Med sladkorji prevladujejo saharoza, glukoza in fruktoza, ki se nahajajo v različnih razmerjih. Poleg njih so v nektarju prisotne tudi manjše količine beljakovin (manj kot 0,2 %), mineralov, organskih kislin, vitaminov, lipidov, pigmentov in aromatičnih komponent (Gregorc, 2002).

Najpomembnejše nektarne paše na območju Slovenije predstavljajo: teloh, leska, zvončki, trobentica, vrba, spomladanska resa, številne rastline gozdne podrasti in sadno drevje v prvem pomladnem obdobju, ter akacija, pravi in navadni divji kostanj, lipa, travniške rastline, rastline gozdnih obronkov in rečnih bregov v osrednjem spomladanskem in poletnem obdobju (Božič, 1998).

2.3.2 Mana

Mana je floemski tok, t.j. sladka vodna raztopina, ki se pretaka po žilah rastlin in jo v bolj ali manj predelani obliki izločajo sesajoče žuželke. To so predvsem različne ušice iz reda kljunatih žuželk (*Rhynchota*) in kaparji, ki živijo na iglavcih, pa tudi na listavcih, ter povzročajo gozdno medenje (Šivic, 1998).

Drevesni sok vsebuje od 10 do 30 % suhe snovi. Majhen delež predstavljajo mineralne snovi (1-3 %), beljakovine (0,03-0,27 %), organske kisline in vitamini, glavna pa pripada disaharidoma saharozi in maltozi. Žuželke za potrebe svojega metabolizma porabijo le manjši delež sladkorjev. Večji del izločijo, vendar, zaradi prisotnih encimov v slini in drugih prebavnih sokovih, v spremenjeni obliki. Mana tako vsebuje predvsem enostavna sladkorja fruktozo in glukozo, lahko pa tudi nekatere višje sladkorje, kot sta melicitoza in maltotrioza, ki sta rezultat spajanja enostavnih sladkorjev (Gregorc, 2002; Šivic, 1998).

Zanimiva je ugotovitev, da je sladkorni spekter odvisen predvsem od vrste sesajoče žuželke in manj od rastline gostiteljice. Včasih je veljalo zmotno prepričanje, da žuželke, ušice in kaparji srkajo drevesne sokove zaradi oskrbe z beljakovinami. Danes je znano, da za potrebe svojega organizma porabijo le del sladkorjev, zato ostajata količina dušikovih spojin v mani zelo podobni tistim v izvornem floemskem soku, sestava pa nekoliko spremenjena, saj namesto beljakovin prevladujejo aminokisline in amidi. V redkih primerih so raziskovalci odkrili povečano količino dušikovih spojin in prisotnost vitamina B₁₂, za katere predvidevajo, da so jih proizvedle v žuželah živeče simbiotske bakterije, sposobne vezave dušika iz zraka (Božnar in Senegačnik, 1998; Šivic, 1998).

Manino pašo v naših krajih zagotavljajo:

- različne vrste ušic in kaparjev na hoji, t.j. na navadni jelki, smreki, macesnu, boru in nekaterih drugih iglavcih, različne vrste ušic na lipi, kostanju, hrastu, javorju, vrbi, bukvi in sadnem drevju ter
- na Primorskem tudi medeči škržat (*Metcalfa hd*) na robidi, koprivi, rdečem drenu in nekaterih gojenih rastlinah (Šivic, 1998), čeprav ga v zadnjih letih praktično ni več opaziti.

2.4 VRSTE MEDU

Različne vrste medu se med seboj razlikujejo po barvi, vonju, okusu, konsistenci, sestavi in lastnostih, na katere vpliva predvsem vrsta cvetov in rastlin, iz katerih so čebele pridobile surovino. Botanični izvor medu lahko pogosto določimo s pomočjo senzorične analize, dokončno pa se o vrsti prepričamo s kemijskimi analizami in mikroskopsko analizo cvetnega prahu v medu (Božnar, 2002).

Pelodna analiza je ena od metod, s pomočjo katere razvrščamo med. Primerna je za dokaj natančno določanje botaničnega in geografskega porekla medu.

Sprejemljivost medu za potrošnika določajo njegove senzorične lastnosti. Vsaka vrsta medu ima tipično barvo, vonj, okus in aromo. Na osnovi fizikalnih značilnosti in kemijske sestave se določijo specifične značilnosti medu, prav tako pa tudi njegova odstopanja (Golob in Plestenjak, 1999).

Glede na izvor medicnine razlikujemo nektarne in manine medove. Upoštevajoč, koliko različnim rastlinskim vrstam pripada medicina, pa medove uvrščamo med vrstne (ena prevladujoča rastlinska vrsta) ali mešane (dve rastlinski vrsti ali več).

Čeprav je Slovenija majhna dežela, imamo različne klimatske razmere in širok ter pester izbor rastlin, na katerih lahko čebele nabirajo nektar ali mano. To pomeni, da v Sloveniji proizvajamo širok spekter vrstnih in mešanih medov z značilnim vonjem in aromo (Golob in Plestenjak, 1999).

Čebele začnejo cvetni prah in medicino nabirati takoj, ko zacveti črni teloh in se odpre prva leska. Prvi medovi, ki so nektarnega izvora, so pogosto nabrani predvsem na sadnem drevju. V gozdu je tedaj najpomembnejša divja češnja, za njo pa še vrste javorja. Na njem se lahko razvijejo kolonije listnih ušic, ki izločajo mano in s tem prispevajo k večji beri medu ob cvetenju te drevesne vrste. Tako dobimo mešani med ali celo pravi med iz mane. V enakem obdobju cveti tudi regrat, zato na nekaterih območjih točijo tudi regratov med. V nižinah porumenijo polja oljne ogrščice, na katerih se čebelje družine okrepijo in naberejo tudi obilnejšo bero medu.

Nekoliko pozneje v maju v toplejših krajih Slovenije, zlasti v vinorodnih, zacvetijo robinije oziroma akacije, ki večinoma prispevajo obilno bero akacijevega medu. To je prva obilnejša paša v Sloveniji.

V začetku junija zacvetita lipa in lipovec, oba sta bogata z medicino. V nekaterih krajih, zlasti na Kočevskem in Tolminskem, čebelarji tedaj točijo čisti lipov med.

V drugi polovici junija cveti kostanj, na katerem čebele naberejo dovolj medicnine vsaj za skromno točenje, ob dobrih letih pa tudi obilnejšo medeno bero kostanjevega medu.

Že ob cvetenju kostanja se lahko na smreki in jelki (hoja) razvijejo kolonije listnih uši in kaparjev, ki včasih poleti izločajo obilne količine mane. Žal so obilne gozdne paše smrekovega in hojevega medu redke, saj so odvisne tako od razvoja listnih uši in kaparjev kot tudi od vsakokratnih vremenskih razmer (Božič, 2008).

Kot pišeta Persano Oddo in Piro (2004), je v Evropi poznanih več kot 100 botaničnih vrst, iz katerih se lahko proizvaja vrstni med.

V diplomsko delo smo vključili pet vrst medu. Analizirali smo vzorce vrstnega medu akacije, kostanja in lipe, ter mešanega cvetličnega in gozdnega medu.

2.4.1 Akacijev med

Čebelja paša na robinji ali akaciji (*Robinia pseudoacacia* L.) predstavlja na območju celotne Slovenije enega najbolj obilnih in zanesljivih virov medicinske – nektarja med vsemi medonosnimi drevesnimi vrstami, a z zelo malo cvetnega prahu (Božič, 1998). Med točimo maja in junija.

Akacijev med je precej svojevrsten. Zanj je značilno, da je zelo svetel, skoraj brezbarven, da ima zelo nežen vonj in okus. Intenzivnost arome akacijevega medu je zelo šibka, neizrazita. Premočan vonj je napaka, ker kaže na navzočnost drugega nektarja. V okusu je mogoče zaznati samo sladkost, ki je srednje do močno intenzivna. Ima zelo nizko električno prevodnost, najnižjo med vsemi vrstami medu v Sloveniji. Akacijev med zelo redko kristalizira, med drugim zato, ker vsebuje več fruktoze kot glukoze (Golob in sod., 2008b).



Slika 1: Akacija (Čebelarstva zveza Slovenije, 2009)



Slika 2: Akacijev med (Čebelarstvo Grom, 2008)

2.4.2 Cvetlični med

Travniška paša na medovitih rastlinah kot so travniška kadulja (*Salvia pratensis* L.), materina dušica (*Thymus* L.), njivski grabljišč (*Knautia arvensis* L. Coult.), navadni nokot (*Lotus corniculatus* L.), meteljka (*Medicago* sp. L.), plazeča detelja (*Trifolium repens* L.) in mnoge druge rastline predstavljajo vir nektarja in cvetnega prahu, iz katerega čebele pridelujejo cvetlični med (Božič, 1998). Točimo ga od pomladi do jeseni.

Kot cvetlični med pogosto označujemo tudi medove drugih cvetočih rastlin (ne le travniških), ki ne ustrezajo zahtevam vrstnih nektarnih medov. Vir medicnine in cvetnega prahu so torej različne rastline, kar se kaže v relativno velikih razlikah v sestavi, ter pestrosti barve, vonja in okusa (Božnar in Senegačnik, 1998).

Cvetlični med je po svojih senzoričnih lastnostih lahko raznovrsten, saj so te odvisne od vrste cvetov, na katerih so čebele nabirale nektar. Značilno zanj je, da je dokaj svetel in po okusu srednje do močno, celo zelo močno sladek, ter da ima pekoč pookus po sladkem. Pri tej vrsti je obvezno navzoč tudi kisel okus, ki je šibko do srednje močno izražen. Električna prevodnost mora biti nižja od 0,8 mS/cm. Cvetlični med lahko dokaj hitro kristalizira. Kristalizacija je delna, nepravilna, pogosto nastanejo veliki kristali (Golob in sod., 2008b).



Slika 3: Cvetlični med (Kraševka, 2008)

2.4.3 Kostanjev med

Paša na pravem kostanju (*Castanea sativa* Mill.) je najzanesljivejša paša na območju Slovenije, vendar nekoliko manj obilna od akacijeve. Moška in ženska socvetja predstavljajo najpogostejši vir cvetnega prahu in hkrati obilo nektarja. Med cvetenjem svoj vrhunec doživi tudi kostanjeva ušica (*Lachnus longipes* Dofour), ki izloča kostanjevo mano (Božič, 1998; Šivic, 1998). Točimo ga v juniju in juliju.

Kostanjev med je bolj ali manj temne jantarne barve z rdečkastim ali zelenkastim odtenkom. V kostanjevem medu je vselej prisotno veliko cvetnega prahu, ki mu daje značilno grenkobo. Vonj je intenziven, po kostanjevem cvetju, oster in včasih celo odbijajoč. Tudi aroma je izrazita, zelo karakteristična, po zeliščih ali pelinu (Golob in sod., 2002; Božnar in Senegačnik, 1998). Med, v katerem prevladuje mana, je nekoliko temnejši od čistega cvetnega (nektarnega) medu, vsebuje nekoliko manj peloda, okus in aroma pa sta intenzivnejša (Šivic, 1998). Zaradi večje vsebnosti sadnega sladkorja ali fruktoze kristalizira zelo počasi, kristali pa so grobi.

Najpogostejše vrstni kostanjev med sestavljata tako nektar kot mana, njegova električna prevodnost je zelo visoka, lahko tudi več kot 2 mS/cm (Golob in sod., 2008b).



Slika 4: Pravi kostanj (Podjetje Ledinek, 2005)



Slika 5: Kostanjev med (Čebelarstvo Lužar, 2007)

2.4.4 Lipov med

Lipa (*Tilia platyphyllos* Scop.) in lipovec (*T. Cordata* Mill.) rasteta v gozdovih po vsej Sloveniji, zasledimo pa ju lahko tudi v parkih in drevoredih. Kljub precejšnji količini nektarja, pa zaradi relativno redkega pojavljanja lipe in lipovca govorimo o zmerni lipovi paši. Za obe drevesni vrsti je značilen tudi pojav mane (Božič, 1998). Lipov med točimo v juniju in juliju.

Lipov med lahko čebele pridelajo iz nektarja in mane, zato ima lastnosti tako nektarnih kot tudi maninih medov. Prevodnost te vrste medu ni omejena, lahko je nizka, od 0,5 mS/cm naprej, lahko pa tudi visoka, več kot 1,0 mS/cm. Za lipov med je značilno, da je zelo osvežil in po okusu spominja na lipovo cvetje. Značilno je, da zelo hitro kristalizira in tvori velike kristale (Golob in sod., 2008).



Slika 6: Lipa (Lekarna Mozirje, 2009)



Slika 7: Lipov med (Pčelarsko gazdinstvo "Balint", 2007)

2.4.5 Gozdni med

Gozdni med je rezultat čebeljih paš na manah različnih iglavcev (hoje, smreke, macesna, bora) in listavcev (kostanja, lipe, hrasta, javorja, leske), točimo ga v juliju in avgustu (Božnar in Senegačnik, 1998).

Ker je gozdni med mešanica različnih vrst mane, se lahko vzorci zelo razlikujejo po barvi, vonju, okusu in aromi. Za tovrstni med je značilno, da v njem ne prevladuje nobena vrsta mane ter da sta sladek in kisel okus uravnotežena. Pogosto je mešan s cvetličnim medom, saj čebele v gozdu obiskujejo tudi podrast. Električna prevodnost mora biti več kot 0,8 mS/cm (Golob in sod., 2008b).



Slika 8: Gozdni med (Istranka, 2008)

2.5 SESTAVA MEDU

Med je brez dvoma primer izjemno kompleksnega živila, ki je povsem naraven in kot tak, v nepredelani obliki, primeren za sladilo v prehrani (Iglesias in sod., 2004). Zaradi svoje sestave je tudi za diabetike ugodnejši od sladkorja.

Osnovne kakovostne parametre o sestavi medu navaja Pravilnik o medu (2004), ki je usklajen z evropsko zakonodajo (Council directive, 2002).

Glavne sestavine medu predstavljajo ogljikovi hidrati (75-80 %), voda (17 %), organske kisline (0,1-1 %), mineralne snovi (0,1-1,5 %) in aminokisline (0,2-2 %) (Božnar, 2003).

Kot navaja White (1978a) naj bi med vseboval več kot 200 različnih komponent. Največji delež predstavljajo sladkorji, predvsem sadni sladkor (fruktoza) in grozdni sladkor (glukoza), nekaj pa je tudi sestavljenih sladkorjev (di- in trisaharidov). Sladkorji so hiter vir energije: glukoza se takoj absorbira v kri, fruktoza nekoliko počasneje. Med ostalimi sestavinami so pomembni minerali: kalij, kalcij, natrij, magnezij, železo, baker, mangan, fosfor, klor. Mineralne snovi so namreč za človeško telo življenjskega pomena. Več mineralnih snovi je v temnih (gozdnih) vrstah medu.

Od vitaminov najdemo v manjših količinah vitamine B₁, B₂, B₆ in C, pantotensko kislino, nikotinsko in folno kislino ter biotin. Pomembni so tudi encimi, ki sodelujejo pri presnovi druge hrane, npr. invertaza, katalaza, glukozidaza, fosfataza.

Med vsebuje tudi hormon acetilholin, ki je pomemben za srce in živčevje.

Poleg tega vsebuje še protibakterijske snovi (inhibine) in gradbene elemente celic (beljakovine in aminokisline). Vonj in okus medu sta posledica različnih kislin in aromatičnih snovi (Božnar, 2002).

2.5.1 Ogljikovi hidrati v medu

Številni avtorji navajajo, da so ogljikovi hidrati najbolj zastopane organske spojine v medu. Predstavljajo kar 95 – 99 % suhe snovi v medu.

Ogljikovi hidrati so kot poglavitna sestavina medu odgovorni za njegove fizikalnokemijske lastnosti, kot so viskoznost, kristalizacija in higroskopsnost (Cavia in sod., 2002). Vsebnost in razmerje med različnimi sladkorji v medu sta odvisna od botaničnega izvora, encimov, sestave in intenzivnosti izločanja nektarja, podnebnih razmer, vrste, fiziološkega stanja čebel in od moči čebelje družine (Cotte in sod., 2004; Esti in sod., 1997; Nanda in sod., 2003).

Ogljikove hidrate delimo v štiri velike skupine, ki temeljijo na njihovi kemijski strukturi in stopnji polimerizacije (Stylianopoulos, 2005):

- monosaharidi – zgrajeni iz ene monosaharidne enote (npr. glukoza, fruktoza, galaktoza),
- disaharidi – zgrajeni iz dveh monosaharidnih enot (npr. saharoza, maltoza, laktoza),
- oligosaharidi – zgrajeni iz največ devetih monosaharidnih enot (npr. maltotrioza, melcitoza, erloza),
- polisaharidi – zgrajeni iz več kot devetih monosaharidnih enot (npr. škrob, celuloza, glikogen).

Sladkorji, ki jih vsebuje med, spadajo med enostavno zgrajene ogljikove hidrate. Med vsebuje od 33 do 42 % fruktoze, 27 do 36 % glukoze in 1 do 4 % saharoze. Vse tri vrste sladkorjev so v naravi zelo razširjene. Njihovo razmerje v medu je delno odvisno od vrste medu, delno pa tudi od učinkovitosti encima invertaze, ki saharozo cepi v ustrezno, količinsko izenačeno mešanico fruktoze in glukoze (Božnar in Senegačnik, 1998).

Večina vrst medu je sestavljena predvsem iz monosaharidov, in sicer glukoze in fruktoze. Mešanica glukoze in fruktoze se imenuje invertni ali reducirajoči sladkor in skupaj predstavlja 85-95 % vseh ogljikovih hidratov v medu (Finola in sod., 2007; Božnar in Senegačnik, 1998). Fruktoza ali D(-) fruktoza je zelo higroskopična, dobro topna v vodi, zelo počasi kristalizira in suče ravnino polarizirane svetlobe v levo. Glukoza ali D(+) glukoza (dekstroza) je v vodi slabše topna, njena stabilna kristalna oblika α -D glukoza monohidrat pa kristalizira pri temperaturah, nižjih od 50 °C. Glukoza suče ravnino polarizirane svetlobe v desno. Sukanje ravnine polarizirane svetlobe je ena od lastnosti, ki je odvisna od sladkorjev, njihovih tipov in relativnih razmerij. Na splošno velja ugotovitev, da so cvetlični medovi levosučni, medovi iz mane pa desnosučni. Večina medu iz nektarja (cvetlični) vsebuje več fruktoze kot glukoze (Aurand in sod., 1987; Božnar in Senegačnik, 1998; Johnson, 1993; Scott, 1993).

Po Pravilniku o medu (2004) morajo medovi iz mane vsebovati vsaj 45 g/100 g invertnega sladkorja, medovi iz nektarja pa vsaj 60 g/100 g. Največji delež invertnega sladkorja vsebuje akacijev med, najmanj pa gozdni med.

S senzoričnega in fizikalnega stališča je pomembno predvsem razmerje med vsebnostjo fruktoze in glukoze (F/G). Za posamezno vrsto medu je razmerje F/G karakteristično zaradi različne vsebnosti invertnega sladkorja. Ponavadi je v medu več fruktoze (40 %) kot glukoze (34 %), tako da je v povprečju razmerje $F/G = 1,2/1$. To razmerje nam pomaga predvideti, kako hitro bo med kristaliziral. Večje kot je razmerje, več fruktoze vsebuje med glede na glukozo, torej bo stopnja kristalizacije manjša. Tak med bo ostal dlje časa tekoč (Božnar in Senegačnik, 1998; Scott, 1993).

Med slovenskimi medovi sta s fruktozo bogata predvsem akacijev in kostanjev med, saj je razmerje F/G enako 1,5 pri prvem in 1,4 pri drugem.

Med oligosaharidi je v medu največ trisaharidov maltotrioze in melecitoze, pa tudi panoze, erloze in rafinoze. Melecitoza je trisaharid, ki zelo hitro kristalizira, ker se v vodi raztaplja še slabše kot glukoza. Vsebuje jo med iz mane, zato vsebnost melecitoze v označenem cvetličnem medu kaže, da ta med vsebuje tudi mano, torej je po izvoru mešan (Golob in sod., 2008a).

2.5.2 Voda v medu

V naših klimatskih pogojih vsebuje 100 g zrelega medu od 15 do 18 g vode (Pestenjak, 1999). Po Pravilniku o medu (2004) je dovoljeno največ 20 g vode v 100 g medu. Vsebnost vode sicer ni odvisna od botaničnega in geografskega porekla, je pa merilo, ki značilno vpliva na senzorično kakovost in fizikalnokemijske parametre medu. Med z večjo vsebnostjo vode je redkejši in lažje tekoč, tisti z manjšo vsebnostjo vode pa je bolj viskozen. Slednji je bolj obstojen, saj je v takih razmerah onemogočeno delovanje ozmofilnih kvasovk, s čimer je preprečena tudi fermentacija. Vsebnost vode je odvisna od vrste in intenzivnosti paše, podnebnih razmer, predvsem v obdobju cvetenja oziroma medenja rastlin, od vrste panja in

od dela čebelarjev. Če je v medu manj kot 15 % vode, je ta bolj viskozen, slabo tekoč in hitreje kristalizira (Golob in sod., 2008a).

Vsebnost vode v medu se lahko spreminja, pri tem pa ima pomembno vlogo pravilno shranjevanje. Med mora biti zaščiten pred vlago in skladiščen pri temperaturi pod 11 °C. Če so izpolnjeni ti pogoji, lahko predvidevamo, da bo obstojnost medu dobra (Doner, 2003).

Poznavanje vsebnosti vode je pomembno pri določanju električne prevodnosti in izračunu specifičnega kota zasuka medu (Bogdanov in sod., 1997).

2.5.3 Beljakovine v medu

V literaturi so podatki o vsebnosti beljakovin v medu skromni, najverjetneje zato, ker so njihove količine vselej izredno majhne in jim ne pripisujejo posebne prehranske vrednosti. Leta 1978 je White poročal, da je vsebnost dušika v medu le 0,04 % (40 mg/100 g medu), beljakovin pa 0,2 %, opozorila pa je tudi na visoke standardne odklone. Anklam (1998) poroča, da je delež beljakovin v medu običajno manjši od 0,5 %. Božnar (2003) navaja, da se vsebnost beljakovin v medu giblje med 0,2 in 0,3 %.

Majhne količine beljakovin in prostih aminokislin imajo izvor v nektarju, floemskem toku in proizvodnjah mane, večje pa v cvetnem prahu (Božnar, 2003).

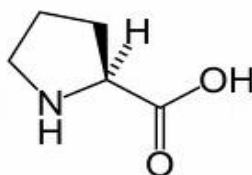
2.5.4 Aminokisline v medu

Skupna vrednost prostih aminokislin v medu je 100 mg/100 g suhe snovi. V medu je bilo odkritih od 11 do 21 prostih aminokislin. Aminokisline z nekaterimi sladkorji tvorijo rumene ali rjave barve (Maillardova reakcija), rezultat tega pa je verjetno s staranjem pogojeno temnenje medu (Doner, 2003).

Geografsko poreklo in izvor medu lahko ugotovimo, če poznamo vsebnost nekaterih aminokislin (Belitz in Grosch, 1999).

- Prolin

Prolin (Pro) je ciklična aminokislina in ima kemijsko zgradbo, ki jo prikazuje slika 9.



Slika 9: Prolin (Tišler, 1991)

Na α -ogljikov atom vezana alifatska veriga, t.j. veriga ogljikovodikov, se hkrati spaja z α -amino skupino in tako oblikuje značilno obročasto strukturo. Posledično amino skupina nima prostega vodikovega atoma, zato prolin, kot gradbena enota beljakovin, ne tvori klasičnih vodikovih vezi, s katerimi bi prispeval k stabilizaciji sekundarne strukture α -heliksa. Pogosto se nahaja kot začetna oziroma končna aminokislina, ali pa z oblikovanjem posebnih zank ustvarja visoko urejene sekundarne strukture peptidov (Nelson in Cox, 2005).

Amino in karboksilna skupina dajeta prolinu amfoterni značaj, zato lahko deluje kot kislina (donor protonov) ali baza (akceptor protonov). Disociacijska konstanta pri 20 °C v kislem (pK_{COOH}) je 1,99, v bazičnem ($pK_{NH_3^+}$) 10,60, vrednost izoelektrične točke (pI) pa je pri 6,30. Prolin je edina aminokislina, ki je topna tako v alkoholu kot v vodi (Nelson in Cox, 2005).

Čeprav je prostih aminokislin v medu povprečno le 0,3 % (Gonzales Parmas in sod, 2006), je delež prolina glede na ostale izstopajoč, saj predstavlja 50-85 % vseh aminokislin v medu (Belitz in Grosch, 1999). Kljub precejšnjemu variiranju je prav prolin tisti, s pomočjo katerega ocenjujemo delež skupnih aminokislin v medu (Meda in sod., 2005).

Mnenja o izvoru prolina v medu so različna. Izviral naj bi tako iz cvetnega prahu rastlin, kot tudi iz čebel oziroma njihovega metabolizma. Ena izmed predpostavk pravi, da je prolin osmoregulator, ki ga čebele vnašajo v med hkrati z encimi, z namenom da izenačuje visok osmotski tlak nektarja (Sporns, 1992). Po Bergnerju in Hahnu (1972) je prolin največkrat produkt salivarnega izločanja čebel (*Apis mellifera*) pri pretvorbi nektarja v med.

Vir prolina je tudi cvetni prah ali pelod, ki je moška zarodna plazma rastlin. Čebelam, predvsem pa čebelji zalegi, predstavlja edini naravni vir beljakovin, ki jih potrebujejo za rast in razvoj (Gregorc, 2002). Cvetni prah vsebuje od 11 do 35 % beljakovin, od 20 do 40 % ogljikovih hidratov, od 1 do 20 % maščob, od 1 do 7 % mineralnih snovi, poleg tega pa tudi vitamine in pigmente.

Prolin je kriterij za določanje zrelosti medu in v nekaterih primerih tudi potvorbe sladkorjev. Zrelost medu je povezana z encimsko aktivnostjo (Bogdanov in sod., 2004). V medu mora biti vsaj 180 mg/kg prolina, drugače je to znak potvorjenosti (Bogdanov in sod, 1999).

Analiza vsebnosti prolina je dokaj enostavna, saj skupaj z ninhidrinom tvorita spojino rumene barve, katere koncentracijo merimo spektrofotometrično (Bogdanov in sod., 1997).

Z raziskavami naravno prisotnih antioksidativnih snovi v medu dobiva prolin večji pomen. Meda in sodelavci (2005) so dokazali pozitivno korelacijo med vsebnostjo prolina in sposobnostjo odstranjevanja prostih radikalov. Korelacije med RSA (radical scavenging activity) in vsebnostjo prolina je bila večja kot med RSA in skupnimi fenoli.

Posamezne vrste medu vsebujejo različne količine prolina: najmanj ga vsebuje akacijev med (približno 300 mg/kg) in največ kostanjev med (lahko tudi več kot 600 mg/kg), ki slovi tudi po izdatni količini prisotnega cvetnega prahu (Golob in sod., 2008a). Razlike v vsebnosti prolina pa so tudi znotraj vrst. Sanchez-Miret in sod. (2001) navajajo, da je v španskem kostanjevem medu povprečna vsebnost prolina 839 mg/kg, Persano-Oddo in Piro (2004) pa sta določila, da ga je v tej vrsti medu povprečno 585 mg/kg.

2.6 OPIS FIZIKALNOKEMIJSKIH METOD

2.6.1 Refraktometrija

Refraktometrija je optična metoda, široko uporabna v kontroli kakovosti živil, pa tudi v raziskovalne namene. Primerna je za hitro določanje vsebnosti vode v različnih tekočinah in inertnih trdnih snoveh. Posebej prirejene instrumente uporabljamo za določanje tudi drugih sestavin, zlasti sladkorjev. To so tako imenovani saharimetri – umerjeni in prirejeni za direktno merjenje količine sladkorjev – imajo na skali poleg vrednosti indeksa refrakcije tudi koncentracijo sladkorjev v %.

Metoda temelji na merjenju indeksa refrakcije raztopine, zato mora biti analit ali merjena komponenta v raztopini. Za čisto raztopino določene substance je značilno, da ima pri konstantni temperaturi in pritisku konstanten indeks refrakcije.

Pri prehodu svetlobe iz enega medija (zrak) v drug medij (vodna raztopina vzorca), se žarek deloma odbije, deloma pa lomi. Kako se žarek lomi, je odvisno od snovi. Običajno izražamo to z indeksom refrakcije. Indeks refrakcije (lomni količnik) raztopine je podan z naslednjo relacijo:

$$\mu = \sin i / \sin r \quad \dots(1)$$

i je kot vpadnega žarka

r je kot prepuščenega žarka

μ je indeks refrakcije ali lomni količnik

Indeks refrakcije je definiran torej kot razmerje med sinusom kota vpadnega žarka in sinusom kota prepuščenega žarka. Je karakterističen za vsako snov in odvisen od koncentracije snovi v raztopini in temperature.

Merjenje indeksa refrakcije daje hitre in dovolj ponovljive rezultate vsebnosti suhe snovi oz. vode v: sadnih sokovih, želejih, marmeladah, paradižnikovem koncentratu, medu in ostalih živilih, ki vsebujejo veliko ogljikovih hidratov, pa tudi v mleku, mlečnih izdelkih, raztopinah beljakovin in živilih, ki vsebujejo veliko maščob (Golob, 1999).

Aparatura je lahko navaden laboratorijski hidrometer, abbejev refraktometer, ročni refraktometer ali avtomatski žarkovni analizator.

Analizo smo opravili z ročnim refraktometrom, s katerim je delo zelo preprosto, saj je skala prirejena za direktno odčitavanje masnega deleža (%) vode oziroma masnega deleža (%) suhe snovi. Ročni refraktometer ima natančno optiko, mejna linija je ostra, kar omogoča natančno odčitavanje rezultata. Ker je refraktometer umerjen pri temperaturi 20 °C in ker delovna temperatura praktično nikoli ni enaka 20 °C, je potrebna temperaturna korekcija. Izvedemo jo s pomočjo korekcijske skale na spodnji strani refraktometra, meritev je opravljena v 50 do 60 sekundah (Golob, 1999).



Slika 10: Ročni refraktometer (Nimatic, 2009)

2.6.2 Električna prevodnost

Prevodnost nekega elektrolita – prevodnika ne merimo direktno, temveč jo določamo iz upornosti raztopine, ki jo merimo med dvema elektrodama, potopljenima v elektrolit. Izmerjena upornost $R(t)$ je premosorazmerna veličini, s katero se snov upira premiku naboja. Prevodnost $G(t)$ je inverzna vrednost upornosti $R(t)$:

$$G(t) = 1 / R(t) \quad \dots(2)$$

Upornost, ki jo nudi prevodnik v 1 cm kiveti, je definirana kot specifična upornost; recipročna tej vrednosti je specifična prevodnost. Recipročna vrednost specifične upornosti je specifična električna prevodnost, χ . Specifična prevodnost raztopine je prevodnost raztopine elektrolita, ki je med dvema elektrodama s površino $B = 1 \text{ cm}^2$ in razdaljo med elektrodama $l = 1 \text{ cm}$, $\chi = G(t) \cdot l / B$. Parameter l/B imenujemo konstanta celice. Specifična prevodnost vodne raztopine čistega elektrolita je pri konstantni temperaturi odvisna od koncentracije.

Iz podatkov o električni prevodnosti (χ) lahko dobimo koristne informacije o kakovosti, vrsti in morebitni potvorjenosti medu. Uporabljena oprema – konduktometer pa je relativno poceni in nezahteven za uporabo. Določanje električne prevodnosti raztopine medu z masnim deležem suhe snovi 20 % je metoda, ki je vključena v mednarodne standarde za med, saj je dobro nadomestilo za zamudno določanje pepela v medu (Bogdanov in sod., 2004).

- Električna prevodnost medu

Električna prevodnost medu (χ) je odvisna od koncentracije mineralnih snovi, organskih kislin, beljakovin, ki v vodni raztopini medu tvorijo ione in tako prevajajo električni tok. Na gibljivost ionov, torej tudi na prevodnost raztopine medu vpliva vrsta in količina sladkorjev in poliolov. Električna prevodnost medu in vsebnost pepela nam povesta o mineralni sestavi medu. Vsebnost mineralnih snovi v medu je na splošno zelo majhna in variira glede na botanično poreklo medu. Temnejši medovi vsebujejo večje količine mineralov kot svetlejši (Piazza in sod., 1991). Večja električna prevodnost maninega medu in mešanice nektarnega in maninega medu je posledica večje vsebnosti mineralov. Nasprotno je manjša vrednost električne prevodnosti, kar je značilno za akacijev med, posledica manjše vsebnosti pepela v medu (Popek, 2002).

Električna prevodnost (χ) naravnega medu je zaradi visoke koncentracije sladkorjev, ki zmanjša gibljivost ionov, sorazmerno nizka in narašča z naraščajočo razredčitvijo medu v destilirani vodi. Maksimalno električno prevodnost imajo raztopine medu z 20-30 % suhe snovi, saj je gibljivost ionov v taki raztopini optimalna. Vrednosti električne prevodnosti medu so lahko zelo različne in značilne za določeno vrsto medu (Golob, 1999).

Po Pravilniku o medu (2004) mora biti električna prevodnost medu iz nektarja manjša ali enaka 0,8 mS/cm. Izjema sta lipov in kostanjev med.

2.6.3 Spektrofotometrija

Spektrofotometrija je ena najpogostejše uporabljenih instrumentalnih metod v analizi praksi, saj zagotavlja tako kvalitativno kot kvantitativno ovrednotenje preiskovane snovi. Njene prednosti so enostavnost merjenja, zanesljivost in široka paleta merjenih snovi (Pihlar, 2001).

Spektroskopske metode temeljijo na interakciji analita z elektromagnetnim valovanjem, tj. valovanjem električnega in magnetnega polja, ki delujeta pravokotno eno na drugo, v vakuumu potujeta s hitrostjo svetlobe in pri tem skozi prostor nosita energijo – vsako polje polovico (Pihlar, 2001).

Spektroskopijo delimo glede na vrsto delcev, ki jih vzbujamo, na molekulsko oziroma atomsko, ter z ozirom na vrsto interakcije na absorpcijske in emisijske tehnike, glede na valovno dolžino (UV, IR, ...).

V normalnih okoliščinah se večina atomov in molekul nahaja v osnovnem stanju, kar pomeni, da elektroni zasedajo mesta nižjih energijskih nivojev. Z dovajanjem svetlobne energije lahko povzročimo, da elektroni zunanjih orbital preidejo v nestabilno vzbujeno stanje. V tem se zadržijo le od 10^{-9} do 10^{-6} sekunde in nato energijo oddajo (emitirajo). Kadar nihanje svetlobe in elektronov preide v območje resonance, nastopi absorpcija. To se zgodi v primeru tistih snovi, ki svetlobo ustrezne barve, natančneje valovne dolžine, ne prepuščajo. Za analitiko je posebej pomembno vidno področje elektromagnetnega spektra (med 400 nm in 800 nm), saj to energijo absorbirajo številne naravne in sintetične organske spojine, ter biološko pomembne snovi. Za določitev analita je zato potrebno vnaprej poznati njegov absorpcijski maksimum in izbrano valovno dolžino svetlobe tudi zagotoviti. Govorimo o monokromatski svetlobi, ki je sestavljena iz ene same valovne dolžine (λ) oziroma frekvence ($\nu = 1/\lambda$). Dobimo jo tako, da poleg izvora svetlobe, ki daje zvezni spekter uporabimo še optično napravo monokromator (optični filter, prizmo ali uklonsko mrežico), ki prepušča le želeno valovno dolžino (Pihlar, 2001).

Osnovna zakona praktične fotometrije sta Lambertov in Beerov zakon. Prvi pravi, da je intenziteta prepuščenega žarka, ki vstopa pravokotno na absorbirajočo snov, odvisna od dolžine optične poti. Beerov zakon pravi, da intenziteta prepuščenega žarka monokromatske svetlobe pri potovanju skozi raztopino eksponentno pojema z razdaljo. Če oba zakona združimo, dobimo Beer-Lambertovo enačbo (3), ki podaja intenziteto prepuščene svetlobe v odvisnosti od dolžine optične poti in koncentracije raztopine (Pihlar, 2001).

$$\log T = \epsilon lc = \log (I_0/I) = A \quad \dots(3)$$

A = absorbanca

T = transmitanca ali prepustnost

I_0 = intenziteta vpadnega žarka

I = intenziteta prepuščenega žarka

ϵ = molarna absorptivnost

Za spektrofotometrično določanje aminokisline prolina z elektromagnetnim valovanjem smo uporabili molekulsko absorpcijsko spektrometrijo v vidnem območju monokromatske svetlobe.

2.6.4 Polarimetrija

Optična sučnost je lastnost optično aktivnih substanc, da pri prehodu skozi sučejo ravnino linearno polarizirane svetlobe. Optično aktivne so organske spojine, ki imajo v molekuli enega ali več asimetričnih centrov, ali kak drug element asimetrije. Če je v vzorcu več optično aktivnih spojin, je optični zasuk vzorca enak vsoti optičnih zasukov posameznih komponent (Breznik in sod., 2001; James, 1995).

Običajna in monokromatska svetloba sta transversalno elektromagnetno valovanje, pri katerem vektor električne poljske jakosti niha v vseh ravninah, ki so pravokotne na smer razširjanja žarka. Za določanje optične aktivnosti spojin je svetlobo potrebno polarizirati. Pri linearno polarizirani svetlobi vektor električne poljske jakosti niha samo v eni ravnini (ravnina polarizacije), ki je pravokotna na smer razširjanja žarka (Breznik in sod., 2001).

Optično aktivne spojine sučejo ravnino linearno polarizirane svetlobe v:

- desno (v smeri urinega kazalca, pozitivno): d ali (+)
- levo (v nasprotni smeri urinega kazalca, negativno): l ali (-)

Na splošno velja, da je med iz nektarja levosučen, med iz mane pa desnosučen (Golob in sod., 2008a).

- Specifična rotacija medu

Vse sladkorne raztopine imajo optično lastnost, da sučejo ravnino polarizirane svetlobe (Bogdanov in sod., 1996; Piazza in sod., 1991). Zasuk linearno polarizirane svetlobe vodnih raztopin sladkorjev podajamo kot specifični kot zasuka $[\alpha]_D^{20}$ (Klofutar, 1993). Ker je specifični kot zasuka posameznih sladkorjev poznan, lahko na osnovi kota zasuka določimo vrsto in izračunamo koncentracijo sladkorja. Polarimetrično določanje sladkorjev je preprosto, hitro in primerno v analitiki topnih mono-, oligo- in polisaharidov (Plestenjak, 1993).



Slika 11: Polarimeter (Den Hartog, 2009)

Med je raztopina različnih sladkorjev, zato ima lastnost, da suče ravnino linearno polarizirane svetlobe. To je ena od lastnosti, ki je odvisna od vrste in relativnih razmerij sladkorjev. Najpogostejša sladkorja v medu sta fruktoza, ki je levosučna in glukoza, ki je desnosučna. Di- in trisaharidi v medu so desnosučni. Na splošno velja ugotovitev, da so cvetlični medovi levosučni, medovi iz mane pa desnosučni. Večina medu iz nektarja (cvetlični) vsebuje več fruktoze kot glukoze. Posledično prevladuje levosučnost fruktoze nad desnosučnostjo glukoze. S tem je izražena negativna vrednost $[\alpha]_D^{20}$. Medovi iz mane imajo bolj kompleksen spekter sladkorjev. Vsebujejo manj monosaharidov, ter več di- in trisaharidov, kar daje pozitivne rezultate specifične rotacije (Piazza in sod., 1991; Bogdanov in sod., 1996; Dinkov, 2003; Nanda in sod., 2003).

Raziskave $[\alpha]_D^{20}$ italijanskih medov, ki so jih izvajali Persano Oddo in sod. (1995) ter Piazza in sod. (1991) nam prikazujejo, da ima med nektarnega izvora negativen $[\alpha]_D^{20}$. Prihaja tudi do velikega razpona glede na botaničen izvor (med iz rožmarina: $[\alpha]_D^{20} = -6 \text{ } ^\circ\text{cm}^3/\text{gdm}$); med iz materine dušice: $[\alpha]_D^{20} = -20 \text{ } ^\circ\text{cm}^3/\text{gdm}$). Manini medovi (smrekov in ostali manini medovi) pa imajo pozitiven $[\alpha]_D^{20}$, v intervalu od + 4 do + 30 $^\circ\text{cm}^3/\text{gdm}$. Avtorji trdijo, da se lahko $[\alpha]_D^{20}$ uporablja kot diagnostičen parameter, še posebej za razlikovanje med nektarnimi in maninimi medovi.

Dinkov (2003) navaja, da ima med nektarnega izvora negativne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ (akacijev med: $[\alpha]_D^{20} = -17 \text{ } ^\circ\text{cm}^3/\text{gdm}$), manin med pa pozitivne vrednosti (povprečen manin med: $[\alpha]_D^{20} = 4,2 \text{ } ^\circ\text{cm}^3/\text{gdm}$).

Tudi alžirski raziskovalci Ouechemoukh in sod. (2007) pišejo, da ima med iz nektarja negativne $[\alpha]_D^{20}$, medtem ko ima med iz mane pozitivne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$. Po njihovem prepričanju so električna prevodnost, $[\alpha]_D^{20}$, vsebnost pepela in vrednost pH ustrezni parametri za razlikovanje med nektarnimi in maninimi medovi.

Kot možna metoda za razlikovanje nektarnih medov od maninih je bilo merjenje $[\alpha]_D^{20}$ po metodi, priporočeni s strani evropske komisije za med, izvedeno tudi v Grčiji in Angliji (Dinkov, 2003).

3 MATERIALI IN METODE DELA

3.1 VZOREC

V raziskavo je bilo vključenih 100 vzorcev medu slovenskega porekla, letnikov 2007 (45 vzorcev) in 2008 (55 vzorcev) petih različnih vrst: akacijevega (16 vzorcev), cvetličnega (22 vzorcev), gozdnega (26 vzorcev), kostanjevega (20 vzorcev) ter lipovega (16 vzorcev). Pred analizo so bili vzorci shranjeni v steklenih kozarcih, v temnem prostoru, pri sobni temperaturi. Analize so obsegale določanje vsebnosti vode, beljakovin in aminokisline prolina ter merjenje električne prevodnosti in specifičnega kota zasuka. Rezultate smo statistično obdelali, temu pa je sledila primerjava posameznih vrst med seboj in primerjava med letnikoma 2007 in 2008 znotraj posamezne vrste.

Preglednica 1: Vrste medu različnih letnikov, število vzorcev in njihove oznake

Vrsta medu	Število vzorcev	Oznaka vzorcev
akacijev (2007)	1	1(1722)
cvetlični (2007)	10	17(1714), 18(1651), 19(1656), 20(1657), 21(1665), 22(1666), 23(1669), 24(1701), 25(1703), 26(1708)
lipov (2007)	5	39(1659), 40(1694), 41(1723), 42(1724), 43(1730)
kostanjev (2007)	10	55(1650), 56(1652), 57(1653), 58(1654), 59(1655), 60(1658), 61(1660), 62(1662), 63(1707), 64(1711)
gozdni (2007)	19	75(1687), 76(1661), 77(1663), 78(1664), 79(1682), 80(1683), 81(1684), 82(1686), 83(1689), 84(1690), 85(1691), 86(1693), 87(1695), 88(1696), 89(1702), 90(1712), 91(1725), 92(1729), 93(1731)
akacijev (2008)	15	2(1753), 3(1766), 4(1767), 5(1768), 6(1778), 7(1783), 8(1792), 9(1798), 10(1800), 11(1801), 12(1802), 13(1807), 14(1808), 15(1812), 16(1816)
cvetlični (2008)	12	27(1752), 28(1755), 29(1761), 30(1773), 31(1775), 32(1780), 33(1803), 34(1805), 35(1806), 36(1811), 37(1821), 38(1823)
lipov (2008)	11	44(1764), 45(1765), 46(1771), 47(1774), 48(1777), 49(1795), 50(1796), 51(1799), 52(1817), 53(1820), 54(1822)
kostanjev (2008)	10	65(1750), 66(1751), 67(1756), 68(1758), 69(1760), 70(1781), 71(1787), 72(1789), 73(1791), 74(1804)
gozdni (2008)	7	94(1757), 95(1759), 96(1763), 97(1779), 98(1790), 99(1813), 100(1824)

3.2 FIZIKALNOKEMIJSKE METODE

V dveh vzporednih določitvah so bile na vzorcih medu opravljene naslednje analize:

- Določitev vsebnosti vode z refraktometrično metodo,
- merjenje električne prevodnosti s konduktometrom,
- določitev vsebnosti skupnih beljakovin z metodo po Kjeldahlu,
- določitev aminokisline prolina z metodo prilagojeno po Bogdanovu (1997),
- merjenje specifičnega kota zasuka s polarimetrom.

3.2.1 Določanje vsebnosti vode v medu (Golob in Plestenjak, 2003)

Princip:

Princip metode temelji na refraktometričnem določanju odstotka vode.

Pribor:

- steklena palčka,
 - steklena čaša,
 - refraktometer (ATAGO, HHR-2N). Natančnost metode: $\pm 0,05$ g/100 g
- Ponovljivost merjenja: $\pm 0,2$ g/100 g

Izvedba:

Če je med tekoč, ga pred začetkom analize premešamo s palčko ali pretresemo. Če je med kristaliziran, damo zaprto posodo z vzorcem v vodno kopel in 30 min segrevamo pri $T = 60$ °C, če je treba tudi pri 65 °C. Med segrevanjem ga premešamo s palčko ali krožno pretresemo, nato pa hitro ohladimo. Vsebnost vode se meri neposredno na refraktometru. Pripravljen med, temperiran na sobno temperaturo namažemo na prizmo refraktometra in odčitamo delež vode, odčitamo še korekcijo zaradi temperature.

Meritve smo zbrali v prilogi A1 in z opisnimi statističnimi parametri opisali v preglednici 3.

3.2.2 Merjenje električne prevodnosti medu (Golob in Plestenjak, 2003)

Princip:

Merjenje električne prevodnosti raztopine medu s konduktometrom.

Natančnost metode: $\pm 0,01$ mS/cm

Ponovljivost merjenja: $\pm 0,04$ mS/cm

Pribor:

- plastična čaša,
- steklena palčka,
- konduktometer, ISKRA, MA 5950.

Reagenti:

- destilirana ali deionizirana voda.

Izvedba:

Odtehta medu je odvisna od količine vode, ki jo med vsebuje. Ko določamo vsebnost vode v medu, preračunamo kakšna mora biti odtehta medu, da bo končna raztopina (100 g) vsebovala masni delež suhe snovi 20 %. V plastično čašo odtehtamo določeno količino medu in dolijemo destilirano vodo do 100 g in med raztopimo. Druga možnost je, da bi med najprej raztopili in kvantitativno prenesli v 100 ml merilno bučko in dopolnili do oznake. V našem primeru smo uporabili prvo možnost priprave medu, tako da smo metodo poenostavili, skrajšali postopek in porabili manj pribora za izvedbo analize. Dobili smo raztopino medu z masnim deležem suhe snovi 20 %, kateri smo izmerili prevodnost, tako da smo v raztopino potopili predhodno umerjeno elektrodo za merjenje prevodnosti in z zaslona konduktometra odčitali prevodnost raztopine.

Pred merjenjem speremo elektrodo z destilirano vodo in posušimo s papirnato brisačo. Elektrodo potopimo približno 4 cm globoko v raztopino medu; s tresenjem nekaj sekund mešamo, pustimo aparat v raztopini in preverimo da na elektrodah ni zračnih mehurčkov (če so na elektrodah mehurčki, elektrodo dvignemo iz raztopine in jo nekajkrat lahko stresemo). Elektrodo mirno držimo tako, da se ne dotika dna in počakamo, da se na zaslonu pokaže izmerjena vrednost. Rezultat je »električna prevodnost raztopine medu«. Enota je mS/cm (miliSiemens na centimeter), oznaka za električno prevodnost pa χ .

Meritve smo zbrali v prilogi A1 in z osnovnimi statističnimi parametri opisali v preglednici 3.

3.2.3 Določanje vsebnosti skupnih beljakovin

Za določitev vsebnosti skupnih beljakovin v medu smo uporabili Kjeldahlovo metodo (Golob in Plestenjak, 2003).

Princip:

Kjeldahlova metoda (Golob in Plestenjak, 2003) temelji na posrednem določanju beljakovin prek dušika, ob upoštevanju, da je ves v živilu prisoten dušik, beljakovinski. Za preračunavanje dušika v beljakovine uporabljamo ustrezne empirične faktorje. Beljakovine v vzorcu pred analizo razklopimo z mokrim sežigom ob pomoči kisline, katalizatorja in visoke temperature, z destilacijo z vodno paro ob dodatku močne baze sprostimo amoniak (NH_3), ki ga lovimo v prebitek borove kisline in nato nastali amonijev borat titriramo s standardno raztopino klorovodikove kisline. Pri tem potekajo naslednje kemijske reakcije:



Če enačbi (6) in (7) združimo, dobimo:



Iz enačbe (8) sledi:

$$1 \text{ mol HCl} = 1 \text{ mol N} = 14,0 \text{ g N}$$

$$1 \text{ mol } 0,1 \text{ M HCl} = 0,00140 \text{ g N}$$

Reagenti:

- koncentrirana H_2SO_4 (95-97 %); $M = 98,08 \text{ g/mol}$ (Merck, Nemčija),
- katalizator Kjeltabs Cu/3,5 (3,5 g K_2SO_4 ; 0,4 g $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) (Foss, Švedska),
- borova kislina H_3BO_3 (Merck, Nemčija), nasičena vodna raztopina (3 %),
- NaOH (Merck, Nemčija), vodna raztopina (30 %),
- ampule 0,1 M HCl (Merck, Nemčija).

Aparatura in pribor:

- blok za razklop oz. mokri sežig vzorca (Digestion Unit k-426, Büchi, Švica),
- enota za odvod zdravju škodljivih hlapov (Scrubber, Büchi, Švica),
- destilacijska enota (Distillation Unit B-324, Büchi, Švica),
- titracijska enota (Titrino 702 SM, Metrohm, Švica),

- sežigne epruvete (Büchi, Švica),
- brezdušične papirne tehtalne ladjice (55x10x10 mm, Schleicher&Schuell, Nemčija),
- tehtnica ($\pm 0,1$ mg, Scaltec SPB31).

Natančnost metode: $\pm 0,001$ g/100 g

Ponovljivost merjenja: $\pm 0,035$ g/100 g

Izvedba:

Priprava vzorca

Na papirno tehtalno ladjico smo odtehtali 3,0 g ($\pm 0,1$ mg) vzorca medu in to prenesli v sežigno epruveto.

Razklop (mokri sežig vzorca)

V vsako sežigno epruveto smo dodali 1,5 tablete bakrovega katalizatorja in 20 ml koncentrirane H_2SO_4 . Epruvete smo pokrili s steklenimi zvonci in postavili v hladno enoto za razklop (Digestion Unit). Temperaturo v enoti za razklop smo postopno dvigovali (stopnje 1-4-7) do temperature 370 °C. Sežig je bil končan v približno eni uri oziroma takrat, ko se je vsebina v epruveti prenehala peniti, hlapi žveplove kisline so se nehali dvigovati in vsebina je postala bistro zelena.

Destilacija

Vzorci v epruveti smo ohladili na sobno temperaturo. Epruveto smo nato vstavili v destilacijsko enoto, kjer poteka doziranje 50 ml destilirane vode in 70 ml baze (NaOH) v vzorec. V destilacijsko predložko smo odmerili 60 ml borove kisline (H_3BO_3). Nato smo vzorec z dovajanjem pare destilirali 4 minute.

Titracija

Raztopino nastalega amonijevega borata v predložki smo titrirali z 0,1 M HCl, do končne vrednosti pH 4,6. Titracija je potekala avtomatsko po vnosu podatka o količini vzorca (v mg) v titracijsko enoto. V končni točki titracije smo zabeležili porabo kisline, iz katere smo izračunali vsebnost dušika in beljakovin v vzorcu medu. V primeru medu se uporabili splošni empirični faktor za preračun dušika v beljakovine, ki je enak 6,25.

Izračun:

$$\text{vsebnost beljakovin (g / 100g)} = \frac{V_{0,1M\ HCl} \times 1,40 \times 6,25 \times 100}{m_{vz}} \quad \dots(9)$$

V_{HCl}	volumen 0,1M HCl (v ml)
1,4	ekvivalent (1ml 0,1M HCl = 1,40 mg N)
6,25 = F	splošni empirični faktor za preračun N v beljakovine
m_{vz}	masa vzorca (v mg)

3.2.4 Določanje vsebnosti prolina

Princip:

Vsebnost prolina smo določali z Oughovo fotometrično metodo, modificirano po Bogdanovu in sod. (1997). Prolin in ninhidrin tvorita rumen barvni kompleks. Po dodatku 2-propanola smo merili absorbanco v raztopini vzorca in referenčni (standardni) raztopini pri valovni dolžini 510 nm. Vsebnost prolina smo računali z relacijo 11.

Reagenti:

- 3 % raztopina ninhidrina: 3,0 g ninhidrina (Merck, Nemčija) smo raztopili v 100 ml etilenglikolmonometil etra (Merck, Nemčija). Raztopina je obstojna 1 teden v temi.
- L-prolin (Merck, Nemčija): vakuumsko osušen prolin hranimo do uporabe v eksikatorju.
- Standardna raztopina prolina (0,8 mg/ml): 40 mg vakuumsko osušenega prolina smo razredčili z destilirano vodo do volumna 50 ml. Raztopino smo pripravljali tedensko in jo do uporabe hranili v hladilniku.
- Delovna raztopina prolina (0,032mg/ml): 1 ml standardne raztopine prolina smo razredčili do 25 ml z destilirano vodo. Raztopino smo pripravili vsak dan svežo.
- 2-propanol (Merck, Nemčija), razredčen z destilirano vodo v razmerju 1:1 (v:v).
- Mravljična kislina, HCOOH (Merck, Nemčija).

Aparatura:

spektrofotometer Cecil CE 2021 (valovna dolžina 510 nm). Natančnost metode: $\pm 0,1$ mg/kg.

Izvedba:

Priprava raztopine vzorca medu: V čašo smo odtehtali 2,5 g vzorca medu, dodali približno 10 ml destilirane vode ter vzorec kvantitativno prenesli v 50 ml bučko. Bučko smo dopolnili do oznake z destilirano vodo in vsebino dobro premešali.

V dve epruveti smo odpipetirali 0,5 ml raztopine vzorca medu, v drugi dve epruveti 0,5 ml destilirane vode (slepi vzorec), in v naslednje tri epruvete po 0,5; 1,0 in 2,0 ml standardne raztopine prolina (umeritvena krivulja). V vsako epruveto smo dodali še 1 ml mravljične kisline, 1 ml raztopine ninhidrina, dobro zaprli in 15 minut mešali na stresalniku. Sledilo je 15 minutno termostatiranje v vreli vodni kopeli in nato 10 minut pri temperaturi 70 °C. Po dodatku 5 ml raztopine izopropanola smo epruvete pustili na sobni temperaturi in po 45 minutah izmerili absorbanco pri valovni dolžini 510 nm. Meritve smo opravljali v dveh paralelkah.

Izračun:

Vsebnost prolina smo izrazili v miligramih prolina na kilogram medu s pomočjo izpeljane enačbe umeritvene krivulje:

$$y = bx + a \quad \dots(10)$$

Končna enačba (11) za izračun vsebnosti prolina v mg/kg:

$$C_{\text{prolin}} (\text{mg/kg}) = ((A+a)/b) \times 100.000/m \quad \dots (11)$$

C_{prolina}	koncentracija prolina
A	izmerjena absorbanca vzorca
a	naklon krivulje
b	presečišče
100.000	razredčitev
m	masa vzorca

3.2.5 Merjenje specifičnega kota zasuka medu s polarimetrom (Junk in Pancoast, 1973)

Princip:

Specifični kot zasuka $[\alpha]_D^{20}$ je kot zasuka linearno polarizirane svetlobe pri valovni dolžini natrijeve D linije pri 20 °C, ki prehaja skozi vodno raztopino v 2 dm cevi polarimetra.

S polarimetrom merimo rotacijo v čisti in bistri raztopini. Vrednost meritve se nanaša na sladkorno sestavo raztopine

Reagenti:

- Carrezova raztopina I: 10,6 g kalijevega fero cianida ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) raztopimo v destilirani vodi in dopolnimo do 100 ml).
- Carrezova raztopina II: 24 g cinkovega acetata ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) raztopimo v destilirani vodi, dodamo 3 g ledeno očetne kisline in dopolnimo z destilirano vodo do 100 ml.

Aparatura in pribor:

- Polarimeter: sestavljen iz svetlobnega vira (natrijeva svetilka), dveh polarizacijskih filtrov in 2 dm dolge cevi. Ponovljivost merjenja: $\pm 0,05^\circ$,
- čaše (50 ml),
- merilne bučke (50 ml),
- liji,
- filtrirni papir (modri trak),
- erlenmajerice (100 ml),
- pipeta (10 ml).

Priprava vzorca:

Odtehtamo $6,0 \pm 0,5$ g vzorca medu (to ustreza približno 5 g suhe snovi) v 50 ml stekleno čašo in ga raztopimo v destilirani vodi. Ko se med raztopi, ga kvantitativno prenesemo v 50 ml merilno bučko, dodamo 5 ml Carezzove raztopine I in temeljito mešamo 30 s. Sledi dodatek 5 ml Carezzove raztopine II, ponovno temeljito mešamo 30 s in dopolnimo z destilirano vodo do oznake. Tako pripravljeno raztopino pustimo stati 24 ur.

Izvedba analize:

Naslednji dan raztopino prefiltriramo skozi filtrirni papir (modri trak). Prve mililitre filtrata zavržemo. Preostali bistri filtrat polarimetrimo pri 20 °C v 2 dm dolgi cevi polarimetra. Izmerimo kot zasuka. Posamezen vzorec medu analiziramo v paralelkah, zato opravimo dve meritvi za vsak vzorec medu.

Izračun:

Za izračun rezultatov uporabimo enačbo specifičnega kota zasuka (12), ki kvantitativno ovrednoti vsebnost sladkorjev v raztopini. Rezultat za posamezni vzorec zapišemo na dve decimalni natančno.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot c} \quad \dots(12)$$

- α izmerjeni kot zasuka linearno polarizirane svetlobe v kotnih stopinjah (°)
 l dolžina polarimetrične cevi oz. dolžina poti žarka v dm
 c koncentracija raztopine v g/100ml

3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Pri statistični analizi so bile uporabljene naslednje metode:

- a) Ovrednotenje statističnih vzorcev za vsebnost prolina, skupnih beljakovin in druge fizikalne parametre s statističnimi opisnimi parametri:
- aritmetično sredino,
 - standardnim odklonom (s) in
 - koeficientom variabilnosti (KV).
- b) analiza statističnih vzorcev za posamezno statistično spremenljivko z:
- Levenovim testom homogenosti varianc,
 - Analizo varianc (ANOVA),
 - Duncanovim testom.
- c) Analiza povezanosti dveh spremenljivk s:
- Pearsonovim koeficientom korelacije (r) in
 - Regresijskim koeficientom determinacije (r^2).

3.3.1 Enovzorčna analiza

3.3.1.1 Aritmetična sredina ali povprečje

Aritmetična sredina vzorca je najpogostejše izbrano merilo srednje vrednosti. Predstavlja nekako težišče podatkov, saj je vsota odklonov posameznih vrednosti spremenljivke od povprečja navzgor enaka vsoti odklonov navzdol. Aritmetično sredino vzorca izračunamo iz enačbe 13 tako, da seštejemo vrednosti spremenljivke vseh statističnih enot, X_i in vsoto delimo s številom enot, n (Adamič, 1989).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad \dots(13)$$

3.3.1.2 Varianca in standardni odklon

Varianca vzorca (s^2) je merilo variiranja oziroma razpršenosti podatkov okoli aritmetične sredine. Izračunamo jo iz enačbe 14 kot povprečje kvadratov odklonov posameznih vrednosti od aritmetične sredine. Kadar je število statističnih enot vzorca manjše od 30, je imenovalac v enačbi zmanjšan za ena (Adamič, 1989).

Varianca je za statistično analizo podatkov zelo pomembna, kot opisni parameter pa manj, saj kvadrat merske enote ene spremenljivke pogosto nima pravega smisla. V ta namen se pogosto

uporablja kvadratni koren variance, ki ga imenujemo tudi standardna deviacija ali standardni odklon in ga izračunamo po enačbi 15 (Adamič, 1989).

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x - \bar{x})^2}{(n-1)} \quad \dots(14)$$

$$SD = \sqrt{s^2} = s \quad \dots(15)$$

3.3.1.3 Koeficient variabilnosti

Absolutne mere variacij, kot sta npr. 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 (16), ki ga izračunamo tako, da standardno deviacijo delimo z aritmetično sredino opazovanega vzorca in dobljeno vrednost izrazimo v odstotkih (Adamič, 1989).

$$KV(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad \dots(16)$$

3.3.1.4 Mediana in kvantili

Mediana ali centralna vrednost je tista vrednost spremenljivke, od katere ima polovica enot manjše, polovica pa večje vrednosti spremenljivke. Pri statističnem sklepanju je v splošnem mediana manjšega pomena kot aritmetična sredina, saj ni povezana z nobeno teoretično porazdelitvijo. Prav slednje pa se izkaže kot prednost v primeru asimetrične porazdelitve statistične mase (Adamič, 1989).

Mediano lahko izračunamo, preprosteje pa jo določimo, kadar so podatki rangirani, t.j. urejeni po velikosti od najmanjše do največje vrednosti. Če je število enot liho, je mediana enaka

srednji vrednosti enote v ranžirni vrsti, če pa je število enot sodo, je mediana povprečje srednjega para podatkov (Adamič, 1989).

Kvantilni razmiki, v katerih se nahaja določen odstotek vseh analiziranih podatkov, so neparametrično merilo razpršenosti podatkov okoli mediane. Mejne vrednosti, ki ločujejo posamezne kvantilne razmike, imenujemo kvantili. Glede na to, na kolikšne dele razdeli kvantil kvantilno vrsto, ločimo kvartile, centile, decile (Košmelj, 2007).

Zelo ilustrativen grafični prikaz (slika 3) porazdelitve številskih podatkov, ki temelji ravno na kvartilih in mediani, kot srednji vrednosti, je okvir z ročaji (angl. box plot). Spodnji ročaj določata najmanjša vrednost ($X_{\min}$) in prvi kvartil (Q_1), zgornji ročaj pa določata tretji kvartil (Q_3) in največja vrednost ($X_{\max}$). Okvir določata prvi in tretji kvartil, prečka okvirja pa je enaka vrednosti drugega kvartila (Q_2) oziroma mediane. Osamelci so vrednosti, ki bistveno odstopajo od večine ostalih vrednosti. Kot osamelec opredelimo vrednost, ki je izven intervala ($Q_1 - 1,5 \cdot Q, Q_3 + 1,5 \cdot Q$), pri čemer je Q kvartilni razmik. Ekstremni osamelec je osamelec, ki je izven intervala ($Q_1 - 3 \cdot Q, Q_3 + 3 \cdot Q$) (Košmelj, 2007).

3.3.2 Večvzorčna analiza ene spremenljivke

Metode statistične analize temeljijo na postavljanju, preverjanju, sprejemanju ali zavračanju domnev. Vselej natančno definiramo osnovno domnevo (H), ki v splošnem pravi, da se preiskovane vrednosti med seboj statistično razlikujejo. Tej določimo nasprotno, ničelno domnevo (H_0), ki trdi, da razlik ni, ali pa so zgolj naključne. Ker si osnovna in ničelna domneva nasprotujeta, ima zavrnitev ničelne domneve za posledico sprejetje osnovne domneve. Pred preverjanjem domnev je potrebno določiti kritično oz. zgornjo mejo tveganja (α), pri kateri sprejmemo ali zavrnemo ničelno hipotezo. V biostatistiki so najpogostejše izbrane vrednosti 0,05, 0,01 ali 0,001, glede na to govorimo o 5 %, 1 % ali 0,1 % stopnji značilnosti rezultatov oziroma stopnji tveganja. Nato za podatke, ki jih želimo analizirati, izberemo ustrezen statistični test. Če je izračunana vrednost izraza manjša od kritične vrednosti, ki jo pri izbrani stopnji tveganja in številu prostostnih stopenj odčitamo iz ustrezne statistične preglednice, zavrnemo ničelno domnevo in sprejmemo osnovno. V nasprotnem primeru, ničelne domneve ne moremo zavrniti in osnovna ostane nepotrjena (Adamič, 1989).

3.3.2.1 Levenov test homogenosti varianc

Pri Levenovem testu iz vsakega vzorca zgradimo nov vzorec, v katerem so združene absolutne vrednosti odklikov od povprečne vrednosti opazovanega vzorca. Na tako dobljenih novih vzorcih, ki opisujejo disperzije statističnih enot znotraj posameznih vzorcev, izvedemo analizo variance, s katero preverimo homogenost varianc neodvisnih vzorcev. Osnovna domneva (17) pri Levenovem testu pravi, da med vsaj enim parom varianc obstaja statistično značilna razlika, ničelna (18) pa, da razlik med variancami ni:

$$H_0: s_1 = s_2 = \dots = s_n \quad \dots(17)$$

$$H: s_1 \neq s_2 \quad \dots(18)$$

Vrednost signifikance, ki nam jo vrne test, pove, katera izmed domnev je prava. Vrednost signifikance, ki je manjša od stopnje tveganja 0,05 vodi k sprejetju osnovne domneve, vrednost večja od 0,05 pa k potrditvi ničelne. Ničelna domneva je tista, ki si jo v danem primeru želimo, saj pomeni, da smemo vzorce medsebojno primerjati z dejansko analizo variance, ki sledi.

Prednost Levenovega testa je manjša občutljivost za morebitna odstopanja podatkov od normalne porazdelitve, zato je primeren tudi takrat, ko za obravnavano spremenljivko ne moremo privzeti normalne porazdelitve (Košmelj in Kastelec, 2003).

3.4.2.2 Analiza variance (ANOVA)

Pri uporabi analize variance domnevamo, da so porazdelitve posameznih vzorcev ene statistične spremenljivke normalne in da se variance statističnih vzorcev med seboj statistično ne razlikujejo. Enakost varianc med vzorci imenujemo tudi homogenost varianc in smo jo predhodno preverili tudi z Levenovim testom.

Analiza variance proučuje variabilnost vseh statističnih vzorcev hkrati. Z merjenjem vsote kvadratov odklonov opazovanih vrednosti od aritmetične sredine določa skupno variabilnost, ki jo nato razčleni na dele, opredeljene z različnimi viri variiranja. Celotno varianco enot iz vseh vzorcev tako razstavi na varianco enot v posameznem vzorcu in na varianco med temi vzorci (Košmelj in sod., 2002).

$$H_0: x_1 = x_2 = \dots x_n \quad \dots(19)$$

$$H: x_1 \neq x_2 \quad \dots(20)$$

Ničelna domneva (19) pravi, da vsi statistični vzorci izhajajo iz populacije z enakim povprečjem, osnovna (20) pa, da med opazovanimi statističnimi vzorci obstajata vsaj dva, katerih povprečji sta statistično različni. Kadar je vrednost signifikance dovolj majhna, manjša od 0,05, sklepamo, da vzorci pripadajo različnim populacijam oziroma, da med statističnimi vzorci obstaja vsaj en par, ki ima različni povprečji. S tem je zavrnjena ničelna hipoteza, ki pravi, da razlike ne obstajajo in posledično je sprejeta osnovna. Kadar med seboj primerjamo le dva statistična vzorca, analizo variance nadomestimo s testom t, ki daje enak rezultat (Adamič, 1989).

3.3.2.3 Duncanov test

Duncanov test je zaključni test, namenjen analizi večjega števila vzorcev, za katere je znano da so homogeni – Levenov test, a ne pripadajo isti populaciji – ANOVA. Razlikovanje vzorcev je osnovano na večkratnem preizkušanju variacijskih razmikov. Stopnja značilnosti – signifikace temelji na številu neodvisnih primerjav med aritmetičnimi sredinami. S pomočjo tega testa razdelimo posamezne vzorce v več podskupin, v katerih se vzorci glede na opazovano statistično spremenljivko ne razlikujejo (Adamič, 1989).

3.3.3 Analiza povezanosti dveh spremenljivk

Medsebojno zvezo dveh spremenljivk (x in y) preučujemo z metodo korelacije in regresije. Na ta način lahko preučujemo odnos med spremenljivkama, ali obstaja povezanost in kakšne vrste je, ali pa poizkušamo na osnovi ene spremenljivke napovedati vrednost druge. O regresiji govorimo, kadar imamo neodvisno spremenljivko (x), katere vrednost izberemo sami in je vnaprej določena, ter drugo spremenljivko, ki je od prve odvisna in jo opisuje matematična funkcija $y = f(x)$. Regresijsko analizo lahko predstavimo v grafični obliki. Najpreprostejša in hkrati najbolj zaželeno je linearna funkcija, kar pomeni, da je zveza dveh spremenljivk podana z enačbo premice. Uporabljamo jo lahko tudi v primeru posplošene regresije (Adamič, 1989). Enačba regresijske premice predstavlja nekoliko spremenjeno enačbo premice (21).

$$y = a + bx = \bar{y} + b(x - \bar{x}) \quad \dots(21)$$

$\bar{x}$ = povprečna vrednost prve spremenljivke (x)

$\bar{y}$ = povprečna vrednost druge spremenljivke (y)

Korelacija je prav tako metoda za statistično analizo dveh spremenljivk, vendar obe spremenljivki obravnava kot neodvisni. To pomeni, da vrednosti spremenljivk ne moremo izbrati vnaprej, sta naključni, odvisni od napak pri merjenju, na obe delujejo biološki in drugi dejavniki variabilnosti. Korelacija je lahko pozitivna ali negativna, velika ali majhna, ali pa sploh ne obstaja. Korelacijo opisujejo različni koeficienti korelacije, med katerimi je tudi Pearsonov (r) (Adamič, 1989). Kako dobro se posamezne vrednosti parametrov skladajo z enačbo premice nam pove koeficient determinacije (r^2) (Adamič, 1989). Ostre meje med uporabnostjo regresije in korelacije so pri praktičnem delu zabrisane in tako iste statistične podatke pogosto analiziramo s pomočjo obeh metod (Adamič, 1989).

Vsebnost aminokislinske prolina in vsebnost skupnih beljakovin sta količini, ki smo ju določali neodvisno eno od druge in na nobeno izmed njiju nismo mogli vnaprej vplivati. Hkrati vemo, da delež aminokislinske prolina neposredno vpliva na količino skupnih beljakovin. Na osnovi tega dejstva smo določili prolina za neodvisno spremenljivko (x), skupne beljakovine pa od prolina odvisno spremenljivko (y).

3.3.3.1 Koeficient korelacije po Pearsonu

Pearsonov koeficient korelacije (r) je merilo linearne povezanosti dveh številskih spremenljivk, ki sta naključni, med seboj povezani, vendar ne nujno odvisni ena od druge. Enak je razmerju med kovarianco (c_{xy}) in zmnožkom standardnih odklonov obeh spremenljivk x in y (s_x in s_y).

$$r = \frac{c_{xy}}{s_x \cdot s_y} \quad \dots(22)$$

Kovarianca (c_{xy}) je povprečen produkt odklonov dveh naključnih spremenljivk od njunih povprečij in predstavlja varianco podatkov zaradi korelacije. Računamo jo po enačbi (23), ki je podobna enačbi za varianco

$$C_{xy} = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n [(x - \bar{x})(y - \bar{y})] \quad \dots(23)$$

Koeficient korelacije po Pearsonu lahko zasede vse vrednosti od -1 do $+1$. Pozitivne vrednosti koeficienta pomenijo, da vrednost ene spremenljivke narašča z vrednostjo druge, negativne pa, da vrednost ene spremenljivke raste, med tem ko vrednost druge pada. Vrednost -1 predstavlja maksimalno negativno korelacijo, vrednost $+1$ pa maksimalno pozitivno korelacijo in vrednost 0 nam pove, da med spremenljivkama ni povezanosti (Adamič, 1989). Mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti so navedene v preglednici 2.

Preglednica 2: Mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti (Seljak, 1996)

Korelacijski koeficient (r)	Povezanost
Od $0,00$ do $\pm 0,20$	povezanosti ni,
nad $\pm 0,20$ do $\pm 0,40$	šibka
nad $\pm 0,40$ do $\pm 0,70$	zmerna
nad $\pm 0,70$ do $\pm 1,00$	močna

Na osnovi velikosti korelacijskega koeficienta lahko sklepamo le o tem, kako močna je povezava med statističnimi enotami, nič pa nam ne pove ali je povezava značilna.

Značilnost povezave ocenjujemo s t-testom. Test je osnovan na postavitvi dveh hipotez:

- osnovne hipoteze (H), ki pravi, da med spremenljivkama obstaja značilna povezava in
- ničelne hipoteze (H_0), ki pravi, da med obema spremenljivkama ni značilne povezanosti oz. da je korelacija med spremenljivkama enaka nič.

Ničelno hipotezo preverimo tako, da po enačbi 24 izračunamo vrednost t , ki jo nato primerjamo s kritično vrednostjo t odčitano iz statistične preglednice pri m stopnjah prostosti.

$$t = \sqrt{\frac{r^2(n-2)}{1-r^2}} \quad \dots(24)$$

V primeru, ko je izračunana vrednost večja od kritične, ničelno hipotezo zavrnilo in sprejmemo osnovno, ki pravi, da je povezanost med spremenljivkama značilna (Adamič, 1989).

3.3.3.2 Koeficient determinacije

Koeficient determinacije (r^2) je merilo povezanosti in izraža delež variance odvisne številske spremenljivke Y, ki je pojasnjen z eno ali več neodvisnimi številskimi spremenljivkami in se izračuna po enačbi (25):

$$r^2 = \frac{S_{YX_1 X_2 \dots X_p}^2}{S_y^2} \quad \dots(25)$$

Števec predstavlja varianco odvisne številske spremenljivke, ki je pojasnjena z več neodvisnimi številskimi spremenljivkami $X_1, X_2, \dots, X_p$, imenovalec pa varianco, ki je podana samo za odvisno številsko spremenljivko Y. V primeru enostavnega linearnega regresijskega modela je koeficient determinacije enak kvadratu Pearsonovega korelacijskega koeficienta (Košmelj in sod., 2002).

4 REZULTATI

Praktični del diplomske naloge je obsegal določanje vsebnosti vode, beljakovin in prolina ter električne prevodnosti in specifičnega kota zasuka v 100 vzorcih slovenskega medu, letnikov 2007 in 2008, različnega botaničnega in geografskega izvora. Vrsta medu je bila predhodno določena s strani čebelarjev, na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil pa je bila opravljena še senzorična analiza, ki je potrdila vrstno značilne vzorce. Analizirali smo pet različnih vrst medu: akacijevega, cvetličnega, gozdnega, kostanjevega in lipovega, ki so predstavljeni v preglednici 1.

Posamezne fizikalnokemijske parametre smo opisali z osnovnimi statističnimi parametri, jih z različnimi metodami statistično obdelali in z njihovo pomočjo iskali razlike in povezave med analiziranimi parametri.

4.1 REZULTATI FIZIKALNOKEMIJSKIH ANALIZ

Fizikalnokemijske analize obravnavanih parametrov v vzorcih medu smo opravili v dveh ali treh ponovitvah. Iz rezultatov smo z enačbami (13, 14, 15), ki so podane v poglavju 3.3.1, izračunali aritmetične sredine ($\bar{x}$), standardne odklone (s) in koeficiente variabilnosti (KV). Navajamo tudi najmanjšo ($X_{\min}$) in največjo ($X_{\max}$) določitev posameznega parametra.

Preglednica 3: Rezultati fizikalnokemijskih analiz za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008 z izračunanimi statističnimi parametri

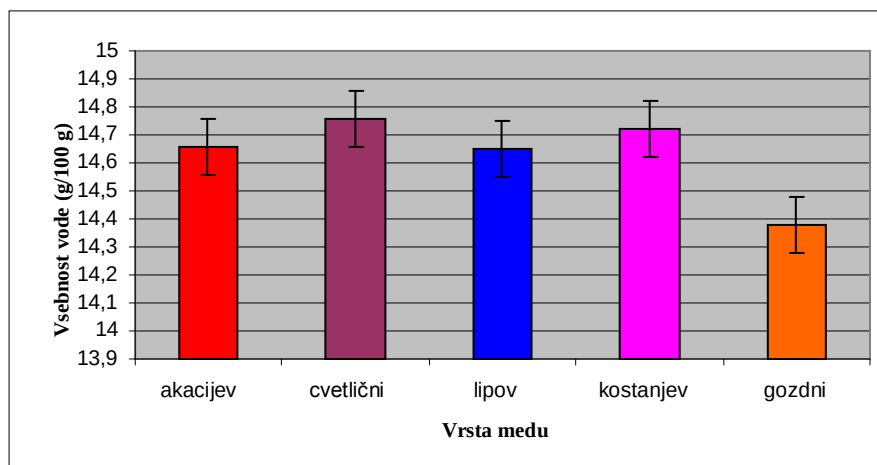
Vsebnost vode (g/100 g)						
Vrsta medu	n	$\bar{x}$	Xmin	Xmax	s	KV (%)
akacijev	16	14,66	13,65	16,45	0,69	0,48
cvetlični	22	14,76	12,75	17,35	1,12	1,26
lipov	16	14,65	13,65	16,20	0,66	0,43
kostanjev	20	14,72	13,60	16,70	0,79	0,63
gozdni	26	14,38	12,85	16,20	0,84	0,70
Električna prevodnost (γ) (mS/cm)						
Vrsta medu	n	$\bar{x}$	min	max	s	KV (%)
akacijev	16	0,196	0,140	0,293	0,05	0,3
cvetlični	21	0,623	0,297	0,859	0,16	2,4
lipov	16	0,809	0,560	1,024	0,13	1,6
kostanjev	20	1,664	1,097	2,140	0,28	8,0
gozdni	25	1,158	0,651	1,723	0,29	8,1
Specifični kot zasuka (°C/gdm)						
Vrsta medu	n	$\bar{x}$	Xmin	Xmax	s	KV (%)
akacijev	14	-22,51	-24,63	-19,98	1,40	2,0
cvetlični	20	-16,71	-22,01	-11,80	3,30	11
lipov	14	-13,59	-17,16	-11,33	2,50	6,4
kostanjev	29	-23,04	-29,82	-16,76	3,30	11
gozdni	25	-5,89	-18,54	12,18	8,50	72

se nadaljuje...

Nadaljevanje preglednice 3: Rezultati fizikalnokemijskih analiz za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008 z izračunanimi statističnimi parametri

Vsebnost skupnih beljakovin (g/100 g)						
Vrsta medu	n	$\bar{x}$	Xmin	Xmax	s	KV (%)
akacijev	16	0,141	0,093	0,206	0,030	0,001
cvetlični	22	0,315	0,196	0,493	0,082	0,007
lipov	14	0,186	0,129	0,244	0,033	0,001
kostanjev	20	0,396	0,291	0,515	0,067	0,005
gozdni	26	0,409	0,209	0,613	0,121	0,015
Vsebnost prolina (mg/kg)						
Vrsta medu	n	$\bar{x}$	Xmin	Xmax	s	KV (%)
akacijev	15	303	193	502	81	0,27
cvetlični	21	560	289	1023	187	0,33
lipov	14	368	215	566	97	0,26
kostanjev	20	773	419	1096	205	0,27
gozdni	26	618	339	935	166	0,27

Iz prikazanih podatkov v preglednici 3 je razvidno, da so vsi vzorci medu ustrezali Pravilniku o medu (2004), ki dovoljuje največ 20 % vode v medu. Vsebnost vode je v akacijevem medu letnika 2007 in 2008 variirala med 13,65 in 16,45 g/100 g, v cvetličnem medu med 12,75 in 17,35 g/100 g, v lipovem medu med 13,65 in 16,20 g/100 g, v kostanjevem medu med 13,60 in 16,70 g/100 g, ter v gozdnem medu med 12,85 in 16,20 g/100 g.

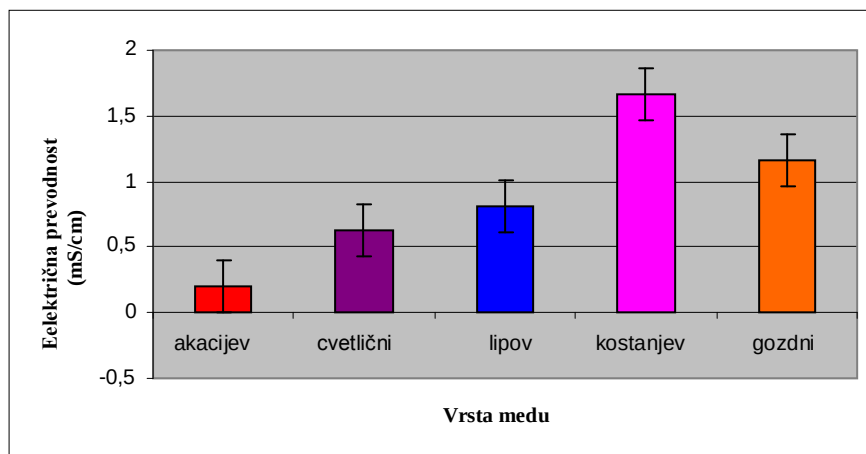


Slika 12: Vsebnost vode za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008

Najmanjšo povprečno vsebnost vode je vseboval gozdni med (14,38 g/100 g), sledijo lipov (14,65 g/100 g), akacijev (14,66 g/100 g), kostanjev (14,72 g/100 g) in cvetlični (14,76 g/100 g) med, kar je prikazano tudi na sliki 12.

Iz preglednice 3 ter slike 13 je razvidno, da je znašala povprečna električna prevodnost medu med 0,196 mS/cm (akacijev med) in 1,664 mS/cm (kostanjev med). Intervali električne prevodnosti za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008 pa so bili naslednji: akacijev med od 0,140 do 0,293 mS/cm, cvetlični med od 0,297 do 0,859 mS/cm, lipov med od 0,560

do 1,024 mS/cm, kostanjev med od 1,097 do 2,140 mS/cm ter gozdni med od 0,651 do 1,723 mS/cm.



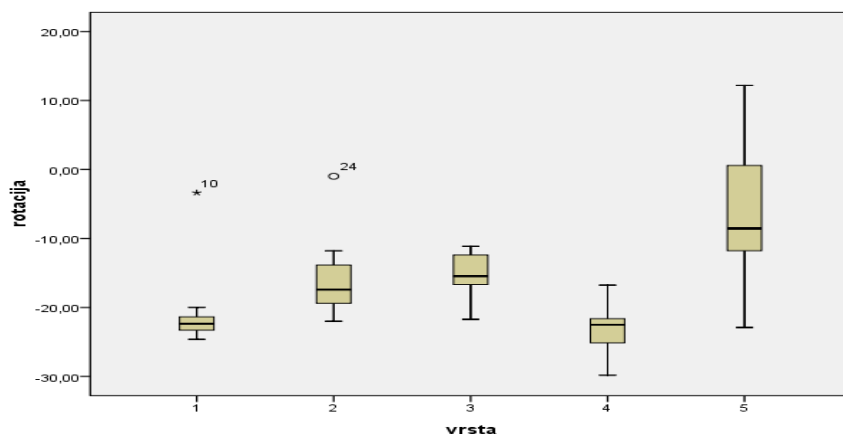
Slika 13: Električna prevodnost za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008

Po Pravilniku o medu (2004) je vrednost električne prevodnosti za akacijev in cvetlični med lahko največ 0,80 mS/cm, za kostanjev in gozdni med pa najmanj 0,80 mS/cm.

Povprečni rezultati električne prevodnosti 100 vzorcev medu letnikov 2007 in 2008 so predstavljeni v preglednici 3. Vidimo, da so imeli nekateri vzorci cvetličnega medu električno prevodnost večjo od 0,80 mS/cm. Npr. vzorec 1665 je imel vrednost električne prevodnosti 0,852 mS/cm, vzorec 1669 vrednost 0,859 mS/cm, vzorec 1806 pa je imel vrednost električne prevodnosti 0,849 mS/cm. Pri vseh ostalih vzorcih pa so rezultati v skladu s predpisanimi pravili.

Slika 14 prikazuje vrednosti specifične rotacije za posamezno vrsto medu z mediano in intervalom.

S pomočjo preglednice 3 in slike 14 vidimo, da je bila najnižja povprečna vrednost specifičnega kota zasuka pri akacijevem medu ($-22,50^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$), največja pa v gozdnem medu ($-5,89^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$). Intervali za posamezno vrsto medu pa so bili naslednji: od $-24,63$ do $-19,98^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$ za akacijev med, od $-22,01$ do $-11,80^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$ za cvetlični med, od $-17,16$ do $-11,33^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$ za lipov med, od $-29,82$ do $-16,76^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$ za kostanjev med, ter za gozdni med od $-18,54$ do $+12,18$.



1 – akacijev med, 2 – cvetlični med, 3 – lipov med, 4 – kostanjev med, 5 – gozdni med

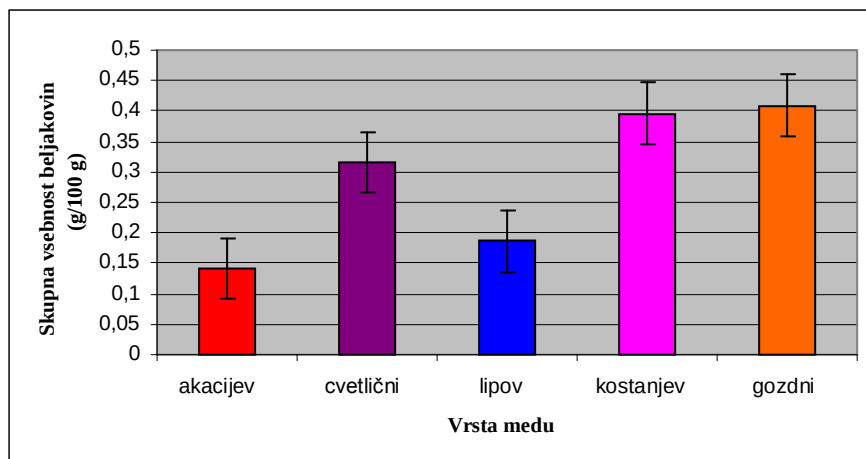
Slika 14: Prikaz izmerjenega specifičnega kota zasuka za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008 s pomočjo okvirja z ročaji

Prikaz okvirja z ročaji (slika 14) nam omogoča oceno, da se povprečne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ akacijevnega in cvetličnega medu (nektarna medova) porazdeljujejo po pričakovanjih – imajo negativne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$. Medovi mešanega izvora (kostanjev in lipov med) se porazdeljujejo tako, da njihove povprečne vrednosti padejo v območje negativnih vrednosti. Vzrok temu je najverjetneje večji delež nektarja kot mane. Gozdni med je glede na izvor manin med in bi moral imeti pozitivne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$, vendar smo v večini vzorcev izmerili negativne vrednosti, kar je bilo v nasprotju z našimi pričakovanji. Iz prilog A1 in A2 pa je razvidno, da je le 5 vzorcev gozdnega medu imelo pozitivne vrednosti specifičnega kota zasuka.

V preglednici 3 so prikazane povprečne vsebnosti skupnih beljakovin za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008. Prikazani so tudi nekateri statistični parametri.

Vidimo, da je povprečno najmanj beljakovin vseboval akacijev med (0,141 g/100 g), sledili so lipov med (0,181 g/100 g), cvetlični med (0,315 g/100 g), kostanjev (0,396 g/100 g), ter gozdni med (0,409 g/100 g), z največjo vsebnostjo beljakovin.

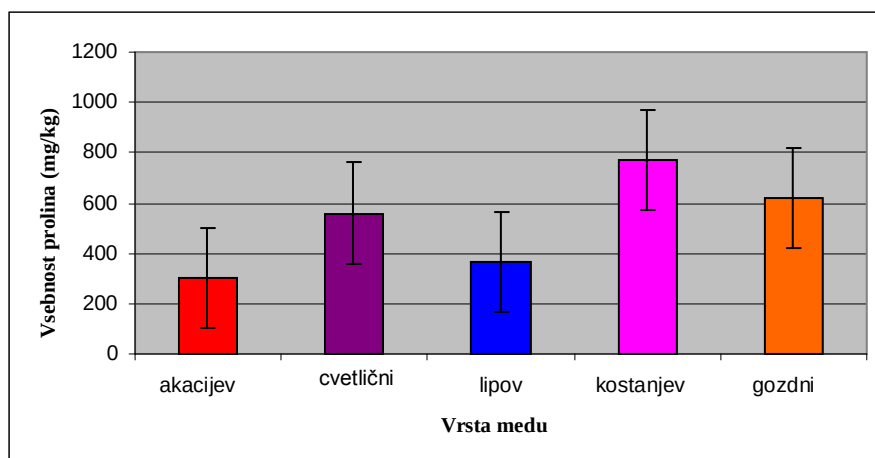
Slika 15 prikazuje povprečne vsebnosti beljakovin in standardne odklone za posamezne vrste medu.



Slika 15: Vsebnost skupnih beljakovin za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008

Vsebnost beljakovin se je v posamezni vrsti medu gibala od 0,093 do 0,206 g/100 g za akacijev med, od 0,196 do 0,493 g/100 g za cvetlični med, od 0,129 do 0,244 g/100 g za lipov med, od 0,291 do 0,515 g/100 g za kostanjev med ter od 0,209 do 0,613 g/100 g beljakovin za gozdni med.

Prolin je aminokislina, ki je v medu zastopana v največjem deležu. Slika 16 prikazuje povprečno vsebnost prolina in standardne odklone za posamezno vrsto medu.



Slika 16: Vsebnost prolina za posamezno vrsto medu letnikov 2007 in 2008

Vidimo, da je najmanj prolina v povprečju vseboval akacijev med (303 mg/kg), sledili so lipov med (368 mg/kg), cvetlični med (560 mg/kg), gozdni med (618 mg/kg) ter kostanjev med (773 mg/kg), v katerem je bilo v povprečju največ prolina.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Eksperimentalni del raziskave je obsegal določanje vsebnosti vode, skupnih beljakovin in prolina ter merjenje električne prevodnosti in specifičnega kota zasuka (rotacijo) medu. Vzorci petih vrst medu (akacijev, cvetlični, lipov, kostanjev in gozdni) so bili iz dveh let, 2007 in 2008. Rezultate analiz smo obdelali z različnimi statističnimi metodami in prišli do določenih ugotovitev, ki smo jih med seboj primerjali in ugotavljali ali obstajajo zveze med analiziranimi parametri.

5.1.1 Primerjava različnih vrst medu (večvzorčna analiza)

- Levenov test homogenosti variance

Za leto 2007 smo pri primerjavi različnih vrst medu izločili akacijev med, ker smo imeli samo en vzorec.

S pomočjo programa za statistično obdelavo rezultatov SPSS 17.0 (SPSS Base, 2009) smo izpeljali Levenov test homogenosti varianc. Med vzorci medov letnika 2007 so imeli vsi parametri, z izjemo vsebnosti prolina, statistično značilnost manjšo od 0,05. Pri teh parametrih smo zavrnilni ničelno hipotezo in s tem ugotovili, da vrst medu glede na vsebnost vode in beljakovin ter vrednost električne prevodnosti in specifičnega kota zasuka med sabo ne moremo primerjati. Pri vsebnosti prolina pa je bila statistična značilnost večja od 0,05 (0,789), zato smo lahko nadaljevali s testom ANOVA in Duncanovim testom.

Za vzorce medov letnika 2008 nam je Levenov test pokazal pri vseh parametrih statistično značilnost manjšo od 0,05, kar pomeni, da variance niso bile homogeno razporejene. Zato nismo mogli izvesti testa ANOVA in Duncanovega testa.

- ANOVA

Analizo variance smo lahko opravili le za rezultate vsebnosti prolina v medovih letnika 2007. Na osnovi stopnje značilnosti 0,001, ki jo je po izračunu podal test, smo zavrnilni ničelno hipotezo pri 5 % stopnji tveganja. Posledično smo sprejeli hipotezo, ki pravi, da sta med štirimi preiskovanimi vrstami (brez akacije) vsaj dve, ki se statistično značilno razlikujeta glede na povprečno vsebnost prolina, lahko pa jih je tudi več. Za nadaljnje razvrščanje vzorcev v skupine s podobnimi statističnimi značilnostmi smo uporabili zaključni Duncanov test.

- Duncanov test

Duncanov test je zaključni test, namenjen analizi večjega števila vzorcev, za katere je znano, da so homogeni (Levenov test), a ne pripadajo isti populaciji (ANOVA). Rezultati Duncanovega testa so podani v preglednici 4.

Preglednica 4: Rezultati Duncanovega testa za vsebnost prolina v različnih vrstah medu letnika 2007

Vrsta medu	n	Razred ($\alpha \geq 0,05$)	
		a	b
cvetlični	9		652,400
lipov	4	413,375	
kostanjev	10		825,220
gozdni	19		655,768
sig.		1,000	0,080

Vrste medu, ki so uvrščene v različne razrede, se med seboj statistično značilno razlikujejo glede na povprečno vsebnost prolina, vrste v istem razredu pa ne. Razredu a pripada lipov med, v razred b pa so uvrščeni cvetlični, gozdni in kostanjev med. Torej lahko sklepamo, da se lipov med letnika 2007 glede na vsebnost prolina statistično značilno razlikuje od cvetličnega, gozdnega in kostanjevega medu istega letnika.

Za oba statistično značilna razreda je podana tudi vrednost statističnega ujemanja – stopnja značilnosti, ki jo imenujemo signifikanca, in nam pove kolikšna je razlika med povprečnimi vrednostmi vzorcev znotraj enega razreda. Če je vrednost signifikance enaka ena, pomeni da je ujemanje vzorca s samim seboj popolno. Od tod sledi, da ima vrednost signifikance praktičen pomen le tedaj, kadar sta v razredu vsaj dva vzorca, kot je v našem primeru razred b. Signifikanca razreda b je 0,080, kar je več od mejne vrednosti statističnega zaupanja (0,05). S tem je potrjena ničelna hipoteza, ki pravi, da se povprečne vrednosti za vsebnost prolina cvetličnega, gozdnega in kostanjevega medu statistično ne razlikujejo.

5.1.2 Korelacije med posameznimi parametri

5.1.2.1 Pearsonov koeficient povezanosti

Pearsonov koeficient korelacije (r) je merilo linearne povezanosti dveh številskih spremenljivk, ki sta naključni, med seboj povezani, vendar ne nujno odvisni ena od druge.

V preglednici 5 so prikazani rezultati bivariatne analize, povezanosti dveh neodvisnih spremenljivk. Z dvema zvezdicama (**) so prikazane povezave značilne pri 0,01 stopnji zaupanja, z eno zvezdico (*) pa povezave pri 0,05 stopnji zaupanja. Meje vrednosti za presojanje moči povezanosti so podane v preglednici 2, v poglavju 3.3.3.1.

Preglednica 5: Rezultati bivariatne analize, izvedene na vzorcih slovenskega medu letnikov 2007 in 2008

	Vrsta	Voda	EP	Prolin	Beljakovine	Rotacija
Vrsta sig. (Pearson)	1,000	0,119	0,756**	0,483**	0,648**	0,510**
Voda sig. (Pearson)		1,000	0,101	0,005	0,071	0,214*
EP sig. (Pearson)			1,000	0,581**	0,601**	0,192
Prolin sig. (Pearson)				1,000	0,714**	0,028
Beljakovine sig. (Pearson)					1,000	0,253*
Rotacija sig. (Pearson)						1,000

** Korelacija je statistično značilna pri 0,01 stopnji zaupanja

* Korelacija je statistično značilna pri 0,05 stopnji zaupanja

Iz preglednice 5 vidimo, da je vrsta medu pri 0,01 stopnji tveganja v močni povezavi z izmerjeno električno prevodnostjo, kjer je $r = 0,756$.

Močna povezava se kaže tudi med vsebnostjo prolina in vsebnostjo beljakovin, saj je pri 0,01 stopnji tveganja, $r = 0,714$.

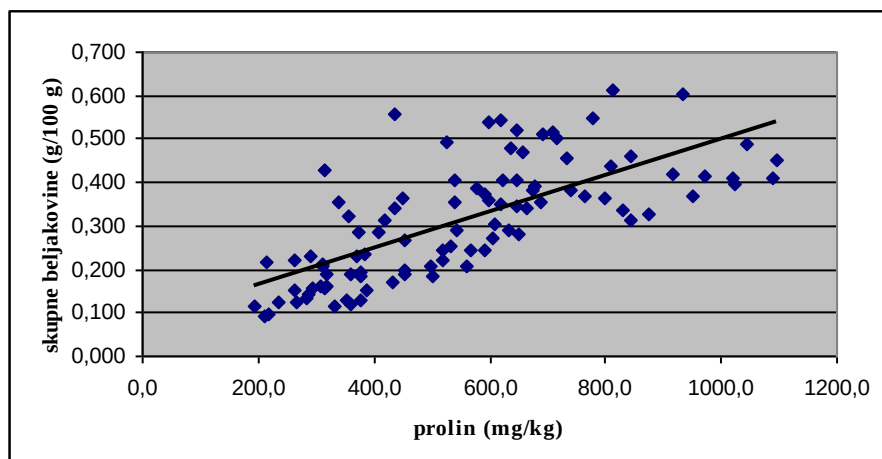
Vsebnost prolina v medu je v zmerni korelaciji z električno prevodnostjo ($r = 0,581$) in vrsto ($r = 0,483$) medu pri 0,01 stopnji tveganja. Pri beljakovinah vidimo enako odvisnost z vsebnostjo prolina, medtem ko je tudi zmerna povezava med vsebnostjo beljakovin ter vrsto medu in električno prevodnostjo, kjer sta $r = 0,648$ ter $r = 0,601$, pri 0,01 stopnji tveganja. Prav tako je zmerna povezava med specifičnim kotom zasuka in vrsto medu, saj je pri stopnji tveganja 0,01, $r = 0,510$.

Preglednica 5 nam prikazuje tudi to, da je vsebnost vode v šibki korelaciji s specifičnim kotom zasuka ($r = 0,214$), pri 0,05 stopnji tveganja.

Iz tega sledi, da je najmočnejša povezava ravno med vsebnostjo prolina in beljakovin, kar bomo prikazali v nadaljevanju.

- Zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in prolina

Ena izmed hipotez je bila, da obstaja linearna zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in vsebnostjo prolina. Z večanjem vsebnosti ene spremenljivke, se večja delež druge. Statistično analizo povezanosti vsebnosti prolina in skupnih beljakovin smo v nadaljevanju preučili z regresijsko analizo.



Slika 17: Zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in prolina za analizirane vzorce medu letnikov 2007 in 2008

Iz razsevnega grafikona (slika 17) vidimo, da obstaja linearna zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in vsebnostjo prolina. Pri regresijski analizi je nujna določitev odvisne in neodvisne spremenljivke. Za neodvisno spremenljivko (x) smo v našem primeru določili prolina, za od prolina odvisno spremenljivko (y) pa vsebnost skupnih beljakovin. To pomeni, da se z večanjem vsebnosti prolina v medu večja tudi vsebnost skupnih beljakovin, česar pa v obratni smeri ne moremo trditi z gotovostjo. Vsebnost skupnih beljakovin se je lahko povečalo tudi zaradi drugih aminokislin v medu, encimov, peptidov, vitaminov ter drugih organskih snovi, ki imajo v svojo strukturo vključen dušik. Zato smo skupne beljakovine določili kot odvisno spremenljivko. Z linearno regresijo smo določili enačbe premic, ki so se najboljše prilegale individualnim podatkom opazovanih spremenljivk. Analize smo opravili z računalniškim programom Excel 2003, ki nam je podal grafične izrise, izračunane enačbe premic ter vrednosti koeficientov determinacije (r^2). Pri korelacijski analizi smo vsebnost prolina in skupnih beljakovin obravnavali kot naključni, odvisni spremenljivki.

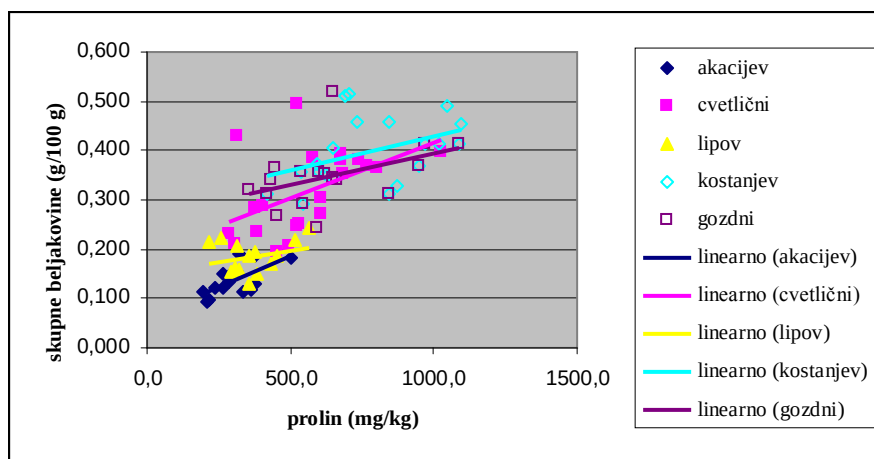
Slika 17 prikazuje odvisnost vsebnosti skupnih beljakovin od vsebnosti aminokisline prolina v analiziranih vzorcih medu, ne glede na vrsto. Linearni regresijski model $y = 0,0004x + 0,08$ nam predstavlja odnos med spremenljivkama vseh v analizo vključenih vrst medu.

Regresijski koeficient znaša 0,0004, kar pomeni, da se mora vsebnost prolina povečati za 100 mg/kg, če hočemo da se skupne beljakovine povečajo za 0,04 %.

Na osnovi regresijskega modela in korelacijske analize za 100 vzorcev medu petih različnih vrst vidimo, da je povezava med opazovanima spremenljivkama močna in statistično značilna pri 0,01 stopnji tveganja.

- Zveza med vsebnostjo prolina in skupnih beljakovin glede na vrsto medu

Slika 18 prikazuje regresijsko analizo za vsebnost prolina in skupnih beljakovin po posameznih vrstah medu. Za določitev petih vrstno značilnih zvez med vsebnostjo skupnih beljakovin in prolina smo uporabili povprečne vrednosti paralelnih določitev prolina in skupnih beljakovin, ki so podane v prilogi A1 in A2.



Slika 18: Zveze med vsebnostjo skupnih beljakovin in prolina za različne vrste medu letnikov 2007 in 2008

Regresijski model temelji na 16 vrstno značilnih vzorcih akacijevga medu, 22 vzorcih cvetličnega, 16 vzorcih lipovega, 20 vzorcih kostanjevega ter 26 vrstno značilnih vzorcih gozdnega medu. Ker so modeli linearni, smo iz determinacijskih koeficientov (r^2) izračunali tudi korelacijske koeficiente (r). Grafični prikaz regresijskih modelov je predstavljen na sliki 18, v preglednici 6 pa so zbrane enačbe regresijskih modelov ter vrednosti koeficientov determinacije in korelacije.

Preglednica 6: Linearni regresijski modeli ter pripadajoče vrednosti r^2 in r za obravnavane vrste medu letnikov 2007 in 2008

Vrsta medu	Linearni regresijski model ($y = bx + a$)	Koeficient determinacije (r^2)	Koeficient korelacije (r)
akacijev	$y = 0,0002x + 0,0631$	0,42	0,65
cvetlični	$y = 0,0002x + 0,1932$	0,25	0,50
lipov	$y = 0,0005x + 0,151$	0,08	0,28
kostanjev	$y = 0,0001x + 0,2891$	0,18	0,42
gozdni	$y = 0,0003 + 0,1983$	0,22	0,47

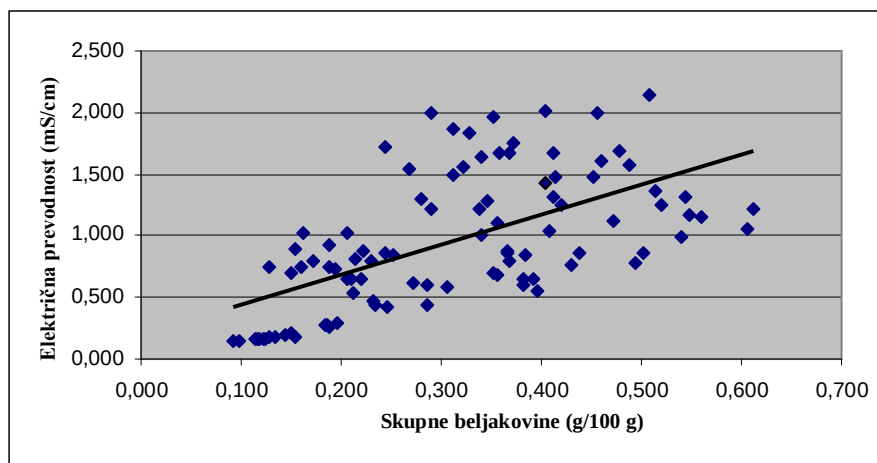
Na sliki 18 vidimo, da so vse premice naraščajoče, kar potrjujejo pozitivno predznačeni regresijski naklonski koeficienti b . Večji naklonski koeficienti b kažejo v katerih vrstah medu predstavlja vsebnost prolina pomembnejšo vlogo glede na delež skupnih beljakovin.

Na osnovi Pearsonovega koeficienta smo prišli do ugotovitve, da korelacija med vsebnostjo prolina in skupnih beljakovin v nobeni vrsti medu ni močna ($r < 0,70$), zmerne korelacije je v akacijevem, cvetličnem, kostanjevem in gozdnem medu ter šibka v lipovem medu.

- Zveza med električno prevodnostjo in vsebnostjo skupnih beljakovin v medu

Slika 19 nam prikazuje zvezo med vrednostjo električne prevodnosti in vsebnostjo skupnih beljakovin v analiziranih vzorcih medu.

Vidimo, da se z večjo vsebnostjo skupnih beljakovin viša vrednost električne prevodnosti.

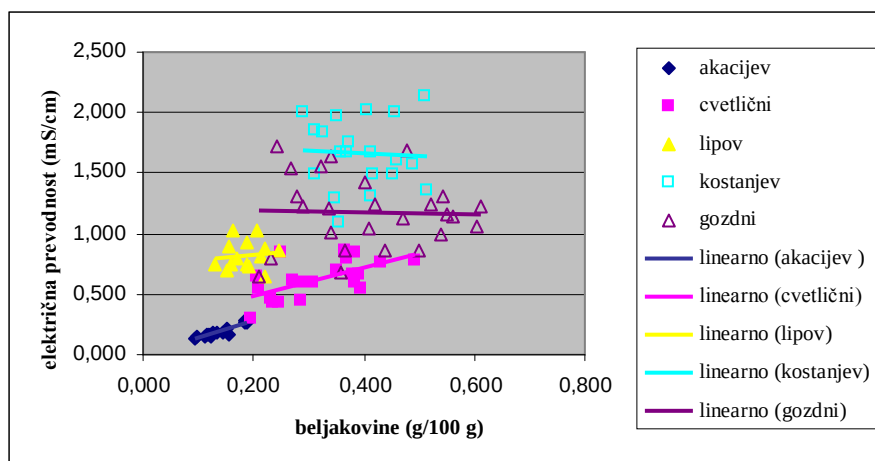


Slika 19: Zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in vrednostjo električne prevodnosti za analizirane vzorce medu letnikov 2007 in 2008

Razsevni grafikon (slika 19) nam prikazuje linearno zvezo med električno prevodnostjo in vsebnostjo skupnih beljakovin, ne glede na vrsto. Linearni regresijski model $y = 2,4284x + 0,1962$ nam predstavlja odnos med spremenljivkama vseh v analizo vključenih vzorcev medu. Regresijski model in korelacijska analiza 100 vzorcev medu petih različnih vrst nam kaže, da je zveza med opazovanima spremenljivkama srednja in statistično značilna pri 0,01 stopnji tveganja. Vrednost Pearsonovega korelacijskega koeficienta smo izračunali za 100 vzorcev medu in znaša $r = 0,601$. Koeficient determinacije, izračunan s pomočjo programa Excel, znaša 0,3662 (0,37).

- Zveza med električno prevodnostjo in vsebnostjo skupnih beljakovin glede na vrsto medu

Slika 20 prikazuje zvezo med električno prevodnostjo in vsebnostjo skupnih beljakovin v različnih vrstah medu. Za določitev petih vrstno značilnih zvez med električno prevodnostjo in vsebnostjo skupnih beljakovin smo uporabili povprečne vrednosti paralelnih določitev električne prevodnosti in skupnih beljakovin, ki so podane v prilogi A1 in A2.



Slika 20: Zveze med vsebnostjo skupnih beljakovin in vrednostjo električne prevodnosti za posamezne vrste medu letnikov 2007 in 2008

Regresijski model temelji na 16 vrstno značilnih vzorcih akacijevega medu, 22 vzorcih cvetličnega, 16 vzorcih lipovega, 20 vzorcih kostanjevega ter 26 vrstno značilnih vzorcih gozdnega medu. Modeli so linearni, s kvadratnim korenjenjem determinacijskih koeficientov (r^2) smo izračunali tudi korelacijske (r). Grafični prikaz regresijskih modelov je predstavljen na sliki 20, preglednica 7 pa predstavlja enačbe regresijskih modelov ter vrednosti koeficientov determinacije in korelacije.

Preglednica 7: Enačbe regresijskih modelov ter vrednosti koeficientov determinacije in korelacije

Vrsta medu	Linearni regresijski model ($y = bx + a$)	Koeficient determinacije (r^2)	Koeficient korelacije (r)
akacijev	$y = 1,4211x - 0,0053$	0,88	0,94
cvetlični	$y = 1,1243x + 0,2661$	0,36	0,60
lipov	$y = 0,4806x + 0,7337$	0,02	0,14
kostanjev	$y = -0,1557x + 1,7259$	0,00	0,00
gozdni	$y = -0,0858x + 1,2139$	0,00	0,00

Na sliki 20 vidimo, da so premice naraščajoče v primeru akacijevega, cvetličnega in lipovega medu. Pri kostanjevem in gozdnem medu pa sta premici padajoči, kar potrjujeta negativno predznačena naklonska koeficienta b . Največji naklonski koeficient b kaže največji vpliv skupnih beljakovin na električno prevodnost v akacijevem medu.

Prav tako smo na osnovi Pearsonovega korelacijskega koeficienta določili, da obstaja najmočnejša zveza med vrednostjo električne prevodnosti in vsebnostjo skupnih beljakovin za akacijev med, zmerna zveza pa za cvetlični med, medtem ko za vzorce lipovega, kostanjevega in gozdnega medu zveza med vrednostjo električne prevodnosti in vsebnostjo skupnih beljakovin sploh ne obstaja.

5.1.3 Vpliv letnika

Ker Pearsonov koeficient korelacije podaja le stopnjo povezanosti med opazovanima spremenljivkama, ne pa tudi statistične značilnosti, smo le-te preverili s t testom. S pomočjo tega testa smo primerjali vpliv letnika znotraj posamezne vrste medu. Ker smo imeli za leto 2007 samo en vzorec akacijevega medu, smo to vrsto medu izključili iz nadaljnje preiskave. V preglednici 8 so prikazane povprečne vrednosti glede na leto in vrsto medu ter stopnje značilnosti za ostale 4 vrste medu.

Preglednica 8: Povprečne vrednosti analiziranih parametrov za obravnavane vzorce medu letnikov 2007 in 2008

Merjeni parameter	Cvetlični med			Lipov med			Kostanjev med			Gozdni med		
	$\bar{x}$		p	$\bar{x}$		p	$\bar{x}$		p	$\bar{x}$		p
	2007	2008		2007	2008		2007	2008		2007	2008	
voda	15,25	14,35	0,061	15,36	14,33	0,001	/	/	/	14,53	14,00	0,152
EP	0,670	0,588	0,247	0,79	0,82	0,686	1,71	1,62	0,497	1,08	1,37	0,016
specifični kot zasuka	-16,01	-17,18	0,453	-13,59	-15,53	0,202	-21,6	-22,6	0,669	-7,253	-2,369	0,201
beljakovine	0,339	0,296	0,227	0,242	0,195	0,244	0,44	0,35	0,001	0,433	0,343	0,091
prolin	652,4	491,4	0,048	485,14	407,89	0,494	825,2	721,8	0,270	655,8	514,2	0,052

Studentov t-test nam je podal stopnjo značilnosti vseh analiziranih parametrov za posamezne vrste medu glede na letnik. Ničelna domneva trdi, da so povprečja po obravnavanjih enaka, osnovna (alternativna) domneva pa, da obstaja vsaj en par, kjer povprečji po obravnavanjih nista enaki. V primeru, da je bila stopnja značilnosti manjša od izbrane stopnje tveganja ($p < 0,05$), smo ničelno domnevo zavrnil in sprejeli osnovno domnevo, s tem smo potrdili, da med povprečnimi vrednostmi po obravnavanjih obstajajo statistično značilne razlike. Če smo sprejeli ničelno domnevo, smo zaključili, da statistično značilnih razlik ni.

➤ Cvetlični med

Stopnja značilnosti večja od 0,05 je bila pri naslednjih parametrih: vsebnost vode, električna prevodnost, specifični kot zasuka (rotacija) in vsebnost beljakovin. Ker je bila stopnja značilnosti večja od izbrane stopnje tveganja, smo sprejeli ničelno domnevo, ki pravi, da med cvetličnimi vzorci medu letnikov 2007 in 2008 ni statistično značilnih razlik v naštetih parametrih.

Parameter, pri katerem je vrednost t-testa manjša od 0,05, je vsebnost prolina. V tem primeru smo pri 0,05 stopnji tveganja zavrnil ničelno hipotezo in sprejeli osnovno. S tem smo potrdili, da med cvetličnimi vzorci letnikov 2007 in 2008 obstajajo statistično značilne razlike v vsebnosti prolina, in sicer so imeli vzorci cvetličnega medu letnika 2007 glede na vzorce letnika 2008 večje vsebnosti prolina.

➤ Lipov med

Stopnja značilnost je bila v vzorcih lipovega medu letnikov 2007 in 2008 večja od 0,05 v naslednjih parametrih: električni prevodnosti, specifičnem kotu zasuka, v vsebnosti skupnih beljakovin ter prolina.

Parameter, pri katerem je t-test podal stopnjo značilnosti manjšo od 0,05, je vsebnost vode (0,001). V tem primeru smo pri 0,05 stopnji tveganja zavrnilo ničelno domnevo in sprejeli osnovno.

Vzorci lipovega medu letnika 2007 so imeli glede na letnik 2008 za približno 1 % večjo vsebnost vode. Vzrok je verjetno v tem, da so hoteli imeti čebelarji čisti lipov med in so s točenjem pohiteli, med še zaradi tega ni bil čisto zrel in je posledično vseboval več vode.

Na podlagi naših rezultatov lahko sklepamo, da se vsebnost vode v medu razlikuje od letnika do letnika.

➤ Kostanjev med

Stopnja značilnosti večja od 0,05 je bila pri naslednjih parametrih: električni prevodnosti, specifičnem kotu zasuka in vsebnosti prolina.

T-test je podal stopnjo značilnosti manjšo od izbrane stopnje tveganja za vsebnost beljakovin (0,001). V tem primeru smo pri 0,05 stopnji tveganja zavrnilo ničelno domnevo in sprejeli osnovno, ki pravi, da med vzorci kostanjevega medu letnikov 2007 in 2008 obstajajo statistično značilne razlike v vsebnosti skupnih beljakovin.

Vzorci kostanjevega medu letnika 2007 so vsebovali več skupnih beljakovin.

➤ Gozdni med

Stopnja značilnosti večja od 0,05 je bila pri naslednjih parametrih: vsebnosti vode, specifičnem kotu zasuka medu, vsebnosti skupnih beljakovin ter prolina.

Parameter, pri katerem je t-test podal manjšo vrednost od izbrane stopnje tveganja, je električna prevodnost. Vzroki za razlike med letniki so verjetno v sestavi posamezne vrste medu. Vrednost električne prevodnosti je odvisna od vsebnosti mineralov v medu. Ta je na splošno majhna, vendar zelo različna med vrstami medu. Vzrok temu je raznolika čebelja paša, ki se vsako leto razlikuje zaradi spreminjanja vremenskih pogojev, ki znatno vplivajo na cvetenje in medenje rastlin.

Največje razlike med povprečnimi vrednostmi električne prevodnosti so bile v gozdnem medu. Menimo, da je to pogojeno z deležem peloda, ki je odvisen od vremenskih in pašnih pogojev, predvsem temperature, količine sončne svetlobe, padavin in vlažnosti zraka. Sklepamo, da je bila paša v letu 2008 bogatejša s cvetnim prahom kot v letu 2007.

5.1.4 Primerjava rezultatov z domačo in tujo literaturo

Rezultati analize vsebnosti vode so pokazali, da so vsi vzorci ustrezali Pravilniku o medu (2004), ki dovoljuje največ 20 g vode v 100 g medu.

Največjo povprečno vsebnost vode smo določili v cvetličnem medu (14,76 g/100 g), najmanjšo pa v gozdnem medu (14,38 g/100 g). Vzorec 1703 z največjo vsebnostjo vode, je bil vzorec cvetličnega medu, ki je vseboval 17,35 g/100 g vode, najmanj vode je prav tako vseboval vzorec cvetličnega medu (12,75 g/100 g).

Za vsebnost vode ne moremo reči, da je značilna za vrsto medu, saj je odvisna od zrelosti medu oziroma od časa točenja medu, kar pa je odvisno predvsem od posameznega čebelarja. Iz primerjave naših rezultatov s podatki slovenske literature (Golob in Plestenjak, 1999) vidimo, da je povprečna vsebnost vode le delno primerljiva z našimi vrednostmi, povprečne vsebnosti vode so nekoliko večje od naših.

Doner (2003) navaja, da med vrhunske kakovosti lahko vsebuje največ 18,6 g vode v 100 g medu, enako vrednost predpisuje tudi Pravilnik o senzoričnem ocenjevanju medu (2007). Iz rezultatov sklepamo, da so bili naši vzorci s stališča tega parametra dobre kakovosti, saj v povprečju niso presegali omenjene vrednosti.

Pravilnik o medu (2004) navaja, da mora biti električna prevodnost (mS/cm) gozdnega medu najmanj 0,80 mS/cm, cvetličnega oz. nektarnih medov pa največ 0,80 mS/cm.

Merjenje električne prevodnosti je pokazalo, da je ta fizikalnokemijski parameter statistično značilen za posamezno vrsto medu ($\alpha \leq 0,05$). Ugotovili smo, da trije vzorci cvetličnega medu ne ustrezajo Pravilniku o medu (2004), ker so bile njihove vrednosti električne prevodnosti večje od najvišje dovoljene, 0,8 mS/cm. Vsi ostali vzorci so ustrezali Pravilniku. Najvišja izmerjena povprečna vrednost električne prevodnosti je bila v kostanjevem medu (1,664 mS/cm), kjer so vrednosti variirale med 1,097 in 2,140 mS/cm. Najnižjo povprečno vrednost, 0,196 mS/cm, pa smo izmerili v akacijevem medu, kjer so vrednosti električne prevodnosti variirale med 0,140 in 0,293 mS/cm. V povprečju je lipov med dosegal kar visoke vrednosti električne prevodnosti. Zanj je značilno, da je lahko nektarnega ali maninega izvora. Na to imajo vpliv vremenske razmere, medenje in tudi čas točenja medu. Posledično so tudi razlike v izmerjenih vrednostih električne prevodnosti vzorcev lipovega medu večje.

Ugotavljamo, da se povprečne vrednosti električne prevodnosti medov nektarnega izvora porazdeljujejo v skladu s pričakovanji – imajo nižje vrednosti. Iz tega lahko sklepamo, da imajo medovi nektarnega izvora majhno vsebnost mineralnih snovi v medu. Medtem ko imajo medovi maninega izvora (gozdni) višje vrednosti električne prevodnosti, kar nakazuje večjo vsebnost mineralnih snovi v medu. Medovi mešanega izvora (lipov in kostanjev) se porazdeljujejo tako, da njihove vrednosti padejo v območje višjih vrednosti. Posledica tega je večja vsebnost mineralnih snovi v teh medovih.

Pri primerjavi s tujo literaturo (Persano Oddo in Piro, 2004) smo ugotovili, da avtorja navajata za lipov med nekoliko nižje vrednosti električne prevodnosti ($0,62 \pm 0,12$ mS/cm), prav tako tudi za kostanjev ($1,38 \pm 0,27$ mS/cm) in akacijev med ($0,16 \pm 0,04$ mS/cm).

Iz primerjave naših rezultatov z rezultati slovenske literature (Golob in Plestenjak, 1999) vidimo, da navajajo višje povprečne vrednosti električne prevodnosti za akacijev med (0,235 mS/cm), prav tako za cvetlični (0,669 mS/cm), lipov (0,815 mS/cm) ter gozdni med (1,230 mS/cm), medtem ko za kostanjev med navajajo nižje vrednosti (1,483 mS/cm).

Naše rezultate električne prevodnosti smo primerjali tudi s podatki v diplomskih nalogah Novak (2006) in Lilek (2008). Njihove povprečne vrednosti električne prevodnosti (mS/cm) različnih vrst medu prikazuje preglednica 9.

Preglednica 9: Povprečne vrednosti električne prevodnosti (mS/cm) in nekateri statistični parametri vzorcev različnih vrst medu

Vrsta medu					
Avtor	akacijev	cvetlični	lipov	kostanjev	gozdni
	$\bar{x}$ χ (mS/cm)	$\bar{x}$ χ (mS/cm)	$\bar{x}$ χ (mS/cm)	$\bar{x}$ χ (mS/cm)	$\bar{x}$ χ (mS/cm)
Naša raziskava	0,196	0,623	0,809	1,664	1,158
Lilek (2008)	/	/	0,8	/	1,3
Novak (2006)	0,24	0,56	/	1,51	/

Iz preglednice 9 vidimo, da je bila največja povprečna električna prevodnost izmerjena, prav tako kot v naši raziskavi, v kostanjevem medu, najmanjša povprečna vrednost pa v akacijevem medu. Vrednosti električne prevodnosti so si v vseh vrstah medu zelo podobne, kar kaže na to, da je električna prevodnost značilna za posamezno vrsto medu.

S statistično obdelavo podatkov smo ugotovili, da je bila vrsta medu pri 0,01 stopnji tveganja v močni povezavi z izmerjeno električno prevodnostjo, saj je bil $r = 0,756$. Ugotovili smo tudi zmerno zvezo med električno prevodnostjo in vsebnostjo prolina ter beljakovin. Vzorci gozdnega medu letnika 2007 so imeli v povprečju za 140 mS/cm višje povprečne vrednosti električne prevodnosti od letnika 2008, zato lahko zaključimo, da tudi letnik medu vpliva na ta parameter.

Rezultati merjenja specifičnega kota zasuka (rotacije) $[\alpha]_D^{20}$ medu so pokazali, da so se vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ petih vrst medu nahajale v razponu od -29,82 do -11,33 °cm³/gdm. Povprečne vrednosti od najnižje do najvišje so naslednje: -23,04 °cm³/gdm za kostanjev med, -22,50 °cm³/gdm za akacijev med, -16,71 °cm³/gdm za cvetlični med, -13,59 °cm³/gdm za lipov med in - 5,89 °cm³/gdm za gozdni med. Kot vidimo, smo določili podobni povprečni vrednosti specifičnega kota zasuka v kostanjevem in akacijevem medu, kar lahko nakazuje na podobno razmerje med fruktozo in glukozo v omenjenih medovih.

Persano Oddo in Piro (2004) sta določila zelo podobno vrednost specifične rotacije pri lipovem medu (-12,5 °cm³/gdm), medtem ko se njuni rezultati za kostanjev (-16,7 °cm³/gdm) in akacijev med (-16,6 °cm³/gdm) bistveno razlikujejo v primerjavi z našimi.

Piazza in sod. (1991) poročajo, da ima najnižjo izmerjeno vrednost med iz rožmarina, $[\alpha]_D^{20} = -20$ °cm³/gdm, najvišjo pa manin med iz materine dušice, v intervalu od + 4 do + 30 °cm³/gdm. Dinkov (2003) se prav tako strinja, da ima najnižjo izmerjeno vrednost akacijev med ($[\alpha]_D^{20} = -17,0$ °cm³/gdm), najvišjo izmerjeno vrednost pa manin med ($[\alpha]_D^{20} = 4,2$ °cm³/gdm).

Povprečne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ različnih vrst medu naše raziskave smo primerjali še s povprečnimi vrednostmi nekaterih tujih avtorjev: Persano Oddo in sod. (1995), Pridal in Vorlova (2002) in Dinkov (2003). Povprečne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ naše in njihovih raziskav prikazuje preglednica 10.

Preglednica 10: Povprečne vrednosti specifičnega kota zasuka ($^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$) za različne vrste medu različnega geografskega porekla

Avtor	Vrsta medu		
	akacijev	cvetlični	med iz mane
	$\bar{x}$ $[\alpha]_D^{20}$ ($^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$)	$\bar{x}$ $[\alpha]_D^{20}$ ($^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$)	$\bar{x}$ $[\alpha]_D^{20}$ ($^{\circ}\text{cm}^3/\text{gdm}$)
Naša raziskava	- 16,7	- 22,50	- 5,89
Italija (Persano Oddo in sod.,1995)	-20,94	-15,83	+11,0
Češka (Pridal in Vorlova, 2002)	- 17,0	- 12,4	+ 17,0
Bolgarija (Dinkov,2003)	- 17,0	- 14,8	+ 4,2

Povprečne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ naših vzorcev so najbolj primerljive z ostalimi tujimi povprečnimi vrednostmi $[\alpha]_D^{20}$ za akacijev med, medtem ko je nekoliko slabše ujemanje povprečne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ za cvetlični med. Za med iz mane so vsi avtorji določili pozitivno vrednost $[\alpha]_D^{20}$, v naši raziskavi pa je bila povprečna vrednost negativna.

Lepen (2007) je v svojem diplomskem delu, enako kot mi, določila najmanjšo vrednost $[\alpha]_D^{20}$ za vzorce akacijevga medu, največjo pa za gozdni med. Medovi iz nektarja (akacijev in cvetlični) so imeli negativne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$, medtem ko so imeli medovi iz mane (gozdni) višje vrednosti $[\alpha]_D^{20}$, vendar po večini še vedno negativne. Medovi mešanega izvora (lipov, kostanjev) so imeli negativne oz. pozitivne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ zaradi različnega odklanjanja polarizirane svetlobe glede na specifičen kot zasuka, odvisno od prisotnih sladkorjev in razmerij med njimi.

V vzorcih, kjer smo določili večjo povprečno vsebnost prolina, smo določili tudi večjo vsebnost skupnih beljakovin. Vsebnost prolina se je v posameznih analiziranih vzorcih medu nahajala v razponu od 193 do 1096 mg/kg. Največjo povprečno vsebnost prolina, 773 mg/kg, smo izmerili v kostanjevem medu, najmanjšo, 303 mg/kg, pa v akacijevem medu. Vse vrednosti so večje od priporočene spodnje meje 180 mg/kg medu, ki jo je določil Bogdanov in sod. (1999). V primerjavi s tujimi rezultati, tudi naši rezultati v primeru kostanjevega medu izstopajo v vsebnosti prolina, saj so njegove vrednosti tudi do 6 krat višje od priporočene. Sanchez-Miret in sod. (2001) navajajo v svojih raziskavah povprečno vsebnost prolina v kostanjevem medu 839 mg/kg, medtem ko smo mi določili povprečno vrednost 776 mg/kg. Iz rezultatov vidimo, da so v posameznih vzorcih akacijevga medu vsebnosti prolina le malo nad priporočeno, v ostalih vrstah medu pa od 2 do 6 krat višje od priporočene. Prolin služi kot dodatni parameter kakovosti, pokazatelj zrelosti in pristnosti medu, zato mislimo, da je ena predpisana vrednost za vse vrste medu nesmiselna, saj postavlja medove različnih vrst v neenoten položaj.

Rezultate naše raziskave smo primerjali tudi z rezultati diplomske naloge Golob (2006). Vsebnost prolina se je v njenem raziskovalnem delu nahajala v razponu od 197 mg/kg do 776 mg/kg. Najboljše je ujemanje povprečnih vsebnosti prolina v akacijevem in lipovem medu. Prav tako je povprečno največ prolina vseboval kostanjev med (617 mg/kg), povprečno najmanj prolina pa je vseboval lipov med (300 mg/kg). Mi smo najmanjšo povprečno vsebnost prolina določili v akacijevem medu (303 mg/kg), Golobova (2006) pa je na kg akacijevga medu določila povprečno 307 mg prolina. Pri vseh vrstah medu smo v našem delu določili večje vsebnosti prolina, kot jih navaja Golobova (2006). Če izhajamo iz stališča, da je prolina parameter kakovosti, lahko sklepamo, da so bili naši vzorci, letnikov 2007 in 2008, boljše kakovosti od navedenih medov letnika 2006.

Zaključimo lahko, da je vsebnost prolina v medu, vrstno značilna lastnost. Velike količine prolina v kostanjevem medu, so posledica velikih količin cvetnega prahu, ne glede na to, ali je medicina pretežno nektarnega ali maninega izvora. V cvetličnem medu smo določili precej veliko količino prolina (560 mg/kg). Tudi tu ima veliko vlogo cvetni prah, pa tudi sestava cvetličnega nektarja, saj Sporns (1992) trdi, da čebele izločajo prolina z namenom zniževati visok osmozni tlak medicine. Za razliko od kostanjevega in cvetličnega medu, pa akacijev in lipov med vsebujeta zelo nizke količine te aminokisline. Vzrok se nahaja v zelo majhni količini peloda v akacijevem cvetju, čeprav je po količini nektarja zelo bogata rastlina.

Vsebnost beljakovin se je v posameznih vzorcih nahajala med 0,093 g/100 g do 0,613 g/100 g. Najmanjšo vsebnost skupnih beljakovin smo določili v akacijevem medu, največjo pa v gozdnem. Velika povprečna vsebnost skupnih beljakovin je bila tudi v kostanjevem medu (0,396 g/100 g), kar je veliko več kot navajajo Küçük in sod. (2007), ki so določili povprečno 0,170 g beljakovin v 100 g kostanjevega medu.

Rezultate vsebnosti skupnih beljakovin smo primerjali tudi z rezultati diplomske naloge Golob (2006). Najmanjša povprečna vsebnost skupnih beljakovin je bila prav tako kot pri našem delu določena v akacijevem medu (0,16 g/100 g), v naraščajočem zaporedju sledijo v njenem delu povprečja vsebnosti skupnih beljakovin v lipovem medu (0,17 g/100 g), gozdnem (0,30 g/100 g), cvetličnem (0,31 g/100 g) in kostanjevem medu (0,35 g/100 g). Tudi Golobova je določila največjo vsebnost beljakovin v gozdnem medu, čeprav je po povprečni vsebnosti ta vrsta medu na tretjem mestu (0,30 g/100 g), pri nas pa smo določili največjo vsebnost skupnih beljakovin prav v tej vrsti medu (0,409 g/100 g)

5.2 SKLEPI

Na osnovi opravljenih analiz in statistične obdelave rezultatov lahko povzamemo naslednje sklepe:

- Vsebnost vode je v vseh analiziranih vzorcih medu ustrezala Pravilniku o medu (2004), ki dovoljuje največ 20 g vode v 100 g medu.
- Najmanjša povprečna vrednost specifične rotacije je bila v akacijevem medu (najbolj negativna), največja pa v gozdnem medu (pozitivna vrednost).
- Najmanj skupnih beljakovin je povprečno vseboval akacijev med (0,141 g/100 g), največ pa gozdni med (0,409 g/100 g).
- Vsi analizirani vzorci medu so vsebovali več kot 180 mg/kg prolina, in tako ustrezali priporočilu Mednarodne komisije za med. Sklepamo, da so bili nepotvorjeni in zreli, torej primerne kakovosti.
- Največjo povprečno vsebnost prolina smo določili v kostanjevem medu (773 mg/kg), najmanjšo pa v akacijevem medu (303 mg/kg).
- Lipov med se je v povprečni vsebnosti prolina (368 mg/kg) statistično značilno razlikoval od cvetličnega (560 mg/kg), gozdnega (618 mg/kg) in kostanjevega medu (773 mg/kg).
- Najmočnejša zveza je bila med vsebnostjo prolina in skupnih beljakovin, $r = 0,714$. Vsi ostali parametri pa so bili v šibki ali zmerni medsebojni povezavi.
- Zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in aminokislina prolina je bila za posamezne vzorce medu linearna.
- Letnik medu vpliva na različne vrste medu različno. Statistično značilne razlike med letnikoma 2007 in 2008 smo ugotovili v cvetličnem medu pri povprečni vsebnosti prolina, saj so imeli vzorci letnika 2007 večje vsebnosti te aminokislina od vzorcev letnika 2008. V lipovem medu smo določili za 1 % večjo vsebnost vode kot v vzorcih letnika 2008; vzorci kostanjevega medu letnika 2007 so se od vzorcev letnika 2008 razlikovali po večji vsebnosti skupnih beljakovin; vzorci gozdnega medu, letnika 2007 pa so za razliko od vzorcev gozdnega medu letnika 2008 imeli višje vrednosti električne prevodnosti.

6 POVZETEK

Med je naravno živilo, ki ga izdelujejo medonosne čebele (*Apis mellifera*), ki pri letanju s cveta na cvet nabirajo nektar ali mano. Nektar prinašajo s cvetlic, mana pa je izloček živali, ki se pojavi kot medena rosa na živih delih različnih rastlin. Surovino za med, ki je še zelo vodena, čebele prinesejo v panj. Tam jo zgostijo in obogatijo z lastnimi snovmi. Tako obdelano surovino odložijo v satje, kjer dozori v med, ki je po svoji sestavi koncentrirana vodna raztopina glukoze, fruktoze in saharoze. Poleg sladkorjev vsebuje še različne aminokisline, encime, beljakovine, organske kisline, minerale, vitamine, barvila in aromatične snovi. Če čebele nabirajo na območju, kjer je več različnih virov medenja, dobimo različne vrste medu. V Sloveniji imamo širok spekter vrstnih in mešanih medov, saj je Slovenija geografsko zelo raznolika dežela.

Cilj diplomske naloge je bil določiti vsebnost vode, skupnih beljakovin in prolina ter izmeriti vrednosti električne prevodnosti in specifičnega kota zasuka medov, petih različnih vrst, letnikov 2007 in 2008. Ti medovi so bili: akacijev, cvetlični, lipov, kostanjev in gozdni.

Vsebnost aminokisline prolin smo določali spektrofotometrično z Oughovo metodo, prilagojeno po Bogdanovu (1997), vsebnost skupnih beljakovin pa z uporabo delno avtomatizirane Kjeldahlove metode. Vsebnost vode v medu smo določili refraktometrično, električno prevodnost smo izmerili s konduktometrom, specifični kot zasuka medu pa s polarimetrom.

Intervalno območje vseh določitev prolina je bila med 193 mg/kg in 1096 mg/kg. Ker je vsebnost prolina v vseh vzorcih presegala spodnjo priporočeno vrednost, 180 mg/kg, lahko zaključimo, da so bili analizirani vzorci medu zreli in pristni, oziroma nepotvorjeni.

Lipov med se je po vsebnosti prolina statistično značilno razlikoval od cvetličnega, gozdnega ter kostanjevega medu.

Primerjava vsebnosti prolina v naših vzorcih s podatki tujih avtorjev je slaba in potrjuje predvsem botanično ter geografsko specifičnost te aminokisline.

Eksperimentalni podatki vseh določitev skupnih beljakovin so se gibali v intervalu od 0,093 g/100 g do 0,613 g/100 g. Na podlagi statistične analize smo ugotovili, da je splošna zveza med vsebnostjo skupnih beljakovin in prolina vseh 100 vzorcev statistično značilna pri 0,01 stopnji tveganja, ta zveza je močna ($r = 0,714$).

Med regresijskimi modeli za posamezno vrsto noben model ni primeren, saj nobena zveza ni močna in statistično značilna hkrati.

Letnik je vplival na vsebnost prolina v cvetličnem medu, saj so imeli vzorci cvetličnega medu, letnika 2007, za približno 160 mg/kg medu več prolina od letnika 2008.

V kostanjevem medu letnika 2007 pa smo določili večjo vsebnost skupnih beljakovin kot v vzorcih kostanjevega medu letnika 2008.

Za vsebnost vode ne moremo reči, da je značilna za vrsto medu, saj je odvisna od zrelosti medu oziroma od časa njegovega točenja, kar pa je odvisno predvsem od posameznega čebelarja.

Med vzorci lipovega medu letnikov 2007 in 2008 so obstajale statistično značilne razlike v vsebnosti vode, saj so imeli vzorci lipovega medu letnika 2007 za približno 1 % večjo vsebnost vode.

Medovi nektarnega izvora (akacijev, cvetlični), imajo vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ negativne in vrednosti električne prevodnosti, razen v treh vzorcih cvetličnih medov, pod 0,8 mS/cm, medtem ko imajo medovi mešanega izvora (kostanjev, lipov) vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ lahko negativne ali pozitivne, ter vrednosti električne prevodnosti nad 0,8 mS/cm pa tudi pod 0,8 mS/cm, kar je v skladu s Pravilnikom o medu (2004). Medovi maninega izvora (gozdni) so imeli pri naši analizi negativne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$, kar ni v skladu s Pravilnikom o medu (2004), ki zahteva pozitivne vrednosti $[\alpha]_D^{20}$ za manine medove. Gozdni med je imel v vseh izmerjenih rezultatih, električno prevodnost večjo od 0,8 mS/cm, kar se ujema s Pravilnikom.

S pomočjo Pearsonovega koeficienta povezanosti smo ugotovili, da je vrsta medu pri 0,01 stopnji tveganja v močni povezavi z izmerjeno električno prevodnostjo, kjer je $r = 0,756$. Izmerjena $[\alpha]_D^{20}$ je v zmerni zvezi z vrsto medu pri 0,01 stopnji tveganja.

Vpliv letnika se kaže le pri vrednostih električne prevodnosti za gozdni med, saj so imeli vzorci letnika 2007 za 140 mS/cm višje vrednosti, kot vzorci gozdnih medov letnika 2008. Letnik ni vplival na specifično rotacijo v nobeni vrsti analiziranih medov.

Prispevek naše raziskave vidimo v boljšem poznavanju dušikovih spojin v slovenskih vrstnih in mešanih medovih. Rezultati o vsebnosti aminokisline prolina pripomorejo k boljši karakterizaciji medov, prav tako so uporabni regresijski modeli, ki opisujejo zvezo med prolinom in vsebnostjo skupnih beljakovin. Vsebnost skupnih beljakovin je zelo variabilen parameter in ga težko povezujemo z vrsto medu. Spoznali smo uporabnost merjenja $[\alpha]_D^{20}$ in električne prevodnosti za karakterizacijo ter natančnejše klasificiranje in sortiranje medov.

VIRI

- Adamič Š. 1989. Temelji biostatistike. Ljubljana, Medicinska fakulteta, Inštitut za biomedicinsko informatiko: 27-39, 44-48, 113-122, 157
- Anklam E. 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and biotical 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
- Belitz H. D., Grosch W. 1999. Food chemistry. 2nd ed. Berlin, Springer: 821-828
- Bergner K.G., Hahn H. 1972. Zum vorkommen und zur zukunft der freien aminosäuren in honig. Apidologie, 3, 1: 5-34
- Bogdanov S., Martin P., Lullman C. 1997. Harmonised methods of the European honey Commision. Apidologie, Extra Issue, 28: 1-59
- Bogdanov S., Rouff K., Persano Oddo L. 2004. Psycho-chemical methods for the characterizarion of unifloral honeys: a review. Apidologie, 35: 4-17
- Božič J. 1998. Življenje čebel. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 49-60
- Božič J. 1998. Nektarne paše. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 146-161
- Božič J. 2008. Čebelja paša od zgodnje pomladi do jeseni. V: Med. Značilnosti slovenskega medu. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 20-22
- Božnar M. 2002. Zaklad iz čebeljega panja. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 39 str.
- 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: 582-592
- Božnar A., Senegačnik J. 1998. Med. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 376-413
- Breznik M., Kmetec V., Kreft S., Kristl A., Osredkar J., Planinšek O., Pukl M., Ureb U., Zega A., Kikelj D. 2001. Vaje iz instrumentalne farmacevtske analize. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo: 51-55
- Cavia M.M. Fernández – Muino 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

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

Council directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. 2002. *Official Journal of the European Communities*, L10: 47-52

Čebelarstvo Grom. 2008. Akacijev med. Vrhnik, Čebelarstvo Grom (junij, 2008)
<http://www.cebelarstvo-grom.com> (avgust, 2009): 1 str.

Čebelarstvo Lužar. 2007. Kostanjev med. Dob, Čebelarstvo Lužar
http://www.cebelarstvo-luzar.si/wp-content/uploads/kostanjev_med.jpg (avgust, 2009): 1 str.

Čebelarska zveza Slovenije. 2009. Medovite rastline, akacija. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije
http://www.czs.si/images/cebele_medoviterastline_akacija.jpg (avgust, 2009):1.str

Den Hartog Industries Inc. 2009. Rotating polarimeter. Hospers, Iowa, Den Hartog Industries, Inc
<http://www.denhartog-scientific.nl/Producten/Polarimeter/Polarimeter.html> (avgust, 2009): 1 str.

Dinkov D. 2003. A scientific note on the specific optical rotation of three honey types from Bulgaria. *Apidologie*, 34: 319-320

Doner I. 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

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. 2007. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100, 4: 1649-1653

Gheldof N., Wang X-H., Engeseth N. J. 2002. Identification and quantification of antioxidant components of honey from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 21: 5870-5877

Golob T. 1999. Spoznavanje medu. V: *Pridelava in kontrola medu v okviru kolektivne blagovne znamke za slovenski med*. Golob T. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 49-52

Golob T., Plestenjak A. 2003. Analiza kakovosti živil. Ponatis 2. izd. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani, oddelek za živilstvo: 80-86

Golob T., Bertonec J., Škrabanja V. 2002. Sensory characteristics of Slovenian honey. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani: Kmetijstvo*, 79, 2: 381-389

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

Golob T., Jamnik M., Kropf U., Bertoncelj J., Kandolf A. 2008a. Lastnosti medu. V: Med. Značilnosti slovenskega medu. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 25-42

Golob T., Jamnik M., Kropf U., Bertoncelj J., Kandolf A. 2008b. Fizikalno-kemijski parametri ter senzorične in mikroskopske značilnosti slovenskega medu. V: Med. Značilnosti slovenskega medu. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 43-69

Golob U. 2006. Vsebnost prolina in beljakovin v različnih vrstah slovenskega medu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 74 str.

Gregorc A. 1998. Zgradba in delovanje čebeljega telesa. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 24-48.

Gregorc A. 2002. Medonosna čebela in osnove čebelarjenja. Ljubljana, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani: 19-36, 90-95, 114-120.

Iglesias M. T., Lorenzo C., Carmen Polo M., Martin Alvarez P. J., Pueyo E. 2004. Usefulness of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 84-89

James C. S. 1995. Analytical chemistry of foods. London, Blackie Academic and Professional: 17-17

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

Junk W. R., Pancoast H. M. 1973. Handbook of sugars. Westport, AVI Publishing Company: 295-296

Kasenburger P. 2006. Vsebnost sladkorjev ter prostih in skupnih kislin v različnih vrstah slovenskega medu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 98 str.

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. izdaja. Ljubljana, Študentska založba: 15, 53, 54

Košmelj K., Kastelec D. 2003. Uporabna biostatistika. Načrtovanje in analiza poskusov: delovno gradivo za podiplomski študij. Ljubljana, Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani: 108 str.

Košmelj K. 2007. Uporabna statistika. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani: 239 str.

Kraševka. Domača trgovina. 2008. Kozina, Kraševka. Domača trgovina (julij, 2008)
http://www.krasevka.si/trgovina/images/products/cvetlicni_med.jpg (avgust, 2009): 1 str.

Krell R. 1996. Value - added products from beekeeping. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations: 1-19

Küçük M., Kolaylı S., Karaoğlu Ş., Ulusoy E., Baltacı C., Candan F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry, 100, 2: 526-534

Lekarna Mozirje. 2009. Zdravilna zelišča pri gripi in prehladu- lipa. Mozirje, Lekarna Mozirje (februar, 2009).
<http://www.lekarna-mozirje.si/Predstavitev/lipa.html> (September, 2009): 1 str.

Lepen A. 2007. Specifični kot zasuka medu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67 str.

Lilek N. 2008. Karakterizacija lipovega, hojevega, smrekovega in gozdnega medu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 49 str.

Marinko R. 1994. Električna prevodnost medu. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 41 str.

Meda A., Lamien C. E. Millogo J., Romito M., Nacoulma O.G. 2005a. Physicochemical analyses of Burkina Fasa honey. Acta Veterinaria Brno, 74: 147-152

Meda A., Lamien C. E. Millogo J., Romito M., Nacoulma O.G. 2005b. Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, 91: 571-577

Meglič, M. 2004. Čebelji pridelki, pridobivanje in trženje. 1. izdaja. Brdo pri Lukovici, Čebelarska zveza Slovenije: 15-31

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. 2005. Lehninger principles of biochemistry. 4th ed. New York, W.H. Freeman and Company: 75-94

Nimatic, Maskinfabrikken Nima. 2008. Nimatic Brix Refractometer. Naestved, Nimatic, Maskinfabrikken Nima (februar, 2008)

<http://www.nimatic.de/refrac.htm> (avgust, 2009): 1 str.

Novak J. 2006. Karakterizacija akacijevega, cvetličnega in kostanjevega medu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 45 str.

Ocepek M. 2005. Zveza med specifično elektrolitsko prevodnostjo medu in vsebnostjo pepela. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 52 str.

Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweitzer P. 2007. Physicochemical characteristic and pollen spectrum of some Algerian honeys. Food Control, 18: 52-58

Pčelarsko Gazdinstvo »Balint«. 2007. Lipov med. Mužlje, Pčelarsko Gazdinstvo »Balint«
<http://www.pcelarstvobalint.com/images/proizvodi/lipov.jpg> (avgust, 2009): 1 str.

Persano Oddo L., Piro R. 2004. Unifloral honeys: Quality standards. Apicoltura, 7: 51-63

Persano Oddo L., Piazza M.G., Sabatini A.G., Accorti M. 1995. Characterization of unifloral honeys. Apidologie, 26:453-465

Piazza M. G., Accorti M., Persano Oddo L. 1991. Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honey. Apicoltura, 7: 51-63

Pihlar B. 2001. Osnove analize kemije: zapiski predavanj: II. del. Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo Univerze v Ljubljani: 213-222

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

Podjetje Ledinek. 2005. Pravi kostanj. Hoče, Podjetje Ledinek
<http://www.ledinek.com/Knjiga/Pravi-kostanj.gif> (avgust, 2009): 1 str.

Popek S. 2002. A procedure of identify a honey type. Food Chemistry, 97: 401-406

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

Pravilnik o senzoričnem ocenjevanju medu. 2007. Brdo pri Lukovici, Čebelarstva zveza Slovenije
<http://www.czs.si/> (junij, 2009): 2 str.

Přidal A., Vorlová L. 2002. Honey and its physical parameters. Czech Journal of Animal Science, 47, 10: 439-444

Rüdiger W. 1977. Ihr name ist Apis – Kulturgeschichte der biene Ehrenwirth. München, Ehrenwirth Verlag: 115 str.

- Sanchez – Miret P., Huidobro J. F., Mato I., Muniaegui S., Sancho T. 2001. Correlation between proline content of honeys and botanical origin. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 95, 5: 171-175
- 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
- Seljak J. 1996. Statistične metode. Ljubljana, Visoka upravna šola Univerze v Ljubljani: 197-199
- Slovar slovenskega knjižnega jezika. 1995. Bajec A. (ur.). 2.izd. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 533-533
- Sporns P. 1992. Honey analysis. V: *Encyclopedia of food science and technology*. Vol. 2. Hui Y. H. (ed.). New York, John Wiley & Sons: 1417-1422
- SPSS Base. Version 17.0. 2009. Chicago, SPSS Inc.: software
- 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
- Šivic F. 1998. Manine paše. V: *Od čebele do medu*. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 162-177
- Terrab A., Diez M. J., Hereida F. J. 2003. Palynological, physico-chemical and colour characterisation of Moroccan honeys. I. River and gum (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) honey. *International Journal of Food Science and Technology*, 38: 379-386
- Tišler M. 1991. Organska kemija. 3. izd. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 375-375
- Turistična agencija in trgovina Istranka d.o.o. 2009. Gozdni med. Koper, Turistična agencija in trgovina Istranka
<http://www.istranka.si/data/default/shop/349> (avgust, 2009): 1 str.
- White J. W. 1978a. Honey. *Advances in Food Research*, 24: 287-374
- White J. W. 1978b. The protein content of honey. *Journal of Apicultural Research*. 17: 234-238
- Zdešar P. 2008. Pridelava medu v Sloveniji. V: *Med. Značilnosti slovenskega medu*. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 9-13

ZAHVALA

Najprej gre zahvala mentorici prof. dr. Tereziji Golob za njeno strokovno pomoč in vzpodbudo, ki mi jo je nudila med nastajanjem diplomskega dela.

Hvala delovni mentorici Mojci za vso pomoč in vložen trud, hvala tudi Jasni in Urški za njuno pomoč. Hvala Marinki za vso pomoč in nasvete pri laboratorijskem delu, za vse vzpodbudne besede in potrpežljivost.

Prav tako se zahvaljujem recenzentki doc. dr. Nataši Šegatin za strokoven pregled diplomskega dela.

Hvala ge. Ivici Hočevvar, ge. Barbari Slemenik in gdč. Lini Burkan za pomoč pri urejanju literature.

Mama in ata, hvala za vso spodbudo, potrpežljivost in materialno podporo, ki sta mi jo nudila ves čas študija. Hvala Petri in Poloni za vso pomoč in podporo. Brez vaju bi bilo mnogo težje. Hvala tudi vsem ostalim sorodnikom in prijateljem za vse vzpodbudne besede.

Maja, Ana in Miha, vaši razigrani nasmehi so mi vedno polepšali pisanje naloge.

Mili, hvala za vso potrpežljivost, podporo in ljubezen.

Irena, hvala za pomoč in prijateljstvo v dijaških in študentskih letih.

Nenazadnje gre zahvala tudi vsem sošolkam in sošolcem za nepozabna študijska leta.

PRILOGE

Priloga A 1: Vsebnost vode, izmerjena električna prevodnost in specifični kot zasuka ter vsebnost skupnih beljakovin in prolina v akacijevem, cvetličnem, lipovem, kostanjevem in gozdnem medu letnika 2007

AKACIJEV MED 2007					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1722	14,25	0,189	-23,45	0,144	286,3
CVETLIČNI MED 2007					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1714	14,55	0,582	-13,28		623,36
1651	14,35	0,657	-14,69	0,392	678,7
1656	15,50	0,550	-12,07	0,396	1022,8
1657	14,60	0,655	-17,26	0,381	740,3
1665	16,35	0,852	-17,88	0,251	531,6
1666	14,40	0,772	-13,85	0,493	524,4
1669	16,10	0,859	-17,56	0,366	799,8
1701	14,85	0,469	-3,76	0,231	289,0
1703	17,35	0,425	-19,13	0,246	520,2
1708	14,40	0,789	-15,66	0,368	764,8
LIPOV MED 2007					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100g)	Prolin (mg/kg)
1659	16,20	0,870	-17,16		
1694	14,80	0,743	-11,33	0,129	354,4
1723	15,55	0,819	-11,89	0,215	215,2
1724	14,85	0,867	-15,31	0,244	565,9
1730	15,40	0,648	-12,26	0,220	518,0
KOSTANJEV MED 2007					
Št. vzorca	Voda (g/100g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100g)	Prolin (mg/kg)
1650	14,25	1,577	-22,06	0,489	1045,6
1652	14,90	1,484	-25,66	0,452	1095,5
1653	14,75	1,359	-17,80	0,515	707,8
1654	14,80	2,140	-19,46	0,509	692,8
1655	13,85	1,833	-23,72	0,327	874,5
1658	14,40	1,315	-22,95	0,412	1020,7
1660	13,60	1,996	-21,97	0,457	732,1
1662	14,00	1,604	-24,60	0,460	843,1
1707	15,15	1,761	-16,76	0,372	592,0
1711	16,70	2,020	-21,27	0,404	648,1
GOZDNI MED 2007					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1661	13,65	1,225	7,02	0,290	633,7
1663	15,10	0,683	-16,86	0,357	338,6
1664	14,60	0,868	-11,28	0,501	716,4
1682	14,95	0,858	-18,33	0,438	809,1
1683	13,20	1,316	-9,63	0,545	617,3
1684	15,35	0,998	-9,32	0,540	599,1
1686	14,00	1,244	-7,77	0,419	916,8
1689	14,30	1,042	-10,31	0,407	539,3
1690	14,80	1,167	0,58	0,549	778,7

Nadaljevanje priloge A 1: Vsebnost vode, izmerjena električna prevodnost in specifični kot zasuka ter vsebnost skupnih beljakovin in prolina v akacijevem, cvetličnem, lipovem, kostanjevem in gozdnem medu letnika 2007

GOZDNI MED 2007					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1691	13,40	1,125	-2,57	0,472	658,0
1693	15,55	1,149	-12,08	0,559	436,0
1695	13,90	1,059	-11,10	0,606	935,2
1696	15,50	1,213	-18,54	0,338	828,7
1702	13,90	1,431	12,18	0,403	623,4
1712	13,75	1,224	3,76	0,613	811,2
1725	13,95	1,304	0,77	0,279	650,8
1729	16,20	0,651	-15,30	0,209	560,0
1731	15,05	0,802	-11,78	0,230	370,6

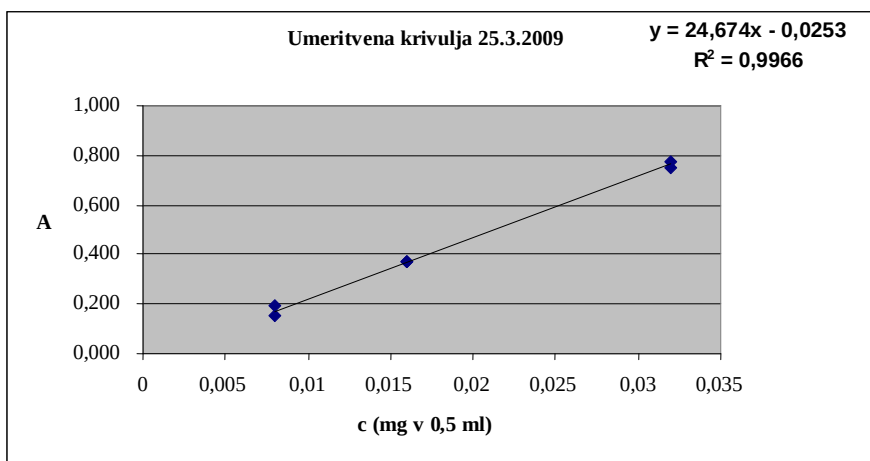
Priloga A 2: Vsebnost vode, izmerjena električna prevodnost in specifični kot zasuka ter vsebnost skupnih beljakovin in prolina v akacijevem, cvetličnem, lipovem, kostanjevem in gozdnem medu letnika 2008

AKACIJEV MED 2008					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1753	14,40	0,140	-22,31	0,093	211,7
1766	15,10	0,150	-24,53	0,099	217,0
1767	15,15	0,163	-23,90	0,118	360,2
1768	13,95	0,157	-23,13	0,122	236,2
1778	13,70	0,156	-22,40	0,113	193,0
1783	14,75	0,211	-24,63	0,150	263,4
1792	15,05	0,265	-21,36	0,189	317,8
1798	14,85	0,280	-3,37	0,186	378,2
1800	16,45	0,186	-27,57	0,128	378,5
1801	15,10	0,293	-20,69		
1802	14,50	0,271	-22,91	0,184	502,2
1807	14,20	0,167	-19,98	0,115	333,3
1808	14,35	0,173	-22,82	0,155	315,1
1812	13,65	0,158	-21,53	0,123	267,7
1816	15,05	0,174	-21,44	0,135	283,2
CVETLIČNI MED 2008					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1752	14,10	0,695	-22,01	0,352	686,7
1755	12,75	0,432	-20,90	0,234	384,3
1761	14,10	0,440	-21,72	0,286	373,6
1773	14,25	0,599	-19,40	0,287	408,0
1775	13,50	0,604	-19,41	0,382	675,6
1780	13,60	0,539	-13,49	0,211	310,1
1803	14,75	0,297	-19,26	0,196	453,8
1805	17,20	0,591	-13,87	0,306	606,9
1806	14,45	0,849	-11,80	0,385	577,1
1811	14,30	0,645	-13,85	0,206	498,6
1821	14,65	0,613	-18,00	0,273	606,7
1823	14,55	0,756	-12,42	0,429	315,5

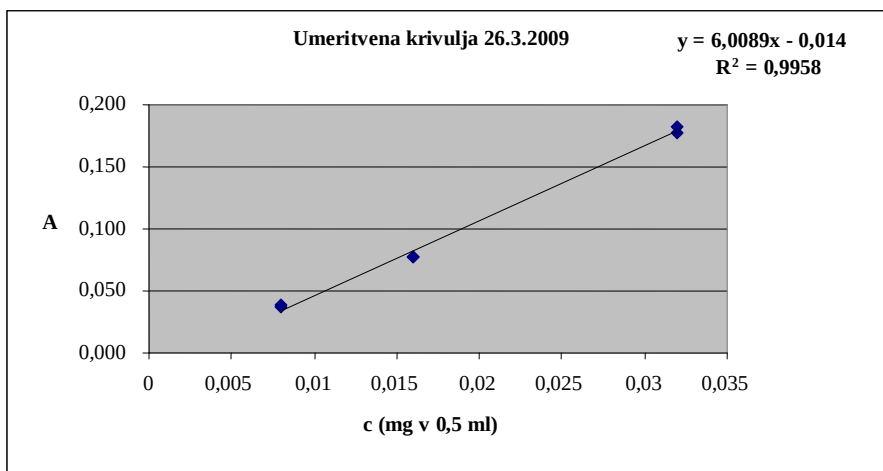
Nadaljevanje priloge A 2: Vsebnost vode, izmerjena električna prevodnost in specifični kot zasuka ter vsebnost skupnih beljakovin in prolina v akacijevem, cvetličnem, lipovem, kostanjevem in gozdnem medu letnika 2008

LIPOV MED 2008					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1764	15,10	0,890	-14,22	0,154	294,2
1765	13,95	0,930	-16,61	0,188	359,2
1771	14,40	0,878	-15,67	0,222	261,5
1774	14,20	0,747	-16,88	0,187	453,5
1777	14,20	0,744	-13,80	0,159	318,3
1795	14,10	1,023	-12,55	0,207	310,6
1796	13,65	1,024	-15,89	0,161	307,9
1799	14,50	0,560	-15,62		
1817	14,50	0,788	-16,73	0,171	431,7
1820	14,25	0,730	-21,73	0,193	378,5
1822	14,75	0,692	-11,14	0,151	385,7
KOSTANJEV MED 2008					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1750	14,60	1,674	-26,88	0,412	1090,2
1751	14,30	1,483	-26,37	0,415	971,0
1756	14,65	1,965	-29,82	0,351	618,8
1758	14,75	2,000	-22,01	0,291	541,6
1760	14,35	1,862	-4,90	0,312	845,1
1781	14,30	1,290	-27,12	0,346	645,5
1787	14,40	1,489	-23,42	0,313	418,5
1789	15,95	1,665	-22,11	0,358	597,6
1791	14,30	1,672	-20,91	0,368	949,7
1804	16,35	1,097	-22,91	0,355	539,7
1757	13,55	1,542	2,12	0,268	454,5
GOZDNI MED 2008					
Št. vzorca	Voda (g/100 g)	χ (mS/cm)	$[\alpha]_D^{20}$ (°C/gdm)	Beljakovine (g/100 g)	Prolin (mg/kg)
1759	15,15	0,869	-11,36	0,365	449,2
1763	12,85	1,010	-4,17	0,340	663,3
1779	13,95	1,249	-6,30	0,520	647,3
1790	14,65	1,723	7,98	0,244	593,1
1813	14,40	1,559	-5,37	0,322	357,6
1824	13,40	1,647	0,52	0,341	434,7

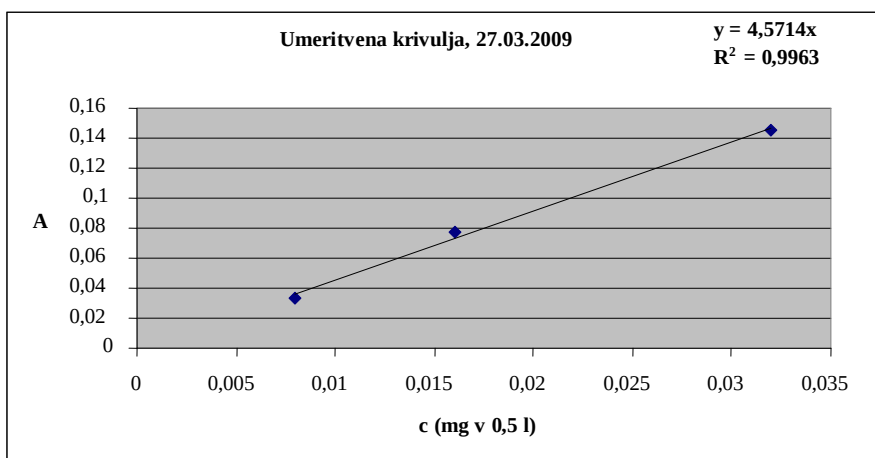
Priloga A 3: Umeritvene krivulje s pripadajočimi enačbami za izračun vsebnosti prolina v mg/kg



$$c = ((A+0,0253)/24,674)*100000/m$$

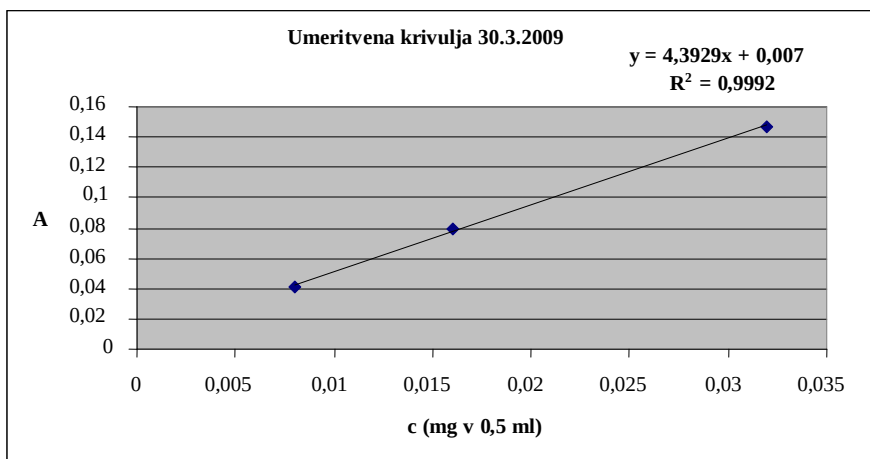


$$c = ((A+0,014)/6,0089) * 100000/m$$

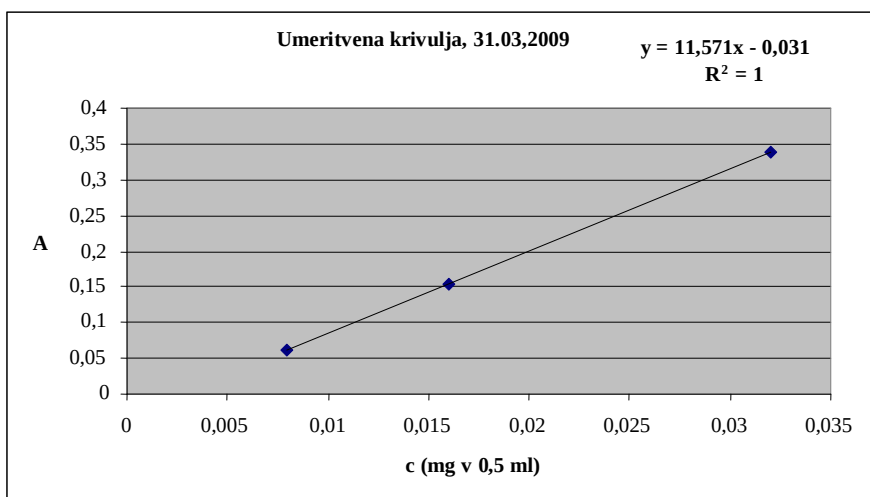


$$c = (A/4,5714) * 100000/m$$

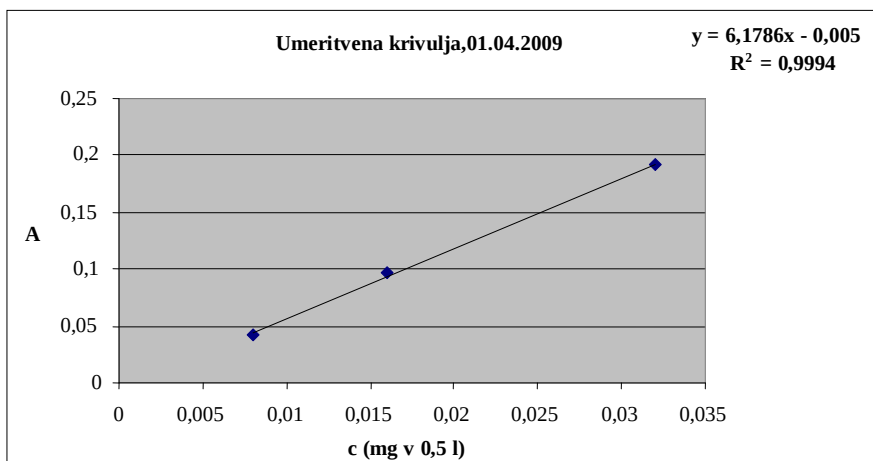
Nadaljevanje 1 priloge A3: Umeritvene krivulje s pripadajočimi enačbami za izračun vsebnosti prolina v mg/kg



$$c = ((A - 0,007) / 4,3929) * 100000 / m$$

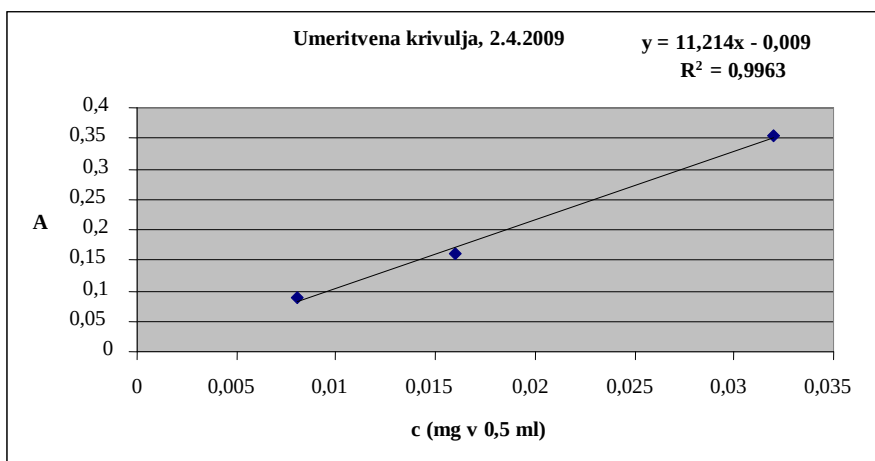


$$c = ((A + 0,031) / 11,571) * 100000 / m$$

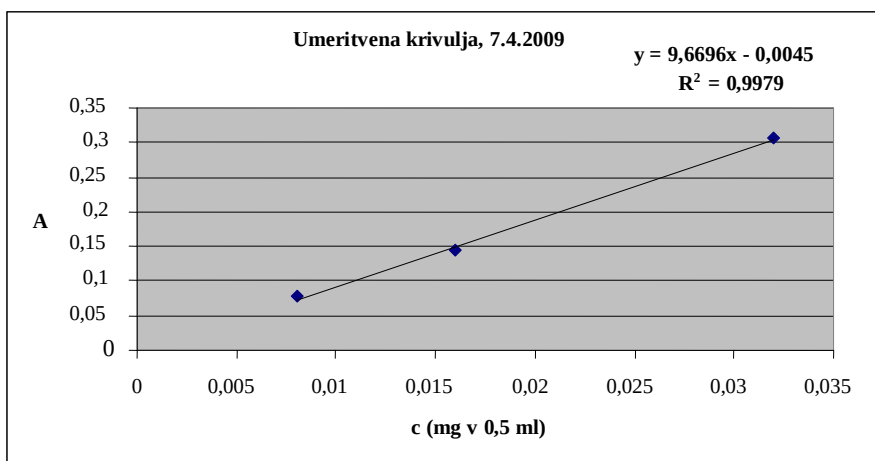


$$c = ((A + 0,005) / 6,1786) * 100000 / m$$

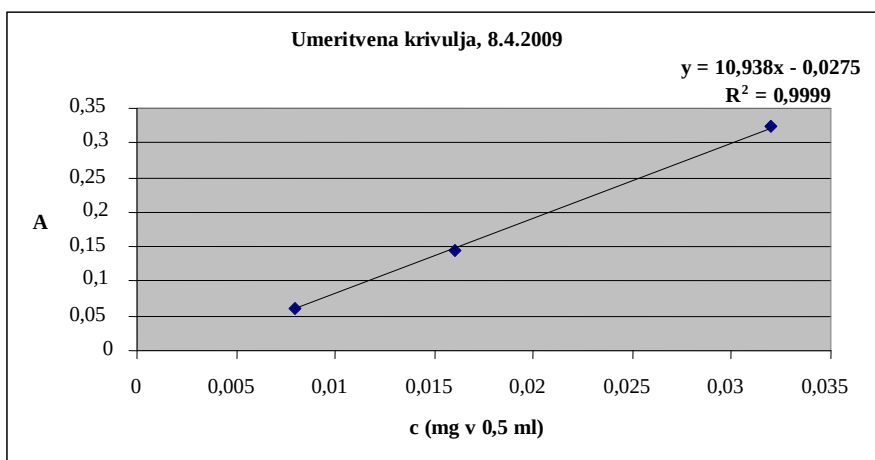
Nadaljevanje 2 priloge A3: Umeritvene krivulje s pripadajočimi enačbami za izračun vsebnosti prolina v mg/kg



$$c = ((A + 0,009) / 11,214) * 100000 / m$$

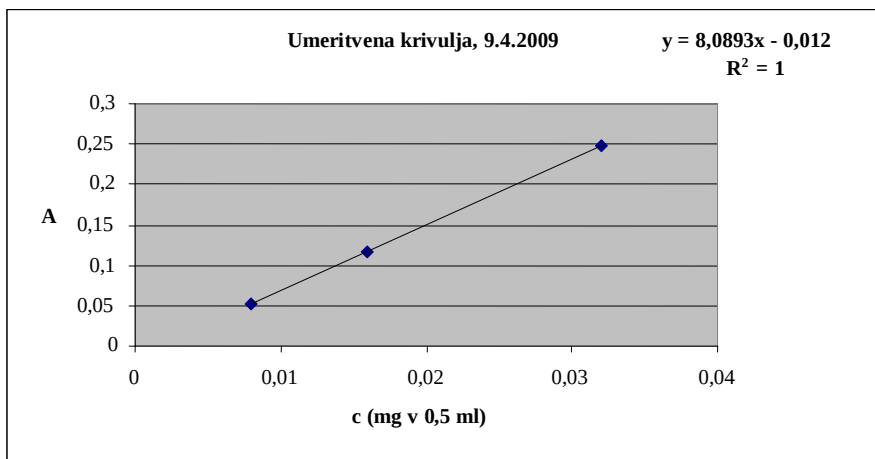


$$c = ((A + 0,0045) / 9,6696) * 100000 / m$$

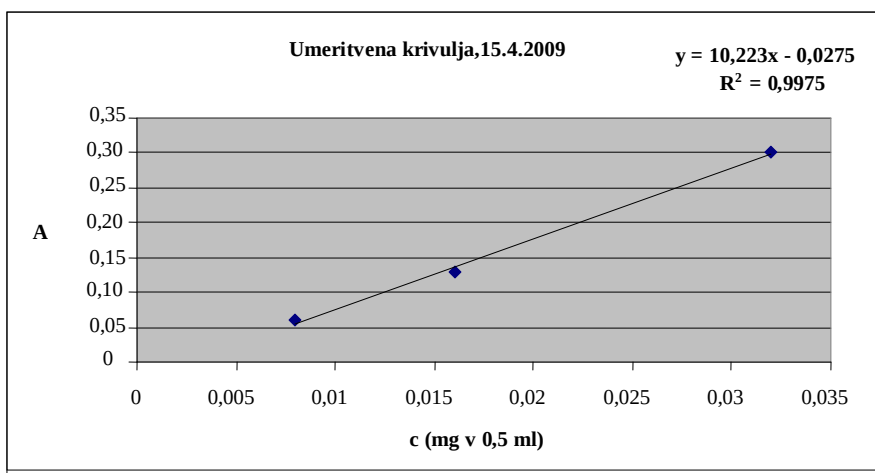


$$c = ((A + 0,0275) / 10,938) * 100000 / m$$

Nadaljevanje 3 priloge A3: Umeritvene krivulje s pripadajočimi enačbami za izračun vsebnosti prolina v mg/kg



$$c = ((A + 0,012) / 8,0893) * 100000 / m$$



$$c = ((A + 0,0275) / 10,223) * 100000 / m$$