

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Katja STANKOVIČ

**KARAKTERIZACIJA MANJ ZNANIH
VRST SLOVENSKEGA MEDU**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij – 2. stopnja Živilstvo

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Katja STANKOVIČ

**KARAKTERIZACIJA MANJ ZNANIH
VRST SLOVENSKEGA MEDU**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij – 2. stopnja Živilstvo

CHARACTERIZATION OF RARE SLOVENIAN HONEY TYPES

M.SC. THESIS
Master Study Programmes: Field Food Science and Technology

Ljubljana, 2016

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa 2. stopnje Živilstvo. Delo je bilo opravljeno na Katedri za tehnologijo mesa in vrednotenje živil, Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje je za mentorico magistrskega dela imenovala doc. dr. Mojco Korošec in za recenzentko doc. dr. Natašo Šegatin.

Mentorica: doc. dr. Mojca Korošec

Recenzentka: doc. dr. Nataša Šegatin

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Katja Stankovič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2

DK UDK 638.162:638.165.8:543.2/.9(043)=163.6

KG med / ajdov med / rešeljikov med / javorjev med / med divje češnje / fizikalno-kemijske lastnosti / pelodne lastnosti / senzorične lastnosti / senzorični profil

AV STANKOVIČ, Katja, dipl. inž. živ. in preh. (UN)

SA KOROŠEC, Mojca (mentorica) / ŠEGATIN, Nataša (recenzentka)

KZ SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101

ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo

LI 2016

IN KARAKTERIZACIJA MANJ ZNANIH VRST SLOVENSKEGA MEDU

TD Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja Živilstvo)

OP XIII, 96 str., 19 pregl., 28 sl., 11 pril., 113 vir.

IJ sl

JI sl/en

AI Namen naše raziskave je bil določiti vrednosti fizikalno-kemijskih parametrov in opisati senzorične značilnosti štirih manj znanih vrst slovenskega medu, ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje, ter ugotoviti, v katerih lastnostih se te vrste medu razlikujejo med seboj. V vzorcih smo določali vsebnost vode, električno prevodnost, vrednost pH, vsebnost prostih in skupnih kislin ter laktonov, diastazno aktivnost, antioksidativno učinkovitost, vsebnost flavonoidov, skupnih fenolnih spojin, L-askorbinske kisline in cvetnega prahu. V vzorcih javorjevega in rešeljikovega medu smo določili in kvantificirali tudi 13 mono-, di- in trisaharidov. Ugotovili smo, da vsi analizirani vzorci medu ustrezajo vrednostim, ki jih predpisuje Pravilnik o medu (2011). Določili smo močno pozitivno zvezo med vsebnostjo prostih in skupnih kislin, med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in flavonoidov ter med vsebnostjo nekaterih sladkorjev. Z linearno diskriminantno analizo smo dokazali, da z izbranimi parametri lahko 100 % pravilno klasificiramo vzorce javorjevega in ajdovega medu. S pomočjo melisopalinološke analize smo potrdili prisotnost cvetnega prahu navadne ajde v vzorcih ajdovega medu, cvetni prah javorja v vzorcih javorjevega medu ter cvetni prah sadnega drevja v vzorcih rešeljikovega medu in medu divje češnje. S kvalitativno in kvantitativno senzorično analizo smo definirali kvantitativni senzorični profil vonja in arome ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2

DC UDC 638.162:638.165.8:543.2/.9(043)=163.6

CX honeys / buckwheat honey / *Prunus mahaleb* honey / maple honey / wild cherry honey / physico-chemical properties / pollen properties / sensory properties / sensory profile

AU STANKOVIČ, Katja

AA KOROŠEC, Mojca (supervisor) / ŠEGATIN, Nataša (reviewer)

PP SI-1000, Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology

PY 2016

TY CHARACTERIZATION OF RARE SLOVENIAN HONEY TYPES

DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes: Field Food Science and Technology)

NO XIII, 96 p., 19 tab., 28 fig., 11 ann., 113 ref.

LA SI

AI sl/en

AB The purpose of our research was to determine physico-chemical parameters and describe sensory characteristic for four rare types of Slovenian honeys; buckwheat, *Prunus mahaleb*, maple and wild cherry honey, and to find out in which parameters these types of honeys differ. Honey samples were analysed on water content, electrical conductivity, pH value, total acids, free acids and lactones, diastase activity, antioxidant activity, the content of flavonoids, total phenolics, and L-ascorbic acid and on pollen content. In samples of *Prunus mahaleb* and maple honey we also detected and quantified 13 mono-, di- and polysaccharides. We found out that all analyzed honey samples met the values of quality parameters prescribed in the Honey Regulation (2011). We determined the strong positive correlation between total and free acids content, between total phenolics and flavonoid content and between content of certain sugars. With linear discriminant analysis we established, that with selected parameters we can 100 % correctly quantify samples of maple and buckwheat honey. Through melisopalinological analysis we confirmed presence of *Fagopyrum esculentum* pollen in samples of buckwheat honey, *Acer* sp. pollen in maple honey and fruit trees pollen in samples of *Prunus mahaleb* and wild cherry honey. With a qualitative and quantitative descriptive sensory analysis, we defined the quantitative sensory profile of odour and aroma of buckwheat, *Prunus mahaleb*, maple and wild cherry honey.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	X
KAZALO PRILOG	XII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XIII
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	1
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ZGODOVINA ČEBELARSTVA	3
2.1.1 Čebelarstvo na Slovenskem	3
2.2 PRIDOBIVANJE MEDU	4
2.2.1 Predelava medicīne v med	4
2.2.2 Vrste medu	6
2.3 SESTAVA MEDU	8
2.4 FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI MEDU	8
2.4.1 Ogljikovi hidrati	8
2.4.2 Voda	10
2.4.3 Električna prevodnost	10
2.4.4 Beljakovine in aminokisline	11
2.5 BIOAKTIVNE SPOJINE V MEDU	11
2.5.1 Kisline in pH medu	11
2.5.2 Encimi	12
2.5.3 Mineralne snovi	13
2.5.4 Vitamini	14
2.6 ANTIOKSIDANTI	14
2.6.1 Določanje antioksidativne učinkovitosti medu	15
2.6.2 Fenolne spojine	17
2.7 CVETNI PRAH V MEDU	20

2.7.1 Vir in sestava cvetnega prahu v medu	20
2.8 SENZORIČNE LASTNOSTI MEDU	22
3 MATERIAL IN METODE	25
3.1 VZORCI	25
3.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE	25
3.2.1 Določanje vsebnosti vode v medu z ročnim refraktometrom	25
3.2.2 Konduktometrično določanje električne prevodnosti medu	26
3.2.3 Titrimetrično določanje vrednosti pH in skupnih (titrabilnih) kislin	27
3.2.4 Spektrofotometrično določanje diastaznega števila z metodo po Schadeju	28
3.2.5 Določanje antioksidativne učinkovitosti z metodo DPPH	30
3.2.6 Določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin z modificirano Folin-Ciocalteujevo metodo	31
3.2.7 Spektrofotometrično določanje vsebnosti flavonoidov	32
3.2.8 Določanje vsebnosti L-askorbinske kisline (vitamin C) v medu	33
3.2.9 Določanje sladkorjev z metodo HPAEC-PAD	34
3.2.10 Določanje cvetnega prahu v medu	35
3.3 SENZORIČNO OCENJEVANJE MEDU	36
3.4 STATISTIČNA ANALIZA	38
4 REZULTATI	42
4.1 REZULTATI VSEBNOSTI VODE	42
4.2 REZULTATI MERJENJA ELEKTRIČNE PREVODNOSTI	43
4.3 REZULTATI MERJENJA VREDNOSTI pH, VSEBNOSTI SKUPNIH IN PROSTIH KISLIN TER LAKTONOV	44
4.4 REZULTATI DOLOČANJA DIASTAZNEGA ŠTEVILA	48
4.5 REZULTATI DOLOČANJA ANTIOKSIDATIVNE UČINKOVITOSTI MEDU ..	49
4.6 REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN	50
4.7 REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI FLAVONOIDOV	51
4.8 REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI L-ASKORBINSKE KISLINE	52
4.9 REZULTATI DOLOČANJA POMEMBNIH SLADKORJEV	53
4.10 ZVEZE MED ANALIZIRANIMI IN IZRAČUNANIMI PARAMETRI	55
4.10.1 Zveza med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin	56
4.10.2 Zveza med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo flavonoidov	56
4.10.3 Zveza med vsebnostjo flavonoidov in skupnih fenolnih spojin	56

4.10.4 Zveze med analiziranimi sladkorji v javorjevem in rešeljikovem medu ...	57
4.11 REZULTATI DOLOČANJA CVETNEGA PRAHU V MEDU	58
4.12 REZULTATI SENZORIČNEGA OCENJEVANJA MEDU	63
4.12.1 Profil vonja in arome ajdovega medu	63
4.12.2 Profil vonja in arome rešeljikovega medu	65
4.12.3 Profil vonja in arome javorjevega medu	67
4.12.4 Profil vonja in arome medu divje češnje	69
5 RAZPRAVA.....	72
6 SKLEPI	81
7 POVZETEK.....	84
8 VIRI	87
 ZAHVALA	
 PRILOGE	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1. Skupine in podskupine za posodobljeno Kolo vonjev in arom (Korošec in sod., 2014)	24
Preglednica 2. Vrste medu, število vzorcev posamezne vrste in njihove oznake	25
Preglednica 3. Mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk (Seljak, 1996).....	40
Preglednica 4. Vsebnost vode (%) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	42
Preglednica 5. Električna prevodnost (mS/cm) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	43
Preglednica 6. Vrednost pH v raztopinah analiziranih vrst medu z izračunanimi statističnimi parametri	45
Preglednica 7. Vsebnost prostih kislin (mekv/kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	46
Preglednica 8. Vsebnost laktonov (mekv/kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	46
Preglednica 9. Vsebnost skupnih kislin (mekv/kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	47
Preglednica 10. Vrednost diastaznega števila v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	48
Preglednica 11. Antioksidativna učinkovitost (% inhibicije) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	49
Preglednica 12. Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GA} /kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	50
Preglednica 13. Vsebnost flavonoidov (mg _K /kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	51
Preglednica 14. Vsebnost L-askorbinske kisline (mg/100 g) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri	53

Preglednica 15. Vsebnost sladkorjev v rešeljikovem in javorjevem medu, določenih z metodo HPAEC-PAD in izračunani statistični parametri	54
Preglednica 16. Vsebnost di- in trisaharidov v rešeljikovem medu, določenih z metodo HPAEC-PAD in izračunani statistični parametri	55
Preglednica 17. Pearsonov koeficient korelacije (r) za zveze med analiziranimi in izračunanimi parametri v štirih vrstah slovenskega medu.....	56
Preglednica 18. Pearsonov koeficient korelacije (r) za zveze med analiziranimi in izračunanimi parametri sladkorjev v javorjevem in rešeljikovem medu.....	57
Preglednica 19. Fizikalno-kemijski parametri v štirih vrstah slovenskega medu	83

KAZALO SLIK

Slika 1. Povprečna vsebnost vode v vzorcih štirih vrst medu, največja dovoljena vsebnost vode (20 %) (rdeča črta) ter največja dovoljena vsebnost vode v medu višje kakovosti (18,6 %) (zelena črta)	43
Slika 2. Povprečna električna prevodnost v posameznih vzorcih štirih vrst medu ter mejna vrednost (0,8 mS/cm) (oranžna črta) med medovi nektarnega in maninega izvora .	44
Slika 3. Vrednost pH v posameznih vzorcih štirih vrst medu	45
Slika 4. Povprečne vsebnosti prostih kislin (PK), laktonov (L) in skupnih kislin (SK) v analiziranih vrstah medu ter mejna količina prostih kislin (PK)	47
Slika 5. Vsebnost encima diastaze v posameznih vzorcih štirih vrst medu ter oznaka dovoljene vrednosti (modra črta).....	48
Slika 6. Antioksidativna učinkovitost (% inhibicije) v posameznih vzorcih štirih vrst medu	50
Slika 7. Vsebnost skupnih fenolnih spojin ($\text{mg}_{\text{GA}}/\text{kg}$) v posameznih vzorcih štirih vrst medu	51
Slika 8. Vsebnost flavonoidov ($\text{mg}_{\text{K}}/\text{kg}$) v posameznih vzorcih štirih vrst medu.....	52
Slika 9. Vsebnost L-askorbinske kisline ($\text{mg}/100 \text{ g}$) v posameznih vzorcih štirih vrst medu	53
Slika 10. Zveza med vsebnostjo flavonoidov in skupnih fenolnih spojin v ajdovem (modro), rešeljikovem (oranžno) in javorjevem (zeleno) medu ter medu divje češnje (rdeče).....	57
Slika 11. Povprečni deleži cvetnega prahu v vzorcih ajdovega medu.....	59
Slika 12. Povprečni deleži cvetnega prahu v vzorcih rešeljikovega medu.....	60
Slika 13. Povprečni deleži cvetnega prahu v vzorcih javorjevega medu	61
Slika 14. Povprečni deleži cvetnega prahu v vzorcih medu divje češnje	62
Slika 15. Preliminarni profil vonja in arome ajdovega medu določen s kvantitativno opisno analizo	63
Slika 16. Prikaz najpogostejših značilnosti vonja in arome ajdovega medu, ovrednotenih s potrošniškim profiliranjem.....	64

Slika 17. Prikaz značilnosti vonja in arome ajdovega medu, zaznanih s strani potrošnikov	65
Slika 18. Preliminarni profil vonja in arome rešeljikovega medu določen s kvantitativno opisno analizo	66
Slika 19. Prikaz najpogostejših značilnosti vonja in arome rešeljikovega medu, ovrednotenih s potrošniškim profiliranjem.....	66
Slika 20. Prikaz značilnosti vonja in arome rešeljikovega medu, zaznanih s strani potrošnikov	67
Slika 21. Preliminarni profil vonja in arome javorjevega medu določen s kvantitativno opisno analizo	68
Slika 22. Prikaz najpogostejših značilnosti vonja in arome javorjevega medu, ovrednotenih s potrošniškim profiliranjem.....	68
Slika 23. Prikaz značilnosti vonja in arome javorjevega medu, zaznanih s strani potrošnikov	69
Slika 24. Preliminarni profil vonja in arome medu divje češnje določen s kvantitativno opisno analizo	70
Slika 25. Prikaz najpogostejših značilnosti vonja in arome medu divje češnje, ovrednotenih s potrošniškim profiliranjem.....	70
Slika 26. Prikaz značilnosti vonja in arome medu divje češnje, zaznanih s strani potrošnikov	71
Slika 27. Porazdelitev vzorcev štirih vrst medu po obravnavi analitskih in izračunanih parametrov z linearno diskriminantno analizo (LDA)	77
Slika 28. Razporeditev vzorcev rešeljikovega in javorjevega medu z metodo LDA	78

KAZALO PRILOG

- Priloga A1. Podatki za umeritveno krivuljo in preračun za določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v medu
- Priloga A2. Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin
- Priloga B1. Podatki za umeritveno krivuljo in preračun za določanje vsebnosti flavonoidov v medu
- Priloga B2. Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti flavonoidov
- Priloga C1. Podatki za umeritveno krivuljo določanja vsebnosti L-askorbinske kisline (vitamin C)
- Priloga C2. Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti L-askorbinske kisline (vitamin C)
- Priloga D1. Vsebnosti vode, prostih, skupnih kislin in laktonov, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter L-askorbinske kisline vrednost pH, električne prevodnosti, diastaznega števila in antioksidativne učinkovitosti v ajdovem medu
- Priloga D2. Vsebnosti vode, prostih, skupnih kislin in laktonov, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter L-askorbinske kisline vrednost pH, električne prevodnosti, diastaznega števila in antioksidativne učinkovitosti v rešeljikovem medu
- Priloga D3. Vsebnosti vode, prostih, skupnih kislin in laktonov, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter L-askorbinske kisline vrednost pH, električne prevodnosti, diastaznega števila in antioksidativne učinkovitosti v javorjevem medu
- Priloga D4. Vsebnosti vode, prostih, skupnih kislin in laktonov, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter L-askorbinske kisline vrednost pH, električne prevodnosti, diastaznega števila in antioksidativne učinkovitosti v medu divje češnje
- Priloga E. Rezultati multivariatne analize fizikalno-kemijskih parametrov po obdelavi z linearno diskriminantno analizo (LDA) v štirih vrstah medu

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AJ	ajdov med
ANOVA	analiza variance (angl. Analysis of Variance)
AU	antioksidativna učinkovitost
<i>c</i>	koncentracija raztopine, izražena v mol/L
Č	med dive češnje
DN	diastazno število
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EP	električna prevodnost
FC	Folin-Ciocalteu
F+G	vsota fruktoze in glukoze, torej invertni oz. reducirajoči sladkor
F/G	razmerje med fruktozo in glukozo
GA	galna kislina
H ₀	ničelna hipoteza
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (angl. High Performance Liquid Chromatography)
HPAEC-DAD-MS	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti z detektorjem z nizom diod in masno spektrometrijo (angl. High Performance Liquid Chromatography with Diode-Array Detection and Mass Spectrometry)
HPAEC-PAD	anionsko izmenjevalna tekočinska kromatografija visoke ločljivosti s pulzno amperometrično detekcijo (angl. High Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection)
IC ₅₀	koncentracija učinkovitosti
J	javorjev med
KV	koeficient variabilnosti
KW	Kruskal-Wallisov test
LA	vsebnost laktonov
LDA	linearna diskriminantna analiza (angl. Linear Discriminant Analysis)
Me	mediana

mekv/kg	enota za kislost, miliekvivalent na kilogram
mS/cm	miliSiemens na centimeter
n	število vzorcev
PK	vsebnost prostih kislin
R	rešeljikov med
r	koeficient korelacije po Pearsonu
SD	standardna deviacija
SK	vsebnost skupnih kislin
w/w	masna koncentracija (angl. weight/weight)
$\bar{x}$	aritmetična sredina
$x_{\max}$	največja vrednost
$x_{\min}$	najmanjša vrednost
ZOP	Zaščitena označba porekla (angl. PDO – Protected Designation of Origin)

1 UVOD

Človek že dolgo ceni medonosne čebele (*Apis mellifera*), ki poleg pomembne vloge pri opraševanju rastlin, omogočajo pridobivanje medu, propolisa, cvetnega prahu in drugih dobrin čebeljega panja (Gogala, 2014), ki jih vrsto let s pridom uporabljamo v prehranske in zdravstvene namene (Umeljić, 2012).

Druga najbolj razširjena pasma medonosne čebele na svetu ter vodilna v Evropi je kranjska medonosna čebela ali *Apis mellifera carnica*, s katero čebelarimo tudi na območju Slovenije. Z njeno pomočjo pridobivamo naravno, sladko in aromatično snov s posebnim vonjem in okusom (Taranov, 2013), imenovano med. Med čebele izdelajo iz nektarja cvetov, izločkov iz živih delov rastlin oziroma izločkov na živih delih rastlin, ki jih čebele zberejo, predelajo, pomešajo z določenimi lastnimi snovmi, nato pa shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v satju (Pravilnik o medu, 2011).

Med je torej kompleksen proizvod, ki ga v največji meri sestavljajo ogljikovi hidrati (75-80 %) in voda (17-20 %), nekoliko manj je organskih kislin, mineralov in aminokislin, najmanj pa beljakovin, vitaminov, encimov, aromatičnih snovi, lipidov, antioksidantov, voskov, terpenov in pigmentov (Božnar, 2003). Pogosto prav snovi, ki jih v medu najdemo v manjših količinah, pomembneje prispevajo k senzoričnim značilnostim (barvi, vonju in okusu) medu, ki so prvo merilo kakovosti pri potrošniku (Golob in sod., 2008).

Fizikalno-kemijske lastnosti, kemijska sestava, konsistenca, barva, vonj in okus medu, se med posameznimi vrstami medu razlikujejo. Medovi, ki jih označimo z oznako »vrstni«, so po večini pridobljeni iz nektarja ali mane ene same rastlinske vrste. V Sloveniji tako med drugim poznamo akacijev, ajdov, rešeljikov, hojev, lipov, smrekov, regratov med in med divje češnje (Golob in sod., 2008). Zadnja leta poteka vse več znanstvenih in strokovnih raziskav, katerih namen je olajšanje prepoznave in pravilne klasifikacije redkejših vrst medu.

1.1 NAMEN DELA

Namen magistrskega dela je bil določiti senzorične značilnosti in vrednosti fizikalno-kemijskih parametrov manj znanih vrst slovenskega medu. V vzorcih medu posameznih vrst, kot so rešeljikov, javorjev in ajdov med ter med divje češnje, smo poleg senzoričnih lastnosti, določili vsebnost vode, sladkorjev, cvetnega prahu, L-askorbinske kisline in skupnih (titrabilnih) kislin, vrednost pH, diastazno aktivnost, električno prevodnost, antioksidativno učinkovitost (AU) ter vsebnost skupnih fenolnih spojin. Z izborom vrst medov, na katerih do sedaj še ni bilo opravljenih prav veliko analiz, smo želeli obogatiti bazo podatkov o slovenskem medu. Analizirali smo reprezentativne vzorce medu iz Slovenije, pridobljene neposredno od čebelarjev.

Dobljene rezultate smo statistično obdelali in jih primerjali z vrednosti, ki jih predpisuje slovenska zakonodaja (Pravilnik o medu, 2011) in razpoložljiva strokovna literatura. Ugotavljali smo tudi zveze med analiziranimi parametri.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Pričakovali smo, da bodo vsi analizirani vzorci ustrezali Pravilniku o medu (2011) ter da bodo med analiziranimi vrstami medu obstajale statistično značilne razlike vsaj v nekaterih analiziranih parametrih. Predvidevali smo, da bomo na osnovi ugotovljenih razlik določili kriterije kakovosti za posamezno, manj pogosto, vrsto medu.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ZGODOVINA ČEBELARSTVA

Človek je že zelo zgodaj odkril sladki med, ki ga nabirajo čebele (Kozmus in sod., 2011). O tem priča tudi risba na kamniti steni v vzhodni Španiji, za katero menijo, da je nastala pred približno 9000 leti. Slednja prikazuje človeka, ki pleni čebelje gnezdo (Umeljić, 2012). Tovrstno početje velja za prve korake na poti do čebelarjenja. Pozneje se je razvilo naprednejše gozdno čebelarjenje, ki je bilo razširjeno še v srednjem veku, v 18. in 19. stoletju pa so ga izpodrinila nova odkritja (Kozmus in sod., 2011).

2.1.1 Čebelarstvo na Slovenskem

Čebelarstvo je zagotovo najstarejša gospodarska dejavnost na Slovenskem (Božnar, 2002). Že naši predniki so gojili posebno spoštovanje do čebel in njihovih pridelkov (Kapš, 2012). Med so uporabljali kot sladilo za hrano in pijačo ter za pripravo medice, iz voska pa so izdelovali sveče in zdravila (Umeljić, 2012).

V 18. in 19. stoletju so slovensko čebelarstvo zaznamovali možje, ki so veliko pripomogli k razvoju čebelarstva (Mlaker - Šumenjak, 2011). Tako so gozdno čebelarjenje nadomestili majhni podolgovati panji, izdelani iz desk, imenovani kranjiči. K njihovemu svetovnemu slovesu je pripomogel Anton Janša, ki je na Dunaju poučeval čebelarstvo ter kot dober poznavalec čebel napisal dve knjigi o čebelarstvu (Kozmus in sod., 2011). Duhovnik Peter Pavel Glavar je prvi opisal čebelarjenje v naših krajih, ustanovil prvo čebelarsko šolo v Komendi ter izdal številne čebelarske učbenike v slovenskem jeziku (Božnar, 2002). Zdravnik Filip Terč se je v zgodovino zapisal kot začetnik apiterapije (zdravljenja s čebeljimi pridelki) v Evropi (Kapš, 2012). Da bi olajšal čebelarjenje je Anton Žnidaršič vpeljal AŽ-panje, ki so dandanes v Sloveniji najbolj razširjeni. Zanje je značilno, da je vsako izmed procelij panjev pobarvano z drugačno barvo, saj tako čebele na poti iz paše lažje najdejo svoj panj, celotnemu čebelnjaku pa dajejo prepoznavno barvitost, ki krasi slovensko krajino (Kozmus in sod., 2011).

Za slovensko čebelarstvo so značilne tudi poslikane panjske končnice, ki dandanes predstavljajo pomembno kulturno dediščino (Božnar, 2002) in kranjska medonosna čebela (*Apis mellifera carnica*) oz. kranjska sivka, za katero je značilna mirnost, marljivost, dolgoživost, velik donos medu in skromna poraba zimske zaloge hrane (Kozmus in sod., 2011).

Čebela torej ni navadna žuželka, vendar ostaja skrivnostno bitje, ki skrbi za opraševanje rastlin ter nam omogoča sladkanje z medom in drugimi čebeljimi pridelki, kot so cvetni prah, propolis, matični mleček, vosek in čebelji strup (Božnar, 2002).

2.2 PRIDOBIVANJE MEDU

Med je naravna sladka, lepljiva in aromatična snov s posebnim okusom in vonjem, ki jo izdelajo medonosne čebele (*Apis mellifera*). Lahko je svetle, prozorne, rumene, rdeče, rjave ali temnejše barve, kar je odvisno predvsem od vrste rastlin, na kateri so čebele pridobivale osnovno surovino - nektar ali mano (Taranov, 2013).

Glede na izvor med delimo na med iz nektarja ali cvetlični med, ki je pridobljen iz nektarja cvetov medonosnih rastlin ter med iz mane ali gozdni med, ki je pridobljen iz izločkov žuželk (*Hemiptera*) na živih delih rastlin ali izločkov živih delov rastlin (Pravilnik o medu, 2011).

Nektar ali medičina je cvetni sok, ki ga izločajo cvetovi večine rastlin, da bi privabile čebele. Na izločanje nektarja vpliva več dejavnikov, kot je vrsta rastline in tal ter vremenske razmere. Kakovost nektarja ocenjujemo s »sladkorno vrednostjo«, kjer gre za zmnožek koncentracije sladkorja (v %) in količine (v mg), izločene v 24 urah. Nektar vsebuje od 3 do 70 % sladkorjev ter od 28 do 95 % vode (Meglič, 2004; Kapš, 2012). Preostanek sestavljajo aminokisline, beljakovine, lipidi, organske kisline, antioksidanti, minerali, vitamini, eterična olja, aromatične snovi (Silva in sod., 2013; Silva in sod., 2016). Najpomembnejši sladkorji v nektarju so saharoza, fruktoza in glukoza v različnih medsebojnih razmerjih, kar nakazuje izvor nektarja (Meglič, 2004).

Nekatera drevesa izločajo drevesni sok, ki je lahko surovina za nektar ali mano. Če drevesni sok prehaja skozi medovnike, se spremeni v nektar, če pa so posredniki drobne žuželke – listne uši, nastane iz njega mana (Kapš, 2012). Mana ali medena rosa je sladka, lepljiva snov, ki jo izločajo listne uši. Slednje iz drevesnih listov posesajo sladko tekočino, jo s pomočjo encimov v prebavne traktu predelajo in izbrizgajo skozi zadek v obliki sladke kapljice, ki jo poberejo pašne čebele. Mano najdemo na listih dreves, kot so javor, smreka, jelka, kostanj, lipa, breza, jesenj idr. (Taranov, 2013). Najpomembnejša sestavina mane so sladkorji, kjer največji del predstavljajo disaharidi. Poleg sladkorjev so v mani tudi dušikove spojine v obliki aminokislin in amidov, organske kisline, encimi ter minerali in vitamini (zlasti vitamin C) (Kapš, 2012). V primerjavi z nektarjem mana vsebuje več mineralnih snovi, pri čemer prevladujejo spojine magnezija, kalija in fosforja (Meglič, 2004; Božnar, 2011).

2.2.1 Predelava medičine v med

Manjšo čebeljo družino sestavlja približno 20000 čebel, le ena matica in nekaj sto trotov (Kapš, 2012). Pri tem ima vsak član čebelje družine svojo nalogo. Osnovna naloga matice je zaleganje jajčec za razmnoževanje čebel delavk in trotov ter skrb za harmonijo v panju. Troti poskrbijo za oploditev matice. Vsa druga opravila, ki so najbolj podobna fizičnemu delu, opravijo čebele delavke. Tako v prvih dnevih življenja čistijo celice, iz katerih so se izlegle čebele ter grejejo zalego (Umeljić, 2012).

Nato skrbijo za hranjenje zalege, ličink in matice. Pri starosti 12 do 18 dni izločajo vosek in gradijo satje, čistijo panj, sprejemajo in obdelujejo vnesen nektar in cvetnih prah. Ko dopolnijo starost 19 dni, prevzamejo vlogo pašnih čebel, ter tako iščejo, zbirajo in nabirajo nektar, cvetni prah, smolo in vodo (Umeljić, 2012).

Ko pašne čebele v medenem želodčku prinesejo nektar ali mano v panj, ju s posebnimi gibi iztisnejo na konec svojega rilčka. Nato nabrani nektar ali mano pašne in panjske čebele obdelajo tako, da dodajo izločke svojih žlez ter zgostijo oziroma zmanjšajo vsebnost vode. Panjske čebele medičino shranijo v satje, satne celice pa zaprejo z voščenimi pokrovčki, s čimer preprečijo, da bi med vezal vodo iz zraka. Sledi proces zorenja medu, kjer odvečna voda izhlapi, zaradi delovanja encimov pa se spremeni sestava prisotnih sladkorjev (Kapš, 2012). Glede na Pravilnik o medu (2011), vsebnost vode v medu ne sme biti večja kot 20 %, saj tako preprečimo razmnožitev kvasovk in pojav vretja medu. Med vrhunske kakovosti lahko vsebuje največ 18,6 % vode (Kapš, 2012).

Glede na način pridobivanja in pakiranja med delimo na:

- »med v satju«, ki ga čebele hranijo v novo zgrajenem satju brez zalege ali v tankih osnovnih ploščicah satja iz čebeljega voska. Takšen med je na voljo v celih, pokritih satih ali kot del teh satov;
- »med s satjem« ali »deli satja v medu« vsebuje enega ali več kosov satja v medu;
- »samotok«, ki ga imenujemo tudi odtočeni med, saj se pridobiva z iztekanjem medu iz odkritih satov brez zalege;
- »točeni med«, ki se pridobiva s centrifugiranjem odkritih satov brez zalege;
- »prešani med«, ki se pridobiva s stiskanjem satov brez zalege. Dovoljena je uporaba toplote, ki pa ne sme preseči 45 °C;
- »filtrirani med«, ki se pridobiva s filtracijo. Pri tem poleg neznačilnih primesi odstranimo tudi večji del cvetnega prahu (Pravilnik o medu, 2011).

Vsem zgoraj naštetim vrstam medu je skupno, da so po pakiranju v embalažo namenjeni za neposredno uživanje, medtem ko je »pekovski med« namenjen industrijski uporabi ali kot sestavni del drugih živilih, ki se nato predelajo. Za takšen med je dovoljen neznačilen vonj ali okus, lahko je fermentiran ali pregret. Tako pri filtriranem kot pekovskem medu, mora biti na transportnih kontejnerjih, posameznih enotah pakiranja in trgovinskih dokumentih jasno navedeno polno ime medu (poimenovanje glede na izvor ter način pridobivanja medu) (Pravilnik o medu, 2011).

2.2.2 Vrste medu

Čebele v panju najpogosteje mešajo nektar in/ali mano različnih rastlin (Meglič, 2008). Tako ločimo nektarne, manine in mešane vrste medu. Akacija in cvetlični med sta nektarnega izvora, gozdni, hojev in smrekov med pa izvirajo iz mane. Med mešane medove ponavadi sodijo javorjev, lipov in kostanjev med (Kapš, 2012).

Na splošno velja, da lahko med pridobljen iz nektarja ali mane označimo kot vrstni med, če je v končnem pridelku več kot 45 % cvetnega prahu ene vrste rastlin, vendar so pri tem pravilu tudi izjeme (Meglič, 2008). Poleg tega mora imeti tudi barvo, okus in vonj, značilen za med iz te rastlinske vrste, da lahko označbe, ki se nanašajo na izvor medu, dopolnimo z navedbo določenih cvetov, rastlin ali vrste mane. Pogosteje zastopani vrstni medovi v Sloveniji so akacijev, kostanjev, smrekov, hojev in lipov med, med manj znane medove pa prištevamo ajdov, regratov, škržatov, javorjev, češnjev in hrastov med ter med oljne ogrščice (Golob in sod., 2008).

Vendar pa so med vrstnimi medovi tudi razlike glede vsebnosti cvetnega prahu. Tako mora kostanjev med vsebovati najmanj 90 % cvetnega prahu kostanja, akacijev in lipov med pa lahko vsebujeta manj kot 45 % cvetnega prahu svoje vrste (Kandolf, 2010). Na splošno velja, da cvetlični in gozdni med nista vrstna medova, saj v medu ne prevladuje pelod ene vrste rastline (Golob in sod., 2008).

Predmet raziskovalnega magistrskega dela so bili štiri manj znane vrste slovenskega medu, in sicer ajdov, rešeljikov in javorjev med ter med divje češnje.

2.2.2.1 Ajdov med

Ajda (*Fagopyrum esculentum*) je enoletnica, ki sodi v družino dresnovk. Čeprav botanično ne sodi med žita, jo zaradi načina predelave zrn v kašo, zdrob, moko in kosmiče, uvrščamo mednje. Pridelava ajde je enostavna, značilna pa je predvsem za Prekmurje, Belo krajino in Dolenjsko (Grošelj, 2013). Ajda začne cveteti v drugi polovici avgusta, kar traja do sredine septembra. Njeni cvetovi izločajo nektar le zjutraj ter proti večeru. Medenje ajde pospešuje visoka zračna vlaga, zato so posebno ugodni soparni dnevi in dnevi z jutranjo meglico (Auguštin in Gačnik, 2012).

Barva tekočega ajdovega medu je temno rjava z rdečim odtenkom. Ima kiselkast okus, sladno aromo ter močan živalski vonj. Za ajdov med je značilna hitra kristalizacija, veliki kristali ter lešnikovo rjava barva kristaliziranega medu. Ugotovljeno je bilo antioksidativno, antibakterijsko in diuretično delovanje ter vpliv na hitrejšo celjenje ran (Pasini in sod., 2013; Taranov, 2013).

Pozitivne učinke za zdravje so potrdile številne raziskave, izvedene v zadnjem času (Nagai in sod., 2001; Beretta in sod., 2005; Kowalski, 2013; Kowalski in sod., 2013; Pasini in sod., 2013; Kuš in sod., 2014). V kulinariki se uporablja predvsem pri peki potic in medenega peciva (Pasini in sod., 2013; Taranov, 2013).

2.2.2.2 Rešeljikov med

Rešeljika (*Prunus mahaleb* L.) je listopadno drevo ali grm, ki izredno dobro raste na toplih in suhih področjih, odporna pa je tudi na mraz in sušo. V Sloveniji je naravno razširjena predvsem v sredozemskem svetu. Najpogostejša je na Krasu in slovenski Istri, najdemo pa jo tudi na toplih mestih nad reko Kolpo. Aprila in maja zacvetijo številni drobni, beli, dišeči cvetovi, ki se razvijejo v majhne, češnjam podobne plodove. Zaradi bogatega medenja pomeni pomembno čebeljo pašo (Brus, 2012).

Med rešeljike je jantarne barve z rdečkastimi odsevi. Zanj je značilno, da je nekoliko moten, sčasoma pa kristalizira v kompaktno strukturo z drobnimi kristali. Okus je srednje do močno sladek, šibko kisel ter srednje grenak. Aroma je srednje do močno intenzivna in srednje dolgo obstojna. Spominja na mandlje, pečene češnje, zažgan sladkor ter češnjevi sirup. Vonj je srednje močan; po cvetovih rešeljike, zažganih češnjah in koščicah češenj (Objava vloge..., 2012).

2.2.2.3 Javorjev med

V slovenskih gozdovih najpogosteje najdemo pet vrst javorjev: gorski ali beli javor (*Acer pseudoplatanus*), ostrolistni javor (*Acer platanoides* L.), topokrpi javor (*Acer obtusatum* W. et K. ex. Wild), trikrpi javor (*Acer monspessulanum* L.) in maklen ali poljski javor (*Acer campestre* L.). Vse vrste javorjev so dobro medeče rastline, ki cvetijo konec aprila in maja. Javorji izločajo veliko nektarja ter precej cvetnega prahu, ki je zeleno rumene barve. Medenje na javorjih se nadaljuje z izločanjem mane javorovih ušic. Ker jih velikokrat sadimo v parkih, predstavljajo pomembno čebeljo pašo v mestih (Veselič in sod., 2010).

Javorjev med je lahko iz nektarja ali mane. Med nektarnega izvora je rjave barve, medtem ko je za manin med značilna nekoliko temnejša rjava barva in počasnejša kristalizacija. Okus spominja na karamelo (Brus, 2006; Obranovič, 2014).

2.2.2.4 Med divje češnje

Divja češnja (*Prunus avium*) tako kot rešeljika sodi v družino rožnic. Je bogato medonosno drevo, naravno razširjeno po vsej Sloveniji (Russell, 2010). Cveti aprila in maja hkrati z olistanjem ali malo pred njim. Cvetovi so bele barve, z mnogimi prašniki. Pri opraševanju le-teh imajo najpomembnejšo vlogo čebele. Če so vremenske razmere ugodne in čebelje družine močne, lahko divja češnja skupaj z drugimi rastlinami, omogoči prvo točenje. Sredi poletja dozori okrogli, rdeči, koščičasti plodovi (Brus, 2007).

Med divje češnje je jantarne do rdeče oranžne barve ter nekoliko moten. Okus je izrazito saden, srednje do močno sladek in srednje kisel. Aroma, ki spominja na zrele češnje, češnjevo cvetje in mandlje, je srednje intenzivna in srednje obstojna. Prijeten, srednje intenziven vonj spominja na češnjevo cvetje in koščice ter mandlje. Zanj je značilna dokaj hitra kristalizacija, z drobnimi kristali (Objava vloge..., 2012). Med divje češnje je nekoliko bolj zamolklo rumene barve kot med gojene češnje (Brus, 2007).

2.3 SESTAVA MEDU

Med je visokovredno naravno živilo, sestavljeno iz več kot 300 različnih kemijskih spojin (Golob in sod., 2008). Najbolj zastopani so ogljikovi hidrati (75-80 %) in voda (17-20 %), nekoliko manj je organskih kislin, mineralnih snovi in aminokislin, najmanj pa encimov, aromatičnih snovi, vitaminov, peloda, voskov, flavonoidov, beljakovin, lipidov, fenolnih komponent, terpenov in pigmentov (Božnar, 2003). Vendar pa prav snovi, ki so v medu zastopane v manjših količinah, v največji meri prispevajo k senzoričnim značilnostim (barvi, vonju in okusu) posameznih vrst medu (Golob in sod., 2008).

Na sestavo medu vplivata botanični in geografski izvor nektarja ali mane, ki so ga čebele prinesle iz narave in v panju obdelale (Taranov, 2013), podnebje, količina padavin in temperatura v obdobju medenja ter strokovnost in doslednost čebelarjevega dela (Golob in sod., 2008).

Kakovost medu poleg senzoričnih lastnosti, kot so značilnost in intenzivnost barve, okusa, vonja in arome, določajo fizikalno-kemijski parametri. Mednje sodijo vsebnost sladkorjev, vode, mineralnih in v vodi netopnih snovi ter kislin, invertnega sladkorja, hidroksimetilfurfurala (HMF), aktivnost diastaze, električna prevodnost in vsebnost cvetnega prahu (Golob in sod., 2008).

2.4 FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI MEDU

2.4.1 Ogljikovi hidrati

Ogljikovi hidrati so osnovna sestavina medu, saj zavzemajo 75 do 80 %. Od tega največji delež predstavljata monosaharida glukoza in fruktoza (Zhou, 2013; Taranov, 2013), preostanek pa več kot 25 kompleksnih sladkorjev (Božnar, 2011), ki jih delimo na disaharide, trisaharide in višje saharide. Disaharidi nastanejo iz dveh molekul enostavnih sladkorjev. Med najpomembnejše sodita saharoza in maltoza (Kapš, 2012). Med trisaharide, ki nastanejo iz treh molekul monosaharidov, pa uvrščamo melecitozo, ki jo najdemo v gozdni mani in rafinozi (Kapš, 2012). Višja saharida, prisotna v medu, sta izomaltotetraoza sestavljena iz štirih molekul glukoze in izomaltopentaoza iz petih (Doner, 2003).

Fruktoza je v medu zastopana z 38 do 40 % vseh sladkorjev v medu. Glukoze, ki kristalizira hitreje kot ostali sladkorji, je nekoliko manj (od 31 do 34 %) (Kmecl, 2006; Golob in sod., 2008). Te v vodi topne sladkorje, čebelji organizem usvaja brez predhodne razgradnje v prebavnem traktu. Z njihovo razgradnjo v organizmu ljudi, pa ob sodelovanju kisika dobimo energijo v obliki toplote ter kot stranski produkt ogljikov dioksid in vodo, ki jo organizem izloča s pomočjo dihal (Taranov, 2013).

Reducirajoči disaharid maltoza zavzema od 3 do 7 % sestavin medu, saharoza pa do 5 %. Višja koncentracija saharoze v medu je lahko pokazatelj potvorjenosti medu, saj se zaradi dodanega fruktoznega sirupa, njena vsebnost poveča (Chua in Adnan, 2014). Saharoza pod vplivom encima invertaze, razpade na enake dele fruktoze in glukoze. Zhou in sodelavci, ki so leta 2013 določali vsebnost sladkorjev v 23 vzorcih kitajskega medu žizule (*Ziziphus jujuba* Mill.), so ugotovili majhno vsebnost saharoze. Ti vzorci so vsebovali največji delež fruktoze (40 %), približno 30 % glukoze ter le slabe 3 % saharoze.

Glede na Pravilnik o medu (2011) mora skupna vsebnost fruktoze in glukoze v cvetličnem medu znašati najmanj 60 g/100 g, v maninem pa najmanj 45 g/100 g. Splošna vsebnost saharoze v medu lahko predstavlja do 5 g/100 g, v akacijevem medu, medu iz citrusov, medenice in lucerne pa do 10 g/100 g medu. Sicer pa na vsebnost sladkorjev in razmerje med njimi vpliva botanični izvor, encimi, sestava in izločanje nektarja, razmere okolja, kot so temperatura, vlaga in padavine, vrsta, fiziološko stanje in moč čebelje družine (Senegačnik, 1998; Golob in sod., 2008; Chua in Adnan, 2014).

Za določitev vsebnosti posameznih ogljikovih hidratov v medu lahko izbiramo med več metodami: tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) z refraktometrično detekcijo, HPLC tehnika s pulzno amperometrično detekcijo, plinska kromatografija, jedrska magnetna resonanca, encimski testi (Kaškonien in sod., 2010).

Kowalski in sodelavci (2013) so s HPLC tehniko določili vsebnost ogljikovih hidratov v lipovem, akacijevem in ajdovem medu. Za akacijev in ajdov med je značilna velika vsebnost fruktoze, ki upočasnjuje kristalizacijo medu zaradi boljše topnosti v vodi. Analiza je pokazala, da je največji delež fruktoze vseboval akacijev, nato lipov in najmanj ajdov med, v katerem so sicer namerili 47 % fruktoze, nekoliko manj glukoze (43 %) ter le 2,5 % maltoze in 0,5 % saharoze. Tudi sicer vsebnost sladkorjev variira glede na vrsto medu. Tako med nektarnega izvora vsebuje več invertnega sladkorja (od 70 do 80 %), manin med pa nekoliko manj (od 55 do 65 %) (Kowalski, 2013).

Visoka koncentracija sladkorjev v medu vpliva na osmolarnost medu. Prisotnost kislin, vodikovega peroksida, antioksidantov, kot so fenolne spojine in flavonoidi ter tudi osmolarnost, pa vplivajo na antimikrobno delovanje medu (Ulusoy in sod., 2010; Božnar, 2011).

Sicer se stopnja antimikrobne učinkovitosti razlikuje glede na botanično poreklo, vendar uspešno preprečuje delovanje večine mikroorganizmov v medu. Izjema so le nekateri osmofilni mikroorganizmi (Ulusoy in sod., 2010; Božnar, 2011), ki se v medu namnožijo, če ta vsebuje večjo količino vode. Takšen med fermentira in ni primeren za uživanje (Meglič, 2004).

2.4.2 Voda

Med najpomembnejša merila kakovosti medu zagotovo sodi vsebnost vode. Ta je odvisna od sezone pridelave, vrste in stopnje zrelosti medu. Zrel med običajno vsebuje od 15 do 18 % vode, vendar glede na Pravilnik o medu (2011) ne več kot 20 %. Če je vsebnost vode večja, je med redkejši in lažje tekoč, če je manjša, pa nekoliko bolj viskozen. Takšen med je tudi bolj obstojen, saj je onemogočeno delovanje osmofilnih kvasovk ter s tem fermentacija medu. Do fermentacije pride zaradi pretvorbe ogljikovih hidratov v medu v alkohol (etanol), ki lahko ob prisotnosti kisika oksidira do očetne kisline. Posledično se okus medu spremeni, njegova kakovost pa poslabša. Med, ki vsebuje do 18,6 % vode, sodi med vrhunske medove (Golob in sod., 2008; Bogdanov, 2009; Kapš, 2012).

Zrelost medu ugotavljamo z določanjem vsebnosti vode z ročnim refraktometrom, z direktnim sušenjem vzorca ali s Karl-Fischerjevo titracijsko metodo (Doner, 2003).

2.4.3 Električna prevodnost

Merjenje električne prevodnosti (EP) je pomembno za prepoznavanje različnih tipov medu, zlasti pri razlikovanju med medom iz nektarja in medom iz mane. Glede na Pravilnik o medu (2011), lahko EP medu iz nektarja (z izjemo kostanjevega medu) znaša največ 0,8 mS/cm, medtem ko mora biti pri maninem in kostanjevem medu EP višja od 0,8 mS/cm, vendar ne sme presegati 1,9 mS/cm. Z električno prevodnostjo pa dobimo tudi informacijo o kakovosti in morebitni potvorjenosti medu (Golob in sod., 2008; Kaškonienė in sod., 2010; Zhou in sod., 2013).

Električno prevodnost določamo s konduktometrom pri 20 °C in je definirana kot prevodnost 20 % (suha snov medu) raztopine medu (Zhou in sod., 2013). Njena vrednost je odvisna od vsebnosti mineralnih soli, beljakovin, organskih kislin ter kompleksnejših spojin, kot so sladkorji in poliolli, ki v vodni raztopini medu razpadejo na ione in prevajajo električni tok (Golob in sod., 2008; Kaškonienė in sod., 2010).

Mnogi avtorji navajajo tesno povezavo med električno prevodnostjo medu in količino pepela pri posamezni vrsti medu, ki je indikator prisotnosti mineralnih soli. Tako so Kaškonienė in sodelavci (2010) na podlagi 26 vzorcev medu iz Litve ugotovili, da večja vsebnost pepela in organskih kislin, pomeni večjo električno prevodnost medu.

Tudi Zhou in sodelavci (2013) so na podlagi analize 23 vzorcev medu žižule (*Ziziphus jujuba* Mill.) iz različnih regij Kitajske, s fizikalno-kemijsko analizo in analizo vsebnosti mineralov, določili tesno povezavo med prevodnostjo medu in količino pepela v posamezni vrsti medu. Dokazali so, da medovi žižule z višjo električno prevodnostjo, vsebujejo večje količine mineralov. Enako so za različne vrste slovenskega medu potrdili tudi slovenski avtorji (Kropf in sod., 2008).

2.4.4 Beljakovine in aminokisline

Beljakovine so dušične snovi, ki vsebujejo od 15 do 18 % dušika, od 50 do 55 % ogljikovega dioksida, od 6 do 7 % vodika, od 0,3 do 2,5 % žvepla ter magnezij, fosfor in železo v manjših količinah. V prebavnem traktu se razgradijo na enostavne aminokisline. Med vsebuje majhno količino beljakovin, in sicer manj kot 0,5 g/100 g medu (Golob in sod., 2008; Taranov, 2013).

Od 23 aminokislin jih je bilo v medu določenih 18, med njimi prevladujeta prolin in fenilalanin (Kapš, 2012). Prolin je indikator potvorjenosti medu, oba pa sodelujeta pri nastajanju aromatičnih snovi v medu (Golob in sod., 2008). Po navadi velja, da temnejši medovi vsebujejo večji delež aminokislin (Božnar, 2003).

Med čebeljimi pridelki vsebuje največ beljakovin in aminokislin cvetni prah, manj ga je v nektarju in mani (Taranov, 2013). Sicer pa je vsebnost beljakovin in aminokislin v medu v največji meri odvisna od vrste medu, kar so ugotovili tudi Özcan in sodelavci (2014), na podlagi fizikalno-kemijske analize 16 vrst medu iz različnih področjih Turčije.

2.5 BIOAKTIVNE SPOJINE V MEDU

2.5.1 Kisline in pH medu

Kisline v medu v največji meri izvirajo iz ustnih žlez čebel, manj iz rastlin ali pa nastanejo kot vmesni členi bioloških procesov. V medu so prisotne številne kisline z različno sestavo. Med njimi je največ organskih, kamor sodijo glukonska, mlečna, vinska, jabolčna, očetna, glutaminska, mravljična, citronska ter asparaginska kislina, ki zavira kristalizacijo medu (Doner, 2003; Taranov, 2013). Glukonska kislina zavzema do 70 % vseh kislin v medu in uničuje morebitne bakterije, plesni in glive. Tvori se z delovanjem encima glukoza oksidaza (Kapš, 2012). V manjši meri so prisotne tudi anorganske kisline, ki pripomorejo k značilnemu okusu in aromi medu, podaljšajo njegovo obstojnost ter vplivajo na antioksidativno in antibakterijsko delovanje (Golob in sod., 2008). Mednje prištevamo fosforno in solno kislino (Taranov, 2013).

Med je značilno kisel, s pH vrednostjo med 3,2 in 5,5. Nekoliko višji pH imajo medovi, ki vsebujejo več mineralnih snovi (soli K, Ca, Na). Takšen primer je med iz mane (Kapš, 2012). Stopnja kislosti vpliva na okus medu in njegovo baktericidno delovanje (Taranov, 2013).

S fizikalno-kemijskimi analizami medu določamo vsebnosti laktonov (LA) in prostih kislin (PK). Glede na Pravilnik o medu (2011), lahko 1 kg medu vsebuje do 50 miliekvivalentov prostih kislin, ki so pomemben parameter pri preverjanju pristnosti medu. Ponarejenemu medu z nižjo stopnjo kislosti je bil dodan neinvertni sladkor. Pri dodatku invertnega sladkorja, pridobljenega s hidrolizo v kislem, pa se kislost medu poveča (Golob in sod., 2008). Povečana vsebnost prostih kislin tudi kaže, da je prišlo do fermentacije medu, ki je posledica delovanja osmofilnih kvasovk. Te pretvarjajo sladkor v alkohol ter naprej v kisline in ogljikov dioksid. Laktoni vplivajo na povečanje prostih kislin v medu ter pod vplivom encima glukoza oksidaza nastajajo med procesom zorenja medu (Cavia in sod., 2007; Taranov, 2013).

Proste kisline in laktone v medu določamo s potenciometrično titracijo. Pri titraciji z NaOH določamo vsebnost prostih kislin, medtem ko se ob titraciji s HCl sproščajo laktoni. Vsebnost laktonov je presežek kislosti, ko postane med alkalen. Z vsoto prostih kislin in laktonov dobimo informacijo o vsebnosti skupnih kislin, ki se s časom in pod vplivom fermentacije povečuje (Cavia in sod., 2007).

2.5.2 Encimi

Encimi so beljakovine, ki katalizirajo biokemijske reakcije v živih organizmih. Izvirajo lahko iz cvetnega prahu, nektarja in mane ali pa jih med dozorevanjem medu dodajajo čebele s svojimi žlezami in slino. Kljub relativno majhnim koncentracijam imajo velik vpliv na vsebnost beljakovin, prostih amino skupin in kislin ter na pretvorbo nektarja ali mane v med oziroma pri dozorevanju medu (Doner, 2003; Taranov, 2013; Chua in Adnan, 2014).

Med najpomembnejše encime v medu sodijo diastaza, invertaza in glukoza oksidaza (Chua in Adnan, 2014). Diastaza ali amilaza je encim, močno občutljiv na povišano temperaturo, saj že pri 60 °C večji del encima propade. Zaradi tega se uporablja kot merilo pri določanju kakovosti medu oziroma je kazalec načina skladiščenja, ravnanja z medom in morebitnega pregretja le-tega. Sodeluje pri razcepljanju velikih molekul škroba v maltozo (Golob in sod., 2008; Kapš, 2012).

Diastazno aktivnost merimo kot kombinacijo dveh encimov – α -amilaze in β -amilaze (Chua in Adnan, 2014). Izražamo jo z diastaznim številom (DN), ki pomeni volumen (mL) 1 % raztopine škroba, ki ga v eni uri hidrolizira encim iz 1 g medu pri 40 °C.

Glede na Pravilnik o medu (2011) mora biti diastazno število večje od 8, običajno se giblje med 13 in 30. Pasini in sodelavci (2013) so z analizo ajdovega medu določili povprečno diastazno število (DN) 30,8, medtem ko Taranov (2013) navaja nekoliko nižjo povprečno vrednost (26,0). Escriche in sodelavci (2014) so določali DN v štirih vrstah španskega medu. Vrednosti so podane v padajočem vrstnem redu: manin (20,5), cvetlični (19,7), rožmarinov med (11,7) in med citrusov (8,5).

Na diastazno aktivnost medu vpliva tudi vrednost pH, ki je najbolj optimalna med 5,3 in 5,6. Če je pH nižji, je aktivnost diastaze manjša (Babacan in sod., 2002). Na aktivnost diastaze vplivajo klimatske in vremenske razmere, sestava in vrsta rastlin, intenzivnost izločanja medicne, moč čebelje družine, čas skladiščenja ter vrsta medu (Taranov 2013).

Invertazo, ki je odgovorna za večino sprememb v času zorenja medu, imenujemo tudi saharaza ali α -glukozidaza. Omogoča razcep sladkorja saharoze na dva enostavna sladkorja – glukozo in fruktozo. Njuna zmes je invertni sladkor. Ta reakcija razgradnje poteka nenehno, tudi med mešanjem in shranjevanjem medu (Kapš, 1998; Kapš, 2012). Encim invertazo v med dodajajo čebele iz hipofaringealnih žlez, delno pa izvira iz nektarja. Toplotno je zelo nestabilna, saj oslabi že pri daljšem segrevanju na 45 °C, popoln razkroj encima pa nastopi ob krajšem segrevanju pri 70 °C (Kapš, 2012).

Glukoza oksidaza je encim, odgovoren za antibakterijsko delovanje medu. Aktiven je le v nezrelem ali razredčenem medu. Največjo aktivnost doseže pri koncentraciji sladkorja med 25 in 30 %. Višja koncentracija sladkorja onemogoči njegovo delovanje. Glukoza oksidaza oksidira glukozo in v manjši meri manozo, pri čemer nastaneta glukonska kislina ter vodikov peroksid, ki je odgovoren za antibakterijski učinek medu (Kapš, 2012). Encim določamo s peroksidaznim testom (Chua in Adnan, 2014).

V manjših količinah v medu najdemo tudi encime, kot so katalaza, peroksidaza, reduktaza in kislinska fosfataza (Serrano in sod., 2007; Taranov, 2013).

2.5.3 Mineralne snovi

Med vsebuje širok spekter elementov, vendar je njihova vsebnost razmeroma majhna. Največji delež, več kot 1 mg/kg medu, zavzema kalij. Sledijo t.i. mikroelementi, ki so prisotni v nižjih koncentracijah. To so kalcij, klor, žveplo, rubidij, mangan, natrij, cink, železo, brom in cezij (Kropf, 2009).

Vsebnost elementov se razlikuje glede na tip tal, na katerih je medeča rastlina rasla, intenzivnost čebelje paše ter vrsto medu. Tako v medu iz mane, gozdnem, smrekovem in hojevem medu prevladuje železo, v kostanjevem medu kalcij ter v cvetličnem medu natrij. Vsebnost rubidija je bila največja v kostanjevem in hojevem medu (Matei in sod., 2004; Kropf, 2009).

Conti in sodelavci (2014) so v 60 medovih iz različnih področij Argentine, določali vsebnost 19 elementov, med njimi kadmija, kobalta, železa, kalija, magnezija, mangana, natrija, niklja, svinca, selena, cinka, idr. Ugotovili so, da analizirani argentinski medovi vsebujejo daleč največji delež kalija, sledijo pa mu natrij, magnezij, kalcij, železo, mangan in cink. Ostali elementi so bili prisotni le v sledovih (Conti in sod., 2014).

2.5.4 Vitamini

Med vsebuje predvsem v vodi topne vitamine. To so vitamini skupine B (tiamin (B1), riboflavin (B2), nikotinska kislina (B3), pantotenska kislina (B5), piridoksin (B6), biotin (B8), folna kislina (B9)) ter vitamin C (L-askorbinska kislina). Ti pridejo v med s cvetnim prahom (Božnar, 2003; da Silva in sod., 2016).

Določanje vitaminov v živilih je pogosto težavna naloga, saj se med skladiščenjem in predelavo vsebnost vitaminov zmanjšuje. V medu pa na zmanjšano vsebnost vitaminov močno vpliva filtracija, s katero odstranimo del cvetnega prahu ter oksidacija askorbinske kisline pod vplivom vodikovega peroksida, ki ga proizvaja glukoza oksidaza (Ciulu, 2011).

Perna in sodelavci (2013) so v 90 vzorcih medu različnega botaničnega porekla (kostanjev, citrusov, evkaliptusov, medeničin in cvetlični med) s področja južne Italije, določali vsebnost L-askorbinske kisline. Med vsemi analiziranimi medovi močno izstopa cvetlični med, ki vsebuje največ L-askorbinske kisline, in sicer 0,54 mg/100 g medu. Med vrstnimi medovi je imel največ L-askorbinske kisline med kostanja (0,39 mg/100 g), sledili so mu evkaliptusov (0,38 mg/100 g), medeničin (0,36 mg/100 g) in citrusov med (0,27 mg/100 g). V vseh analiziranih vzorcih medu so ugotovili prisotnost L-askorbinske kisline.

2.6 ANTIOKSIDANTI

Živila bogata z antioksidanti imajo sposobnost nevtralizacije prostih radikalov. To jim omogoča značilna kemijska zgradba, najmanj en aromatski obroč, na katerega je neposredno vezana ena ali več hidroksilnih (-OH) skupin (Socha in sod., 2011; Kapš, 2012).

Med spojine z antioksidativnim učinkom, ki jih zasledimo v medu, sodijo vitamina C in E, karotenoidi, produkti Maillardove reakcije, encimi glukoza oksidaza, peroksidaza in katalaza ter kompleksnejše spojine. Mednje prištevamo fenolne spojine, ki jih delimo na enostavne fenolne spojine, kamor sodijo fenolne kisline ter polifenolne spojine, ki obsegajo tanine in flavonoide (Aljadi in sod., 2004; Kapš, 2012; Gašić in sod., 2014).

Ker vsebuje nektar, ki ga čebele predelajo v med, kar 30 do 90 % vode, je velika verjetnost, da je večina antioksidantov v medu topnih v vodi. Sicer pa v medu zasledimo tudi v maščobi topne antioksidante, kot so karotenoidi in α -tokoferol (Pichichero in sod., 2009).

Stopnja antioksidativne učinkovitosti in vsebnost fenolnih spojin v medu je v manjši meri odvisna od predelave in skladiščenja medu, v večji pa od sezonskih in geografskih dejavnikov ter botaničnega porekla nektarja (Pichichero in sod., 2009; Silva in sod., 2013). Izvor nektarja lahko določimo glede na vrsto in količino prisotnih fenolnih kislin in flavonoidov v medu. Tako je flavonoid hesperetin značilna komponenta rožmarinovega, kvercetin sončničnega in luteolin sivkinega medu (Socha in sod., 2011).

Poleg tega lahko iz barve medu sklepamo, kakšna je njegova antioksidativna učinkovitost. Na barvo medu poleg vsebnosti elementov, cvetnega prahu, pigmentov in nečistoč vpliva tudi vrednost pH, stopnja kristalizacije, morebitna toplotna obdelava ter čas skladiščenja medu. Tako je za temnejše vrste medu značilna višja, za svetlejša pa nekoliko nižja antioksidativna učinkovitost (Bertoncelj, 2010; Bertoncelj in sod., 2011; Socha in sod., 2011).

Nagai in sodelavci so leta 2001 določali antioksidativni učinek ajdovega, akacijevga medu in medu grahovca (kitajsko zelišče). Dokazali so, da ima ajdov med, kot najtemnejši izmed analiziranih vzorcev, najvišjo antioksidativno učinkovitost, značilno svetlo obarvan akacijev med pa najnižjo. Kuš in sodelavci (2014) poročajo, da imata ajdov med in med jesenske rese v primerjavi z medom oljne ogrščice, zlate rozge ter lipovim in akacijevim medom, bistveno višjo antioksidativno učinkovitost ter vsebujeta več fenolnih spojin.

2.6.1 Določanje antioksidativne učinkovitosti medu

Metode za določanje antioksidativne učinkovitosti naravnih snovi se med seboj precej razlikujejo in tako temeljijo na različnih principih.

Pri določanju antioksidativne učinkovitosti medu uporabljamo analizne metode, ki temeljijo na spektroskopskih in kemometričnih metodah. Mednje prištevamo:

- Folin-Ciocalteuovo metodo za kvantifikacijo fenolnih spojin,
- DPPH metodo za določanje antioksidativnega potenciala medu, na podlagi sposobnosti lovljenja prostih radikalov,
- FRAP metodo za določanje antioksidativnega potenciala medu, z redukcijo Fe^{3+} do Fe^{2+} ,
- ORAC metodo za določanje antioksidativne vrednosti z merjenjem kapacitete absorbance kisikovih radikalov (Beretta in sod., 2005; Ferreira in sod., 2009; Šegatin in sod., 2011).

2.6.1.1 Metoda DPPH

Uporablja se za določanje antioksidativne učinkovitosti in je ena od najstarejših indikatorskih metod. Že leta 1950 jo je vpeljal Blois, ko je želel odkriti donorje vodika (Molyneux, 2004).

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) je relativno stabilen prosti radikal, ki ne tvori dimer in v katerem je prost elektron delokaliziran preko cele molekule. Pri redukciji DPPH pride do zmanjšanja absorbance pri 517 nm ter spremembe barve iz vijolične v rumeno, kar nam omogoči spektrofotometrično določanje koncentracije DPPH (Molyneux, 2004; Šegatin in sod., 2011).

Ko radikal DPPH[•] pride v stik z antioksidanti, ti prenesejo elektron ali vodikov atom k DPPH[•] in tako nevtralizirajo njegov prosti radikal. Reakcija je podana v obliki enačbe, kjer je DPPH radikal predstavljen kot Z[•], donor vodika kot AH, ZH pomeni reducirano obliko DPPH in A[•] je prosti radikal, ki nastane pri prvi stopnji radikalne reakcije.



Takšna reakcija prevladuje v polarnih in protičnih topilih, kot sta metanol in etanol. Pri poskusu primerjamo razbarvanje DPPH brez prisotnosti antioksidanta in ob prisotnosti antioksidanta. Pri tem velja, da je zmanjšanje absorbance metanolne raztopine DPPH[•] pri 517 nm sorazmerno koncentraciji in antioksidativni učinkovitosti antioksidanta. Dobljene rezultate lahko nato izrazimo na dva načina, in sicer kot koncentracijo učinkovitosti (IC₅₀) ali kot delež inhibicije (%) (Molyneux, 2004; Šegatin in sod., 2011; Dawidowicz in sod., 2015).

Koncentracija učinkovitosti je parameter, ki omogoča razlaganje rezultatov analize z metodo DPPH. Definiran je kot koncentracija antioksidanta, ki povzroči 50 % redukcijo radikala DPPH[•]. Sicer pa velja, da manjši ko je parameter IC₅₀ za vzorec medu, večja je njegova antioksidativna učinkovitost. Obratno pomeni večji delež inhibicije (%) večjo antioksidativno učinkovitost.

Sposobnost lovljenja radikalov lahko izrazimo kot delež inhibicije (%):

$$\text{Inhibicija (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \cdot 100 \quad \dots (2)$$

A₀ predstavlja absorbanco kontrolnega vzorca ob času 0, A_s pa absorbanco testiranega vzorca pri določenem času (Dawidowicz in sod., 2012; Šegatin in sod., 2011; Ameta in sod., 2014).

Socha in sodelavci (2011) so z metodo DPPH določali antioksidativno učinkovitost sedmih vrst poljskega medu. Reakcijsko mešanico 50 µL metanolnega ekstrakta medu (4 % raztopina medu) in 2 mL 100 µM raztopine DPPH v metanolu so inkubirali 60 minut pri sobni temperaturi in ugotovili, da ima ajdov med najvišjo antioksidativno učinkovitost (46,40 %), sledijo lipov, cvetlični, nektarno-manin, manin in akacijev med. Med oljne ogrščice je imel najnižjo antioksidativno učinkovitost (18,21 %).

Pichichero in sodelavci (2009) so analizirali vzorce medu s področja južne Italije. Koncentracijo medu v vodni raztopini so prilagajali želenemu deležu inhibicije, to je 50 %. Raztopine medu so bile temu primerno pripravljene v območju 30-600 µg/mL. Reakcijsko mešanico 100 µL raztopine medu, 1,9 mL 130 µM raztopine DPPH v 96 % etanolu in 1 mL acetatnega pufra (pH 5,5) so inkubirali 90 minut v temi, pri temperaturi 37 °C. Ugotovili so, da imajo medovi iz mane, akacije in pomaranče višjo antioksidativno učinkovitost kot med medenice, timijana in cvetlični med.

2.6.2 Fenolne spojine

Fenolne spojine so prisotne v vseh rastlinah. Imajo najmanj en aromatski obroč z eno ali več hidroksilnimi (-OH) spojinami, ki so direktno vezane na obroč. Njihova strukturna oblika se spreminja od enostavnih fenolnih molekul do kompleksnejših spojin, kjer je združenih več fenolnih skupin. V tem primeru jih imenujemo polifenoli (Kapš, 2012; Chen in sod., 2015).

Koncentracija in sestava fenolnih spojin v medu je odvisna od botaničnega porekla medu, ki variira glede na geografske, okoljske in sezonske dejavnike. Aljadi in sodelavci (2004), Escuredo in sodelavci (2013), Gašić in sodelavci (2014), Silva in sodelavci (2014) ter mnogi drugi, so dokazali širok nabor fizioloških lastnosti, ki jih pripisujemo fenolnim spojinam. Te zaradi antioksidativnega delovanja (predvsem lovljenja radikalov) delujejo tudi antialergeno, antiaterogeno, antiinflamatorno (protivnetno), antimikrobno in antikancerogeno (Kapš, 2012; Chen in sod., 2015).

Delitev fenolnih spojin v medu je naslednja (Robbins in Bean, 2004):

- polifenolne spojine
 - tanini
 - flavonoidi
- enostavne fenolne spojine
 - fenolne kisline

2.6.2.1 Flavonoidi

Flavonoidi so rastlinske snovi, ki jih ljudje sami ne moremo sintetizirati. Nahajajo pa se v sadju, zelenjavi, zeliščih, žitih, stročnicah, zrnih ter medu, kjer njihova prisotnost variira glede na botanične in geografske dejavnike ter klimatske razmere okolja (Bertoncelj in sod., 2011; Kapš, 2012).

Flavonoide imenujemo tudi polifenolni flavonski derivati in so v rastlinah prisotni v precejšnjih koncentracijah. Kot sestavni del rastlin jih najdemo v listih, sadežih in cvetnem prahu. Do sedaj so že potrdili prisotnost flavonoidov v brezi, cvetovih bezga, gloga in lipe, njivski preslici, listih ginka in cvetovih ajde (Bertoncelj in sod., 2011; Kapš, 2012).

Poznanih je več kot 5000 različnih flavonoidov. Njihovo delovanje je lahko neposredno, z lovljenjem prostih radikalov ali posredno in tako varujejo vitamin C pred oksidacijo. V medu jih delimo v 3 večje skupine: flavone (krizin, luteolin, galangin), flavonole (kvercetin, kampferol, miricetin, izoramnetin) ter flavanone (pinocembrin, pinobanksin, pinostrobin, naringenin, hesperetin, eriodiktio) (Balasundram in sod., 2006).

V medu najdemo manjše količine flavonoidov. Izvirajo iz cvetnega prahu, nektarja, propolisa in čebeljega voska (Soler in sod., 1995). Analiza sedmih vrst slovenskega medu, ki so jo opravili Bertonecelj in sodelavci (2011) je pokazala, da v vseh vzorcih medu prevladujejo flavonoidi pinocembrin, pinobanksin, krizin in galangin, ki izvirajo iz propolisa. Njihova koncentracija je bila najvišja v vzorcih akacijevnega in cvetličnega medu. Pasini in sodelavci (2013) so določali vsebnost flavonoidov v ajdovem medu. Ugotovili so, da je pinobanksin glavni flavonoid ajdovega medu, saj zavzema kar 21 % skupne vsebnosti flavonoidov. Ta je znašala 3,45 mg_K/kg v 10 vzorcih ajdovega medu. Silva in sodelavci (2013) so dokazali prisotnost flavonoidov v osmih od devetih vzorcev brazilskega medu jandaire (*M. subnitida*). Določali so prisotnost flavonona naringenina ter dveh flavonolov-izorhamnetina in kvercetina. Njihova vsebnost je naraščala v naslednjem vrstnem redu: izorhamnetin, kvercetin in naringenin.

Nekatere vrste medu vsebujejo značilne flavonoide, ki jih pravimo markerji ali označevalci. Ti so značilni samo za posamezno vrsto medu (Tomás-Barberán in sod., 2001). Tomás-Barberán in sodelavci (2001) navajajo, da so za evkaliptusov med značilni flavonoidi triacetin, miricetin, kvercetin, luteolin in kamferol, za citrusni med hesperetin, rožmarinov med kamferol ter za sončnični med kvercetin.

2.6.2.2 Fenolne kisline

Fenolne kisline, tako kot flavonoide, najdemo v živilih rastlinskega izvora. Vplivajo na barvo, senzorične, prehranske in antioksidativne lastnosti živil. Delimo jih na hidroksibenzojske in hidroksicimetne kisline. Med hidroksibenzojske kisline sodijo galna, protokatehinska, vanilinska, *p*-hidroksibenzojska in siriginska kislina. V drugi skupini pa najdemo *p*-kumarno, kavno, ferulno in sinapinsko kislino. Strukturne razlike med podskupinama so majhne, koncentracija teh snovi v rastlinah, pa variira (Blasa in sod., 2006; Kapš, 2012).

Rezultati različnih raziskav kažejo, da različne vrste medu vsebujejo dokaj podobne fenolne spojine, vendar v različnih koncentracijah (Kapš, 2012). Aljadi in sodelavci (2004) navajajo, da so v medu čajevca določili galno, ferulno, kavno, benzojsko in cimetno kislino. V kokosovem medu so določili galno, kavno in benzojsko kislino, poleg neidentificiranih fenolnih spojin. Gašić in sodelavci (2014) so določali prisotnost posameznih in vsebnost skupnih fenolnih spojin, v 58 vzorcih cvetličnega medu iz različnih področij Srbije. Analizirani vzorci iz področja Vojvodine in Zlatibora so vsebovali spojine iz skupine hidroksibenzojskih (galna, elagična in protokatehinska kislina) in hidroksicimetnih kislin (kavna, *p*-kumarna in ferulična kislina). V vseh vzorcih medu so določili prisotnost podskupin flavonoidov: flavone (luteolin in apigenin), flavonole (kvercetin, galangin in kamferol) ter flavanone (pinobanksin). Prav tako so v vseh vzorcih ugotovili veliko vsebnost flavonoidov galangina, krizina in pinocembrina, ki jih sicer najdemo v propolisu.

2.6.2.3 Folin-Ciocalteujeva metoda

Je spektrofotometrična metoda, s katero določamo vsebnost skupnih fenolnih spojin. Uspešno jo uporabljamo za karakterizacijo vzorcev vina, žganih pijač, sadnih sokov, nekaterih žit in seveda medu (Chen in sod., 2015).

Folin-Ciocaltejev (FC) reagent ali fosfomolibdovolframat, je mešanica molibdata in volframata v bazičnem mediju. Ta reagira z fenolnimi spojinami in antioksidanti. Donor elektrona je fenoksidni anion, ki nastane iz fenolne -OH skupine v alkalnem. Reducirana oblika kompleksa, heteropolimolibden, je značilno modre barve, z intenzivno absorbanco pri 750 nm. Nastala modro obarvana raztopina je stabilna od 30 do 60 minut. Intenzivnost modrega obarvanja je odvisna od koncentracije fenolnih spojin. Vsebnost skupnih fenolnih spojin, ki smo jih določili s Folin-Ciocaltejevo metodo, izražamo kot ekvivalentno maso galne kisline (GA) (Beretta in sod., 2005; Ferreira in sod., 2009; Chen in sod., 2015).

Beretta in sodelavci (2005) so na podlagi analize različnih vrst medu, med drugim akacijevega, ajdovega, regratovega, cvetličnega in kostanjevega medu, dokazali, da imajo temnejše obarvani medovi večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin v primerjavi s svetlejšimi medovi. Tako vsebuje ajdov med največji delež fenolnih spojin (482 mg_{GA}/kg medu), kostanjev nekoliko manj (211 mg_{GA}/kg medu), sledijo mu cvetlični, regratov in akacijev med. V slednjem so določili 55 mg_{GA}/kg medu.

Ghedolf in sodelavci (2002) navajajo, da je vsebnost fenolnih spojin v medu odvisna od njegovega botaničnega izvora, kar so z analizo tudi dokazali. V vzorcih ajdovega medu so določili najvišjo vsebnost skupnih fenolnih spojin, ki je v povprečju znašala 626 mg_{GK}/kg medu. Sledili so: med soje (269 mg_{GA}/kg), božične jagode (250 mg_{GA}/kg), tupela (*Nyssa aquatica*) (183 mg_{GA}/kg), detelje (128 mg_{GA}/kg), ciperja (62 mg_{GA}/kg) in akacije (46 mg_{GA}/kg). V nekaterih vzorcih medu fenolnih kislin niso mogli določiti.

Fenolne spojine v medu lahko analiziramo na več načinov. Kot rečeno, s Folin-Ciocaltejevo metodo določamo vsebnost skupnih fenolnih spojin, medtem ko se za določanje posameznih fenolnih spojin poslužujemo HPLC tehnik (Vrhovšek, 2001). Slednje nam omogočajo določitev tudi botaničnega in geografskega porekla nekaterih vrst medu, na osnovi profila fenolnih spojin (Yao in sod., 2003).

Pasini in sodelavci (2013) so s Folin-Ciocaltejevo metodo določili, da je povprečna vsebnost skupnih fenolnih spojin v 10 vzorcih ajdovega medu, znašala 22,14 mg_{GA}/kg. Za določitev prisotnosti posameznih fenolnih spojin so uporabili metodo HPLC in tako ugotovili, da v analiziranih vzorcih ajdovega medu prevladujeta *p*-kumarna (29,5 %) in *p*-hidrobenzojska (21 %) kislina. Relativno velik delež (20 %) skupnih fenolnih spojin je predstavljala neidentificirana fenolna kislina. V vzorcih ajdovega medu so bile v manjših koncentracijah prisotne tudi protokatehinska, benzojska, izoferulna, kavna in ferulna kislina.

2.7 CVETNI PRAH V MEDU

Glede na Pravilnik o medu (2011) lahko med poimenujemo po vrsti medu takrat, kadar njegove fizikalno-kemijske, senzorične in mikroskopske lastnosti ustrezajo določeni vrsti medu. Med mikroskopske lastnosti sodijo vsebnost cvetnega prahu ter vsebnost elementov mane, ki so sestavni del mane (Golob in sod., 2008).

Pelodna analiza ali melisopalinologija je mikroskopska analiza cvetnega prahu, ki omogoča določevanje in kontroliranje geografskega in botaničnega izvora medu, nam poda informacije o točenju medu, fermentaciji in higienskih vidikih, kot so onesnaženje s kvasovkami, zrcni škroba, prahom ali sajami. Prav tako služi kot dopolnitev fizikalno-kemijskim in senzoričnim analizam (Babnik, 1998; Golob in sod., 2008; Sabo in sod., 2011).

Primer sinhronega delovanja med senzorično in mikroskopsko preiskavo medu je v situaciji, ko senzorična analiza pri preskuševalcu prebudi zaznavo arome po nečem znanem, z melisopalinološko preiskavo pa to zaznano aromo točneje definiramo (Piana in sod., 2004).

2.7.1 Vir in sestava cvetnega prahu v medu

Čebele nabirajo cvetni prah na različnih cvetovih rastlin. Številne laboratorijske raziskave nakazujejo, da cvetni prah vseh rastlin ni enako kakovosten za čebele. Tudi čebele na nekaterih rastlinah cvetni prah nabirajo raje, kot na drugih (Cook in sod., 2003; Golob in sod., 2008).

Primarni vir peloda so žužkocvetne rastline, ki poleg peloda vsebujejo še nektar. V manjši meri čebele obiskujejo tudi vetrocvetke, kot so hrast, koruza, leska in vrba, kjer nabirajo le cvetni prah (Golob in sod., 2008).

Cvetni prah, ki predstavlja čebelam edini vir beljakovin, vsebuje še maščobe, ogljikove hidrate, aromatične snovi, minerale in vitamine. Poleg medu in vode je glavna hrana čebel. Z njim hranijo ličinke in mlade čebele, saj vsebuje za življenje pomembne snovi, ki pogojujejo njihov hiter razvoj (Meglič, 2004; Golob in sod., 2008; Kapš, 2012; Dimou in sod., 2014).

Nekatere vrste peloda vsebujejo več beljakovin kot druge. Tiste z večjo vsebnostjo (več kot 20 %) bolj vplivajo na rast in razvoj čebel, kot tiste z nižjo. Hranilna vrednost cvetnega prahu z večjo vsebnostjo beljakovin pa se v primeru nezadostnega deleža esencialnih aminokislin zmanjša. Za rast in razvoj čebel so najbolj pomembne esencialne aminokisliline, med katere sodijo izolevcin, levcin in valin (Cook in sod., 2003; Dimou in sod., 2014).

Cvetni prah lahko glede na kakovost, razdelimo v več skupin. Na podlagi analiz Maurizio (1975) cvetni prah deli v tri skupine kakovosti. V prvo sodi cvetni prah z največjo hranljivostjo, ki ga čebele dobijo na sadnih drevjih, ajdi, detelji, oljni ogrščici, divjem in pravem kostanju ter vrbi. V drugo skupino prištevamo cvetni prah srednje kakovosti, ki ga naberejo na javorju, regratu, hrastu, bukvi, jelši, brestu, leski in plavici. Slabši pelod, značilen za vse vrste iglavcev, pa najdemo v tretji skupini.

2.7.2 Botanični izvor medu

Vsaka cvetna vrsta ima zanjo značilen cvetni prah. Zrno cvetnega prahu, imenovano tudi pelodno zrno ali pelod, je večinoma okrogle ali jajčaste oblike, z bičkom ali brez in meri od 2 do 250 mikronov (Kapš, 2012). Vendar pa se zrnca ne razlikujejo le po obliki in velikosti, temveč tudi po strukturi površine, številu, legi, velikosti in obliki odprtin (Babnik, 1998).

Vzorci na površini peloda so tako značilni, da lahko z njihovo pomočjo razlikujemo pelod posameznih družin, rodov in vrst rastlin (Golob in sod., 2008). Različna sestava peloda, ki se razlikuje med rastlinami, na katerih ga čebele nabirajo, vpliva na kakovost medu ter njegov vonj, okus in barvo (Sabo in sod., 2011; Kapš, 2012).

Glede na pogostost cvetnega prahu v medu, ga razdelimo v štiri razrede:

1. razred: vodilni, prevladujoči pelod (predstavlja več kot 45 % skupne vsebnosti peloda);
2. razred: spremljajoč, sekundarni pelod (srednja vsebnost; 16-45 % vsega peloda);
3. razred: pomemben posamičen, redkeje prisoten pelod (zelo majhna vsebnost; 3-15 % vsega peloda).
4. razred: posamičen, redek pelod (predstavlja manj kot 3 % skupne vsebnosti peloda).

Zapišemo tudi vsebnost peloda, ki smo ga med analizo le opazili (Golob in sod., 2008; Zhou in sod., 2012; Dimou in sod., 2014).

Med, pridobljen iz nektarja ali mane, mora vsebovati vsaj 45 % cvetnega prahu ene vrste rastlin, da govorimo o vrsti medu (Meglič, 2008; Sabo in sod., 2011). Poleg tega mora imeti tudi barvo, okus in vonj, značilen za med iz te rastlinske vrste (Golob in sod., 2008). Sicer pa tudi med vrstnimi medovi prihaja do razlik v vsebnosti cvetnega prahu. Tako mora kostanjev med vsebovati najmanj 90 % cvetnega prahu kostanja, akacijev in lipov med pa lahko vsebujeta manj kot 45 % cvetnega prahu svoje vrste (Kandolf, 2010). Cvetlični in gozdni med ne sodita med vrstne medove, saj v medu ne prevladuje pelod ene vrste rastline. Medovi iglavcev, kot sta smrekov in hojev med, vsebujejo mano, zato določanje cvetnega prahu v teh vzorcih ni smiselno (Golob in sod., 2008).

Vzrok za različno količino peloda v medu so različne zgradbe cvetov in število prašnikov. Velik vpliv ima tudi oddaljenost paše od čebelnjaka, način čebelarjenja in vsebnost vode v medu. Nektar, ki je bolj razredčen, vsebuje več peloda, kot bolj koncentriran (Golob in sod., 2008).

Kretavičius in sodelavci (2010) so določali botanično sestavo medov iz različnih področij Litve. Na podlagi opravljene mikroskopske analize navajajo, da je v dveh vzorcih prevladoval pelod ajde in v dveh pelod oljne ogrščice. Peti vzorec je vseboval največ peloda travniškega cvetja (39 %) in sadnega drevja (35 %), kar so deklarirali kot cvetlični med. Zhou in sodelavci (2013) navajajo, da je bilo 23 vzorcev kitajskega medu žižule, po večini iz nektarja ene same rastlinske vrste, saj je vsebnost prevladujočega peloda vrste *Ziziphus jujuba* Mill., znašala med 54 in 91 %.

2.8 SENZORIČNE LASTNOSTI MEDU

Med glavne senzorične lastnosti medu prištevamo barvo, vonj, okus in aromo. Ti parametri so pomembni pri določanju vrste in kakovosti medu, ki nam omogoča odkrivanje tistih lastnosti medu, ki jih z drugimi analizami ni mogoče izmeriti. Vsaka vrsta medu ima specifične značilnosti, ki nekoliko variirajo od letnika do letnika (Meglič, 2004; Silvano in sod., 2014).

Senzorične lastnosti variirajo glede na botanični in geografski izvor, količino in razmerje posameznih sestavin v medu (sladkorjev, beljakovin, aminokislin, barvil, organskih kislin in mineralnih snovi), vremenske razmere, čas medenja, čebelarsko prakso ter pogoje skladiščenja medu (Golob in sod., 2008; Silvano in sod., 2014).

Barva medu zajema vse barvne tone od svetlih do temnih in izvira iz prisotnih rastlinskih pigmentov, kot so karoteni, ksantofili, klorofili, antociani, polifenoli in flavonoidi. Nanjo vpliva več dejavnikov: barva oziroma starost satja, barva nektarja, vsebnost cvetnega prahu v medu, procesi spreminjanja mane in nektarja v med ter obdelava medu - segrevanje in kristalizacija (Golob in sod., 2008; Belay in sod., 2015).

Med s kristalizacijo posvetli, stopnja spremembe barve pa je odvisna od sestave medu in prvotne barve. Temnenje medu se običajno pojavi dokaj hitro in je posledica skladiščenja pri višjih temperaturah. Pri tem pride do karamelizacije sladkorjev in Maillardove reakcije, kjer reducirajoči sladkorji (glukoza in fruktoza) reagirajo z beljakovinami in aminokislinami. Nastanejo pigmenti rjavo-rdeče barve (Golob in sod., 2008; Belay in sod., 2015). Barva svežega medu je odvisna od mineralne sestave in botaničnega izvora ter je tako uporabna informacija pri določanju vrste medu. Barva medu je v tesni povezavi z okusom. Svetleje obarvani medovi so bolj blage arome, za temnejše medove pa je značilna bolj intenzivna in dlje obstojna aroma (Belay in sod., 2015).

Za vonj medu so odgovorne hlapne organske komponente. Identificirali so že več kot 300 hlapnih komponent, med katere prištevamo tudi alkohole, ketone, aldehide, terpene, eterična olja, karbonilne spojine ter estre alifatskih in aromatskih kislin. Te hlapne spojine, ki izhajajo iz aromatičnih sestavin nektarja oziroma mane posameznih rastlin, so prisotne v različnih količinah in razmerjih ter tako omogočajo razlikovanje med vrstami medu (Golob in sod., 2008; Castro-Vázquez in sod., 2009).

Aroma medu je posledica skupne zaznave okušalnih, vonjalnih in tipalnih zaznav v ustih. Za vsak tip medu je značilna specifična aroma, ki jo sestavljajo značilna nota, intenzivnost in obstojnost. Aromatične spojine so precej hlapne in hitro hlapijo pri višjih temperaturah (Golob in sod., 2008). Na aromo medu v veliki meri vplivajo organske snovi, kamor prištevamo aromatične alkohole, aldehide, ogljikovodike, karbonilne spojine, kisline in njihove estre (Golob in Plestenjak, 1999; Golob in sod., 2008). Pri pregrevanju ali če med predolgo pustimo nepokritega, se del aromatičnih snovi izgubi (Meglič, 2004; Kapš, 2012). Kaškonien in sodelavci (2008) so določali aromatične spojine v medu oljne repice. Identificirali so približno 100 spojin, kot so alkoholi, aldehidi, kisline, terpeni in ketoni. Vzorce medu so 3 mesece hranili pri sobni temperaturi in ponovili analizo. Ta je pokazala, da so se nekatere prej prisotne aromatične spojine razgradile, nastale pa so nove, kot so dimetil sulfid, 2-metilbutannitril, dimetil disulfid, oktanal, nonanal idr.

Ruisinger in Schieberle (2012) sta na podlagi fizikalno-kemijskih in senzoričnih analiz medu oljne ogrščice želela določiti aromatične spojine, ki mu dajejo značilno aromo. Ugotovila sta, da je pri tem ključnih le 12 aromatičnih spojin. Mednje sodijo produkti fermentacije (2,3-butandion), produkti razpadlih aminokislin (fenilacetaldehid, 3-metilbutanal) ter nekatere fenolne spojine (4-alil-2-metoksifenol, 2-metoksi-4-vinilfenol).

Okus razkriva botanični izvor in avtentičnost medu. Zaznavamo ga s štirimi osnovnimi okusi: sladko, slano, kislo in grenko. Ker se okus spreminja glede na razmerje med posameznimi sladkorji, kislinami in mineralnimi snovmi, je za vsako vrsto medu značilen nekoliko drugačen okus. Sicer v medu prevladuje okus po sladkem. Ta je pomemben predvsem iz gastronskega vidika, saj je fruktoza dvainpolkrat slajša kot glukoza ter enainpolkrat slajša kot saharoza (Golob in Plestenjak, 1999; Golob in sod., 2008).

Intenzivnost sladkega okusa medu se pri različnih vrstah močno razlikuje. Razlog je različno razmerje med glukozo, fruktozo in saharozo ter prisotnost mineralnih snovi in kislin, ki prekrivajo sladek okus medu. Pogosto ocenjujemo tudi kislost medu, ki jo povzročajo različne organske in anorganske kisline. Grenak okus, ki je najbolj značilen za kostanjev med, zaznavamo redkeje. Slanega pa tako rekoč ne poznamo in ga, predvsem v nektarnem medu, obravnavamo kot znak tujega, neznačilnega okusa medu (Golob in Plestenjak, 1999; Golob in sod., 2008).

Senzorične lastnosti medu vrednotimo z različnimi metodami senzorične analize. V magistrski nalogi smo uporabili metodo opisne analize s pomočjo modificiranega Kolesa vonjev in arom, ki ga je Mednarodna komisija za med (IHC, International Honey Commission) sprejela kot metodo za poenotenje opisovanja vonja in arome medu. Obsega sedem glavnih skupin: 1. tople note, 2. po cvetju in svežem sadju, 3. po svežem, 4. po kemikalijah, 5. lesne note, 6. rastlinske note ter 7. po pokvarjenem (Piana in sod., 2004). Od leta 2012 je Kolo vonjev in arom v postopku posodobitve in harmonizacije, aktualna sestava je navedena v preglednici 1.

Preglednica 1. Skupine in podskupine za posodobljeno Kolo vonjev in arom (Korošec in sod., 2014)

Skupina	Podskupina
CVETLIČNA	nežna, fina
	težka
SADNA	po svežem sadju
	po tropskem sadju
	po predelanem sadju
	po fermentiranem sadju, po vinu
TOPLA	nežna / mlečna
	po kandiranem / sladu / pečenem / zažganem
AROMATIČNA	po začimbah
	po smoli
	balzamična
	po citrusih
RASTLINSKA	po zelenem
	po suhem
	po vlažnem, zatohlem
	po lesu
KEMIJSKA	po plastiki / topilih
	ostra
	po zdravilih
	po dimu
ANIMALNA	po fenolu
	po pokvarjenem, razpadajočem
	po žarkem
	po baldrijanu, valerijanski kislini
	po beljakovinah
	po žveplu

Senzorična analiza je dolgo veljala za subjektivno metodo. Vendar pa z razvojem metod, ki omogočajo znanstveno preskušanje živil, zagotavlja objektivne in ponovljive rezultate. Tako danes senzorično analizo uvrščamo med priznane in drugim vedam enakovredno disciplino (Golob in sod., 2006).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 VZORCI

Na 40 vzorcih različnih letnikov in različnih vrst slovenskega medu (ajdov, rešeljikov, javorjev med, med divje češnje), smo izvedli fizikalno-kemijske analize ter senzorično analizo. V preglednici 2 so predstavljene vrste medu ter oznake in skupno število vzorcev (*n*) v analizi.

Preglednica 2. Vrste medu, število vzorcev posamezne vrste in njihove oznake

Vrsta medu	Oznaka vzorcev	Skupno število vzorcev
Ajdov med (AJ)	AJ1, AJ2, AJ3, AJ4, AJ5	5
Rešeljikov med (R)	R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10, R11	11
Javorjev med (J)	J1, J2, J3, J4, J5, J6, J7, J8, J9, J10, J11, J12	12
Med divje češnje (Č)	Č1, Č2, Č3, Č4, Č5, Č6, Č7, Č8, Č9, Č10, Č11, Č12	12

Analizirani vzorci so bili pridelani v obdobju treh let, saj je letna količina in posledično številčnost vzorcev manj pogostih vrst majhna. Do analize smo vzorce hranili v stekleni embalaži, na hladnem v temi, da bi čim bolj ohranili prvotne lastnosti medu.

3.2 FIZIKALNO-KEMIJSKE METODE

Analizirali smo redke vrste medu, ki jih čebelarji ne pridobijo vsako leto, zato so bili starostno raznoliki. Vzorce medu smo do analize hranili v temnem hladnem prostoru, da bi bile spremembe lastnosti medu čim manjše. Kljub temu se nismo odločili za določanje vsebnosti hidroksimetilfurfurala (HMF), saj smo predvidevali, da vrednosti ne bi bile primerljive.

3.2.1 Določanje vsebnosti vode v medu z ročnim refraktometrom (AOAC 969.38, 1999)

Princip:

Določanje vsebnosti vode s pomočjo ročnega refraktometra temelji na osnovi merjenja lomnega količnika medu.

Aparature in pribor:

- Abbejev ročni refraktometer s prilagojeno skalo za med ter termometrom za temperaturno korelacijo (ATAGO, HHR-2N, Japonska),
- steklene čaše,
- steklene paličice.

Izvedba:

Pred merjenjem smo medove dobro premešali. Če je bil vzorec medu kristaliziran, smo ga v zaprti posodi segrevali na 50 °C do utekočinjenja, nato pa hitro ohladili na sobno temperaturo. Na merilno prizmo ročnega refraktometra smo nanесли tanko plast medu. Pri tem smo pazili, da je merilna prizma v celoti prekrita ter da ni prisotnih zračnih mehurčkov. Na skali refraktometra smo direktno odčitali vsebnost vode v %. Pri tem smo upoštevali temperaturno korelacijsko vrednost. Vsak vzorec medu smo izmerili na dveh refraktometrih ter dobljeni rezultat podali kot povprečno vrednost obeh določitev.

3.2.2 Konduktometrično določanje električne prevodnosti medu (Kropf in sod., 2008)Princip:

Določanje električne prevodnosti 20 % (w/w) vodne raztopine medu (glede na suho snov v medu) s konduktometrom pri temperaturi 20 °C, temelji na merjenju električne upornosti, ki je recipročna vrednost električne prevodnosti. Rezultat smo podali v mili Siemensih na centimeter (mS/cm).

Reagenti:

- destilirana voda,
- 0,1 M raztopina KCl za umerjanje celice konduktometra.

Aparature in pribor:

- konduktometer s temperaturno kompenzacijo CyberScan 510 PC,
- plastične čaše,
- steklene paličice.

Izvedba:

Odtehta medu je odvisna od količine vode, ki jo med vsebuje. Glede na to smo za vsak vzorec izračunali kolikšna je morala biti odtehta medu, da je končna raztopina (100 g) vsebovala 20 % masni delež suhe snovi. V plastično čašo smo odtehtali določeno količino medu, dolili destilirano vodo do 100 g ter mešali s stekleno paličico, dokler se med popolnoma ni raztopil. Pred merjenjem smo konduktometer CyberScan umerili z 0,1 M raztopino kalijevega klorida. Nato smo elektrodo sprali z destilirano vodo, jo obrisali do suhega, potopili v raztopino medu ter po 2 min odčitali izmerjeno vrednost. Meritev smo opravili v dveh ponovitvah. Izmerjene vrednosti nato podali kot povprečno vrednost.

3.2.3 Titrimetrično določanje vrednosti pH in skupnih (titrabilnih) kislin (AOAC 962.19, 1999)

Princip:

Titracija 10 % raztopine medu z 0,05 M raztopino NaOH do pH 8,5, ki ji sledi dodatek 10 mL 0,05 M raztopine NaOH in ponovna titracija z 0,05 M raztopine HCl do pH 8,3.

Reagenti:

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

Aparature in pribor:

- pH meter MA 5736 s stekleno elektrodo 4581,
- magnetno mešalo,
- steklene čaše,
- steklene paličice.

Izvedba:

Priprava vzorca: v 100 mL čašo smo odtehtali 10 g vzorca medu in ga raztopili v 75 mL destilirane vode. Tako pripravljenemu vzorcu smo dodali magnet, ga postavili na magnetno mešalo, potopili elektrodo pH metra v raztopino medu ter po 2 min odčitali vrednost pH. Titrirali smo z 0,05 M NaOH do pH 8,5 in zapisali porabo reagenta (V_a). Nato smo dodali 10 mL 0,05 M NaOH in titrirali z 0,05 M HCl do pH 8,3 ter zapisali porabo pri 2. titraciji (V_d). Raztopini HCl in NaOH smo standardizirali po standardnih postopkih.

Slepi vzorec: titracija 85 mL destilirane vode z 0,05 M NaOH do pH 8,5.

Račun:

Količino kislin izrazimo kot miliekvivalent v kilogramu vzorca (mekv/kg).

$$\text{Vsebnost prostih kislin (FA, mekv/kg): } FA = (V_a - V_b) \cdot C_{(NaOH)} \cdot 100 \quad \dots (3)$$

$$\text{Vsebnost laktonov (LA, mekv/kg): } LA = (10 \text{ mL} - V_d) \cdot C_{(HCl)} \cdot 100 \quad \dots (4)$$

$$\text{Vsebnost skupnih kislin (SK, mekv/kg): } SK = FA + LA \quad \dots (5)$$

V_a = volumen NaOH pri 1. titraciji vzorca (mL)

V_b = volumen NaOH pri titraciji slepega vzorca (mL)

V_d = volumen HCl pri 2. titraciji vzorca (mL)

3.2.4 Spektrofotometrično določanje diastaznega števila z metodo po Schadeju (Bogdanov, 2009)

Princip:

Metoda temelji na ugotavljanju hitrosti hidrolize škroba zaradi encima v medu. Količino škroba v reakcijski mešanici smo določali z jodom. Nastanek modro obarvanega produkta smo v določenih časovnih intervalih spremljali z merjenjem absorbance pri 660 nm. Diastazno število (DN) je definirano kot volumen 1 % raztopine škroba (mL), ki ga hidrolizira encim iz 1 g medu pri temperaturi 40 °C v eni uri.

Reagenti:

0,5 M raztopina NaCl: 2,9 g NaCl smo raztopili v prekuhani destilirani vodi, prenesli v 100 mL merilno bučko in dopolnili z destilirano vodo do oznake.

Acetatni pufer (pH 5,3): 43,5 g natrijevega acetata ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) smo raztopili v destilirani vodi, prenesli v 250 mL merilno bučko ter dodali 5 mL ledocetne kisline. Z destilirano vodo smo dopolnili do oznake.

Raztopina škroba:

Določitev suhe snovi v škrobu: odtehtali smo približno 2 g škroba in ga sušili 3 ure pri 105 °C. Nato smo tehtiče za 1 uro shranili v eksikatorju, da so se ohladili ter jih stehtali. Iz izgube mase smo določili vsebnost vode v škrobu oziroma vsebnost suhe snovi.

Priprava raztopine škroba: v 100 mL čašo smo odtehtali količino škroba, ki ustreza masi 2 g suhega škroba, dodali nekaj kapljic destilirane vode za rehidracijo škroba ter premešali. Nastala je gladka pasta, ki smo jo kvantitativno prenesli v 100 mL merilno bučko. Pri tem smo čašo spirali z vročo destilirano vodo, s katero smo tudi dopolnili merilno bučko do približno 60 mL. Bučko smo pokrili z aluminijasto folijo z luknjico, položili na kuhalnik ter pustili, da je raztopina 10 min počasi vrela. Vmes smo mešali. Po 10 min smo bučko hitro ohladili pod tekočo vodo in dopolnili z destilirano vodo do oznake.

Osnovna raztopina joda: 11 g joda (I_2) smo primešali 22 g kalijevega jodida (KI) in raztopili v 30 do 40 mL destilirane vode. Kvantitativno smo prenesli v 500 mL merilno bučko in dopolnili do oznake z destilirano vodo. Ker smo želeli preprečiti vpliv svetlobe na pripravljeno raztopino joda, smo bučko ovili z aluminijasto folijo in jo hranili v temnem prostoru.

Dnevna raztopina joda: Pripravili smo jo vsak dan, in sicer tako, da smo odtehtali 20 g kalijevega jodida (KI), prenesli v 500 mL merilno bučko ter raztopili v destilirani vodi. Dodali smo 2 mL osnovne raztopine joda, premešali ter dopolnili do oznake z destilirano vodo. Merilno bučko smo ovili z aluminijasto folijo.

Aparature in pribor:

- vodna kopel pri 40 °C,
- spektrofotometer Cecil CE2021 2000 series (valovna dolžina 660 nm),
- steklene čaše,
- steklene merilne bučke,
- steklene elermajerice,
- steklene paličice.

Izvedba:

Priprava vzorca: v 25 mL čašo smo odtehtali 10 g medu. Dodali smo 15 mL destilirane vode in 5 mL acetatnega pufra ter vzorec raztopili. V 50 mL merilno bučko smo odpipetirali 3 mL raztopine natrijevega klorida, dodali raztopino medu in dopolnili do oznake z destilirano vodo.

Določitev modre vrednosti škroba: v 100 mL elermajerico smo odpipetirali 5 mL raztopine škroba in 10 mL destilirane vode ter segrevali v vodni kopeli pri 40 °C. Medtem smo v šest 100 mL čaš odpipetirali po 5 mL dnevne raztopine joda in razredčili z različno količino vode (med 12 in 17 mL). Nato smo v prvo čašo dodali 0,5 mL na 40 °C segrete raztopine škroba, dobro premešali in takoj merili absorbanco pri 660 nm. Postopek smo ponovili pri ostalih petih čašah, dokler nismo dobili absorbance v območju med 0,770 in 0,745.

Slepi vzorec: 10 mL pripravljene raztopine vzorca smo dodali 5 mL destilirane vode ter premešali. V novo čašo smo odpipetirali 0,5 mL te raztopine, dodali 5 mL raztopine dnevnega joda in količino destilirane vode, ki smo jo določili za modro vrednost škroba ter dobro premešali. S tako pripravljeno raztopino smo napolnili kiveto, jo dali v spektrofotometer in pritisnili funkcijo »zero«, tako da je aparat sam od sebe odšteval vrednost slepega vzorca. Absorbanco smo merili takoj, pri valovni dolžini 660 nm.

Merjenje absorbance: iz 50 mL merilne bučke smo v 100 mL elermajerico prenesli 10 mL pripravljene raztopine medu, v 25 mL čašo pa odpipetirali 6 mL škrobne raztopine ter ju skupaj segrevali v vodni kopeli 15 min pri 40 °C. Po tem času smo v elermajerico dodali 5 mL raztopine škroba, sprožili štoparico in pustili v kopeli še 5 min. Medtem smo v novo čašo odpipetirali 5 mL raztopine dnevnega joda, dodali količino destilirane vode, ki ustreza modri vrednosti škroba ter 0,5 mL segrete raztopine škroba in medu, premešali in merili absorbanco pri valovni dolžini 660 nm. Meritev smo ponavljali v časovnih intervalih, dokler absorbanca ni padla pod vrednost 0,155. Narediti smo morali najmanj tri veljavne meritve.

Račun:

Za izris grafa, absorbanca (korigirana s slepim vzorcem) v odvisnosti od časa (t), smo potrebovali vsaj tri meritve oziroma točke, kjer je absorbanca med 0,456 in 0,155. Tako smo lahko potegnili premico in določili čas (t), ki je potreben, da je reakcijska zmes dosegla vrednost absorbance 0,235. Diastazno število (DN) smo izračunali tako, da smo število 300 delili s časom, izraženim v min. To število izraža aktivnost diastaze kot volumen (mL) 1 % raztopine škroba, ki jo encim iz 1 g medu hidrolizira v 1 uri pri temperaturi 40 °C.

3.2.5 Določanje antioksidativne učinkovitosti z metodo DPPH (Kowalski, 2013)Princip:

Metoda temelji na reakciji med antioksidativno komponento, ki je donor vodika, in stabilnim prostim radikalom DPPH[•]. Za DPPH[•] je značilen absorpcijski maksimum pri 517 nm. Reducirana oblika radikala DPPH[•], ki so zapišemo kot DPPH-H, je rumena, z absorpcijskim vrhom pri 320 nm. Koncentracijo DPPH[•] v reakcijski zmesi določamo s spektrofotometrom z merjenjem absorbance pri 517 nm.

Reagenti:

- 75 % etanol,
- 0,1 mM DPPH[•] (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) v 75 % etanolu,
- absolutni etanol,
- destilirana voda.

Aparature in pribor:

- spektrofotometer Cecil CE2021 2000 series (valovna dolžina 517 nm),
- avtomatske pipete,
- steklene epruvete,
- steklene čaše,
- steklene merilne bučke,
- steklene paličice.

Izvedba:

Priprava raztopine vzorca medu v koncentraciji 200 mg/mL: v čašo smo odtehtali 5,0 g vzorca medu in ga raztopili v približno 10 mL destilirane vode. Vzorec smo kvantitativno prenesli v 25 mL merilno bučko ter jo dopolnili do oznake z destilirano vodo.

Priprava reakcijske mešanice: v epruveto smo odpipetirali 0,75 mL raztopine medu, dodali 2,25 mL 0,1 mM raztopine DPPH[•] reagenta v 75 % etanolu in dobro premešali. Reakcijsko mešanico smo inkubirali 60 minut v temi, pri sobni temperaturi. Vsak vzorec medu smo analizirali v štirih vzporednih določitvah.

Merjenje absorbance: Spektrofotometer smo umerili s 75 % etanolom. Kot kontrolo smo vzeli 0,75 mL destilirane vode, ki smo ji dodali 2,25 mL 0,1 mM DPPH[•] reagenta in inkubirali v 60 min. v temi pri sobni temperaturi. Nato smo na spektrofotometru izmerili absorbanco pri valovni dolžini 517 nm.

Račun:

$$\% \text{ inhibicije} = \left(\frac{A_{\text{kontrola}} - A_{\text{vzorec}}}{A_{\text{kontrola}}} \right) \cdot 100 \quad \dots (6)$$

Zaradi boljšega opisa antioksidativne učinkovitosti (AU) smo pri rezultatih podali tudi maso medu in množino DPPH[•] v poskusu.

3.2.6 Določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin z modificirano Folin-Ciocalteujevo metodo (Bertoncelj, 2008)

Princip:

Spektrofotometrična metoda temelji na oksidaciji fenolnih spojin s Folin-Ciocalteuevim reagentom, ki vsebuje volframat in molibdat. Obarvani raztopini merimo absorbanco pri 750 nm. Za umeritveno krivuljo uporabimo raztopino galne kisline. Rezultate izrazimo v mg galne kisline oziroma kot ekvivalentno maso galne kisline na kilogram medu (mg_{GA}/kg medu) (Beretta in sod., 2005).

Reagenti:

- 10 % Folin-Ciocalteuev reagent (razredčen z destilirano vodo v razmerju 1:10),
- galna kislina,
- sladkorni analog (40 % fruktoze, 30 % glukoze, 10 % maltoze in 20 % vode),
- 96 % etanol,
- Na₂CO₃ (75g/L),
- destilirana voda.

Aparature in pribor:

- spektrofotometer Cecil CE2021 2000 series (valovna dolžina 750 nm),
- avtomatske pipete,
- steklene epruvete,
- steklene čaše,
- steklene merilne bučke,
- steklene paličice.

Izvedba:

Priprava vzorca: v čašo smo odtehtali 5,0 g vzorca medu in ga raztopili v približno 20 mL destilirane vode. Vzorec smo kvantitativno prenesli v 50 mL merilno bučko ter jo dopolnili do oznake z destilirano vodo.

Merjenje absorbance: v epruveto smo odpipetirali 100 μ L vzorca, dodali 1,0 mL Folin-Ciocalteujevega reagenta (FC) ter na stresalniku mešali 2 min. Po 20 min smo na spektrofotometru izmerili absorbanco pri valovni dolžini 750 nm. Za slepi vzorec smo vzeli sladkorni analog. Vsak vzorec medu smo analizirali v treh vzporednih določitvah. Koncentracijo skupnih fenolnih spojin v medu smo določili s pomočjo umeritvene krivulje (prilogi A1 in A2), ki smo jo pripravili z raztopinami galne kisline v koncentraciji od 8,0 do 120,0 mg/L. Rezultate podamo v $\text{mg}_{\text{GA}}/\text{kg}$ medu.

3.2.7 Spektrofotometrično določanje vsebnosti flavonoidov (Pereira in sod., 2013)Princip:

Spektrofotometrična metoda temelji na oksidaciji flavonoidov po dodatku reagentov: natrijevega nitrita (NaNO_2), aluminijevega klorida (AlCl_3) in natrijevega hidroksida (NaOH). Obarvani raztopini merimo absorbanco pri 510 nm. Za umeritveno krivuljo uporabimo raztopino katehina. Rezultate izrazimo v mg katehina oziroma kot ekvivalentno maso katehina na kilogram medu (mg_K/kg medu).

Reagenti:

- katehin,
- 5 % NaNO_2 ,
- 10 % AlCl_3 ,
- 4 % NaOH ,
- 95 % etanol,
- destilirana voda.

Aparature in pribor:

- spektrofotometer Cecil CE2021 2000 series (valovna dolžina 510 nm),
- avtomatske pipete,
- steklene epruvete,
- steklene čaše,
- steklene merilne bučke,
- steklene paličice.

Izvedba:

Priprava vzorca: v čašo smo odtehtali 5,0 g vzorca medu in ga raztopili v približno 20 mL destilirane vode. Vzorec smo kvantitativno prenesli v 50 mL merilno bučko ter jo dopolnili do oznake z destilirano vodo.

Merjenje absorbance: v epruveto smo odpipetirali 0,5 mL vzorca, 2,0 mL destilirane vode in 0,15 mL 5 % raztopine NaNO_2 , premešali na stresalniku ter počakali 6 min. Nato smo dodali 0,15 mL 10 % raztopine AlCl_3 , zopet premešali in po 6 min dodali še 2 mL 4 % raztopine NaOH ter 0,2 mL destilirane vode in premešali. Po 15 min smo na spektrofotometru izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu. Vsak vzorec medu smo analizirali v treh vzporednih določitvah. Koncentracijo flavonoidov v medu smo določili s pomočjo umeritvene krivulje (prilogi B1 in B2), ki smo jo pripravili z raztopinami katehina v koncentraciji od 0,1451 do 14,510 mg/100 mL. Rezultat podamo v mg_K/kg medu.

3.2.8 Določanje vsebnosti L-askorbinske kisline (vitamin C) v medu (Štajner in sod., 2014)

Princip:

L-askorbinska kislina je močan reducent, in kot tako jo določamo z oksidantom 2,6-diklorofenolindofenolom (DI-reagentom). Nastane obarvana raztopina, kateri spektrofotometrično določamo absorbanco pri 515 nm. Za umeritveno krivuljo uporabimo raztopino L-askorbinske kisline. Rezultate izrazimo v mg L-askorbinske kisline na 100 gramov medu ($\text{mg}/100 \text{ g}$ medu).

Reagenti:

- 1 % metafosforna kislina,
- 2,6-diklorofenolindofenol (DI-reagent),
- L-askorbinska kislina,
- dvakrat destilirana voda.

Aparature in pribor:

- spektrofotometer Cecil CE2021 2000 series (valovna dolžina 515 nm),
- plastični liji,
- filter papir NY 0,45 μm ,
- avtomatske pipete,
- steklene epruvete,
- steklene čaše,
- steklene merilne bučke,
- steklene paličice,
- terilnik in pestič.

Izvedba:

Priprava vzorca: v 25 mL čašo smo odtehtali 0,1000 g vzorca medu ter dodali 10 mL metafosforne kisline. Po 45 min smo dobljeno raztopino prefiltrirali skozi najlonski filter papir z velikostjo por 0,45 µm. Pri tem smo prve 3 kapljice filtrata zavrgli.

Merjenje absorbance: v epruveto smo odpipetirali 2 mL prefiltrirane raztopine medu in 8 mL DI-reagenta ter dobro premešali. Po 15 min smo na spektrofotometru izmerili absorbanco pri valovni dolžini 515 nm. Za slepi vzorec smo vzeli 2 mL prefiltrirane raztopine medu in 8 mL destilirane vode. Vsak vzorec medu smo analizirali v dveh vzporednih določitvah. Koncentracijo vitamina C v medu smo določili s pomočjo umeritvene krivulje (prilogi C1 in C2), ki smo jo pripravili z raztopinami L-askorbinske kisline v koncentraciji od 2,0 do 24,0 mg/L. Rezultat podamo v mg_{askorbinske kisline}/100 g medu.

3.2.9 Določanje sladkorjev z metodo HPAEC-PAD (Korošec in sod., 2009)Princip:

Vzorci medu raztopimo v dvakratni količini destilirane vode. Raztopino prefiltriramo in analiziramo z anionsko izmenjevalno kromatografijo visoke zmogljivosti (HPAEC) s pulzno amperometrično detekcijo (PAD). HPAEC-PAD metoda se uporablja za ločevanje posameznih sladkorjev v vzorcih medu. Omogoča kvantitativno ovrednotenje vsebnosti monosaharidov glukoze in fruktoze, disaharidov maltoze, izomaltoze, turanoze, saharoze in gentibioze ter oligosaharidov rafinoze, erloze, panoze, melicitoze, maltotrioze, palatinoze in izomaltotrioze.

Reagenti in material:

- Mobilna faza: 400 mM NaOH in dvakrat destilirana voda (90/10). Mešanico smo pred uporabo razplinili, s pomočjo ultrazvočne kopeli premešali in počakali, da se temperatura stabilizira. Paziti smo morali, da smo pripravili zadostno količino mešanice, saj smo jo potrebovali za analizo celotne serije vzorcev.
- Standardne raztopine sladkorjev: analitsko čiste standarde (Sigma) smo pripravili vsakega posebej. Nato smo v 10 mL bučke odtehtali standarde glukoze (3,45 mg), fruktoze (4,15 mg), turanoze (3,00 mg), palatinoze (3,00 mg), panoze (3,00 mg), saharoze (3,00 mg), maltoze (2,00 mg), erloze (2,00 mg), rafinoze (2,00 mg), gentibioze (2,00 mg), maltotrioze (2,00 mg) ter melicitoze (2,00 mg). Merilne bučke smo dopolnili do oznake z dvakrat destilirano vodo in jih za 5 minut položili v ultrazvočno kopel.

Aparature in pribor:

- tekočinski kromatograf Waters 2690 s kvarterno črpalko, avtomatskim podajalnikom vzorcev in elektrokemijskim detektorjem Coulochem III (Pulse Mode),

- kolona: anionsko izmenjevalna kolona RCX-10, dolžina 250 mm, širina 4,1 mm in velikost delcev 7 μm (Dionex),
- Millipore filtri za filtracijo vzorcev in standardov, z najlonsko membrano in velikostjo por 0,45 μm .

Izvedba:

Priprava vzorca: v 25 mL čašo smo odtehtali 1,0 g medu, dodali približno 10 mL dvakrat destilirane vode, razplinili in premešali v ultrazvočni kopeli (10 min). Dobro raztopljen vzorec smo kvantitativno prenesli v 25 mL merilno bučko ter jo dopolnili do oznake z dvakrat destilirano vodo. Tako pripravljeno raztopino medu smo prefiltrirali skozi filter s porami velikosti 0,45 μm v vijalo in jo hitro zaprli.

Izvedba analize: Ker smo imeli večje število vzorcev s širokim koncentracijskim razponom, smo naredili umeritveno krivuljo. Pred tem smo pripravili in analizirali raztopine standardnih sladkorjev z znanimi koncentracijami, ki zajemajo celoten interval pričakovanih koncentracij. Za umeritveno krivuljo smo injicirali naslednje volumne, in sicer za monosaharide, kjer je občutljivost 20 nC, 25, 45 in 65 μL ter za oligosaharide, kjer je občutljivost 500 nC, 5, 10 in 15 μL . Vzorce smo analizirali v dveh ponovitvah.

Izračun ter podrobnejši postopek določanja sladkorjev z metodo HPAEC-PAD je opisan v diplomskem delu P. Kasenburger (2006).

3.2.10 Določanje cvetnega prahu v medu (Kandolf Borovšak, 2011)

Princip:

Z mikroskopskim pregledom preparata sedimenta oziroma netopnega ostanka 10 g medu določamo vrsto peloda in ostalih elementov. Delež posamezne vrste peloda izrazimo v odstotkih od skupnega števila zrn peloda.

Reagenti:

- Kaiserjeva glicerinska želatina,
- destilirana voda.

Aparature in pribor:

- centrifuga Centric 322 A,
- grelna plošča IKAMAG RCT basic,
- svetlobni mikroskop Zeis AXIOSKOOP 2 plus, Imager A. 1.,
- 50 mL centrifugirke,
- Pasteurjeve pipete,
- 50 mL steklena čaša,
- objektna in krovna stekelca.

Izvedba:

Pelodno analizo smo opravili v skladu s harmonizirano melisopalinološko metodo (Von der Ohe in sod., 2004).

Priprava vzorca: 10 g dobro premešanega vzorca medu smo raztopili v približno 20 mL destilirane vode. Raztopino smo nato centrifugirali 10 min pri 3500 obratih/min. S tem smo dosegli, da se je cvetni prah usedel na dno centrifugirke, raztopino nad sedimentom (supernatant) pa smo odlili. V centrifugirko smo ponovno dodali približno 20 mL destilirane vode, premešali s Pasteurjevo pipeto za popolno raztopitev preostalih kristalov sladkorja ter ponovno centrifugirali 5 min pri 3500 obratih/min. Supernatant smo odlili tako, da smo centrifugirko držali pod kotom 45° in odstranili vso tekočino.

Izvedba analize: Grelno ploščo smo segreli na 40 °C, v stekleno čašo nalili glicerinsko želatino in jo postavili na grelno ploščo, da se je popolnoma raztopila. Na objektno stekelce smo z vodoodpornim flomastrom narisali kvadrat velikosti 20 mm x 20 mm ter ga postavili na segreto ploščo. Medtem smo premešali preostali sediment v centrifugirki, ga s pomočjo Pasteurjeve pipete prenesli na segreto objektno stekelce in razmazali po celotni površini označenega kvadrata. Tako pripravljeno stekelce smo ponovno postavili na grelno ploščo, vendar le dokler se sediment ni posušil. Pri tem smo pazili, da ni zavrel. Medtem smo na grelni plošči segreli krovno stekelce ter nanj kanili in razmazali kapljico raztopljene glicerinske želatine. Nato smo krovno stekelce previdno položili na posušen sediment na objektnem stekelcu in narahlo pritisnili, da smo odstranili morebitne mehurčke zraka med obema stekelcema. Preparat smo za 5 min položili na grelno ploščo, da se je glicerinska želatina enakomerno razporedila in da so pelodna zrna enakomerno nabrekli.

Mikroskopiranje: Tako pripravljene preparate smo najprej pogledali pri 400-kratni povečavi, nato pa še pri 1000-kratni povečavi z dodatkom imerzije, kjer določili pelodna zrnca.

Celotno analizo določanja cvetnega prahu smo izvedli po postopku, ki je opisan v magistrskem delu A. Kandolf Borovšak (2011).

3.3 SENZORIČNO OCENJEVANJE MEDU

Za izvedbo senzorične analize medu se poslužujemo metod kvalitativne in kvantitativne senzorične analize. Prvo uporabljamo med drugim pri rutinski kontroli preverjanja ustreznosti deklarirane vrste, drugo za podrobno opisovanje senzoričnih lastnosti.

V magistrskem delu smo določali profil vonja in arome vrst medu, o katerih do sedaj še nimamo veliko podatkov. Zato smo se odločili za izvedbo tako kvalitativne, kot tudi kvantitativne senzorične analize. Izvedli smo:

- kvantitativno opisno (deskriptivno) analizo vonja in arome medu na 100 mm lestvici s strokovnim panelom (Marcazzan in sod., 2014),

- kvalitativno opisno (deskriptivno) analizo s potrošniškim panelom, kjer smo uporabili metodo »Označi vse, kar ustreza« (CATA) (Ares in sod., 2015),
- določanje intenzivnosti vonja in arome na 100 mm lestvici, prav tako s potrošniškim panelom (modificirano po Marcazzan in sod., 2014).

Princip:

Pri senzorični analizi medu s pomočjo čutil ugotavljamo in vrednotimo njegove lastnosti. Pri tem ocenjujemo videz, vonj, okus in aromo.

Izvedba:

Priprava vzorcev za analize s potrošniškim panelom: približno 10 mL vsakega vzorca medu smo prenesli v 30 mL plastične kozarčke s pokrovčki. Če je bil med kristaliziran, smo ga do utekočinjenja pokritega segrevali v sušilniku pri 40 °C, nato pa ohladili na sobno temperaturo. Tako pripravljene vzorce medu smo hranili do izvedbe senzorične analize.

Priprava vzorcev za analizo s strokovnim panelom:

V nove 370 mL steklene kozarce smo prelili posamezen vzorec medu do polovice ali $\frac{2}{3}$. Kozarce smo zaprli z novimi pokrovčki.

Izvedba analiz:

- Kvantitativna opisna analiza vonja in arome medu na 100 mm lestvici s strokovnim panelom

Senzorično ocenjevanje smo izvedli s strokovnim senzoričnim panelom, ki so ga sestavljali trije šolani preskuševalci. Ti so senzorične lastnosti ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje, ovrednotili s pomočjo standardnih opisnikov, definiranih v Kolesu vonjev in arom (Korošec in sod., 2014). Za vrednotenje intenzivnosti zaznanih podskupin vonjev, arom ter okusov v medu so uporabili 100 mm lestvico. Rezultate smo podali kot povprečno intenzivnost, ki so jo v vzorcu zaznali preskuševalci; za vrsto medu pa interval intenzivnosti.

- Potrošniško profiliranje vonja in arome medu z metodo »Označi vse, kar ustreza«

Pri kvalitativno opisni analizi vonja in arome medu je potrošniški senzorični panel sestavljala skupina 55-ih študentov, od tega 49 ženskega in 6 moškega spola. Pri senzoričnem ocenjevanju smo se osredotočili na vonj in aromo medu.

S pomočjo posodobljenega Kolesa vonjev in arom (Korošec in sod., 2014) smo definirali standardne opisnike in jih zbrali v obrazcu. Preskuševalci so dobili navodilo, da pred ocenjevanjem preberejo opisnike na ocenjevalnem obrazcu, nato pa zabeležijo – odključajo tiste, ki so jih zaznali v vonju in aromi posameznega vzorca medu.

- Ocenjevanje intenzivnosti vonja in arome na 100 mm lestvici

Tudi tu je potrošniški senzorični panel sestavljala skupina 55-ih študentov. Na senzoričnem ocenjevanju so dobili vzorec medu ter list z dvema 100 mm lestvicama. Najprej so dobljeni vzorec povonjali, nato pa označili zaznano intenzivnost na prvi lestvici. Za določitev intenzivnosti arome, so ga nato še okusili in na drugi 100 mm lestvici, označili zaznano intenzivnost. Rezultate smo dobili tako, da smo izmerili razdaljo od začetka do oznake na lestvici, vrednosti podali v mm in izračunali povprečno intenzivnost.

3.4 STATISTIČNA ANALIZA

Rezultate, pridobljene s fizikalno-kemijskimi analizami vzorcev medu, smo s pomočjo računalniškega programa Microsoft Excel 2007 uredili ter ovrednotili z naslednjimi statističnimi parametri:

- aritmetična sredina ($\bar{x}$),
- standardna deviacija (SD),
- koeficient variabilnosti (KV),
- mediana (Me).

Aritmetična sredina, imenovana tudi povprečna vrednost, je najpogosteje uporabljena srednja vrednost. Za izračun aritmetične sredine seštejemo vse vrednosti spremenljivke x_i in vsoto delimo s številom podatkov n . Vsota vseh odklonov od povprečja je enaka nič (Košmelj, 2001):

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

Standardna deviacija ali standardni odklon je merilo za razpršenost posameznih vrednosti okoli aritmetične sredine. Ker variacije ne moremo predstaviti grafično, uporabimo kvadratni koren variance oz. standardni odklon (Adamič, 1989).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \dots (8)$$

Koeficient variabilnosti ali variacije je relativna mera variabilnosti (Košmelj, 2001). Izračunamo ga tako, da standardni odklon delimo z aritmetično sredino istega vzorca in rezultat podamo kot odstotek (Adamič, 1989).

$$KV (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad \dots (9)$$

Mediana ali centralna vrednost je tista vrednost spremenljivke, od katere ima polovica enot manjše, polovica pa večje vrednosti spremenljivke. Pri statističnem sklepanju ima manjšo vlogo kot aritmetična sredina, saj ni povezana z nobeno teoretično porazdelitvijo. To se izkaže za prednost v primeru nesimetrične porazdelitve statistične mase (Adamič, 1989).

Določanje mediane poteka na dva načina, in sicer z izračunom ali s pomočjo rangiranih podatkov. Pri slednjem morajo biti podatki urejeni po velikosti od najmanjše do največje vrednosti. Če je število enot sodo, je mediana povprečje srednjega para podatkov, če pa je liho, je mediana enaka srednji vrednosti enote v ranžirni vrsti (Adamič, 1989).

Podatke smo nato s pomočjo paketa za statistično obdelavo SPSS 20.0 (IBM Statistical Package for the Social Sciences) statistično obdelali. Zanimalo nas je v katerih merjenih parametrih se posamezne vrste medu med seboj statistično razlikujejo. To smo določili z naslednjimi testi:

- Levenov test homogenosti variance,
- analiza variance - ANOVA,
- Duncanov test,
- neparametrični test - Kruskal-Wallisov test,
- multivariatna analiza (Linearna diskriminantna analiza (LDA)).

Levenov test homogenosti variance uporabljamo za ugotavljanje ali so variance v vseh obravnavanih statističnih vzorcih enake oziroma če so vzorci homogeni. Ničelna hipoteza (H_0) o homogenosti variance pravi, da ni razlik med variancami vzorcev, alternativna hipoteza (H) pa pravi, da je med vsaj enim parom variance statistično značilna razlika. Vrednost statistične značilnosti, ki nam jo da test, pove katera domneva je pravilna. V primeru, ko je vrednost statistične značilnosti manjša od stopnje tveganja (p) 0,05, sprejmemo alternativno hipotezo. Pri tem upoštevamo, da z analizo variance ne moremo nadaljevati, če vzorci niso homogeni. Če pa je analiza variance večja od 0,05, sprejmemo ničelno hipotezo in potrdimo homogenost vzorcev (Košmelj in Kastelec, 2003).

Analiza variance (ANOVA) je test, s katerim preverjamo domnevo o enakosti povprečij treh ali več neodvisnih vzorcih. Omogoča nam testiranje vpliva ene ali več neodvisnih spremenljivk na odvisno spremenljivko. Test ANOVA sodi med parametrične teste in temelji na predpostavkah, da so spremenljivke normalno porazdeljene ter da so variance po vzorcih enake oz. homogene. Homogenost varianc predhodno preverimo z Levenovim testom (Košmelj in Kastelec, 2003).

Ničelna hipoteza (H_0) pri testu ANOVA pravi, da so povprečja po obravnavanih enaka, alternativna pa, da obstaja vsaj en par, kjer se povprečji statistično značilno razlikujeta (Adamič, 1989).

Kadar je stopnja značilnosti manjša od 0,05, sklepamo, da vzorci pripadajo različnim populacijam oz., da med statističnimi vzorci obstaja vsaj en par, ki ima različni povprečji. Zavržemo ničelno hipotezo, ki pravi, da razlike ne obstajajo in sprejmemo alternativno hipotezo. Statistično obravnavo lahko nadgradimo z izvedbo testov mnogoterih primerjav (post hoc tests). Mi smo izbrali Duncanov test (Adamič, 1989).

Duncanov post-hoc test, imenovan tudi zaključni test, je namenjen analizi večjega števila vzorcev. Ti vzorci so homogeni (Levenov test) in ne pripadajo isti populaciji (ANOVA). Uporabljamo ga za ugotavljanje razlik med povprečnimi vrednostmi posameznih statističnih vzorcev (Adamič, 1989).

Ker smo želeli ugotoviti ali med spremenljivkami obstajajo povezave, smo izračunali koeficient korelacije po Pearsonu (r), ki sodi med dvovzorčno analizo (Adamič, 1989). **Pearsonov koeficient korelacije (r)** je merilo stopnje povezanosti med dvema spremenljivkama, ki sta naključni, med seboj povezani, vendar ne nujno odvisni ena od druge. Zavzema lahko vse vrednosti med -1 in +1, pri čemer vrednost -1 predstavlja maksimalno negativno korelacijo, vrednost +1 pa maksimalno pozitivno korelacijo. Če med obema spremenljivkama ni nobene povezave, je koeficient korelacije enak nič. Na podlagi velikosti koeficienta korelacije lahko sklepamo, kako močna je povezava med statističnimi enotami, pri tem pa ne izvemo, če je povezanost značilna ali ne (Adamič, 1989). V preglednici 3 smo podali mejne vrednosti za presojanje moči povezanosti.

Preglednica 3. Meje vrednosti za presojanje moči povezanosti spremenljivk (Seljak, 1996)

Korelacijski koeficient (r)	Povezanost
od 0,00 do $\pm 0,20$	povezanosti ni
od $\pm 0,20$ do $\pm 0,40$	Šibka
od $\pm 0,40$ do $\pm 0,70$	Zmerna
od $\pm 0,70$ do $\pm 1,00$	Močna

Za neparametrične teste je značilno, da so enostavnejši, imajo manj predpostavk, vendar tudi manjšo moč odkrivanja statističnih značilnosti kot parametrični testi. Neparametrični testi ne temeljijo na predpostavki o normalni porazdelitvi spremenljivk. Eden od neparametričnih testov je **Kruskal-Wallisov test**, ki ga uporabljamo za primerjavo treh ali več vzorcev. Ničelna hipoteza pri omenjenem testu pravi, da so mediane po vzorcih enake. Temelji na primerjavi vsot rangov po vzorcih (Košmelj in Kastelec, 2002).

Multivariatna analiza sodi med kemometrične metode, ki so uporabne pri obdelavi podatkov analiz živil, ki imajo kompleksnejšo sestavo. Poleg števila analiziranih komponent na količino podatkov vpliva tudi število vzorcev. Z naraščanjem števila vzorcev se poveča tudi količina podatkov in rezultati postanejo nepregledni. Poleg povprečne vrednosti parametrov, nas pogosto zanimajo tudi odgovori na kompleksnejša vprašanja o pristnosti vzorca, skladnosti vzorca z deklariranimi podatki, kot so geografsko in botanično poreklo (Adams, 1998).

Na ta vprašanja lahko odgovorimo šele s kombinacijo analiziranih podatkov, za kar potrebujemo različne kemometrične metode (Adams, 1998). Ena od teh je linearna diskriminantna analiza (LDA), s katero smo določili povezave med analiziranimi parametri.

Linearna diskriminantna analiza (LDA) se uporablja za ločevanje med dvema ali več skupinami podatkov. Glavni princip delovanja je najti tiste smeri v večvariantnem prostoru, ki najbolje ločujejo posamezne skupine vzorcev. Po določitvi prve nove smeri, poiščemo naslednjo takšno smer z enakimi zahtevami, toda z omejitvijo, da informacije, vsebovane v obeh smereh, ne korelirajo. Ko poiščemo zadostno število novih smeri, ki zadovoljivo opišejo sistem, se postopek iskanja novih smeri zaključi. Načeloma lahko katerokoli matematično funkcijo uporabimo kot diskriminantno funkcijo (Adams, 1998).

4 REZULTATI

V praktičnem delu magistrske naloge smo opravili naslednje fizikalno-kemijske analize: določanje vsebnosti vode, električne prevodnosti, pH vrednosti, prostih in skupnih kislin ter laktonov, aktivnosti encima diastaze, antioksidativne učinkovitosti medu z metodo DPPH, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov, L-askorbinske kisline, vrste in količine sladkorjev in cvetnega prahu. Analize smo opravili na 40 vzorcih medu, ki smo jih glede na dobljene podatke analize cvetnega prahu, razvrstili v štiri skupine (ajdov, rešeljikov in javorjev med ter med divje češnje). Vrsto medu smo potrdili s kvalitativno senzorično oceno vzorcev. Vzorce smo ovrednotili še s tremi metodami senzorične analize s strokovnim in potrošniškim panelom.

4.1 REZULTATI VSEBNOSTI VODE

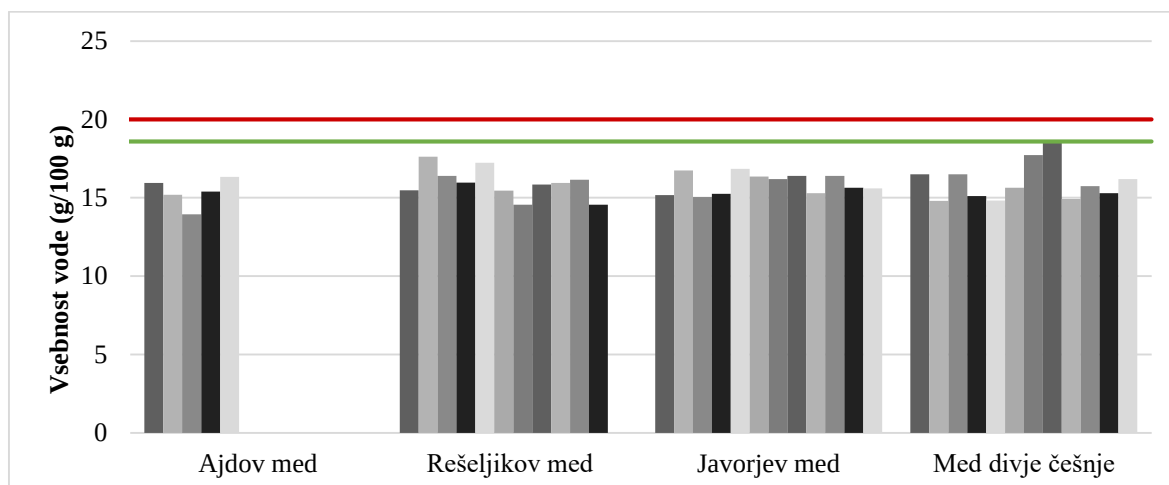
Vsebnost vode v medu smo določali z dvema ročnima refraktometroma. V preglednici 4 so zbrani povprečni rezultati opravljenih meritev, ki smo jih nato še statistično obdelali. Posamezne rezultate meritev smo predstavili v prilogah D1, D2, D3 in D4.

Iz podatkov v preglednici 4 je razvidno, da vzorci analiziranega medu niso vsebovali več kot 20 % vode in jih lahko glede na Pravilnik o medu (2011), označimo kot ustrezne. Prav tako vzorci niso vsebovali več kot 18,6 g/100g vode, ki je mejna vrednost za med vrhunske kakovosti. Sicer pa je vsebnost vode v ajdovem medu variirala od 14,0 do 16,3 g/100 g medu, v rešeljikovem medu od 14,6 do 17,6 g/100 g, v javorjevem medu od 15,1 do 16,9 g/100 g ter v medu divje češnje od 14,8 do 18,6 g/100 g.

Preglednica 4. Vsebnost vode (%) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Vsebnost vode (g/100 g)					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Med ajde	5	15,4	14,0	16,3	0,9	5,9
Med rešeljike	11	15,9	14,6	17,6	1,0	6,0
Med javorja	12	15,9	15,1	16,9	0,6	4,1
Med divje češnje	12	16,0	14,8	18,6	1,2	7,5

Vsi vzorci medu so vsebovali podobno povprečno količino vode. Tako je med divje češnje vseboval največ vode, nekoliko manj rešeljikov in javorjev med ter najmanj ajdov med (15,4 g/100 g). Največjo vsebnost vode smo določili v vzorcu medu divje češnje Č8, in sicer 18,6 g/100 g, medtem ko jo je vzorec ajdovega medu AJ3 vseboval najmanj (14,0 g/100g) (slika 1 in priloge D1, D2, D3 in D4).



Slika 1. Povprečna vsebnost vode v vzorcih štirih vrst medu, največja dovoljena vsebnost vode (20 %) (rdeča črta) ter največja dovoljena vsebnost vode v medu višje kakovosti (18,6 %) (zeleni črta)

4.2 REZULTATI MERJENJA ELEKTRIČNE PREVODNOSTI

Električno prevodnost v raztopinah vzorcev medu smo merili s konduktometrom. Povprečne rezultate z osnovnimi statističnimi parametri smo zbrali v preglednici 5 in v prilogah D1, D2, D3 in D4.

Glede na Pravilnik o medu (2011) je električna prevodnost medu iz nektarja (z izjemo kostanjevega medu) največ 0,8 mS/cm, medtem ko se pri medovih maninega izvora giblje od 0,8 do 1,9 mS/cm. V preglednici 5 vidimo, da je imel med divje češnje najnižjo povprečno električno prevodnost (0,683 mS/cm), sledita mu ajdov (0,845 mS/cm) in rešeljikov (0,843 mS/cm) med. Javorjev med, v katerem smo izmerili najvišjo povprečno električno prevodnost (1,036 mS/cm), sodi med medove maninega izvora. Variabilnost med izmerjenimi vrednostmi vzorcev medu iste vrste se je gibala od 20,8 % pri ajdovem medu do 26,9 % pri javorjevem medu.

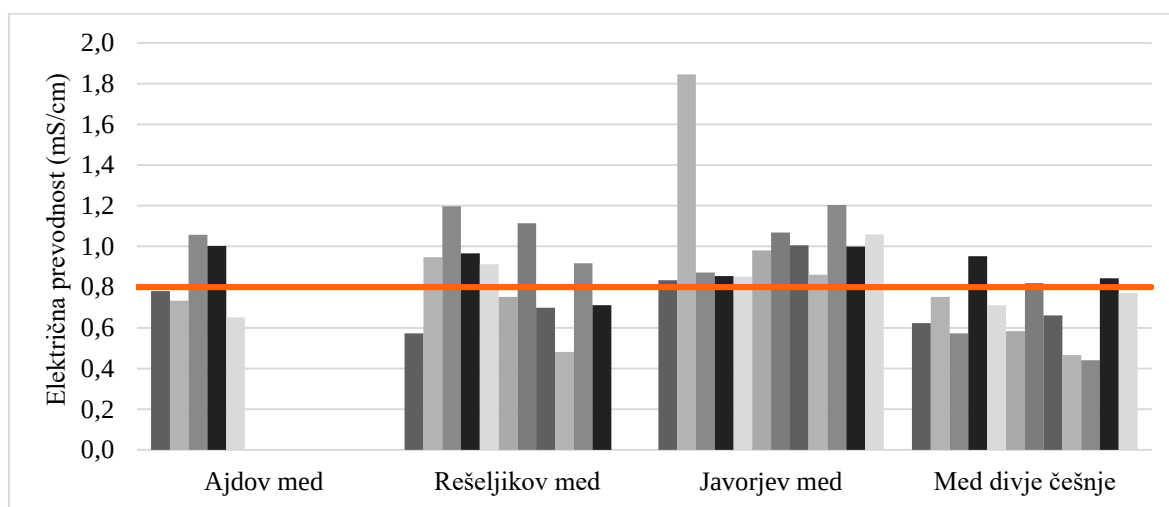
Preglednica 5. Električna prevodnost (mS/cm) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Specifična električna prevodnost (mS/cm)					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Ajdov med	5	0,845 ^{a,b}	0,651	1,075	0,176	21
Rešeljikov med	11	0,843 ^{a,b}	0,481	1,197	0,220	26
Javorjev med	12	1,036 ^b	0,834	1,846	0,279	27
Med divje češnje	12	0,683 ^a	0,440	0,952	0,155	23

^{a,b,c} Povprečne vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, test ANOVA ($p \leq 0,05$)

Iz preglednice 5 lahko razberemo tudi, da je povprečna električna prevodnost javorjevega medu najvišja med obravnavanimi štirimi vrstami medu in se statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od povprečne električne prevodnosti medu divje češnje.

Javorjev med je lahko maninega ali nektarnega izvora. Glede na izvor, pa se spreminja tudi električna prevodnost. Slednja pri javorjevem medu precej variira, vendar ostaja znotraj predpisanega normativa. Iz slike 2 lahko razberemo, da je električna prevodnost v vzorcih javorjevega medu višja v primerjavi z ostalimi analiziranimi vrstami medu. Višja električna prevodnost javorjevega medu je posledica večjega deleža mane v medu. Med vzorci ostalih vrst analiziranega medu je kar nekaj takšnih, ki presegajo dovoljeno mejo za med nektarnega izvora. Vzrok je najverjetneje prisotnost mane, ki so jo čebele nabrale na tej ali drugih rastlinah.



Slika 2. Povprečna električna prevodnost v posameznih vzorcih štirih vrst medu ter mejna vrednost (0,8 mS/cm) (oranžna črta) med medovi nektarnega in maninega izvora

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

V preglednicah 6, 7, 8 in 9 so predstavljene povprečne vrednosti parametrov kislosti v vzorcih štirih vrst medu. Posamezni rezultati merjenja vrednosti pH, vsebnosti prostih in skupnih kislin ter laktonov v medu ajde, rešeljike, javorja in divje češnje so podani v prilogah D1, D2, D3 in D4.

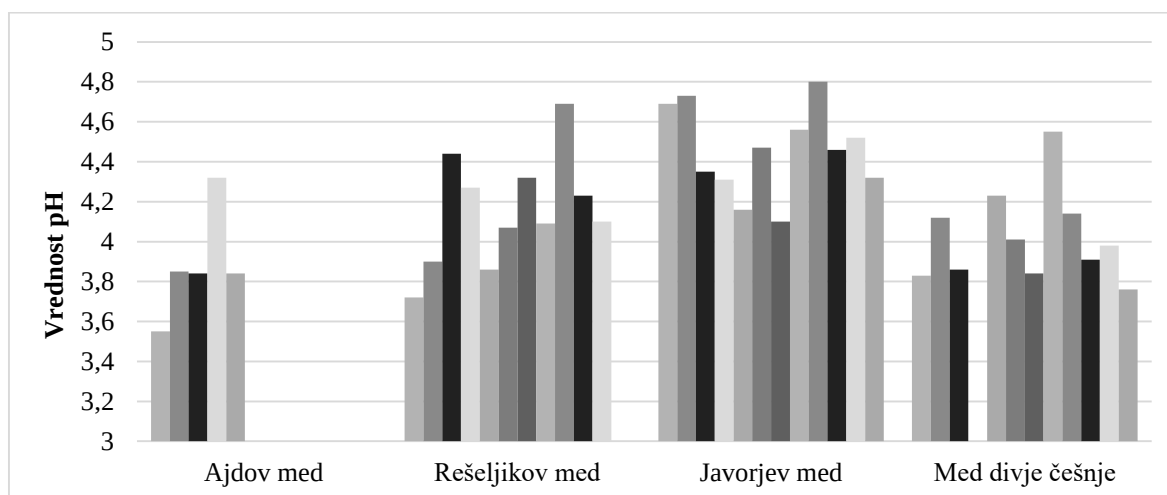
Preglednica 6 prikazuje, da imajo vsi analizirani vzorci medu ustrezno pH vrednost, saj naj bi le-ta po navedbah literature, znašala med 3,2 in 5,5. Nekoliko višji pH je značilen za medove z večjo vsebnostjo mineralnih snovi (soli K, Ca, Na), to so vrste medu iz mane (Kapš, 2012). Največji KV med izmerjenimi vrednostmi v vzorcih smo zabeležili pri ajdovem medu (7,1 %), sledijo mu rešeljikov med, med divje češnje in javorjev med.

Preglednica 6. Vrednost pH v raztopinah analiziranih vrst medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Vrednost pH					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Ajdov med	5	3,88 ^a	3,55	4,32	0,28	7,1
Rešeljikov med	11	4,15 ^{b,c}	3,72	4,69	0,28	6,7
Javorjev med	12	4,46 ^c	4,10	4,80	0,22	4,9
Med divje češnje	12	4,02 ^{a,b}	3,76	4,55	0,23	5,7

^{a,b,c} Povprečne vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, test ANOVA ($p \leq 0,05$)

Iz slike 3 je razvidno, da je v našem primeru imel najvišjo povprečno vrednost pH javorjev med, in sicer 4,46, kamor smo uvrstili tudi vzorec J9, v katerem smo določili najvišji pH (4,80). Na podlagi tega lahko sklepamo, da so analizirani vzorci javorjevega medu vsebovali večji delež mane, kar smo potrdili z vrednostmi električne prevodnosti, ki so znašale več kot 0,8 mS/cm.



Slika 3. Vrednost pH v posameznih vzorcih štirih vrst medu

Statistična analiza (analiza variance oz. ANOVA) je pokazala, da se javorjev med, kot med z največjo povprečno vrednostjo pH, statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje v tem parametru od ajdovega medu in medu divje češnje. Ajdov med, za katerega smo zabeležili najnižjo povprečno vrednost pH, se statistično značilno razlikuje v pH vrednosti od rešeljikovega in javorjevega medu (preglednica 6).

Iz preglednice 7 razberemo, da je vsebnost prostih kislin v vseh vzorcih ustrezna, saj ne presega najvišje dovoljene koncentracije 50 mekv/kg, ki jo predpisuje Pravilnik o medu (2011). Največja razlika v vsebnosti prostih kislin je bila v vzorcih medu rešeljike, kjer je koeficient variacije najvišji (35 %), najmanjša razlika pa pri vzorcih ajdovega medu s koeficientom variacije 22 %.

Preglednica 7. Vsebnost prostih kislin (mekv/kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Vsebnost prostih kislin (mekv/kg)					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Ajdov med	5	24,7 ^b	16,3	29,1	5,3	22
Rešeljikov med	11	26,5 ^b	16,4	46,1	9,4	35
Javorjev med	12	16,4 ^a	9,8	28,4	5,1	31
Med divje češnje	12	19,7 ^{a,b}	12,3	33,7	6,7	34

^{a,b,c} Povprečne vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, test ANOVA ($p \leq 0,05$)

S statistično analizo (ANOVA) smo ugotovili, da se javorjev med statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje v povprečni vsebnosti prostih kislin od medu ajde in rešeljike, ki se v tem parametru statistično značilno ne razlikujeta med seboj. Med divje češnje se statistično značilno ne razlikuje od ajdovega in rešeljikovega medu (preglednica 7).

Laktone pod vplivom encima glukoza oksidaza nastajajo med procesom zorenja medu. Njihova vsebnost vpliva na povečanje prostih kislin v medu. V preglednici 8 in na sliki 4 smo podali vsebnost laktonov v analiziranih vrstah medu.

Največja razlika med najmanjšo in največjo vsebnostjo laktonov je v medu divje češnje, kjer smo tudi sicer zabeležili najmanjše povprečje laktonov (2,89 mekv/kg). Največjo povprečno koncentracijo laktonov smo določili v ajdovem medu (4,85 mekv/kg), kamor sodi tudi vzorec z največjo vsebnostjo laktonov, in sicer 7,29 mekv/kg. Med vsemi analiziranimi vzorci medu, le enemu vzorcu (Č4) nismo določili laktonov z uporabljenimi analitskimi metodami (preglednica 8).

Preglednica 8. Vsebnost laktonov (mekv/kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Vsebnost laktonov (mekv/kg)					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Ajdov med	5	4,85 ^c	2,96	7,29	1,86	38
Rešeljikov med	11	4,39 ^{b,c}	2,00	6,34	1,21	28
Javorjev med	12	3,13 ^{a,b}	1,77	5,15	1,01	32
Med divje češnje	12	2,89 ^a	0,00	6,00	1,74	60

^{a,b,c} Povprečne vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, test ANOVA ($p \leq 0,05$)

Iz preglednice 8 razberemo tudi, da se glede na povprečno vsebnost laktonov med divje češnje statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od ajdovega in rešeljikovega medu, javorjev med pa od ajdovega medu, v katerem smo določili največjo povprečno vsebnost laktonov.

V preglednici 9 so predstavljene povprečne vsebnosti skupnih kislin za posamezne vrste medu. Tako rešeljikov med vsebuje 30,9 mekv/kg, ajdov med 29,5 mekv/kg, med divje češnje 22,6 mekv/kg in javorjev med 19,6 mekv/kg. Pri medu divje češnje je koeficient variabilnosti najvišji (35 %), pri ajdovem pa najnižji in znaša 19 %.

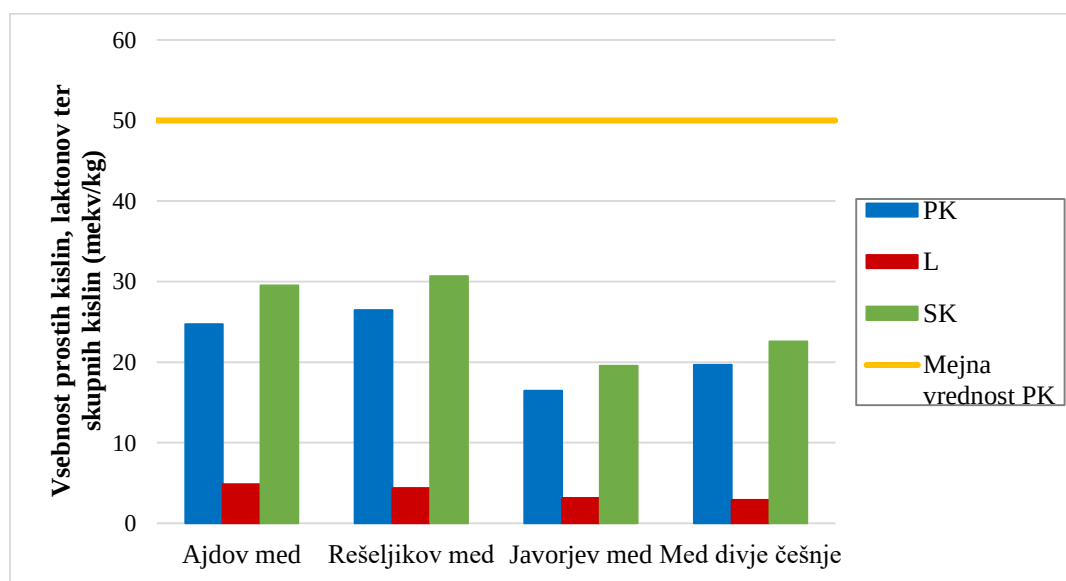
Preglednica 9. Vsebnost skupnih kislin (mekv/kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Vsebnost skupnih kislin (mekv/kg)					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Ajdov med	5	29,5 ^{b,c}	22,3	36,4	5,6	19
Rešeljikov med	11	30,9 ^c	19,3	48,1	9,0	29
Javorjev med	12	19,6 ^a	11,6	31,8	5,5	28
Med divje češnje	12	22,6 ^{a,b}	12,3	37,4	8,0	35

^{a,b,c} Povprečne vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, test ANOVA ($p \leq 0,05$)

Statistična analiza (ANOVA) je pokazala, da se javorjev med, v katerem smo zabeležili najmanjšo povprečno vsebnost skupnih kislin, statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od ajdovega in rešeljikovega medu. Rešeljikov med pa se statistično značilno razlikuje ($p \leq 0,05$) v vsebnosti skupnih kislin od medu divje češnje in javorjevega medu (preglednica 9).

Iz slike 4 razberemo, da je povprečna vsebnost prostih kislin največja v rešeljikovem (26,5 mekv/kg), najmanjša pa v javorjevem (16,4 mekv/kg) medu. Laktonov je bilo največ v ajdovem (4,85 mekv/kg) medu, najmanj pa v medu divje češnje (2,89 mekv/kg). Podatke o vsebnosti skupnih kislin smo dobili z vsoto prostih kislin in laktonov. Največ skupnih kislin smo določili v rešeljikovem medu (30,9 mekv/kg), sledijo mu ajdov med (29,5 mekv/kg), med divje češnje (22,6 mekv/kg) in javorjev med (19,6 mekv/kg).



Slika 4. Povprečne vsebnosti prostih kislin (PK), laktonov (L) in skupnih kislin (SK) v analiziranih vrstah medu ter mejna količina prostih kislin (PK)

4.4 REZULTATI DOLOČANJA DIASTAZNEGA ŠTEVILA

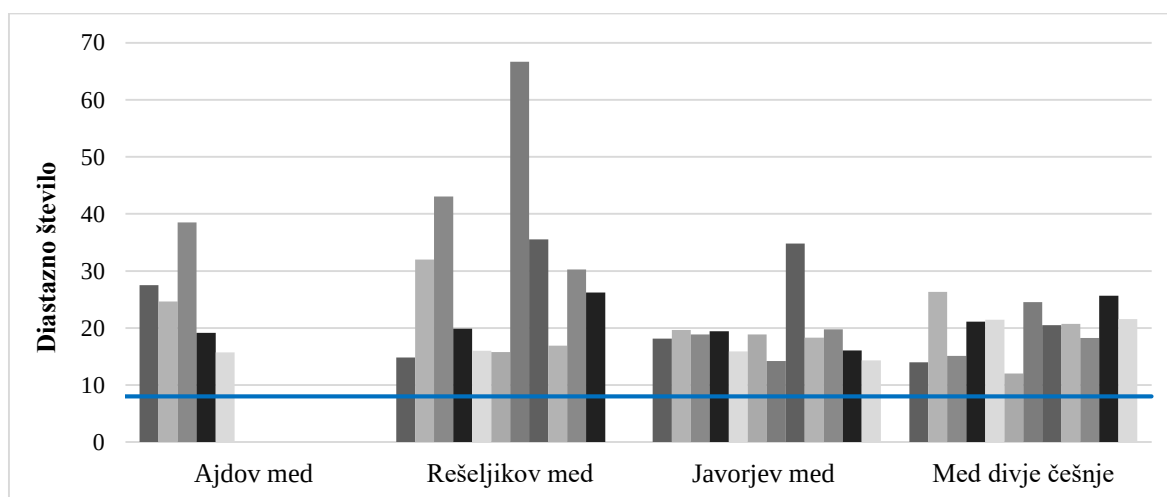
Aktivnost encima diastaze smo določali z metodo po Schade-ju. V preglednici 10, kjer smo podali povprečne rezultate določanja diastaznega števila z izračunanimi statističnimi parametri, vidimo tudi, da je koeficient variabilnosti največji pri rešeljikovem medu (54 %), najmanjši pa pri medu divje češnje (23 %). Visok KV nam pove, da med vzorci določene vrste medu ni homogenosti razporeditve.

Preglednica 10. Vrednost diastaznega števila v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Diastazno število					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Ajdov med	5	25,1	15,7	38,5	8,8	35
Rešeljikov med	11	28,8	14,8	66,7	16	54
Javorjev med	12	19,0	14,2	34,8	5,4	28
Med divje češnje	12	20,1	12,0	26,4	4,5	23

Pravilnik o medu (2011) predpisuje, da mora biti diastazno število večje od 8. Vsi analizirani vzorci so ustrezali predpisanim kriterijem, kar je razvidno na sliki 5 in v prilogah D1, D2, D3 in D4.

Na sliki 5 lahko vidimo, da je vzorec z najmanjšo aktivnostjo encima diastaze vzorec medu divje češnje, z DN 12,03. Povprečna diastazna aktivnost je bila največja v vzorcih rešeljikovega medu (28,8), najmanjša pa v vzorcih javorjevega medu (19,0). Na podlagi dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da analizirani vzorci medu niso bili pregreti ali izpostavljeni previsokim temperaturam med skladiščenjem.



Slika 5. Vsebnost encima diastaze v posameznih vzorcih štirih vrst medu ter oznaka dovoljene vrednosti (modra črta)

4.5 REZULTATI DOLOČANJA ANTIOKSIDATIVNE UČINKOVITOSTI MEDU

Antioksidativno učinkovitost (AU) medu smo določali z metodo DPPH. Metoda temelji na sposobnosti lovljenja radikalov s pomočjo stabilnega radikala 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila oziroma radikala DPPH[•]. Pri poskusu smo 0,75 mL raztopine medu s koncentracijo 200 mg/mL dodali 2,25 mL 0,1 mM raztopine DPPH[•] v 75 % etanolu ter inkubirali 60 minut v temi pri sobni temperaturi. Rezultate smo podali kot delež inhibicije (% inhibicije). Pri tem imajo vzorci medu z večjim deležem inhibicije višjo AU, tisti z manjšim deležem inhibicije pa manjšo AU.

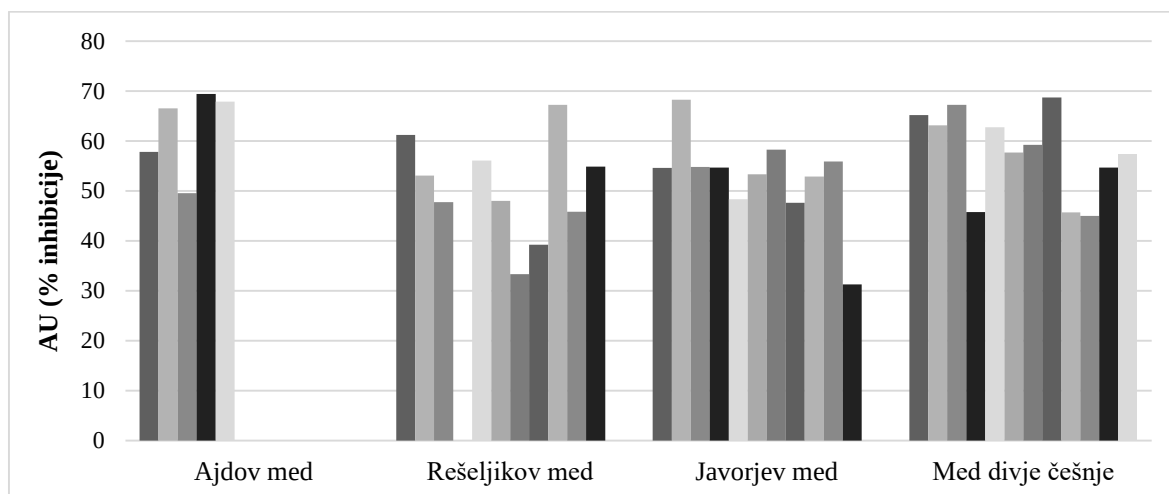
Antioksidativna učinkovitost je odvisna predvsem od botaničnega porekla medu - temnejši medovi imajo nekoliko višjo, svetlejši pa nižjo AU. Obravnavane vrste medu sodijo med temnejši med, vendar smo ugotovili med njimi razlike v AU. Tako je imel rešeljikov med, kot najsvetlejši med analiziranimi medovi, najnižjo AU (50,7 %), sledila sta mu javorjev (52,7 %) in češnjev (57,7 %) med. Ajdov med je najtemnejši med obravnavanimi vrstami, torej naj bi imel višjo AU. To smo z analizo tudi dokazali, saj je AU ajdovega medu znašala 62,2 %. Kljub opaznim razlikam AU štirih vrst medu pa statistične značilnosti teh razlik nismo potrdili.

Preglednica 11. Antioksidativna učinkovitost (% inhibicije) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Antioksidativna učinkovitost (%) ^a					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Ajdov med	5	62,2	49,6	69,4	8,4	14
Rešeljikov med	11	50,7	33,3	67,3	10,1	20
Javorjev med	12	52,7	31,3	68,3	8,9	17
Med divje češnje	12	57,7	45,0	68,7	8,4	15

^aantioksidativna učinkovitost pri poskusu med 0,15 g medu in 0,225 μ mol DPPH[•].

Na sliki 6 smo prikazali AU (% inhibicije) posameznih vzorcev medu. Antioksidativna učinkovitost variira glede na botanično poreklo medu; vzorec javorjevega medu (J11) ima najnižjo AU (31,3 %), vzorec medu ajde (AJ4) pa kar enkrat višjo (69,4 %).



Slika 6. Antioksidativna učinkovitost (% inhibicije) v posameznih vzorcih štirih vrst medu

4.6 REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN

Vsebnost skupnih fenolnih spojin, ki smo jih določali s Folin-Ciocalteuovo metodo, podajamo kot ekvivalentno maso galne kisline na kg medu. Njihova vsebnost se je pri posameznih vzorcih ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu močno razlikovala. Pri medu divje češnje pa so si vrednosti precej podobne, kar potrjuje tudi relativno nizek koeficient variabilnosti (17 %). Slednji je pri javorjevem in rešeljikovem medu najvišji in znaša 33 % (preglednica 12).

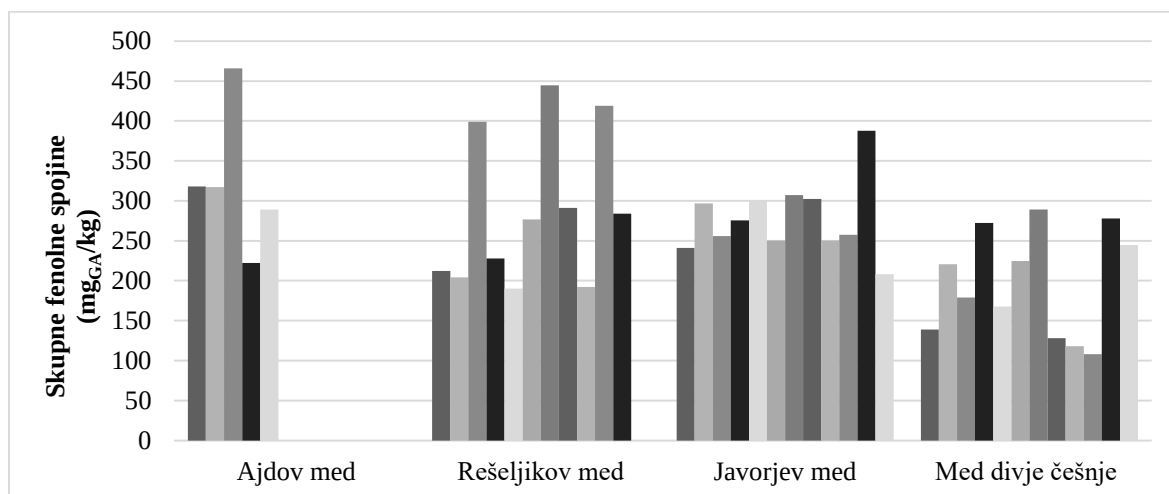
Iz preglednice 12 razberemo tudi, da smo pri medu divje češnje določili najmanjšo povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin, in sicer 197 mg_{GA}/kg medu. Sledijo javorjev (278 mg_{GA}/kg), rešeljikov (286 mg_{GA}/kg) in ajdov med z 322 mg_{GA}/kg.

Preglednica 12. Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg_{GA}/kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Skupne fenolne spojine (mg _{GA} /kg)					
	n	$\bar{x}$	$x_{\min}$	$x_{\max}$	SD	KV (%)
Ajdov med	5	322 ^b	222	466	89,02	28
Rešeljikov med	11	286 ^b	190	445	94,5	33
Javorjev med	12	278 ^b	208	388	65,9	33
Med divje češnje	12	197 ^a	108	289	45,9	17

^{a,b,c} Povprečne vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, test ANOVA ($p \leq 0,05$)

Slika 7 nam pove, da ima največ skupnih fenolnih spojin vzorec ajdovega medu (AJ3) (466 mg_{GA}/kg), najmanj pa med divje češnje (DČ10). V tej vrsti medu smo tudi določili najmanjšo povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin.

Slika 7. Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg_{GA}/kg) v posameznih vzorcih štirih vrst medu

Povprečna vsebnost skupnih fenolnih spojin je v medu divje češnje najmanjša in se statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od povprečne vsebnosti skupnih fenolnih spojin v preostalih obravnavanih vrstah medu. Ajdov, rešeljikov in javorjev med se glede na povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin statistično značilno ne razlikujejo med seboj (preglednica 12).

4.7 REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI FLAVONOIDOV

Vsebnost flavonoidov v vzorcih medu podajamo kot ekvivalentno maso katehina na kg medu. Rešeljikov med vsebuje največ flavonoidov (80,1 mg_K/kg) med analiziranimi vrstami medu. Nekoliko manjšo vsebnost smo določili v ajdovem (67,4 mg_K/kg) in javorjevem (63,2 mg_K/kg) medu. Najnižjo povprečno koncentracijo flavonoidov smo namerili v medu divje češnje (51,7 mg_K/kg), kjer je tudi vzorec z najmanjšo vsebnostjo flavonoidov (35,7 mg_K/kg). Iz preglednice 13 in prilog D1, D2, D3 in D4 razberemo tudi, da je največja razlika v vsebnosti flavonoidov med vzorci rešeljikovega medu (KV=27 %), najmanjša pa pri vzorcih medu divje češnje s koeficientom variacije 2,2 %.

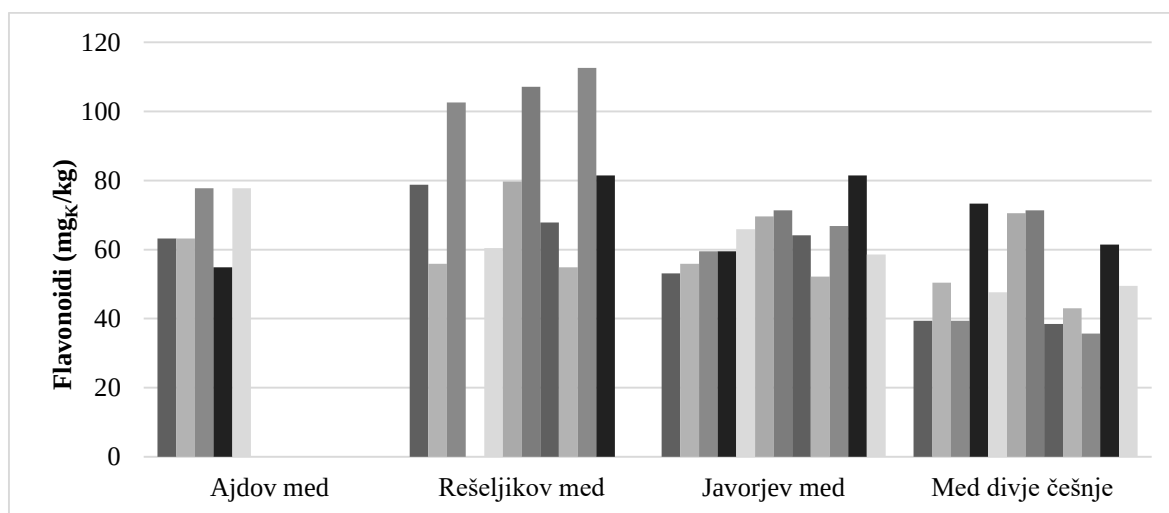
Preglednica 13. Vsebnost flavonoidov (mg_K/kg) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	Flavonoidi (mg _K /kg)					
	n	$\bar{x}$	X _{min}	X _{max}	SD	KV (%)
Ajdov med	5	67,4 ^{B,C}	63,2	77,8	10,1	15
Rešeljikov med	11	80,1 ^C	54,9	112,6	21,2	27
Javorjev med	12	63,2 ^{A,B}	52,2	81,5	8,5	13
Med divje češnje	12	51,7 ^A	35,7	73,3	1,2	2,2

^{A,B,C} Povprečne vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, Kruskal-Wallisov test ($p = 0,007$)

Z neparametričnim Kruskal-Wallisovim testom (KW) smo ugotovili, da se rešeljikov med statistično značilno ($p = 0,007$) razlikuje v povprečni vsebnosti flavonoidov od javorjevega medu in medu divje češnje, slednji pa se statistično značilno razlikuje tudi od ajdovega medu (preglednica 13).

Na sliki 8 vidimo, da med vzorci rešeljikovega medu najdemo kar nekaj takih, ki vsebujejo več kot 100 mg_K/kg medu. Tako smo v vzorcu rešeljikovega medu R10 določili 113 mg_K/kg, v vzorcu R7 107 mg_K/kg ter v vzorcu R3 103 mg_K/kg. Med vzorci medu divje češnje zopet najdemo vzorec, ki je vseboval najmanj flavonoidov (35,7 mg_K/kg).



Slika 8. Vsebnost flavonoidov (mg_K/kg) v posameznih vzorcih štirih vrst medu

4.8 REZULTATI DOLOČANJA VSEBNOSTI L-ASKORBINSKE KISLINE

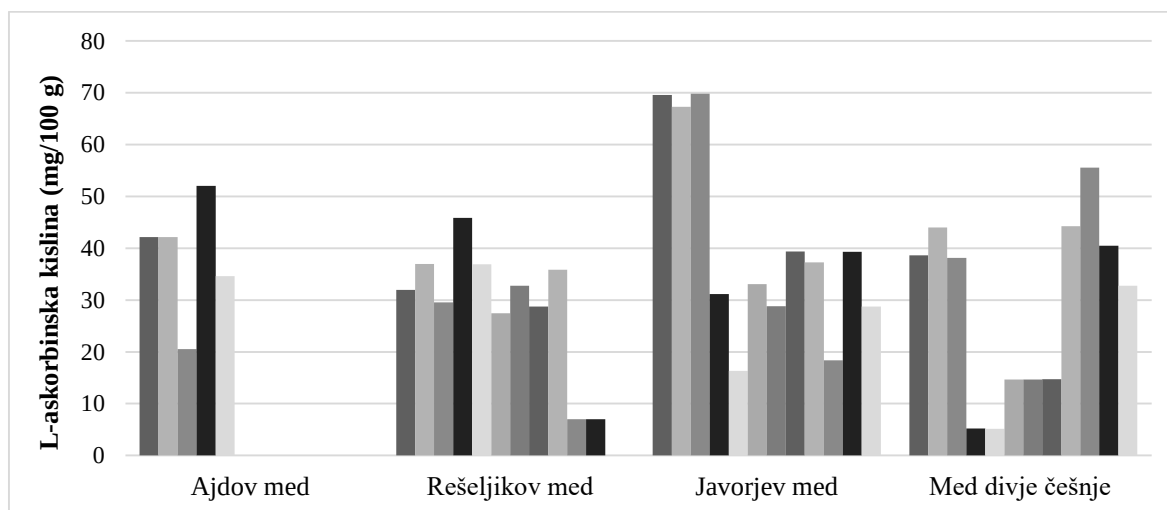
V medu najpogosteje zasledimo vitamine skupine B ter L-askorbinsko kislino. Njihovo določanje je zaradi občutljivosti na encimsko in kemijsko oksidacijo ter spremembe, ki so posledica vpliva svetlobe, toplote in kisika, precej zahtevno (da Silva in sod., 2016).

Kot je prikazano v preglednici 14, med rezultati analiziranih vzorcev medu ni večjih odstopanj v vsebnosti L-askorbinske kisline. Največjo povprečno vsebnost L-askorbinske kisline smo določili v javorjevem medu (39,9 mg/100 g). Temu sledijo ajdov (38,3 mg/100 g) in rešeljikov (29,1 mg/100 g) med ter med divje češnje z 29,0 mg/100 g. Pri slednjem je koeficient variabilnosti največji, in sicer znaša 59 %, medtem ko je pri ajdovem medu najmanjši (31 %).

Preglednica 14. Vsebnost L-askorbinske kisline (mg/100 g) v analiziranih vrstah medu z izračunanimi statističnimi parametri

Vrsta medu	L-askorbinska kislina (mg/100 g)					
	n	$\bar{x}$	X_{min}	X_{max}	SD	KV (%)
Ajdov med	5	38,3	20,51	52,03	11,7	31
Rešeljikov med	11	29,1	6,99	45,84	12	41
Javorjev med	12	39,93	16,32	69,82	18,9	47
Med divje češnje	12	29,03	5,17	55,59	17,2	59

Z analizo smo ugotovili, da se v 100 g javorjevega medu J3, ki ga uvrščamo med temnejše medove, nahaja 69,8 mg L-askorbinske kisline in tako predstavlja najvišjo vrednost le-te v analiziranih vzorcih. V bistveno svetlejšem medu divje češnje smo določili najmanjšo povprečno in tudi posamezno količino L-askorbinske kisline (5,2 mg/100 g) (slika 9). Tako smo z analizo potrdili povezavo med vsebnostjo vitamina C in barvo medu (Ferreira in sod., 2009).



Slika 9. Vsebnost L-askorbinske kisline (mg/100 g) v posameznih vzorcih štirih vrst medu

4.9 REZULTATI DOLOČANJA POMEMBNIH SLADKORJEV

Zaradi omejenih količin vzorcev medu smo vsebnost sladkorjev določili v izbranih vzorcih. V osmih vzorcih rešeljikovega in enajstih vzorcih javorjevega medu smo z metodo HPAEC-PAD določili in kvantificirali trinajst različnih vrst sladkorjev: fruktozo, glukozo, manozo, saharozo, turanozo, palatinozo, maltozo, gentibiozo z melibiozo, melicitozo, erlozo, rafinozo, maltotriozo in panozo.

Rezultate statistične obdelave podatkov, skupaj z izračunano skupno vsebnostjo fruktoze in glukoze, imenovano tudi invertni sladkor ter razmerjem med fruktozo in glukozo, smo podali v preglednici 15.

Iz preglednice 15 je razvidno, da sta v analiziranih vzorcih medu prevladovala monosaharida fruktoza in glukoza. Rešeljikov med je v povprečju vseboval več fruktoze (37,1 g/100 g) kot glukoze, medtem ko sta bili v javorjevem medu povprečna vsebnost fruktoze (30,0 g/100 g) in glukoze (30,3 g/100 g) skoraj enaki. Javorjev in rešeljikov med se statistično značilno ($p \leq 0,05$) ne razlikujeta v vsebnosti glukoze. Povprečna vsebnost turanoze je večja v rešeljikovem medu (1,52 g/100 g), povprečna vsebnost saharoze pa v javorjevem medu, kjer je znašala 2,28 g/100 g medu in tako za skoraj trikrat preseгла povprečno vsebnost saharoze v rešeljikovem medu (0,86 g/100 g medu). Studentov t -test je pokazal statistično značilen ($p \leq 0,05$) vpliv vrste medu na vsebnost saharoze. Povprečna vsebnost melicitoze je bila v javorjevem medu petintridesetkrat večja, povprečna vsebnost rafinoze pa osemnajstkrat večja, kot v rešeljikovem medu. Na podlagi statistične analize lahko rečemo, da se povprečna vsebnost melicitoze med obema vrstama medu statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje. Razlikuje pa se tudi vsebnost melicitoze v posameznih vzorcih javorjevega medu, saj je koeficient variabilnosti znašal 11 %. Tako skupna vsebnost fruktoze in glukoze, kot tudi razmerje fruktoza/glukoza, sta bila v vzorcih rešeljikovega medu višja. Med razmerjem fruktoza/glukoza pri javorjevem in rešeljikovem medu obstajajo statistično značilne ($p \leq 0,05$) razlike. Statistično značilne ($p \leq 0,05$) razlike med dvema vrstama medu, vendar ob slabši homogenosti varianc pri vsebnosti fruktoze, turanoze in rafinoze ter vsoti F+G, smo potrdili tudi z Mann-Whitneyevim testom. Stopnja tveganja je bila pri vseh parametrih, razen v vsebnosti turanoze, manjša od 0,05, kar pomeni, da so razlike značilne. Vsota fruktoze in glukoze je bila v rešeljikovem medu nekoliko višja (65,6 g/100 g) kot pri javorjevem medu (60,3 g/100 g), pri katerem so bile razlike med posameznimi vzorci dokaj velike (KV= 0,3 %). Tudi razmerje med fruktozo in glukozo je bilo v rešeljikovem medu večje in se je statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikovalo od tistega v javorjevem medu.

Preglednica 15. Vsebnost sladkorjev v rešeljikovem in javorjevem medu, določenih z metodo HPAEC-PAD in izračunani statistični parametri

Vrsta medu	Statistični parameter	Vsebnost sladkorjev (g/100 g)							
		fruktoza	glukoza	saharoza	turanoza	melicitoza	rafinoza	F+G	F/G
Rešeljikov med (n = 8)	$\bar{x}$	37,1 ^B	28,5	0,86 ^a	1,52 ^B	0,42 ^a	0,17 ^A	65,6 ^B	1,30 ^b
	x_{min}	36,5	27,1	0,13	1,35	0,33	0,13	64,5	1,24
	x_{max}	37,7	29,5	2,21	1,73	0,55	0,24	67,2	1,38
	SD	0,4	1,0	0,62	0,14	0,08	0,05	1,0	0,05
	KV (%)	0,20	0,90	0,38	0,02	0,01	0,00	0,90	0,00
Javorjev med (n = 11)	$\bar{x}$	30,0 ^A	30,3	2,28 ^b	0,96 ^A	14,7 ^b	3,03 ^B	60,3 ^A	0,99 ^a
	x_{min}	26,1	24,7	1,85	0,62	10,5	2,03	50,8	0,93
	x_{max}	33,8	33,6	2,86	1,51	23,5	5,73	66,9	1,05
	SD	2,0	2,7	0,31	0,35	3,3	1,2	4,5	0,05
	KV (%)	4,1	7,2	0,10	0,13	11	1,3	21	0,00
Mann-Whitneyev test		< 0,001		0,001	0,005	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a,b,c} Povprečne vrednosti z različno malo nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, Studentov t -test ($p \leq 0,05$)

^{A,B,C} Povprečne vrednosti z različno veliko nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo, Mann-Whitneyev test ($p \leq 0,05$)

F+G – vsota vsebnosti fruktoze in glukoze; F/G – razmerje med vsebnostjo fruktoze in glukoze

Nekatere sladkorje smo kvantificirali le v vzorcih rešeljikovega medu. Te smo zbrali v preglednici 16. Mednje sodijo disaharida palatinoza in maltoza ter trisaharidi erloza, maltotrioza in panoza. Disaharidov gentobioze in melibioze nismo uspeli ločeno kvantificirati, zato v preglednici podajamo vsoto njunih vsebnosti. Vsebnost maltoze je znašala 7,56 g/100 g medu, ter tako predstavlja tretji najbolj zastopan sladkor v rešeljikovem medu.

Preglednica 16. Vsebnost di- in trisaharidov v rešeljikovem medu, določenih z metodo HPAEC-PAD in izračunani statistični parametri

Vrsta medu	Statistični parameter	Vsebnost sladkorjev (g/100 g)					
		palatinoza	maltoza	gentibioza z melibiozo	erloza	maltotrioza	panoza
Rešeljiko v med ($n = 8$)	$\bar{x}$	1,60	7,56	0,62	0,32	0,21	0,48
	$x_{\min}$	1,44	7,07	0,56	0,18	0,15	0,27
	$x_{\max}$	1,79	8,01	0,79	0,39	0,25	0,57
	SD	0,15	0,36	0,07	0,08	0,04	0,10
	KV (%)	0,02	0,13	0,01	0,01	0,00	0,01

Poleg navedenih sladkorjev smo detektirali in kvantificirali še disaharid manozo, vendar le v vzorcih javorjevega medu, kjer je bila prisotna v količinah od 2,53 do 3,99 g/100 g medu.

4.10 ZVEZE MED ANALIZIRANIMI IN IZRAČUNANIMI PARAMETRI

Na podlagi rezultatov, pridobljenih z analizo ajdovega, javorjevega in rešeljikovega medu ter medu divje češnje, smo ugotavljali morebitne zveze med petindvajsetimi parametri. Za vsak parameter smo izračunali Pearsonov koeficient korelacije (r), s katerim izvemo kakšna je povezava med posameznima neodvisnima, analiziranimi parametroma. Zaradi večje preglednosti smo podatke podali v dveh preglednicah (preglednica 17 in 18). Pri tem smo se osredotočili le na močne ($r = 0,70-1,00$) in zmerne ($r = 0,40-0,70$) zveze s stopnjo značilnosti $p < 0,01$, kar smo označili z dvema zvezdicama (**) ter zveze s stopnjo značilnosti $p < 0,05$, kar smo označili z eno zvezdico (*). V Preglednicah 17 in 18 je razvidno, da so med posameznimi parametri pozitivne ali negativne zveze.

Močni pozitivni zvezi s stopnjo značilnosti $p < 0,01$ smo zabeležili med vsebnostjo skupnih kislin in prostih kislin ($r = 0,985$) ter med vsebnostjo flavonoidov in fenolnih spojin ($r = 0,828$). Glede na to, da sta povezavi močni in pozitivni izvemo, da vrednost ene sprejemljivke narašča z vrednostjo druge. Med vsebnostjo fenolnih spojin in električno prevodnostjo ($r = 0,516$) ter med vsebnostjo fenolnih spojin in diastazno aktivnostjo ($r = 0,602$), smo zabeležili zmerni pozitivni zvezi s stopnjo značilnosti $p < 0,01$. Nekatere zveze so bile zmerne, vendar negativne. Takšna je bila na primer zveza med antioksidativno učinkovitostjo in diastazno aktivnostjo ($r = -0,479$).

Preglednica 17. Pearsonov koeficient korelacije (r) za zveze med analiziranimi in izračunanimi parametri v štirih vrstah slovenskega medu

Zveza	Pearsonov koeficient korelacije (r)
Električna prevodnost - pH	0,423**
Električna prevodnost - Fenolne spojine	0,516**
Proste kisline - Skupne kisline	0,985**
Proste kisline - Flavonoidi	0,461**
Laktani - Skupne kisline	0,498**
Skupne kisline - Diastazna aktivnost	0,403*
Skupne kisline - Flavonoidi	0,481**
Diastazna aktivnost - AU	-0,479**
Diastazna aktivnost - Fenolne spojine	0,602**
Diastazna aktivnost - Flavonoidi	0,523**
AU - Fenolne spojine	-0,466**
AU - Flavonoidi	-0,491**
Fenolne spojine - Flavonoidi	0,828**

** p < 0,01; * p < 0,05; Močne zveze (r = 0,70-1,00) so odebeljene, zmerne zveze (r = 0,40-0,70) pa so neodebeljene.

4.10.1 Zveza med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin

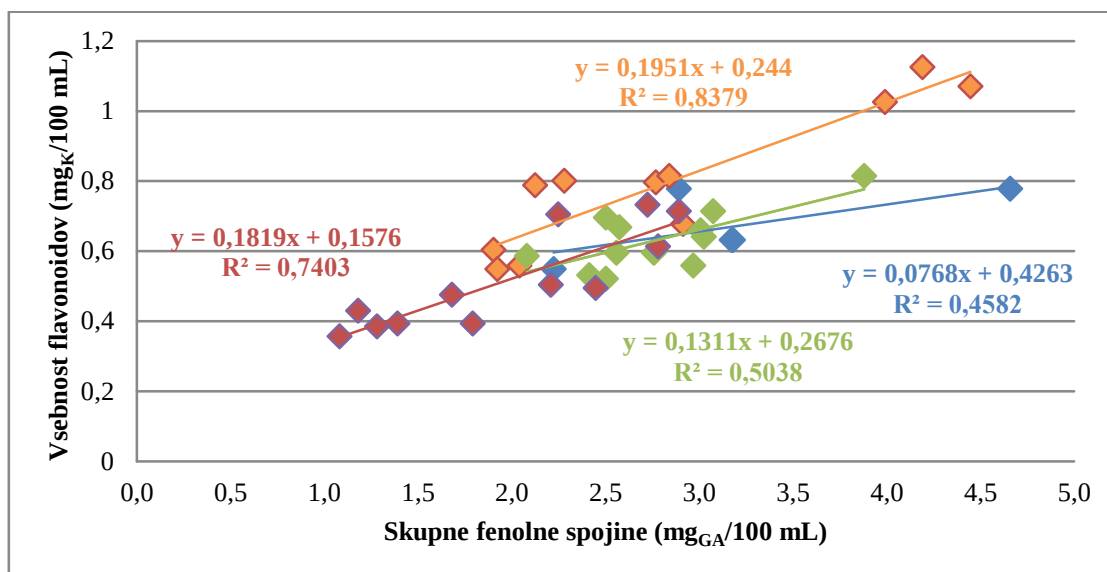
Zveza med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo fenolnih spojin v ajdovem in rešeljikovem medu je močna, kar nakazuje, da so fenolne spojine odgovorne za antioksidativno učinkovitost medu. Za javorjev med in med divje češnje je bila ugotovljena zgolj šibka zveza med tema parametroma.

4.10.2 Zveza med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo flavonoidov

Ugotovili smo, da je zveza med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo skupnih fenolnih spojin izredno šibka in neznačilna. Enačba premice ima negativen trend, kar kaže, da se z večjo vsebnostjo flavonoidov zmanjšuje antioksidativna učinkovitost medu.

4.10.3 Zveza med vsebnostjo flavonoidov in skupnih fenolnih spojin

Močna zveza med spremenljivkama velja pri rešeljikovem medu in medu divje češnje, in kaže na to, da z večjo vsebnostjo skupnih fenolnih spojin lahko pričakujemo tudi več flavonoidov v teh dveh vrstah medu. Pri javorjevem in ajdovem medu smo zabeležili srednje močno zvezo (slika 10).



Slika 10. Zveza med vsebnostjo flavonoidov in skupnih fenolnih spojin v ajdovem (modro), rešeljikovem (oranžno) in javorjevem (zeleno) medu ter medu divje češnje (rdeče)

4.10.4 Zveze med analiziranimi sladkorji v javorjevem in rešeljikovem medu

Izračunani parametri, povezani z vsebnostjo sladkorjev v medu, so podani v preglednici 18. Med močnejši pozitivni zvezi s stopnjo značilnosti $p < 0,01$, uvrščamo zvezo med razmerjem F/G in vsebnostjo fruktoze ($r = 0,870$) ter med vsebnostjo melcitoze in rafinoze ($r = 0,865$). Zvezi med vsebnostjo fruktoze in saharoze ($r = -0,809$) ter med vsebnostjo fruktoze in melcitoze ($r = -0,973$) smo določili kot močni, vendar nista statistično značilni. Pri zvezah med sladkorji v medu moramo opomniti, da se te ugotovitve nanašajo le na javorjev in rešeljikov med.

Preglednica 18. Pearsonov koeficient korelacije (r) za zveze med analiziranimi in izračunanimi parametri sladkorjev v javorjevem in rešeljikovem medu

Zveza	Pearsonov koeficient korelacije (r)
Fruktoza - Turanoza	0,690**
Fruktoza - Vsota F+G	0,853**
Fruktoza - Razmerje F/G	0,870**
Saharoza - Melcitoza	0,807**
Saharoza - Rafinoza	0,724**
Turanoza - Razmerje F/G	0,755**
Palatinoza - Maltoza	0,910**
Melcitoza - Rafinoza	0,865**
Erloza - Maltotrioza	0,785*
Vsota FG - Razmerje F/G	0,487*

** $p < 0,01$; * $p < 0,05$; Močne zveze ($r = 0,70-1,00$) so odebeljene, zmerne zveze ($r = 0,40-0,70$) pa so neodebeljene.

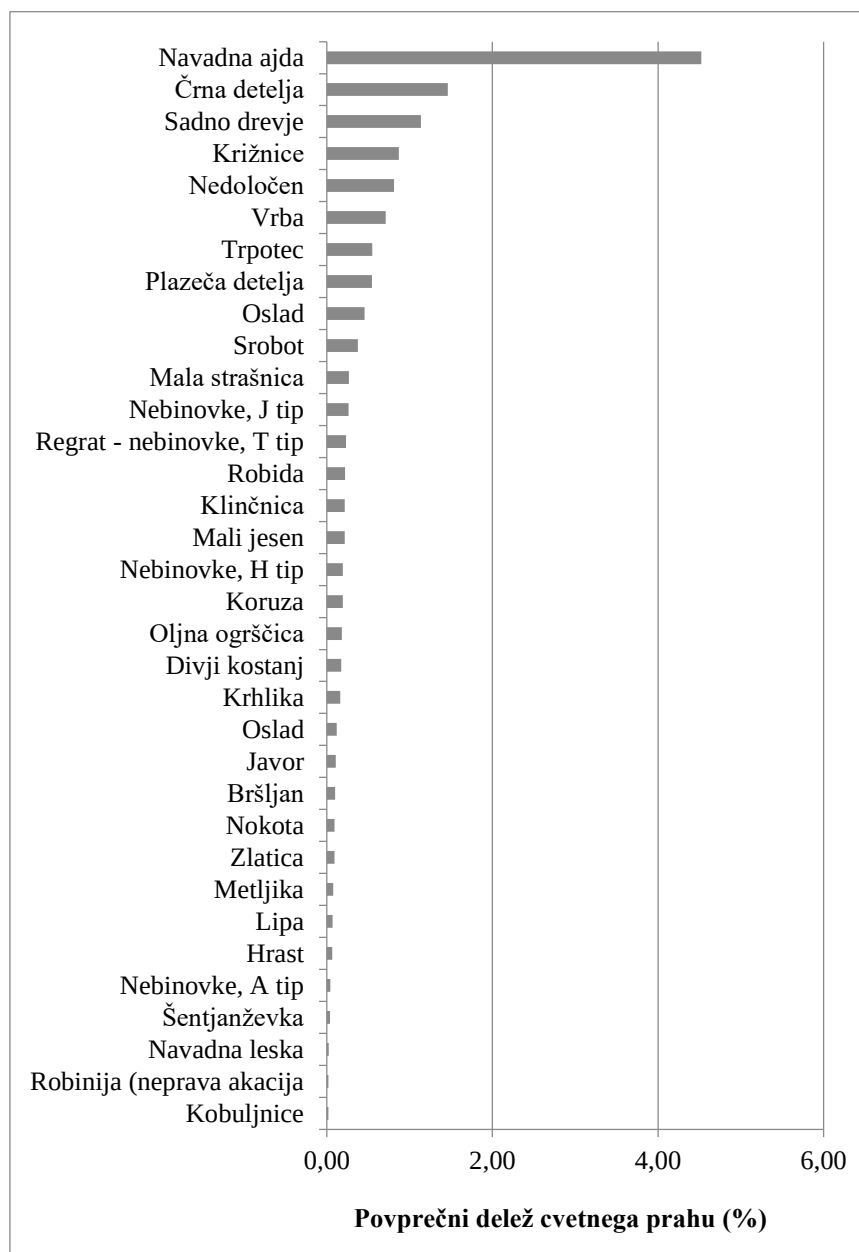
F+G – vsota vsebnosti fruktoze in glukoze; F/G – razmerje med vsebnostjo fruktoze in glukoze

4.11 REZULTATI DOLOČANJA CVETNEGA PRAHU V MEDU

Iz literature je znano pravilo, da mora biti v nektarnem medu več kot 45 % cvetnega prahu ene vrste rastline, da govorimo o vrsti medu. Poleg tega mora vzorec medu imeti za določeno vrsto značilno barvo, okus in vonj. Nekatere vrste medu so glede vsebnosti cvetnega prahu izjeme (npr. kostanjev, akacijev, lipov med) (Golob in sod., 2008; Meglič, 2008; Sabo in sod., 2011).

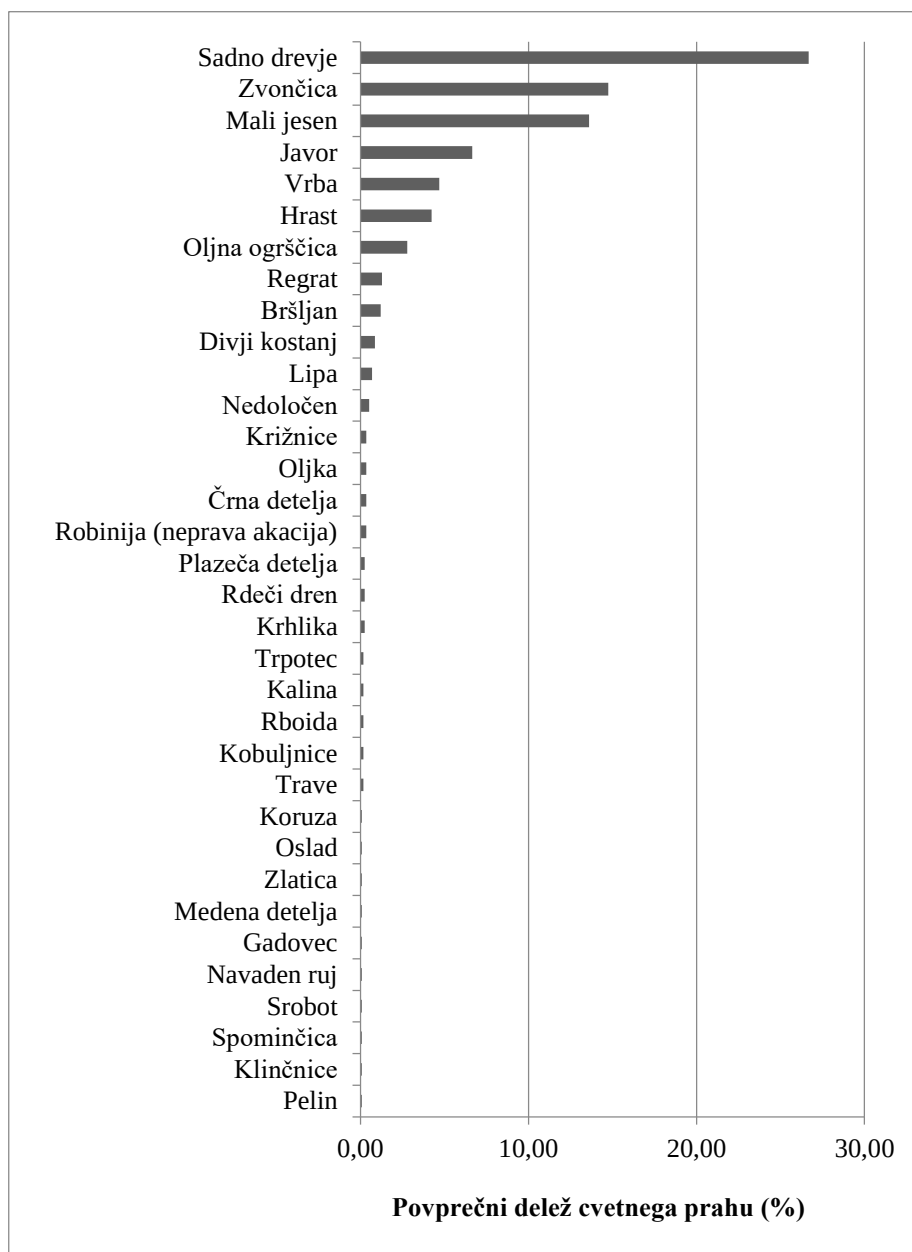
Z mikroskopsko analizo medu smo ugotovili, da sta bila delež in zastopanost cvetnega prahu v naših vzorcih medu precej raznolika, saj smo določili kar okoli 60 različnih rastlinskih vrst, rodov ali družin. Prav tako vsi vzorci ene vrste medu niso vsebovali enakega nabora cvetnega prahu, zato so povprečni deleži le-tega manjši.

Cvetni prah pravega kostanja (*Castanea sativa*) je v slovenskih medovih pogosto bogato zastopan, saj je pravi kostanj po vsej Sloveniji močno razširjen. Tudi v našem primeru so analizirani vzorci vsebovali izrazit delež peloda pravega kostanja, zaradi česar smo na slikah od 11 do 14 podali korigirane vrednosti povprečnih deležev najbolj pomembnih vrst cvetnega prahu ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje.



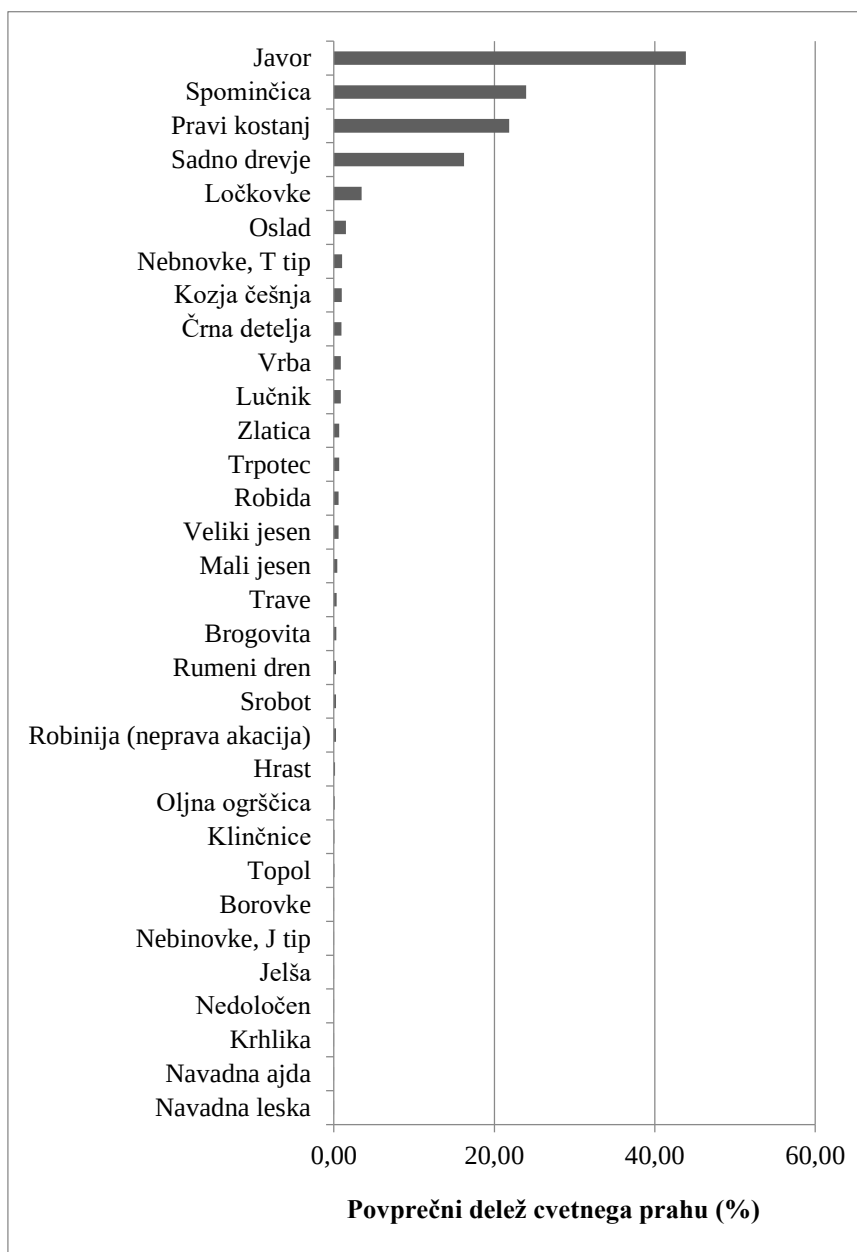
Slika 11. Povprečni deleži cvetnega prahu v vzorcih ajdovega medu

Analiza vzorcev ajdovega medu je pokazala prisotnost cvetnega prahu oziroma peloda pravega kostanja (*Castanea sativa*) v intervalu od 71,6 do 95,2 %. Preostali delež zavzema pelod navadne ajde (*Fagopyrum esculentum*), in sicer 4,5 %, nato pelod črne detelje (1,46 %) ter pelod sadnega drevja (1,1 %). Pelod križnic, vrbe, trpotca, plazeče detelje idr., prištevamo v skupino posamičnega peloda, ki ga je v medu od 0 do 3 % (slika 11).



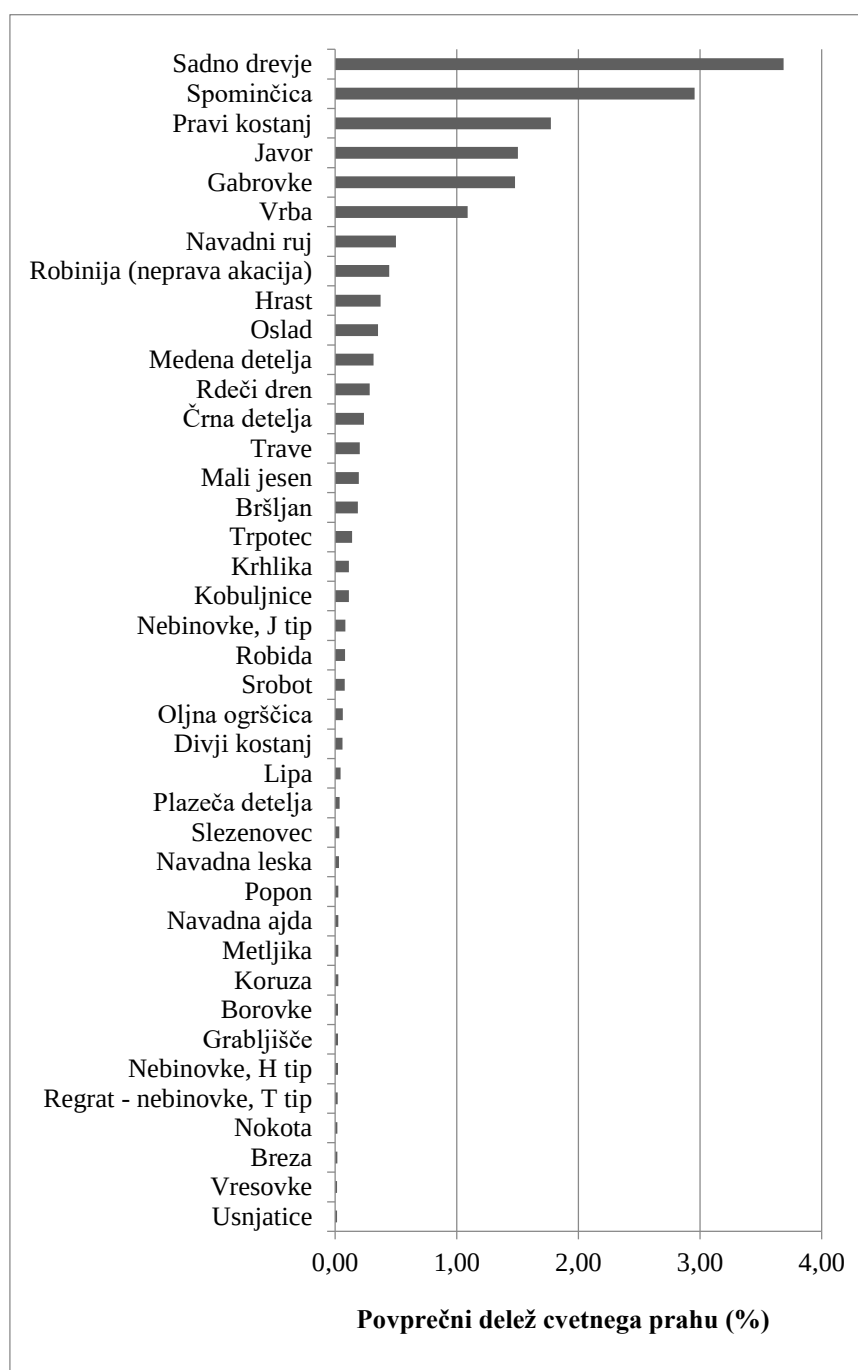
Slika 12. Povprečni deleži cvetnega prahu v vzorcih rešeljikovega medu

Z analizo vzorcev rešeljikovega medu smo v vzorcih rešeljikovega medu določili prisotnost peloda pravega kostanja, katerega povprečna vsebnost je znašala 16,9 %. Rešeljiko (*Prunus mahaleb*) sicer uvrščamo med sadna drevesa. Povprečna vsebnost peloda sadnega drevja je znašala 26,7 %. Med pomembnejši posamični pelod, ki ga je v medu od 3 do 15 %, smo v padajočem vrstnem redu določili pelod zvončnice, malega jesena, javorja, vrbe in hrasta. Od tega smo cvetni prah zvončnice in vrbe določili le v enem vzorcu rešeljikovega medu. V manjših deležih (od 1,28 do 0,09 %) smo zaznali cvetni prah regrata, bršljana, divjega kostanja, lipe, trpotca, medene detelje in drugih (slika 12).



Slika 13. Povprečni deleži cvetnega prahu v vzorcih javorjevega medu

Analiza javorjevega medu je pokazala prisotnost peloda pravega kostanja (37,5 %). Pelod javorja (*Acer* sp.) je bil prisoten v vseh vzorcih javorjevega medu in je v povprečju znašal 43,9 %. Cvetni prah spominčice, ki sicer cveti spomladi, je bil prisoten v 8 od 12 analiziranih vzorcev, in je v povprečju znašal 24,0 %. Sledil je pelod sadnega drevja (16,2 %). Med pomembnejši posamični pelod s povprečnim delež cvetnega prahu med 3 in 15 %, smo uvrstili pelod ločkovk, oslada, nebinovk (T tip), kozje češnje, črne detelje idr. Določili smo tudi posamični pelod velikega in malega jesena, robinije, oljne ogrščice, navadne ajde idr. Ta je prisoten v deležih nižjih od 3 % (slika 13).



Slika 14. Povprečni deleži cvetnega prahu v vzorcih medu divje češnje

Pri določanju vsebnosti cvetnega prahu v medu divje češnje smo določili prisotnost pravega kostanja v intervalu od 0,81 do 59,0 %. Pelod sadnega drevja, med katerega prištevamo tudi pelod divje češnje (*Prunus avium*), smo določili v 8 od 10 vzorcev. Le 2 od 10 medov sta vsebovala pelod spominčice. Vsi vzorci medu divje češnje so vsebovali pelod javorja, katerega delež je v povprečju znašal 1,5 %. Med posamični pelod prištevamo pelod trpotca, oljne ogrščice, lipe, navadne ajde, koruze idr. (slika 14).

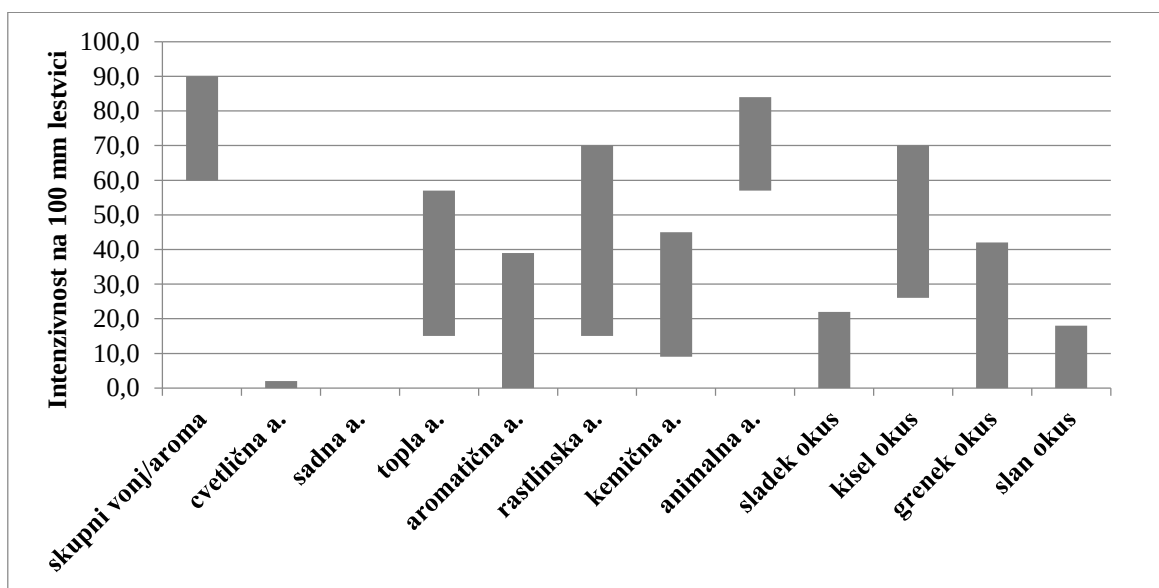
4.12 REZULTATI SENZORIČNEGA OCENJEVANJA MEDU

Za karakterizacijo senzoričnih lastnosti ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje smo izvedli kvantitativno in kvalitativno senzorično analizo. V primeru kvantitativne opisne analize vonja in arome, so senzorični panel sestavljali šolani preskuševalci, ki so opisali omenjeni senzorični lastnosti štirih vrst medu, s pomočjo 100 mm lestvice. Rezultate smo podali na slikah 15, 18, 21 in 24. V primeru kvalitativne opisne analize, kjer smo uporabili metodo »Označi vse, kar ustreza«, so senzorični panel predstavljali potrošniki. Za lažje sledenje rezultatom smo v nadaljevanju uporabljali izraz potrošniško profiliranje vonja in arome medu. Rezultate smo v padajočem vrstnem redu podali na slikah 16, 19, 22 in 25. Prav tako smo s potrošniki izvedli senzorično ocenjevanje intenzivnosti vonja in arome na 100 mm lestvici. Rezultate smo skupaj z rezultati kvantitativne opisne analize vonja in arome, prikazali v obliki pajkograma (slika 17, 20, 23 in 26).

Pri vseh treh senzoričnih ocenjevanjih medu smo za opis vonja in arome uporabili standardne opisnike (deskriptorje), definirane v Kolesu vonjev in arom (Korošec in sod., 2014). Pri okusu smo določali intenzivnost sladkega, kislega, grenkega in slanega okusa.

4.12.1 Profil vonja in arome ajdovega medu

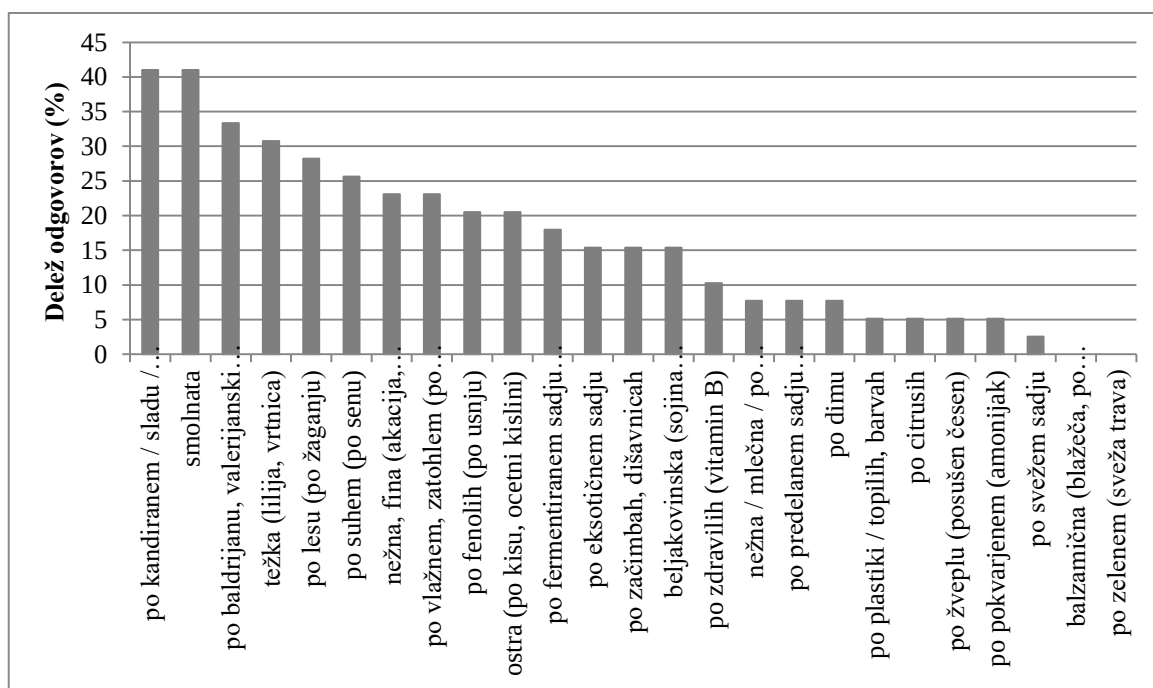
Na podlagi rezultatov senzoričnega ocenjevanja na osnovi kvantitativne opisne analize s pomočjo 100 mm lestvice, so šolani preskuševalci ovrednotili skupni vonj oziroma aromo ajdovega medu kot srednje do močno intenzivno (od 60 do 90 mm) (slika 15).



Slika 15. Preliminarni profil vonja in arome ajdovega medu določen s kvantitativno opisno analizo

Kot je lepo vidno na sliki 15, je po mnenju članov strokovnega panela v ajdovem medu prevladovala skupina animalnih arom (od 57 do 84 mm), ki veljajo za posebnost ajdovega medu. Ravno nasprotno kot potrošniki, šolani preskuševalci cvetličnih not skoraj niso zaznali (od 0 do 2 mm). Tudi okus ajdovega medu je nekaj posebnega, saj lahko poleg srednje sladkega, srednje kislega in nežno grenkega, zaznamo tudi rahlo slan okus (povp. 5 mm).

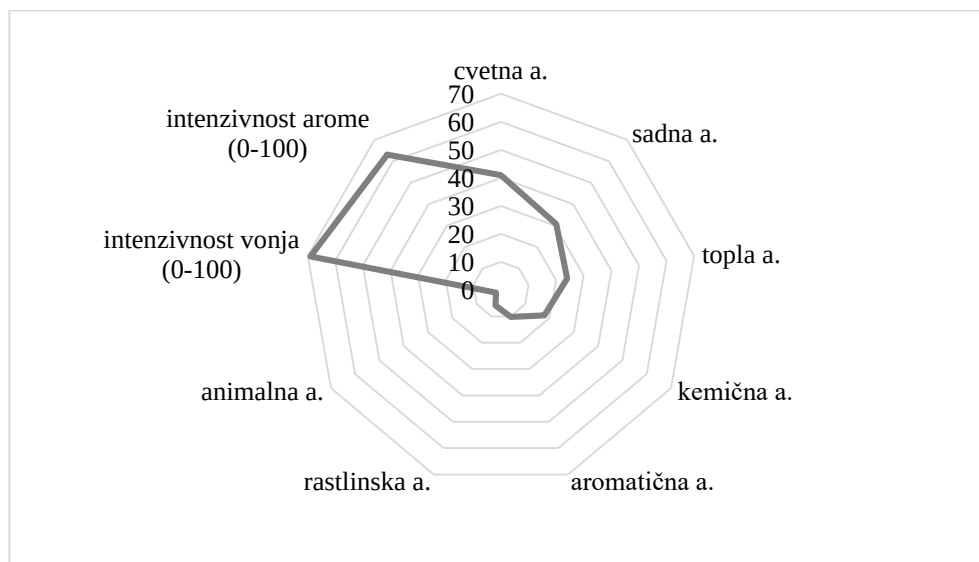
Slika 16 nam pove, da je pri potrošniškem profiliranju vonja in arome ajdovega medu kar 41 % potrošnikov v ajdovem medu zaznalo note po kandiranem, sladku, pečenem ali zažganem, ki sodijo v skupino toplih not. Prav takšen delež potrošnikov je aromo ajdovega medu povezal z aromatično noto (po smoli). 33 % potrošnikov je v njem zaznalo za ajdov med značilno animalno skupino vonjev in arom, kamor prištevamo note po baldrijanu in valerijanski kislini. Nekoliko manj, približno 30 % potrošnikov, je zaznalo težko cvetno (po lilijah ali vrtnicah) in rastlinsko noto (po lesu). V vonju ali aromi ajdovega medu potrošniki niso zaznali balzamične note ter note po zelenem.



Slika 16. Prikaz najpogostejših značilnosti vonja in arome ajdovega medu, ovrednotenih s potrošniškim profiliranjem

Rezultati senzoričnega ocenjevanja intenzivnosti vonja in arome ajdovega medu s pomočjo 100 mm lestvice so pokazali, da so potrošniki ajdov med ocenili kot med z najbolj intenzivnim vonjem (69 mm) in aromo (63 mm). Na sliki 17 smo predstavili tudi rezultate potrošniškega profiliranja vonja in arome ajdovega medu, ki smo jih tokrat uredili v skupine po glavnih deskriptorjih. Največji delež (41 % od 39 potrošnikov) je v ajdovem medu zaznalo cvetne vonje in arome.

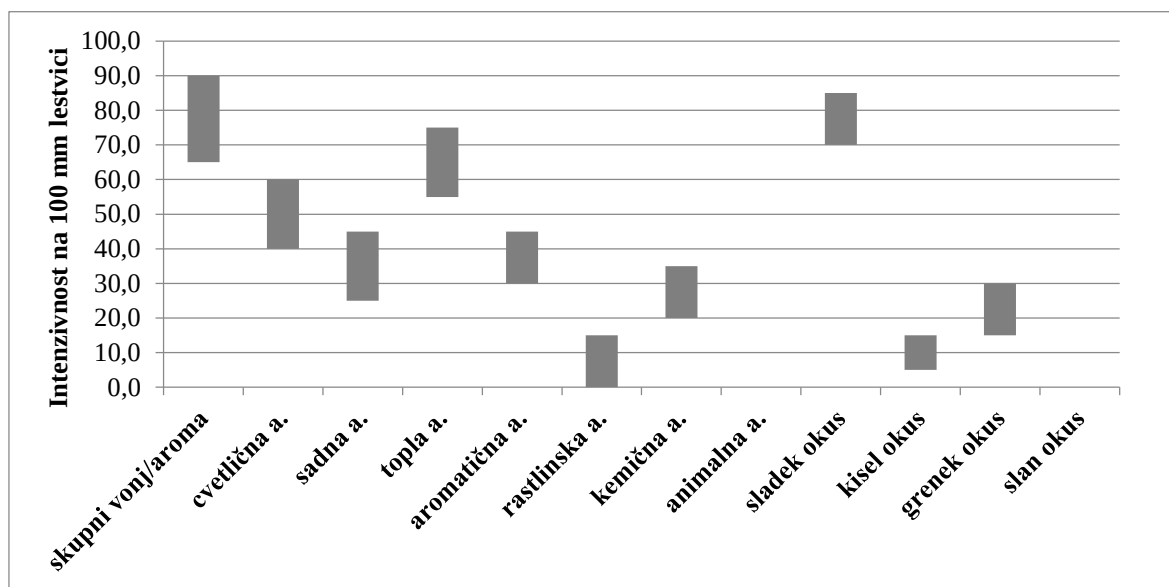
Sledile so skupine sadnih (31 % od 39 potrošnikov), toplih (24 % od 39 potrošnikov), kemičnih (18 % od 39 potrošnikov), aromatičnih (10 % od 39 potrošnikov) in rastlinskih (6 % od 39 potrošnikov) vonjev in arom. Le 2 % od 39 potrošnikov sta v ajdovem medu zaznala animalne vonje in arome, ki sicer veljajo za posebnost ajdovega medu (slika 17).



Slika 17. Prikaz značilnosti vonja in arome ajdovega medu, zaznanih s strani potrošnikov

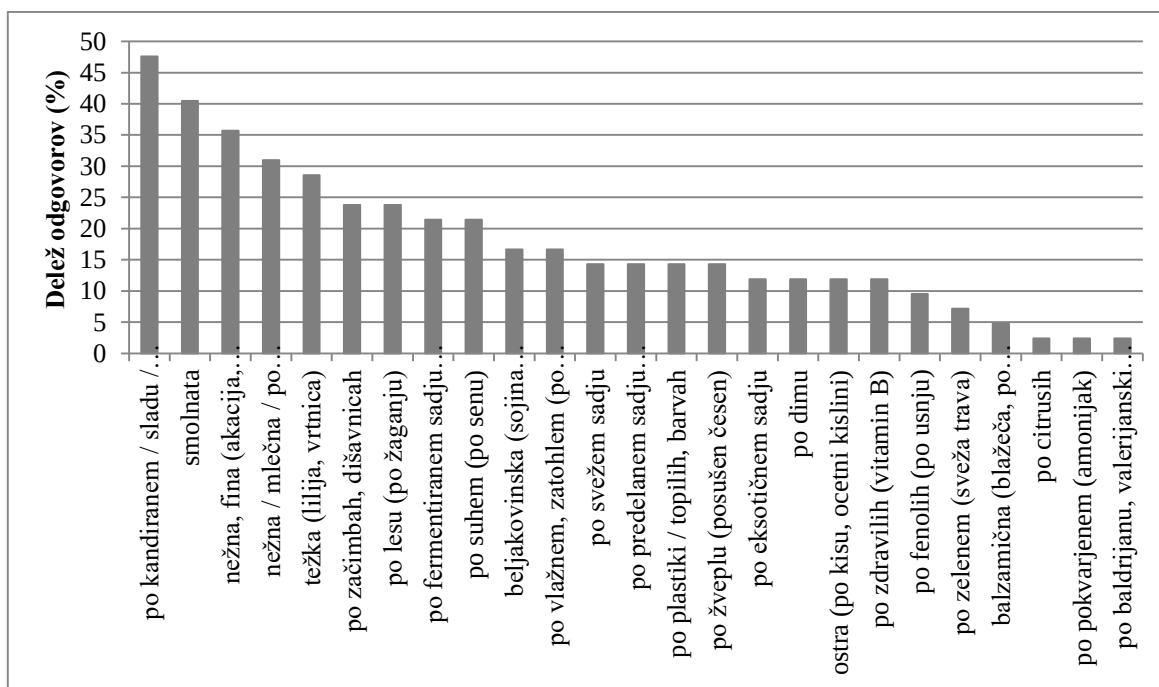
4.12.2 Profil vonja in arome rešeljikovega medu

Rezultati senzoričnega ocenjevanja na osnovi kvantitativne opisne analize s pomočjo 100 mm lestvice so pokazali, da je skupni vonj oziroma aroma rešeljikovega medu, po mnenju šolanih preskuševalcev srednje do močno intenzivna (od 65 do 90 mm). Glede na rezultate, podane na sliki 18, so šolani preskuševalci v rešeljikovem medu zaznali predvsem tople (od 55 do 75 mm) in cvetlične (od 40 do 60 mm), pa tudi aromatične (od 30 do 45 mm) in sadne (od 25 do 45 mm) vonje in arome. Animalnih arom v rešeljikovem medu niso zaznali. Okus so po pričakovanjih zaznali kot srednje do močno sladek, šibko kisel ter srednje grenek.



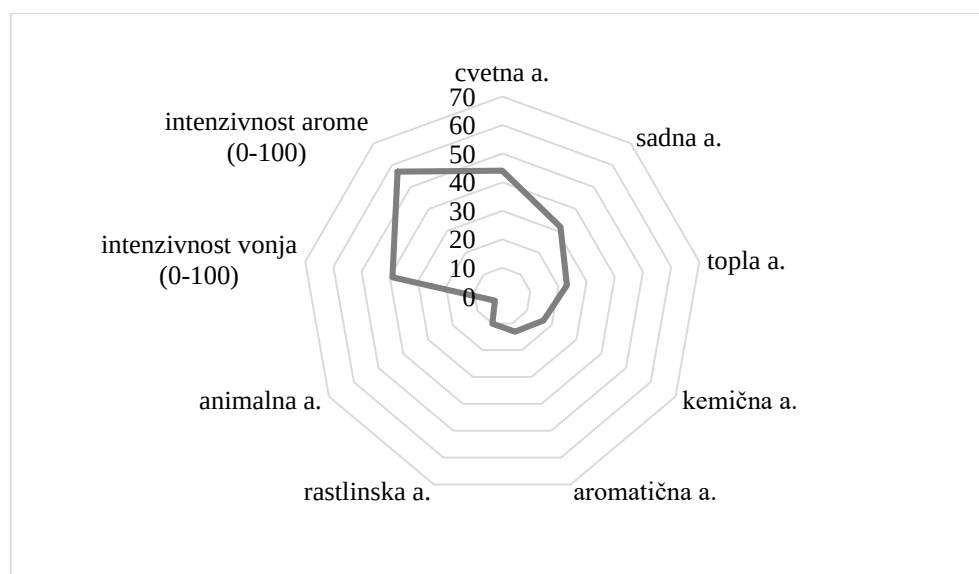
Slika 18. Preliminarni profil vonja in arome rešeljikovega medu določen s kvantitativno opisno analizo

S potrošniškim profiliranjem vonja in arome rešeljikovega medu smo ugotovili, da je največji delež potrošnikov zaznalo note po kandiranem, sladju, pečenem ali zažganem (48 %) ter smolnato noto (40 %). Sledila je skupina cvetnih not, ki zajema nežne, fine note (akacija, cvetovi pomaranče) in težke note (lilija, vrtnica) ter skupina toplih not z nežnimi, mlečnimi notami. Le 2 % potrošnikov sta v rešeljikovem medu zaznala note po citrusih, po pokvarjenem (amonijaku) in po baldrijanu ter valerijanski kislini (slika 19).



Slika 19. Prikaz najpogostejših značilnosti vonja in arome rešeljikovega medu, ovrednotenih s potrošniškim profiliranjem

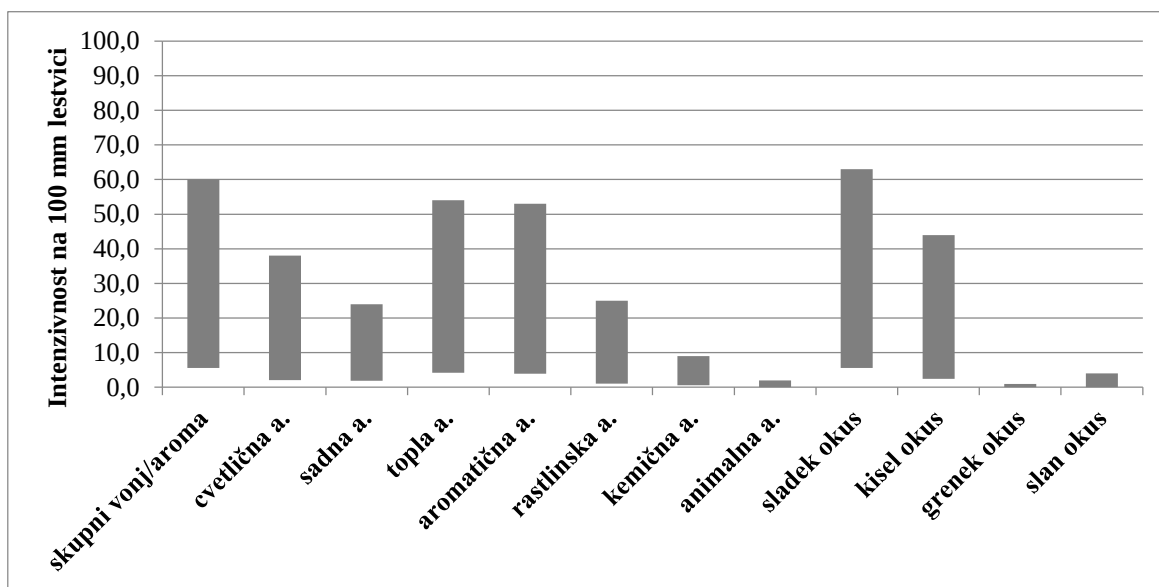
Na sliki 20 smo predstavili rezultate senzoričnega ocenjevanja intenzivnosti vonja in arome rešeljikovega medu s pomočjo 100 mm lestvice, izvedenega s potrošniki. Ti so mnenja, da ima rešeljikov med slabše do srednje intenziven vonj (39 mm) ter srednje intenzivno aromo (57 mm). Iz slike 18 lahko razberemo tudi, da je od 42 potrošnikov 44 % v rešeljikovem medu zaznalo vonje in arome iz cvetne skupine, 32 % od 42 potrošnikov iz sadne skupine ter 23 % od 42 potrošnikov iz skupine s toplimi vonji in aromami. Manj kot 20 % od 42 potrošnikov je v rešeljikovem medu zaznalo vonje in arome iz kemične (17 %), aromatične (13 %), rastlinske (10 %) in animalne (3 %) skupine.



Slika 20. Prikaz značilnosti vonja in arome rešeljikovega medu, zaznanih s strani potrošnikov

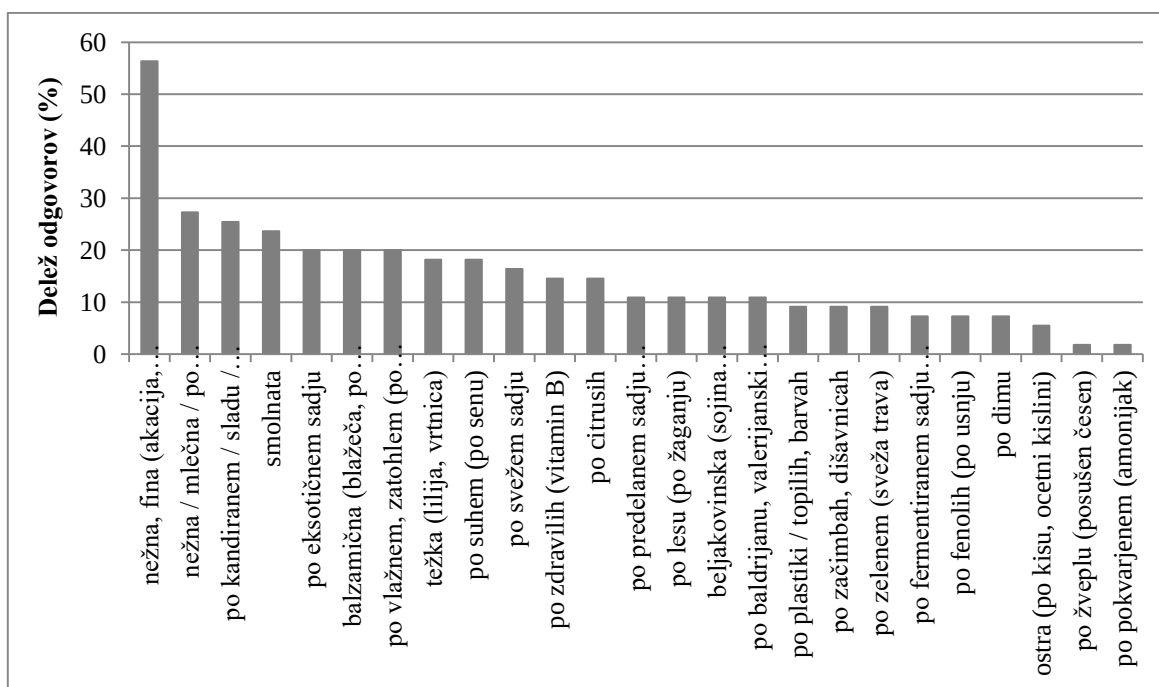
4.12.3 Profil vonja in arome javorjevega medu

Rezultate senzoričnega ocenjevanja vonja in arome javorjevega medu na osnovi kvantitativne opisne analize s pomočjo 100 mm lestvice, ki smo ga opravili s šolnimi preskuševalci, smo prikazali na sliki 21. Šolani preskuševalci so skupni vonj oziroma aromo javorjevega medu zaznali kot srednje intenzivno (od 49 do 60 mm), prav tako potrošniki (slika 23). Pri opisu vonjev in arom je več kot polovica potrošnikov (56 %) prepoznala nežne, fine note, ki spominjajo na cvetove pomaranče in akacije. Tudi šolani preskuševalci so v javorjevem medu zaznali cvetlične (od 8 do 38 mm) vonje in arome, vendar so kot intenzivnejše zaznali tople (od 32 do 54 mm) in aromatične (od 30 do 53 mm) vonje in arome. Note (po začimbah, smolanto, po citrusih, ostro, po fenolih, po baldrijanu), ki jih prištevamo v ti dve skupini, so potrošniki sicer zaznali, vendar v manjšem številu (od 20 do 25 %). Strokovni panel je okus javorjevega medu zaznal kot srednje sladek, šibko do srednje kisel ter šibko grenek.



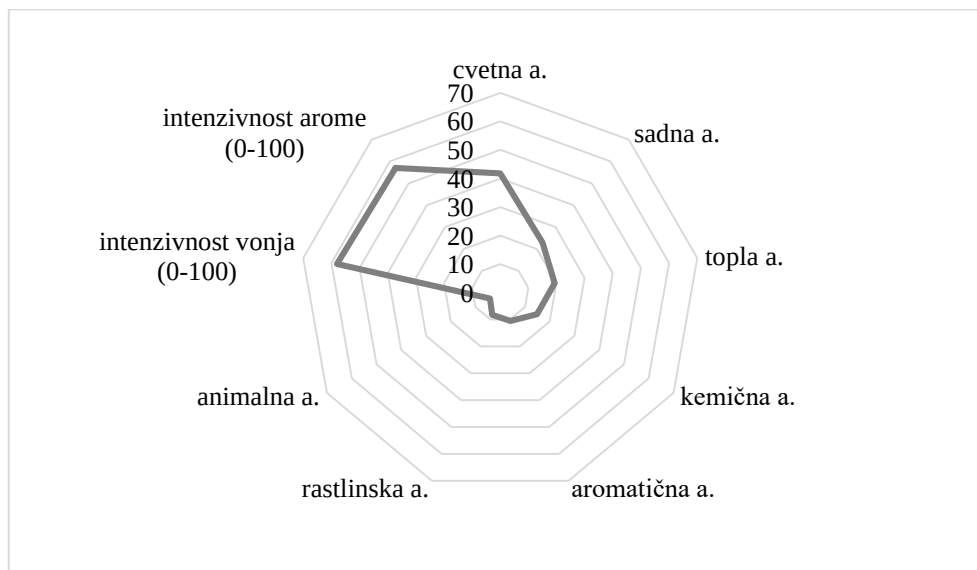
Slika 21. Preliminarni profil vonja in arome javorjevega medu določen s kvantitativno opisno analizo

S potrošniškim profiliranjem vonja in arome javorjevega medu smo ugotovili, da je več kot polovica potrošnikov v javorjevem medu zaznala nežno, fino noto, ki spominja na akacijo in cvetove pomaranče. Slabih 30 % je zaznalo nežno toplo noto oziroma noto po mlečnem in grenkih mandljih. Med 20 in 25 % potrošnikov pa je vonj in aromo javorjevega medu označilo z deskriptorji po kandiranem, sladju, pečenem ali zažganem, po smolnatem, po eksotičnem sadju, po vlažnem ali po eteričnem olju (balzamična nota) (slika 22).



Slika 22. Prikaz najpogostejših značilnosti vonja in arome javorjevega medu, ovrednotenih s potrošniškim profiliranjem

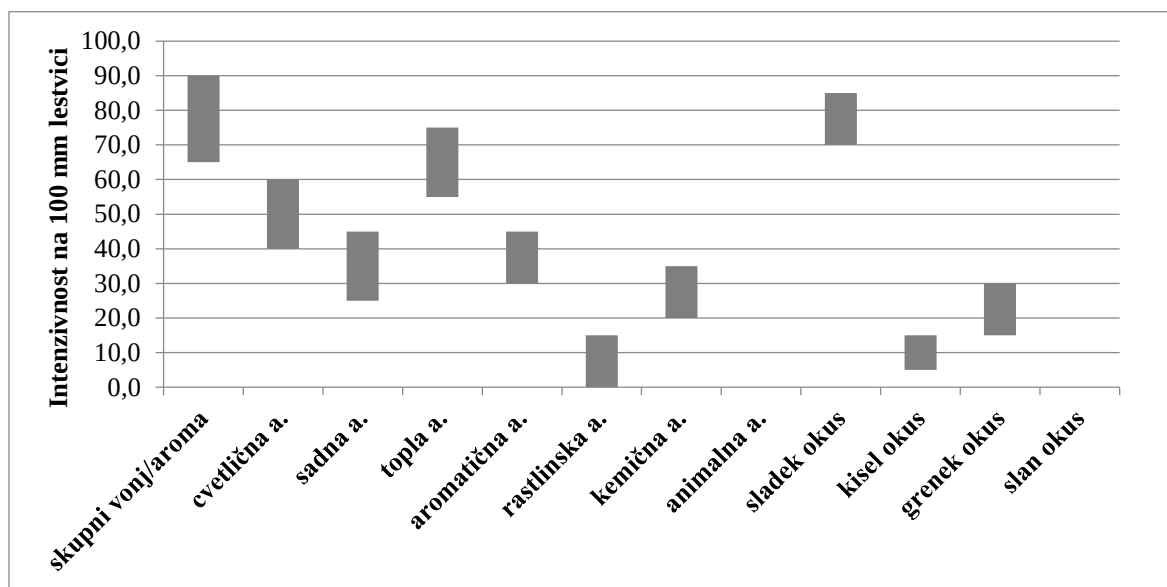
Glede na rezultate senzoričnega ocenjevanja intenzivnosti vonja in arome s pomočjo 100 mm lestvice (slika 23), so potrošniki javorjev med ocenili kot med s srednje intenzivnim vonjem (58 mm) in aromo (57 mm). Največji delež potrošnikov (42 % od 55 potrošnikov) je v javorjevem medu zaznalo cvetne vonje in arome. Zaznali so tudi sadne (23 % od 55 potrošnikov), tople (19 % od 55 potrošnikov), kemične (15 % od 55 potrošnikov), aromatične (10 % od 55 potrošnikov) in rastlinske (8 % od 55 potrošnikov) vonje in arome. 4 % od 55 potrošnikov so v javorjevem medu zaznali vonje in arome iz animalne skupine.



Slika 23. Prikaz značilnosti vonja in arome javorjevega medu, zaznanih s strani potrošnikov

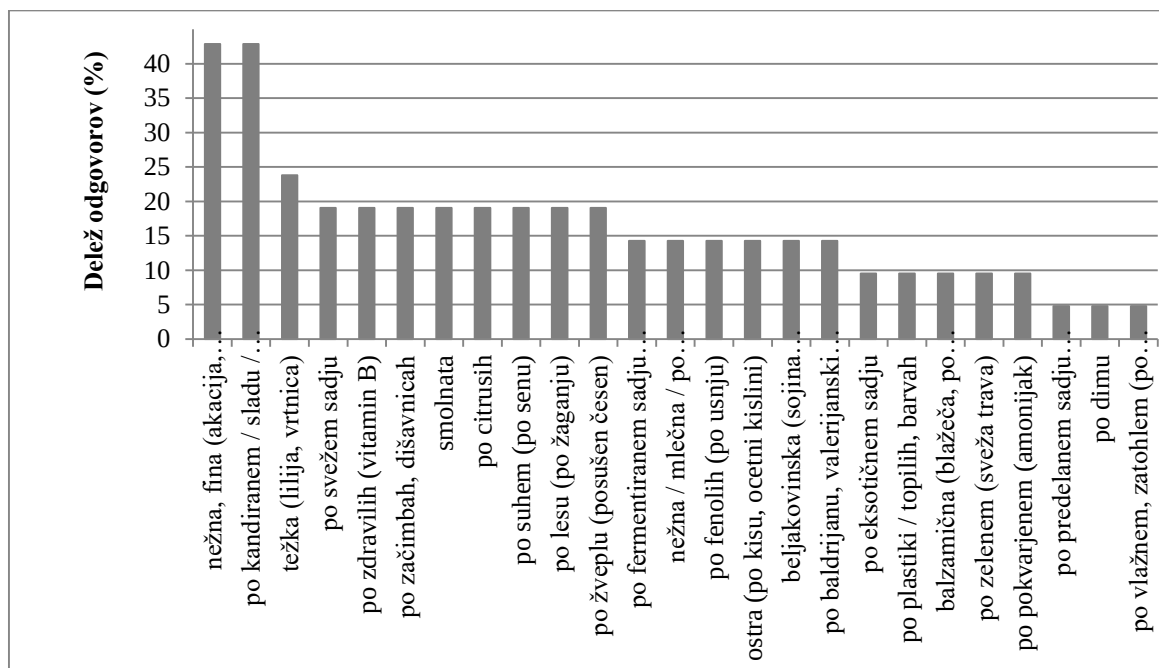
4.12.4 Profil vonja in arome medu divje češnje

Slika 24 prikazuje rezultate senzoričnega ocenjevanja vonja in arome medu divje češnje na osnovi kvantitativne opisne analize s pomočjo 100 mm lestvice. Ti so pokazali, da so šolani preskuševalci med divje češnje ocenili kot med s srednje do močno intenzivnim vonjem in aromo (od 65 do 90 mm), kjer prevladujejo note iz skupine toplih in cvetličnih vonjev in arom (po kandiranem, sladu itd.). Šolani preskuševalci so v medu divje češnje zaznali tudi sadne (od 25 do 45 mm), aromatične (od 25 do 40 mm) in kemične (od 15 do 30 mm) vonje in arome. Rastlinskih vonjev in arom skoraj niso zaznali, kar dokazuje nizka povprečna vrednost (8 mm). Potrošniki so v medu divje češnje zaznali srednje intenzivno aromo, prednost pa so dali deskriptorjem iz skupine cvetličnih vonjev in arom (slika 26). Šolani preskuševalci so okus medu divje češnje zaznali kot srednje do močno sladek, šibko kisel in šibko do srednje grenek.



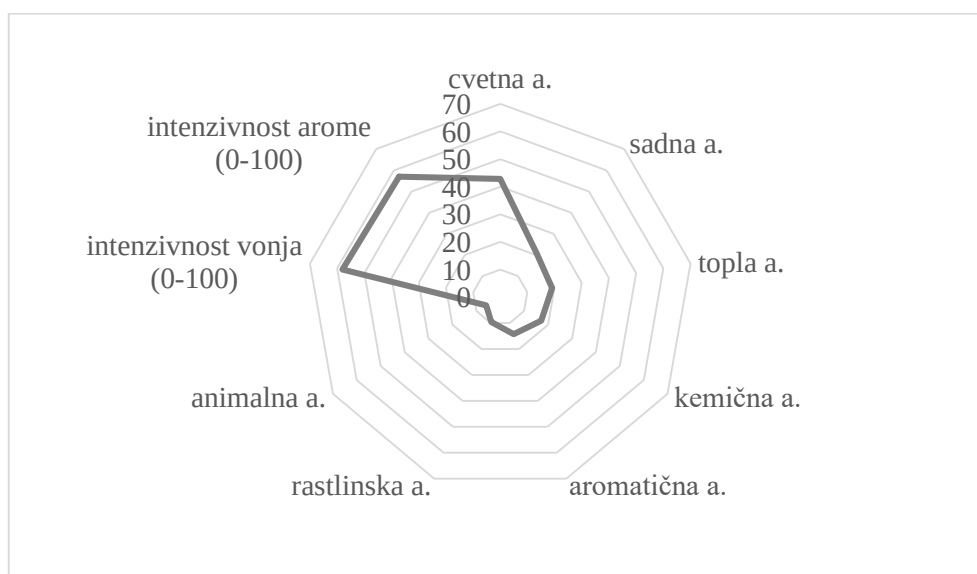
Slika 24. Preliminarni profil vonja in arome medu divje češnje določen s kvantitativno opisno analizo

Rezultati, pridobljeni s potrošniškim profiliranjem vonja in arome medu divje češnje so pokazali, da prevladujejo deskriptorji, ki jih uvrščamo v skupino nežnih, finih arom (43 %), ki spominjajo na akacijo ter cvetove pomaranče ter arom po kandiranem, sladku, pečenem ali zažganem (43 %). Približno 20 % potrošnikov je v medu divje češnje zaznalo težke note, kot so note po vrtnici in liliji, note po svežem sadju, po zdravilih, po začimbah in dišavnicah, smolnato noto, noto po citrusih, po suhem, po lesu ter po žveplu. Nekaj potrošnikov (5 %) je v medu divje češnje zaznalo noto po predelanem sadju in humusu (slika 25).



Slika 25. Prikaz najpogostejših značilnosti vonja in arome medu divje češnje, ovrednotenih s potrošniškim profiliranjem

Podobno kot pri javorjevem in rešeljikovem medu, so potrošniki pri senzoričnem ocenjevanju intenzivnosti vonja in arome na 100 mm lestvici med divje češnje ocenili kot med s srednje intenzivnim vonjem (58 mm) in aromo (57 mm). Najpogosteje so zaznali cvetne vonje in arome (43 % od 21 potrošnikov), ki so jim sledile skupine sadnih (21 % od 21 potrošnikov), toplih (19 % od 21 potrošnikov), kemičnih (17 % od 21 potrošnikov), aromatičnih (14 % od 21 potrošnikov) in rastlinskih (10 % od 21 potrošnikov). 6 % od 21 potrošnikov je v medu divje češnje zaznalo animalne vonje in arome, ki sicer za med divje češnje niso značilni (slika 26).



Slika 26. Prikaz značilnosti vonja in arome medu divje češnje, zaznanih s strani potrošnikov

S senzorično analizo medu smo ugotovili, da se nekateri rezultati oziroma mnenja potrošniškega in strokovnega panela razlikujejo. Menimo, da je glavni razlog za deljeno mnenje ta, da potrošniki pogosto zamenjujejo deskriptorje in se pri ocenjevanju preveč zanašajo na svoje občutke, medtem ko šolani preskuševalci ocenjujejo na podlagi znanja in izkušenj ter podajajo zanesljive rezultate.

5 RAZPRAVA

Analizirali smo 40 vzorcev medu, ki smo jih pridobili neposredno od čebelarjev in Čebelarске zveze Slovenije. Sprva so botanično poreklo posameznih vzorcev določili čebelarji sami, glede na čas cvetenja medovitih rastlin ter lokacijo čebelnjaka, nato pa smo v sklopu raziskave izvedli pelodno analizo ter s tem določili vsebnost posameznega cvetnega prahu v medu. Za dodatno potrditev deklarirane vrste medu, smo opravili še senzorično oceno in vzorce razvrstili glede na botanično poreklo v štiri skupine: ajdov, rešeljikov in javorjev med ter med divje češnje.

Sledila je fizikalno-kemijska analiza izbranih vzorcev medu, kjer smo določali vsebnost vode, L-askorbinske kisline, sladkorjev, prostih in skupnih kislin ter laktonov, antioksidativno učinkovitost z metodo DPPH, skupne fenolne spojine in flavonoide. Merili smo tudi električno prevodnost, vrednost pH in aktivnost encima diastaze. Dobljene rezultate smo primerjali z vrednostmi, ki jih predpisuje slovenski Pravilnik o medu (2011) ter strokovna literatura. S statistično analizo zbranih rezultatov pa smo preverjali morebitno povezanost med analiziranimi parametri znotraj posamezne vrste in med vrstami.

Z analizo vsebnosti vode v medu smo ugotovili, da analizirane vrste medu vsebujejo precej podoben povprečni delež vode. Ta je bil v vzorcih medu divje češnje največji (16,0 %), v vzorcih ajdovega medu pa najmanjši (15,4 %). Lukasiewicz in sodelavci (2015) so v vzorcih ajdovega medu iz Poljske določili podobno vsebnost vode. Ta je v povprečju znašala 15,8 %. Nekoliko drugačne rezultate je pokazala analiza treh vrst medu iz Litve (Kretavičius in sod., 2010). V njihovem primeru je ajdov med v povprečju vseboval največ, in sicer 18,4 % vode, nekoliko manj cvetlični med (17,7 %) ter najmanj med oljne ogrščice, kjer je povprečna vsebnost vode znašala 16,3 %. Razlog za odstopanja med dobljenimi rezultati slovenskega, poljskega in litvanskega medu, je odvisnost vsebnosti vode v medu od sezone pridelave, vrste in stopnje zrelosti medu ter temperature in tudi drugih pogojev med skladiščenjem (Al-Khalifa in Al-Arif, 1999). Vsebnost vode v vzorcih AJ3 (ajdov med), R7 in R11 (rešeljikov med) ter Č2, Č5 in Č9 (med divje češnje), je bila manjša od 15,0 %. Kot navajajo Golob in sodelavci (2008), med z manjšo vsebnostjo vode hitreje kristalizira, je nekoliko bolj viskozen in slabše tekoč.

Pravilnik o medu (2011) navaja, da lahko električna prevodnost raztopin medu z 20 % suhe snovi za med iz nektarja (z izjemo kostanjevega medu) znaša največ 0,8 mS/cm, medtem ko mora biti pri maninem in kostanjevem medu večja od 0,8 mS/cm, vendar ne sme presegati 1,9 mS/cm. V vzorcih javorjevega medu, ki je lahko maninega ali nektarnega izvora, smo tako določili najvišjo povprečno električno prevodnost (1,036 mS/cm). Med vzorci ostalih vrst analiziranega medu je kar nekaj takšnih, ki presegajo dovoljeno mejo za med nektarnega izvora.

Kot vemo, je višja električna prevodnost posledica večje vsebnosti mane, katere količina v medu je odvisna od vremenskih razmer, medenja ter časa točenja medu. Zhou in sodelavci (2012) navajajo, da je analiza kitajskega ajdovega medu pokazala nekoliko nižjo povprečno električno prevodnost (0,5 mS/cm), kot smo jo v vzorcih ajdovega medu določili mi (0,845 mS/cm). Lukasiewicz in sodelavci (2015) pa so v vzorcih ajdovega medu iz Poljske določili še nekoliko nižjo povprečno električno prevodnost (0,248 mS/cm). Razlike med dobljenimi rezultati so posledica povezave med vsebnostjo mineralnih snovi, organskih kislin in beljakovin ter električno prevodnostjo medu (Zhou in sod., 2012).

pH vrednost 10 % raztopine medu je bila med 3,20 in 5,50. pH ima pomembno vlogo pri okusu in mikrobiološki stabilnosti medu. Z analizo medu smo dokazali, da imajo vsi analizirani vzorci medu ustrezno vrednost pH. Najmanjšo smo določili v vzorcih ajdovega medu (3,88), kjer smo zabeležili največje odstopanje med rezultati. Tudi Zhou in sodelavci (2012) so v kitajskem ajdovem medu določili vrednosti pH v nekoliko večjem intervalu (3,92-4,70), povprečna pH vrednost je v tem primeru znašala 4,33. Nayik in sodelavci (2015) navajajo, da je povprečna pH vrednost osmih vzorcev indijskega medu divje češnje znašala 3,01, kar je nekoliko manj, kot smo v vzorcih slovenskega medu divje češnje določili mi (4,02). Razlog za različen pH v vzorcih medu, je prisotnost številnih, za med značilnih kislin, ki se razlikujejo po sestavi. Te v največji meri izvirajo iz ustnih žlez čebel, manj iz rastlin ali pa nastanejo kot vmesni členi bioloških procesov (Doner, 2003; Taranov, 2013).

Vsebnost prostih kislin je pokazatelj pristnosti in kakovosti medu ter vpliva na vsebnost skupnih kislin v medu (Golob in sod., 2008). Na podlagi analize smo ugotovili, da analizirani vzorci vsebujejo od 16,4 mekv/kg (javorjev med) do 26,5 mekv/kg (rešeljikov med). Vzorce lahko označimo kot ustrezne, saj vsebujejo manj kot 50 mekv/kg, kar je glede na Pravilnik o medu (2011) mejna koncentracija. Pasini in sodelavci (2013) navajajo, da je povprečna vsebnost prostih kislin v vzorcih ajdovega medu iz Italije in vzhodne Evrope znašala 30,0 mekv/kg, analiza poljskega ajdovega medu (Lukasiewicz in sod., 2015) pa 27,3 mekv/kg. Ti podatki so primerljivi s povprečno vsebnostjo prostih kislin v vzorcih ajdovega medu (24,7 mekv/kg), ki smo jo z analizo določili mi.

Laktoni nastajajo med procesom zorenja medu, so pokazatelj prisotnosti encima glukoza oksidaza ter vplivajo na povečanje prostih kislin v medu (Cavia in sod., 2007). Z analizo smo dokazali, da je bila povprečna vsebnost laktonov v vzorcih ajdovega medu največja (4,85 mekv/kg), nekoliko manjša je bila v vzorcih rešeljikovega (4,39 mekv/kg) in javorjevega (3,13 mekv/kg) medu ter najmanjša v vzorcih medu divje češnje (2,89 mekv/kg). Tudi Kowalski in sodelavci (2013) so v vzorcih ajdovega medu določili največjo povprečno vsebnost laktonov, in sicer 6,16 mekv/kg. V vzorcih lipovega (5,34 mekv/kg) in akacijevega (3,22 mekv/kg) medu je bila vsebnost laktonov manjša.

Z vsoto prostih kislin in laktonov dobimo informacijo o količini skupnih kislin v medu (Cavia in sod., 2007). Veliko vsebnost smo izračunali v rešeljikovem (30,9 mekv/kg) in ajdovem (29,5 mekv/kg) medu, nekoliko manjšo pa v medu divje češnje (22,6 mekv/kg). Javorjev med je vseboval najmanjšo povprečno in posamezno vsebnost skupnih kislin. Kowalski in sodelavci (2013) navajajo, da na vsebnost skupnih kislin v medu vplivata vrsta in izvor medu. Analiza akacijevega, lipovega in ajdovega medu je pokazala, da so v povprečju največ skupnih kislin vsebovali vzorci ajdovega medu (60,4 mekv/kg), najmanj pa so jih določili v akacijevem medu (19,4 mekv/kg). Tudi vsebnost prostih kislin in laktonov je bila v povprečju največja v vzorcih ajdovega (37,0 mekv/kg; 6,16 mekv/kg), nekoliko manjša v vzorcih lipovega (28,8 mekv/kg; 5,34 mekv/kg) in najmanjša v vzorcih akacijevega (15,7 mekv/kg; 3,22 mekv/kg) medu.

Pravilnik o medu (2011) med drugim pravi, da je vzorec ustrezen, če vrednost diastaznega števila v medu znaša najmanj 8. Z analizo smo potrdili, da vsi analizirani vzorci ustrezajo predpisanim kriterijem, saj diastazno število pri vzorcu medu divje češnje (Č6), kjer je vsebnost encima diastaze najnižja, znaša 12,0. Največjo povprečno vrednost diastaznega števila (DN) smo določili pri vzorcih rešeljikovega medu (28,8), najnižjo pa pri javorjevem medu (19,0). Diastazna aktivnost v ajdovem medu je znašala 25,1. Primerjava naših rezultatov s podatki drugih avtorjev pokaže, da je za ajdov med značilno precej visok DN, kar so dokazali tudi Pasini in sodelavci (2013), ki so za to vrsto medu določili DN 30,8. Escriche in sodelavci (2014) so določali vsebnost encima diastaze v medovih nektarnega izvora (citrusov, cvetlični in rožmarinov med) ter maninega izvora (gozdni med). Največjo diastazno aktivnost so določili v vzorcih gozdnega medu (DN=20,5), sledili so medovi nektarnega izvora: cvetlični (DN=19,7), rožmarinov (DN=11,7) in citrusov (DN=8,5) med. Ugotovili so, da je DN odvisen od botaničnega izvora medu. Čeprav v analizo niso vključili enakih vrst medu kot smo jih analizirali mi, lahko vidimo, da so rezultati pri medovih nektarnega izvora primerljivi z našimi. Pasini in sodelavci (2013) navajajo, da sta diastazna aktivnost in vsebnost hidroksimetilfurfurala glavna parametra določanja kakovosti in svežosti medu ter pokazatelja možnega pregretja. Glede na dobljene rezultate diastazne aktivnosti lahko trdimo, da so analizirani medovi kakovostni, pravilno skladiščeni in niso bili izpostavljeni previsokim temperaturam.

Antioksidativna učinkovitost (AU), ki smo jo določali z metodo DPPH, variira glede na botanično poreklo medu. Pri poskusu smo 0,75 mL raztopine medu s koncentracijo 200 mg/mL dodali 2,25 mL 0,1 mM raztopine DPPH^{*} v 75 % etanolu, inkubirali 60 minut v temi pri sobni temperaturi ter rezultate podajali kot % inhibicije. Tako je AU v vzorcih ajdovega medu znašala 62,2 %, sledili so vzorci medu divje češnje (57,7 %), javorjevega (52,7 %) in rešeljikovega (50,6 %) medu. Različno AU med posameznimi vrstami medu je pokazala tudi analiza, v kateri so Kuš in sodelavci (2014) zajeli šest vrst poljskega medu. Ugotovili so, da imata ajdov med in med jesenske rese v primerjavi z medom oljne ogrščice, zlate rozge ter lipovim in akacijevim medom, bistveno večjo antioksidativno učinkovitost ter vsebujeta več fenolnih spojin (Kuš in sod., 2014).

Iz literature (Bertoncelj, 2010; Bertoncelj in sod., 2011; Socha in sod., 2011; Kuš in sod., 2014) je razvidno, da temnejši medovi vsebujejo več skupnih fenolnih spojin ter imajo večjo antioksidativno učinkovitost. Z našo raziskavo smo to tudi potrdili, saj je ajdov med, ki je rjave barve z rdečkastim odtenkom, pri daljšem skladiščenju v temnem prostoru pa še potemni, vseboval največjo AU. Kowalski in sodelavci (2013) navajajo, da ga zaradi temne barve smatramo celo za najtemnejšega izmed vseh medov. Tudi rezultati doktorske disertacije, Bertoncelj (2008), ki je analizirala različne vrste slovenskega medu, so pokazali, da imajo temnejši medovi (kostanjev, hojev, smrekov, gozdni) večjo antioksidativno učinkovitost v primerjavi s svetlejšimi vrstami medu (lipov, akacijev, cvetlični). Hojev med, kot predstavnik skupine temnejših medov, je imel največjo antioksidativno učinkovitost, akacijev med pa najmanjšo. Analiza ajdovega in akacijevnega medu ter medu grahovca (Nagai in sod., 2001) je pokazala, da ima ajdov med, kot najtemnejši izmed analiziranih vzorcev, največjo antioksidativno učinkovitost, značilno svetlo obarvan akacijev med pa najmanjšo. V našem primeru je bil najsvetlejši izmed analiziranih medov rešeljikov med, v katerem smo določili najmanjšo AU.

Botanično poreklo medu vpliva tudi na vrsto in vsebnost fenolnih spojin v medu. Slednje smo v štirih vrstah medu določili s Folin-Ciocalteujevo metodo. Najmanjšo povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili v medu divje češnje (197 mg_{GA}/kg), največjo pa v ajdovem medu, kjer je znašala 322 mg_{GA}/kg. Primerjava rezultatov s slovensko in tujo literaturo pokaže, da so vrednosti primerljive. Bertoncelj in sodelavci (2008) so najmanjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin določili v akacijevem (44,8 mg_{GA}/kg) in lipovem (83,7 mg_{GA}/kg) medu, sledili so cvetlični (157 mg_{GA}/kg), kostanjev (200 mg_{GA}/kg), smrekov (218 mg_{GA}/kg), gozdni (234 mg_{GA}/kg) in hojev med, kjer so ugotovili največjo povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin (241 mg_{GA}/kg). Socha in sodelavci (2011) navajajo, da so pri analizi sedmih vrst poljskega medu zabeležili največjo AU in vsebnost fenolnih spojin v vzorcih ajdovega medu. Nekoliko manjšo pa v lipovem, cvetličnem, nektarno-maninem, maninem in akacijevem medu in nazadnje medu oljne ogrščice. Pasini in sodelavci (2013) so z analizo, opravljeno z analitsko metodo imenovano tekočinska kromatografija visoke ločljivosti z detektorjem z nizom diod in masno spektrometrijo (HPLC-DAD-MS), določili vsebnost fenolnih spojin v vzorcih ajdovega medu. Ta je v povprečju znašala 22,1 mg_{GA}/kg. Nižji rezultati so najverjetneje posledica uporabe druge analitske metode, kot smo jo uporabili mi.

Vsebnost flavonoidov je odvisna od vsebnosti propolisa v medu. Njihovo prisotnost smo dokazali v vseh analiziranih vzorcih štirih vrst slovenskega medu. Najmanjšo vsebnost smo določili v medu divje češnje (51,7 mg_K/kg), nekoliko večjo v javorjevem (63,2 mg_K/kg) in ajdovem (67,4 mg_K/kg) ter največjo v rešeljikovem (80,1 mg_K/kg) medu. Pasini in sodelavci (2013) so z analizo dokazali, da je povprečna vsebnost flavonoidov v desetih vzorcih ajdovega medu znašala 3,5 mg_K/kg, kar je precej manj kot smo določili mi. Od tega kar 21 % skupne vsebnosti flavonoidov predstavlja flavonoid pinobanksin. Naši rezultati so nekoliko bolj primerljivi z rezultati Kamboj in sodelavci (2013).

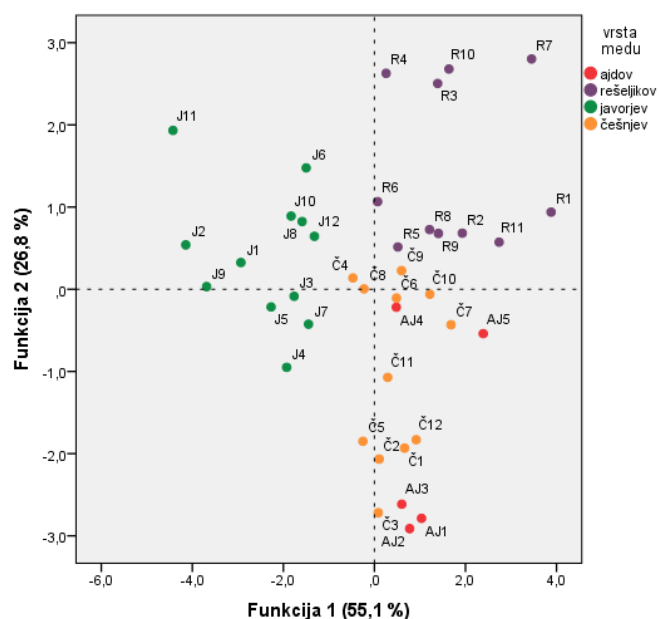
Raziskovali so vsebnost flavonoidov v medovih bombaža, koriandra, karija in rožnega lesa (palisandra), pridobljenih na različnih področjih Indije. Največjo vsebnost flavonoidov so dokazali v koriandrovem medu (71,8 mg_K/kg), malo manjšo v karijevem medu (58,9 mg_K/kg) in najmanjšo v medu rožnega lesa (51,2 mg_K/kg) in bombaža (47,9 mg_K/kg) (Kamboj in sod., 2013). Pichichero in sodelavci (2009) so največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin in flavonoidov v medu določili v vzorcih šetrajevega in maninega medu, ki sta v povprečju vsebovala 253 in 276 mg_{GA}/kg ter 212 in 164 mg_K/kg. Najmanjši delež so zabeležili v vzorcih medu medenice, s povprečno vsebnostjo skupnih fenolnih spojin 60,5 mg_{GA}/kg ter flavonoidov 41,9 mg_K/kg.

Analiza L-askorbinske kisline v medu, je pokazala dokaj podobne povprečne vsebnosti omenjene kisline med različnimi vrstami analiziranega medu. Največjo povprečno koncentracijo L-askorbinske kisline, smo določili v javorjevem (39,9 mg/ 100 g) in ajdovem (38,3 mg/100 g) medu. Nato sledita rešeljikov med (29,1 mg/100 g) in med divje češnje (29,0 mg/100 g). Štajner in sodelavci (2014) navajajo, da je vsebnost L-askorbinske kisline večja v temnih medovih, kar smo z rezultati analize, tudi dokazali. Med vzorcem medu z največjo in najmanjšo vsebnostjo L-askorbinske kisline so velika odstopanja. Tako vzorec javorjevega medu vsebuje 69,8 mg L-askorbinske kisline na 100 g medu, medtem ko je v vzorcu medu divje češnje le 5,20 mg/100 g. Štajner in sodelavci (2014) navajajo tudi, da askorbinska kislina kot antioksidant deluje sinergistično s fenolnimi spojinami, kar pojasnjuje številne pozitivne učinke medu. V raziskavi, ki so jo izvedli na vzorcih srbskega akacijevega medu, so določali kako dodatek plodu šipka (*Rosa canna*), vpliva na vsebnost L-askorbinske kisline v medu. Plodove šipka so predhodno narezali, posušili ter jih v različnih deležih dodali vzorcem akacijevega medu. Vzorec 1 je služil kot kontrolni vzorec in je vseboval 100 g čistega akacijevega medu, vzorcu 2 so dodali 5 g šipka na 100 g medu in vzorcu 3 10 g šipka na 100 g medu. Vsebnost L-askorbinske kisline je bila največja v 3. vzorcu, kjer je znašala 248 mg/100 g, nekoliko manjša pa v 2. vzorcu, kjer so namerili 177 mg/100 g. V kontrolnem vzorcu so določili bistveno nižjo koncentracijo L-askorbinske kisline, in sicer 13,1 mg/100 g. Na podlagi rezultatov opravljene analize so zaključili, da je med z dodatkom plodov šipka bogat vir antioksidantov, kot so flavonoidi, skupne fenolne spojine in L-askorbinska kislina. Ferreira in sodelavci (2009) so določali vpliv barve medu na vsebnost L-askorbinske kisline v medu. Z analizo treh vrst Portugalskega medu so dokazali, da je vsebnost L-askorbinske kisline v temnejših vrstah medu največja, najmanjša pa v svetlejših vrstah medu.

V vzorcih javorjevega in rešeljikovega medu smo z metodo HPAEC-PAD določili in kvantificirali trinajst različnih sladkorjev, med katerimi sta prevladovala fruktoza in glukoza. Povprečna vsebnost glukoze je pri rešeljikovem medu znašala 28,5 g/100 g, nekoliko večja je bila povprečna vsebnost fruktoze (37,1 g/100 g). Zaradi večjega deleža fruktoze v rešeljikovem medu v primerjavi z javorjevim (30,0 g/100 g) bo kristalizacija rešljikovega medu počasnejša, saj fruktoza zaradi dobre topnosti v vodi upočasnjuje proces kristalizacije.

Povprečni vsebnosti fruktoze in glukoze sta bili v javorjevem medu skoraj enaki. Kowalski (2013) je določal vsebnost fruktoze in glukoze v lipovem, akacijevem in ajdovem medu. Raziskava je pokazala veliko povprečno vsebnost fruktoze v vseh treh vrstah medu. Sicer pa je ajdov med vseboval največji povprečni delež fruktoze, sledila sta mu lipov in akacijev med. Pri določanju povprečne vsebnosti glukoze je vrstni red medov enak kot pri fruktozi. Da Costa Leite in sodelavci (2000) pa navajajo, da sta melicitoza in rafinoza značilna sladkorja medu maninega izvora. Ker smo v nekaterih vzorcih javorjevega medu zabeležili večjo povprečno vsebnost melicitoze in rafinoze, lahko sklepamo da ti vzorci vsebujejo večji delež mane, kot ostali. Rešeljikov med je vseboval večji delež invertnega sladkorja (65,6 g/100 g), prav tako je bilo razmerje F/G večje kot pri javorjevem medu, kjer je znašalo 0,99 g/100 g. Tudi rezultati analize, ki sta jo na štirih vrstah medu iz Malezije opravila Chua in Adnan (2014) so pokazali, da medovi nektarnega izvora vsebujejo večje razmerje F/G. S statistično analizo (ANOVA) smo ugotovili, da se razmerje F/G v javorjevem medu statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od razmerja F/G pri rešeljikovem medu. Analiza, ki so jo na akacijevem, lipovem in ajdovem medu opravili Kowalski in sodelavci (2013) pa je pokazala precej podobne povprečne vsebnosti reducirajočih sladkorjev med analiziranimi vrstami medu.

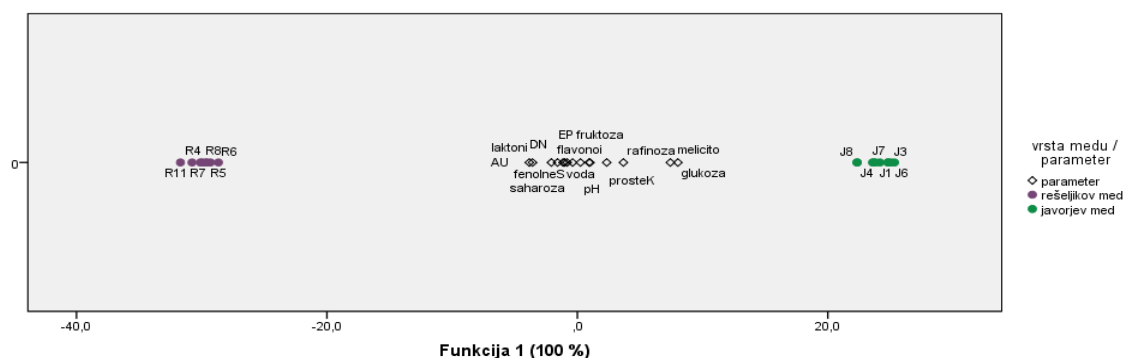
Rezultate multivariatne analize analitskih in izračunanih parametrov v ajdovem, rešeljikovem in javorjevem medu ter medu divje češnje, ki smo jih obdelali z linearno diskriminantno analizo (LDA), smo podali na sliki 27. Ugotovili smo, da so vzorci vseh štirih vrst medu dokaj razpršeni in jih tako lahko jasno ločimo. Vzorci rešeljikovega medu so zbrani v zgornjem desnem kvadrantu, vzorci javorjevega medu pa v levem zgornjem in delno tudi spodnjem kvadrantu.



Slika 27. Porazdelitev vzorcev štirih vrst medu po obravnavi analitskih in izračunanih parametrov z linearno diskriminantno analizo (LDA)

Vzorca ajdovega medu (AJ4) in medu divje češnje (Č6) se slabše razlikujeta, saj se nahajata zelo blizu. Preostali vzorci teh dveh vrst medu so podani na sredini grafa in v spodnjih dveh kvadrantih (slika 27). Na podlagi rezultatov LDA analize (priloga E) smo torej ugotovili, da z izbranimi parametri lahko 100 % pravilno klasificiramo vzorce javorjevega in ajdovega medu. Nekoliko manj uspešno lahko klasificiramo vzorce rešeljikovega medu in medu divje češnje. Pri rešeljikovem medu je bilo 9,1 % vzorcev uvrščenih kot med divje češnje, pri medu divje češnje pa 8,3 % vzorcev kot rešeljikov med.

V vzorcih rešeljikovega in javorjevega medu smo, poleg ostalih analiz, določili tudi vsebnost pomembnih sladkorjev. Analiza z metodo LDA je pokazala, da so vzorci rešeljikovega in javorjevega medu zelo zgoščeni, kar pomeni, da so si zelo podobni. Na sliki 28 vidimo, da sta vrednosti, ki predstavljata vsebnost laktonov in antioksidativno učinkovitost bližje rešeljikovemu kot javorjevemu medu. Razlog je večja vsebnost laktonov in antioksidantov v vzorcih rešeljikovega medu. Enako velja za vsebnost glukoze in melicitoze v vzorcih javorjevega medu. Parameter vsebnosti vode je na sredini, torej se njegova vsebnost bistveno ne razlikuje med analiziranimi vzorcema medu. Iz tega sledi, da lahko rešeljikov in javorjev med v vseh parametrih 100 % ločimo.



Slika 28. Razporeditev vzorcev rešeljikovega in javorjevega medu z metodo LDA

Z mikroskopsko analizo cvetnega prahu smo določili vrsto in delež peloda v analiziranih vzorcih medu. Ugotovili smo, da ajdov med poleg peloda pravega kostanja (*Castanea sativa*), v večji meri vsebuje pelod navadne ajde (*Fagopyrum esculentum*) ter nekoliko manj cvetnega prahu črne detelje in sadnega drevja. Cvetni prah javorja (*Acer* sp.), ki je bil prisoten pri vseh analiziranih vzorcih javorjevega medu, je v povprečju znašal 43,9 %. Določili smo tudi pelod spominčice, pravega kostanja in sadnega drevja. Prisotnost rešeljike (*Prunus mahaleb*) in divje češnje (*Prunus avium*) v medu potrdimo z določitvijo cvetnega prahu sadnega drevja ter senzorično analizo. Analiza cvetnega prahu vzorcev rešeljikovega medu in medu divje češnje je v obeh primerih pokazala največjo povprečno vsebnost peloda sadnega drevja. Pri rešeljikovem medu je ta znašal 26,7 %, pri medu divje češnje pa je bil v intervalu od 7,3 do 83,9 %. S pelodno analizo različnih vrst slovenskega medu pogosto določimo dokaj velik delež cvetnega prahu pravega kostanja (*Castanea sativa*). Razlog je njegova velika razširjenost v gozdovih po vsej Sloveniji.

Tudi Kandolf Borovšak (2011) je pri analizi cvetnega prahu različnih vrst slovenskega medu ugotovila, da kot vodilni pelod v medu pogosto zasledimo rastline, kot jo javor, pravi kostanj, sadno drevje ter križnice, kobuljnice, vresovke idr. Sabo in sodelavci (2011) so ugotavljali botanično poreklo hrvaških medov. V treh vzorcih medu, so kot vodilni pelod določili pelod pravega kostanja ter kot sekundarni, pelod črne detelje. V prvem vzorcu so v manj kot 3 % našli posamičen pelod regrata in malega jesena, v drugem pelod navadne nokote, gorskega glavinca, koruze in lipe ter v tretjem cvetni prah črnega jesena, gorskega in navadnega glavinca, regrata ter njivne redkve. Zhou in sodelavci (2012) so z mikroskopsko analizo cvetnega prahu potrdili, da vsi analizirani medovi pripadajo vrsti navadna ajda oz. *Fagopyrum esculentum*. Vsebnost prevladujočega cvetnega prahu v medovih je bila med 56 in 72 %, kar je več kot 45 % peloda ene vrste, ki jih mora vsebovati med, da o njem govorimo kot o vrstnem medu.

V sklopu senzorične analize smo s pomočjo strokovnega panela opravili preliminarni profil senzoričnih lastnosti ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje. Dobljene rezultate smo nato primerjali z rezultati skupine študentov, ki so predstavljali potrošniški panel. Ti so določali intenzivnost vonja in arome vzorcev medu na 100 mm lestvici ter ocenjevali vzorce medu z metodo »Označi vse, kar ustreza« oziroma s t.i. potrošniškim profiliranjem vonja in arome medu. Glede na dobljene rezultate lahko povzamemo, da čeprav so nekateri potrošniki (33 %) v aromi ajdovega medu zaznali zanj značilno noto po živalih, so prevladovali deskriptorji iz skupin toplih ter aromatičnih vonjev in arom. Tako potrošniški kot strokovni panel, sta v vzorcih ajdovega medu zaznala močno intenziven vonj in srednje do močno intenzivno aromo. Šolani preskuševalci so v njem zaznali predvsem animalne arome, ki veljajo za posebnost ajdovega medu. Pri ocenjevanju okusa, so poleg sladkega, kislega in grenkega, zaznali tudi slan okus. Strokovni panel je rešeljikov med opisal kot med s srednje do močno intenzivno aromo, po mandljih, zažganih češnjah in češnjevem sirupu, kar sovпада z rezultati potrošnikov. Slednji so vonj rešeljikovega medu ocenili kot manj intenzivnega, glede na rezultate strokovnega panela. Medu divje češnje, za katerega sicer velja nekoliko manj intenzivna aroma, so potrošniki dodelili večjo stopnjo intenzivnosti vonja in okusa. Deskriptorji, s katerimi so senzorični ocenjevalci opisali med divje češnje, spadajo v skupino toplih arom, saj spominjajo na zrele češnje, češnjevo cvetje in mandlje. Potrošniki so ga ocenili kot med z nežnimi cvetnimi in toplimi aromami. Temneje obarvan javorjev med je strokovni panel opisal kot med z aromo in okusom po karameli, iz skupine toplih not. Določili so tudi aromatične ter v manjši meri cvetlične note. Potrošniki so v njem zaznali nežno in fino aromo, ki spominjajo na cvetove akacije. Obe skupini preskuševalcev sta za javorjev med določili srednje intenzivno aromo. Ciappini in sodelavci (2013) so s kvantitativno deskriptivno (opisno) analizo primerjali vzorce deteljinega in evkaliptusovega medu. Za deteljin med je značilna manj izrazita cvetna in sadna aroma, medtem ko je pri bolj sladkem evkaliptusovem medu, ki kristalizira precej hitro, prisotna intenzivna, aromatična ter rastlinska aroma. To so z analizo tudi potrdili.

Ferreira in sodelavci (2009) navajajo, da je deskriptivna senzorična analiza uporabna metoda pri opisovanju različnih vzorcev medu, saj zajema tako pogoste (cvetna in sadna nota), kot manj pogoste (nota po fenolih, plastiki) deskriptorje. Z analizo so ugotovili, da imajo nešolani preskuševalci raje nekoliko bolj sladke in manj kisle medove, kar sovпада tudi z željami potrošnikov v Braziliji.

6 SKLEPI

Na podlagi rezultatov opravljenih analiz smo dopolnili podatkovno bazo o sestavi in senzoričnih značilnostih ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje. Podatkovna baza služi kot osnovno orodje pri določanju vrste slovenskega medu.

- Povprečna vsebnost vode je bila v vseh štirih vrstah medu precej podobna in je znašala od 15,4 g/100 g (ajdov med) do 16,0 g/100 g (med divje češnje).
- Vzorce ajdovega in rešeljikovega medu ter medu divje češnje uvrščamo med nektarne medove. Izmerjena električna prevodnost (EP) pa je pokazala, da nekateri vzorci omenjenih vrst medu ne ustrezajo kriterijem za med nektarnega izvora, ki so navedeni v Pravilniku o medu (2011), saj presegajo dovoljeno mejo 0,8 mS/cm. Razlog je lahko prisotnost večjega deleža medu pravega kostanja, ki je zaradi svoje razširjenosti pogosto prisoten v slovenskih medovih, kar smo potrdili tudi z analizo peloda. Pri vseh vzorcih javorjevega medu je EP znašala med 0,8 in 1,9 mS/cm, zaradi česar smo ga označili kot med maninega izvora.

Povprečna električna prevodnost v vzorcih javorjevega medu se statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od električne prevodnosti medu divje češnje.

- Največji povprečni pH smo zabeležili v javorjevem medu (4,46), ki ga uvrščamo med medove maninega izvora, za katere je značilna večja vrednost pH in večja vsebnost mineralnih snovi. Povprečna pH vrednost v ajdovem in rešeljikovem medu ter medu divje češnje je znašala od 3,88 do 4,15.

Javorjev med se statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od povprečne pH vrednosti ajdovega medu in medu divje češnje. Ajdov med, pa se statistično značilno razlikuje od povprečne pH vrednosti rešeljikovega in javorjevega medu.

- Vsi analizirani vzorci medu so ustrezali Pravilniku o medu (2011), saj niso vsebovali več kot 50 miliekvivalentov prostih kislin na kg medu. Vsebnost laktonov je bila največja v ajdovem medu (4,85 mekv/kg), najmanjša pa v medu divje češnje (2,89 mekv/kg). Z vsoto prostih kislin in laktonov dobimo informacijo o količini skupnih kislin v medu. Največ smo jih določili v rešeljikovem medu (30,86 mekv/kg).

Javorjev med se statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od ajdovega in rešeljikovega medu v povprečni vsebnosti prostih in skupnih kislin. Glede na povprečno vsebnost laktonov se med divje češnje statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od ajdovega in rešeljikovega medu, javorjev med pa od ajdovega medu. Rešeljikov med se v povprečni vsebnosti skupnih kislin statistično značilno razlikuje ($p \leq 0,05$) od medu divje češnje in javorjevega medu.

- Glede na Pravilnik o medu (2011), mora biti vrednost diastaznega števila v medu večja od 8. Analiza je pokazala, da vsi analizirani vzorci ustrezajo predpisanim kriterijem, saj diastazno število pri vzorcu medu divje češnje, kjer je vsebnost encima diastaze najmanjša, znaša 12,0.

- Največjo povprečno antioksidativno učinkovitost ter vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili v vzorcih ajdovega medu, kar se sklada z navedbami literature, da imajo temneje obarvani medovi večjo antioksidativno učinkovitost.
Med divje češnje se statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikuje od preostalih obravnavanih vrst medu v povprečni vsebnosti skupnih fenolnih spojin.
- Vsebnost flavonoidov, katerih količina je odvisna od prisotnosti propolisa v medu, je v analiziranih vzorcih močno variirala. Največjo povprečno vsebnost flavonoidov smo zabeležili v rešeljikovem medu, sledil je ajdov in javorjev med ter med divje češnje.
Rešeljikov med se statistično značilno ($p < 0,05$) razlikuje v povprečni vsebnosti flavonoidov od javorjevega medu in medu divje češnje, slednji pa se statistično značilno razlikuje tudi od ajdovega medu.
- Močna zveza med vsebnostjo fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo v ajdovem in rešeljikovem medu nakazuje, da so fenolne spojine odgovorne za antioksidativno učinkovitost medu. Za javorjev med in med divje češnje je bila ugotovljena zgolj šibka zveza med tema parametroma.
- Zveza med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo flavonoidov je zelo šibka in statistično neznačilna.
- Vsebnost flavonoidov vpliva na vsebnost skupnih fenolnih spojin, kar smo dokazali z močno zvezo med parametroma v rešeljikovem medu in medu divje češnje oziroma s srednje močno zvezo v javorjevem in ajdovem medu .
- Vsebnost L-askorbinske kisline je večja v temnejših medovih. Skladno z literaturo smo pri temnejših vrstah (javorjev in ajdov med) zabeležili večjo povprečno vsebnost L-askorbinske kisline, v svetlejših vrstah medu (rešeljikov med in med divje češnje), pa nekoliko manjšo.
- Javorjev in rešeljikov med se statistično značilno ($p \leq 0,05$) razlikujeta v vsebnosti glukoze. Poleg tega smo potrdili, da vrsta medu značilno vpliva na vsebnost saharoze in melicitoze ter razmerje F/G. Linearna diskriminantna analiza (LDA) je pokazala, da z analiziranimi parametri lahko 100 % pravilno razvrstimo vzorce javorjevega in ajdovega medu. Razvrščanje vzorcev vseh štirih vrst glede na obravnavane parametre (brez vsebnosti sladkorjev) je nekoliko manj uspešno, saj se z modelom 9,1 % vzorcev rešeljikovega medu uvrsti kot med divje češnje, in 8,3 % vzorcev medu divje češnje kot rešeljikov med.
- Melisopalinološka analiza ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje je pokazala pogosto prisotnost cvetnega prahu pravega kostanja (*Castanea sativa*). Njegova prisotnost je posledica velike razširjenosti v slovenskih gozdovih. Kljub temu smo potrdili prisotnost cvetnega prahu navadne ajde (*Fagopyrum esculentum*) v vzorcih ajdovega medu, cvetni prah javorja (*Acer* sp.) v vzorcih javorjevega medu ter cvetni prah sadnega drevja v vzorcih rešeljikovega medu in medu divje češnje.

V sklopu senzoričnega ocenjevanja, ki smo ga opravili s potrošniki in šolanim panelom, smo zbrali in podali naslednje senzorične lastnosti, ki do sedaj še niso bile opisane:

- V AJDOVEM MEDU smo poleg sladkega, grenkega in kislega, zaznali tudi slan okus ter potrdili prisotnost, za ajdov med značilne, animalne arome.
- REŠELJIKOV MED ima srednje močan po cvetovih rešeljike, zažganih češnjah in koščicah češenj. Je srednje do močno sladkega, šibko kislega in srednje grenkega okusa. Aroma je srednje do močno intenzivna in spominja na mandlje, pečene češnje, zažgan sladkor in češnjev sirup. S senzorično analizo smo določili tople, sadne arome, kamor prištevamo note po kandiranem, sladcu, pečenem in zažganem.
- Vonj in aroma JAVORJEVEGA MEDU sta srednje intenzivna. Prevladujejo tople, aromatične ter v manjši meri tudi cvetlične arome, kar smo s senzorično analizo tudi potrdili.
- MED DIVJE ČEŠNJE je prijetnega, srednje intenzivnega vonja, ki spominja na češnjevo cvetje, češnjeve koščice ter mandlje. Okus je izrazito saden, srednje do močno sladek ter šibko do srednje kisel in srednje grenek. Aroma je srednje do močno intenzivna in srednje obstojna ter spominja na zrele češnje, češnjevo cvetje in mandlje. Na podlagi senzorične analize lahko povzamemo, da prevladujejo note iz skupine toplih arom, v manjši meri tudi sadne in aromatične arome.

Do sedaj zbrane podatke o pogostih vrstah slovenskega medu (Golob in sod., 2008), smo dopolnili s podatki osnovnih fizikalno-kemijskih parametrov za manj pogoste vrste slovenskega medu (preglednica 19).

Preglednica 19. Fizikalno-kemijski parametri v štirih vrstah slovenskega medu

Parameter	EP	Vrednost	PK	Diastazno	Fruktoza	Glukoza	F+G	F/G
Vrsta medu	(mS/cm)	pH	(mekv/kg)	število				
Ajdov med	0,845	3,88	24,7	25,1				
Rešeljikov med	0,843	4,15	26,5	28,8	37,1	28,5	65,6	1,30
Javorjev med	1,040	4,46	16,4	19,0	30,0	30,3	60,3	0,99
Med divje češnje	0,680	4,02	19,7	20,1				

EP – električna prevodnost; PK – vsebnost prostih kislin; F+G – skupna vsebnost fruktoze in glukoze (invertni sladkor); F/G – razmerje med fruktozo in glukozo

7 POVZETEK

Na območju Slovenije čebelarimo z medonosno kranjsko čebelo (*Apis mellifera carnica*), s katero pridobivamo naravno, sladko in aromatično snov s posebnim vonjem in okusom, imenovano med. Med čebele izdelajo iz nektarja cvetov (nektarni med) ali iz izločkov živali, ki živijo na različnih delih rastlin (manin med). Ti surovini čebele zberejo, predelajo, pomešajo z določenimi lastnimi snovmi, nato pa shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v satju. Med je torej kompleksen proizvod, ki v največji meri vsebuje vodo in ogljikove hidrate (predvsem glukozo in fruktozo). Nekoliko manj je organskih kislin, mineralov in aminokislin, najmanj pa beljakovin, vitaminov, encimov, aromatičnih snovi, lipidov in antioksidantov. Kemijska sestava, pa tudi fizikalno-kemijske lastnosti, konsistenca ter senzorične lastnosti (barva, vonj in okus), se med posameznimi vrstami medu razlikujejo. V Sloveniji tako med drugim poznamo akacijev, ajdov, rešeljikov, hojev, lipov, smrekov, regratov med in med divje češnje.

V magistrski nalogi smo določali osnovne značilnosti ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje. S tem namenom smo 40 vzorcem medu določili naslednje fizikalno-kemijske parametre: vsebnost vode, laktonov, prostih in skupnih kislin, L-askorbinske kisline, sladkorjev, skupnih fenolnih spojin, ter flavonoidov. Izmerili smo tudi antioksidativno učinkovitost z metodo DPPH, električno prevodnost, vrednost pH in aktivnost encima diastaze. Ovrednotili smo senzorične lastnosti ter na podlagi dobljenih podatkov podali senzorični profil omenjenih štirih vrst slovenskega medu. Dobljene rezultate smo primerjali z vrednostmi, ki jih predpisuje slovenski Pravilnik o medu (2011) ter strokovna literatura. Prav tako smo zbrane rezultate statistično obdelali, saj smo želeli ugotoviti ali obstajajo statistično značilne razlike med analiziranimi vrstami medu.

Vsi fizikalno-kemijski parametri analiziranih vzorcev ajdovega medu so ustrezali Pravilniku o medu (2011). Določili smo povprečno vsebnost vode (15,4 g/100 g), prostih kislin (24,7 mekv/kg), laktonov (4,85 mekv/kg), skupnih kislin (29,5 mekv/kg), fenolnih spojin (322 mg_{GA}/kg), flavonoidov (67,4 mg_K/kg) in L-askorbinske kisline (38,3 mg/100g), električno prevodnost (0,845 mS/cm), vrednost pH (3,88), aktivnost encima diastaza (25,1) in antioksidativno učinkovitost (62,2 %).

Po opravljenih analizah rešeljikovega medu smo ugotovili, da je bila povprečna vsebnost vode 15,9 g/100 g, prostih kislin 26,5 mekv/kg, laktonov 4,39 mekv/kg, skupnih kislin 30,9 mekv/kg, fenolnih spojin 286 mg_{GA}/kg, flavonoidov 80,1 mg_K/kg in L-askorbinske kisline 29,1 mg/100g. Zabeležili smo tudi povprečno električno prevodnost (0,843 mS/cm), pH vrednost (4,15), aktivnost encima diastaza (28,8) in antioksidativna učinkovitost (50,7 %).

Pri javorjevem medu smo določali naslednje fizikalno-kemijske parametre: vsebnost vode (15,9 g/100 g), prostih kislin (16,44 mekv/kg), laktonov (3,13 mekv/kg), skupnih kislin (19,6 mekv/kg), fenolnih spojin (278 mg_{GA}/kg), flavonoidov (63,2 mg_K/kg) in L-askorbinske kisline (39,9 mg/100g). Poleg tega smo zbrali podatke o povprečni električni prevodnosti (1,040 mS/cm), vrednosti pH (4,46), aktivnosti encima diastaza (19,0) in antioksidativni učinkovitosti (52,7 %).

Povprečna vsebnost vode v medu divje češnje je znašala 16,0 g/100 g, prostih kislin 19,7 mekv/kg, laktonov 2,89 mekv/kg, skupnih kislin 22,6 mekv/kg, fenolnih spojin 197 mg_{GA}/kg, flavonoidov 51,7 mg_K/kg in L-askorbinske kisline pa 29,0 mg/100g. Določili smo tudi povprečno električno prevodnost (0,680 mS/cm), vrednost pH (4,02), aktivnost encima diastaza (20,1) in antioksidativno učinkovitost (57,7 %).

V vseh štirih vrstah medu smo z melisopalinološko metodo določali vsebnost cvetnega prahu in elementov mane, v rešeljikovem in javorjevem medu pa z metodo HPAEC-PAD, tudi vsebnost posameznih sladkorjev.

Zveza med vsebnostjo fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitostjo v javorjevem medu in medu divje češnje je šibka, medtem ko je zveza pri ajdovem in rešeljikovem medu močna. Iz tega sledi, da vsebnost fenolnih spojin v večji meri vpliva na jakost antioksidativne učinkovitosti pri ajdovem in rešeljikovem medu. Vzrok za različno jakost zvez je lahko različna starost analiziranih vzorcev medu. Med antioksidativno učinkovitostjo in vsebnostjo flavonoidov smo določili izredno šibko in neznačilno zvezo. Zveza pri javorjevem in ajdovem medu se je pokazala kot srednje močna, pri rešeljikovem medu in medu divje češnje pa kot močna. Povzamemo lahko, da je vsebnost skupnih fenolnih spojin bolj odvisna od vsebnosti flavonoidov pri ajdovem in javorjevem medu.

Med analiziranimi vrstami slovenskega medu, smo s pomočjo statistične analize ugotovili razlikovanja v naslednjih fizikalno-kemijskih parametrih: električni prevodnosti, pH vrednosti, vsebnosti skupnih kislin, laktonov in prostih kislin, vsebnosti skupnih fenolnih spojin in flavonoidov ter nekaterih sladkorjev (glukoza, saharoza, melicitoza in razmerje F/G). Linearna diskriminantna analiza (LDA) pa je pokazala, da z izbranimi parametri (vsebnost vode, EP, vrednost pH, vsebnost skupnih in prostih kislin ter laktonov, določanje diastaznega števila in AU, vsebnost skupnih fenolnih spojin, flavonoidov in L-askorbinske kisline), lahko 100 % pravilno klasificiramo vzorce javorjevega in ajdovega medu. Klasifikacija rešeljikovega medu in medu divje češnje je bila nekoliko manj uspešna, saj je bilo pri rešeljikovem medu 9,1 % parametrov uvrščenih kot med divje češnje, pri medu divje češnje pa 8,3 % kot rešeljikov med. LDA je pokazala tudi, da so si vzorci javorjevega in rešeljikovega medu v analiziranih parametrih podobni, vendar ju lahko v vseh parametrih jasno ločimo.

Z melisopalinološko in senzorično analizo ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje smo dobili podatke, s katerimi smo določili in potrdili vrstne značilnosti posameznega vzorca medu. Pri tem smo z analizo cvetnega prahu rešeljikovega medu in medu divje češnje določili le rod (*Prunus*), ne pa tudi vrste (*Prunus mahaleb* - rešeljika; *Prunus avium* - divja češnja). Slednjo smo potrdili s senzorično analizo.

Z različnimi metodami senzorične analize smo kvalitativno in kvantitativno opisali vonj in aromo štirih vrst medu, za katere senzorični opisi še niso bili izdelani, ter ugotavljali, kako vonj in aromo teh vrst medu zaznavajo potrošniki. V primerjavi z rezultati strokovnega panela smo ugotovili, da potrošniki vonj in aromo medu pogosto povezujejo s cvetnimi, sadnimi in toplimi notami, kot je po karamelu, slabše pa identificirajo morebitne rastlinske ali animalne note.

Naše hipoteze smo potrdili, saj so analizirani vzorci medu ustrezali Pravilniku o medu (2011), v večini analiziranih parametrov pa smo s statističnimi analizami dokazali statistično značilne razlike. Za posamezno vrsto medu smo določili kriterije, ki so nam bili v pomoč pri potrditvi vrstne značilnosti slovenskega ajdovega, rešeljikovega in javorjevega medu ter medu divje češnje. Rešeljikov med in med divje češnje prištevamo med posebnosti Krasa, zato sta ti dve vrsti medu registrirani pod nacionalno označbo Kraški med ZOP (Objava vloge..., 2012), od leta 2013 pa zaščita velja tudi na ravni EU. Zadnja leta poteka vse več znanstvenih in strokovnih raziskav, katerih namen je olajšanje prepoznave in pravilne klasifikacije manj pogostih vrst medu. Z izborom manj znanih vrst slovenskega medu smo želeli obogatiti bazo podatkov o slovenskem medu, z namenom lažje in pravilnejše klasifikacije medu.

8 VIRI

- Abram V., Cigić B., Poklar Ulrih N., Skrt M. 2006. Eksperimentalna biokemija: za študente biotehnologije in živilske tehnologije. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 18-29
- Adamič Š. 1989. Temelji biostatistike. 2. izd. Ljubljana, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Inštitut za biomedicinsko informatiko: 27-29
- Adams M.J. 1998. The principles of multivariate data analysis. V: Analytical methods of food authentication. Ashurst P.R., Dennis M.J. (eds.). London, Blackie Academic & Professional: 308-336
- AOAC Official Method 969.38. Moisture in honey. 1999. V: Official methods of analysis of AOAC International. Vol. 2. Cunniff P. (ed.). 16th ed. Gaithersburg, AOAC International, Chapter 44: 21-21
- AOAC Official Method 962.19. Acidity (free, lactone and total) of honey. 1999. V: Official methods of analysis of AOAC international. Vol. 2. Cunniff P. (ed.). 16th ed. Gaithersburg, AOAC International, Chapter 44: 31-31
- Aljadi A. M., Kamaruddin M. Y. 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. Food Chemistry, 85: 513-518
- Al-Khalifa A.S., Al-Arif I.A. 1999. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. Food Chemistry, 67: 21-25
- Ameta R. K., Singh M. 2014. A thermodynamic *in vitro* antioxidant study of vitamins B (niacin and niacin amide) and C (ascorbic acid) with DPPH through UV spectrophotometric and physicochemical methods. Journal of Molecular Liquids, 195: 40-46
- Ares G., Antúnez L., Bruzzone F., Vidal L., Giménez A., Pineau B., Beresford M. K., Jin D., Paisley A. G., Chheang S. L., Roigard C. M., Jaeger S. R. 2015. Comparison of sensory product profiles generated by trained assessors and consumers using CATA questions: Four case studies with complex and/or similar samples. Food Quality and Preference, 45: 75-86
- Auguštin V., Gačnik J. 2012. Ajda – priložnost za slovenskega kmeta in rešitelj čebelarstva? Slovenski čebelar, 6: 196-198
- Babacan S., Pivarnik L. F., Rand A. G. 2002. Honey amylase activity and food starch degradation. Journal of Food Science, 67, 5: 1625-1630

Babnik J. 1998. Od čebele do medu. Ljubljana, Kmečki glas: 472 str.

Balasundram N., Sundram K., Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 99, 1: 191-203

Belay A., Solomon W. K., Bultossa G., Adgaba N., Melaku S. 2015. Botanical origin, colour, granulation, and sensory properties of the Harennia forest honey, Bale, Ethiopia. Food Chemistry, 167: 213-219

Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Facino R. M. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assay and chemometrics. Analytica Chimica Acta, 533: 185-191

Bertoncelj J. 2008. Identifikacija in vsebnost nekaterih antioksidantov v slovenskem medu. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 124 str.

Bertoncelj J. 2010. Antioksidativna učinkovitost slovenskega medu. Slovenski čebelar, 9: 267-270

Bertoncelj J., Polak T., Kropf U., Korošec M., Golob T. 2011. LC-DAD-ESI/MS analysis of flavonoids and abscisic acid with chemometric approach for the classification of Slovenian honey. Food Chemistry, 127: 296-302

Blasa M., Candiracci M., Accorsi A., Piacentini M. P., Albertini M. C., Piatti E. 2006. Raw *Millefiori* honey is packed full of antioxidant. Food Chemistry, 97: 217-222

Bogdanov S. 2009. Harmonised methods of the international honey commission. Bern, Swiss Bee Research Center, International Honey Commission, World Network of Honey Science: 63 str.

http://www.bee-hexagon.net/files/fileE/IHCPapers/IHC-methods_2009.pdf
(november, 2013)

Božnar M. 2002. Zaklad iz čebeljega panja. Ljubljana, Kmečki glas: 5-17

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

Božnar A. 2011. Med. V: Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje 2. Zdešar P. (ur.). Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 299-323

Brus R. 2006. Javorji – Gorski javor. Slovenski čebelar, 11: 302-205

Brus R. 2007. Divja češnja. Slovenski čebelar, 12: 384-386

Brus R. 2012. Drevesne vrste na Slovenskem. 2. izd. Ljubljana, Samozaložba: 202-205

Castro-Vázquez L., Díaz-Maroto M.C., González-Viñas M.A., Pérez-Coello M.S. 2009. Differentiation of monofloral citrus, rosemary, eucalyptus, lavender, thyme and heather honeys based on volatile composition and sensory descriptive analysis. Food Chemistry, 112: 1022-1030

Cavia M. M., Fernández-Muiño M. A., Alonso-Torre S. R., Huidobro J. F., Sancho M. T. 2007. Evolution of acidity of honey from continental climates: Influence of induced granulation. Food Chemistry, 100, 4: 1728-1733

Chen L.-Y., Cheng C.-W., Liang J.-Y. 2015. Effect of esterification condensation on the Folin-Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. Food Chemistry, 170: 10-15

Chua L. S., Adnan N. A. 2014. Biochemical and nutritional components of selected honey samples. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria, 13, 2: 169-179

Ciappini M. C., Di Vito M. V., Gatti M. B., Calviño A. M. 2013. Development of a quantitative descriptive sensory honey analysis: Application to eucalyptus and clover honeys. Advance Journal of Food Science and Technology, 5, 7: 829-838

Ciulu M., Solinas S., Floris I., Panzanelli A., Pilo M.I., Piu P.C., Spano N., Sanna G. 2011. RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. Talanta, 83: 924-929

Conti M. E., Finoia M. G., Fontana L., Mele G., Botre F., Iavicoli I. 2014. Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. Chemistry Central Journal, 8, 1: 2-20

Cook S. M., Awmack C. S., Murray D. A., Williams I. H. 2003. Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition?. Ecological Entomology, 28: 622-627

da Silva P.M., Gauche C., Gonzaga L.V., Costa A.C.O., Fett R. 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. Food Chemistry, 196: 309-323

Dawidowicz A. L., Wianowska D., Olszwy M. 2012. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH[•] method (Problems in estimation of antioxidant activity). Food Chemistry, 131: 1037-1043

Dawidowicz A. L., Olszowy M., Józwiak-Doleńba M. 2015. Importance of solvent association in the estimation of antioxidant properties of phenolic compounds by DPPH method. Journal of Food Science and Technology, 52, 7: 4523-4529

- Dimou M., Tananaki C., Liolios V., Thrasyvoulou. 2014. Pollen foraging by honey bees (*Apis mellifera* L.) in Greece: Botanical and geographical origin. *Journal of Apicultural Science*, 58, 2: 11-23
- Doner L. W. 2003. Honey. V: *Encyclopedia of food and nutrition*. Vol. 5. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 3125-3130
- Escriche I., Kadar M., Juan-Borrás M., Domenench E. 2014. Suitability of antioxidant capacity, flavonoids and phenolic acids for floral authentication of honey. Impact of industrial thermal treatment. *Food Chemistry*, 142:135-143
- Escuredo O., Miguez M., Fernández-González M., Seijo M. C. 2013. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138: 851-856
- Ferreira I. C. F. R., Aires E., Barreira J. C. M., Estevinho L. M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114: 1438-1443
- Gašić U., Kečkeš S., Dabić D., Trifković J., Milojković-Opsenica D., Natić M., Tešić Ž. 2014. Phenolic profile and antioxidant activity of Serbian polyfloral honeys. *Food Chemistry*, 145: 599-607
- Ghedolf N., Engeseth N.J. 2002. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of *in vitro* lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3050-3055
- Gogala A. 2014. Čebele Slovenije. Ljubljana, Biološki inštitut Jovana Hadžija, Založba ZRC, ZRC SAZU: 7-7
- Golob T., Plestenjak A. 1999. Quality of Slovene honey. *Food Technology and Biotechnology*, 37, 3: 195-201
- Golob T., Bertoncelj J., Doberšek J., Jamnik M. 2006. Senzorična analiza živil. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 81 str.
- Golob T., Korošec M., Jamnik M., Kropf U., Kandolf A., Božič J., Zdešar D., Meglič., Goljat A. 2008. Med: Značilnosti slovenskega medu. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 84 str.
- Grošelj F. 2013. Ajda – za čebelarje pozabljena, a pomembna rastlina! *Slovenski čebelar*, 7-8: 247-248

- Kamboj R., Bera M. B., Nanda V. 2013. Evaluation of physico-chemical properties, trace metal content and antioxidant activity of Indian honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 578-587
- Kandolf A. 2010. O cvetnem prahu. V: *Cvetni prah*. Kandolf A. (ur.). Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije: 5-12
- Kandolf Borovšak A. 2011. Pelodna sestava medu iz različnih fitogeografskih območij Slovenije. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 190 str.
- Kapš P. 1998. *Med in zdravje*. Novo mesto, Založba Erro Novo mesto: 261 str.
- Kapš P. 2012. *Zdravljenje s čebeljimi pridelki (apiterapija)*. Novo mesto, Tiskarna Pleško: 413 str.
- Kasemberger P. 2006. Vsebnost sladkorjev ter prostih in skupnih kislin v različnih vrstah slovenskega medu. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 21-25
- Kaškonienė V., Venskutonis P. R., Čeksterytė V. 2008. Composition of volatile compounds of honey of various floral origin and beebread collected in Lithuania. *Food Chemistry*, 111: 988-997
- Kaškonienė V., Venskutonis P. R., Čeksterytė V. 2010. Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 801-807
- Kmecl V. 2006. *Kakovost slovenskega medu*. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 27 str.
- Korošec M., Bertonec J., Pereyra Gonzales A., Kropf U., Golob U., Golob T. 2009. Monosaccharides and oligosaccharides in four types of Slovenian honey. *Acta Alimentaria*, 38, 4: 459-469
- Korošec M., Golob T., Bertonec J. 2014. Sodobna senzorična analiza medu. V: *V spomin dr. Janezu Poklukarju: zbornik prispevkov*. Gregorc A. (ur.). Ljubljana, Slovensko akademsko čebelarstvo, Kmetijski inštitut Slovenije: 80-85
- Košmelj K. 2001. *Uporabna statistika*. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 56-68
- Košmelj K., Kastelec D. 2002. Osnove statistične analize za urejenostne spremenljivke. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani*, 79, 1: 71-87

- Košmelj K., Kastelec D. 2003. Uporabna biostatistika. Načrtovanje in analiza poskusov, delovno gradivo 2003/2004 za podiplomski študij. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 187 str.
- Kozmus P., Smodiš Škerl M. I., Nakrst M. 2011. Čebelarjenje za vsakogar. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 128 str.
- Kowalski S. 2013. Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chemistry*, 141: 1378-1382
- Kowalski S., Lukaszewicz M., Berski W. 2013. Applicability of physico-chemical parameters of honey for identification of the botanical origin. *Acta Scientiarum Polonorum*, 12, 1:51-59
- Kretavičius J., Dubakiene R., Balžekas J., Šaferis V. 2010. Rape and buckwheat honey allergy in relation to heat treatment. *Acta Medica Lituanica*, 17, 3-4: 93-99
- Kropf U., Jamnik M., Bertonec J., Golob T. 2008. Linear regression model of the ash mass fraction and electrical conductivity for Slovenian honey. *Food Technology and Biotechnology*, 46, 3: 335-340
- Kropf U. 2009. Elementna in izotopska sestava medu iz različnih geografskih regij Slovenije. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 200 str.
- Kuś P.M., Congiu F., Teper D., Sroka Z., Jerković I., Tuberoso C.I.G. 2014. Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six Polish unifloral honey types. *LWT - Food Science and Technology*, 55, 1: 124-130
- Lukaszewicz M., Kowalski S., Makarewicz M. 2015. Antimicrobial and antioxidant activity of selected Polish herb honeys. *LWT - Food Science and Technology*, 64: 547-553
- Marcuzzan G. L., Megli M., Piana L., Savino A., Stefano M. A. 2014. Sensory profile research on the main Italian typologies of monofloral honey: possible developments and applications. *Journal of Apicultural Research*, 53, 4: 426-437
- Matei N., Birghila S., Dobrinas S., Capota P. 2004. Determination of C vitamin and some essential trace elements (Ni, Mn, Fe, Cr) in bee products. *Acta Chimica Slovenica*, 51, 1: 169-175
- Maurizio A. 1975. Microscopy of honey. V: Honey: A comprehensive survey. Crane E. (ed.). London, Heinemann: 240-257
- Meglič M. 2004. Čebelji pridelki: pridobivanje in trženje. 1. izd. Brdo pri Lukovici, Čebelarska zveza Slovenije: 96 str.

- Meglič M. 2008. Tehnologija pridelave medu v Sloveniji. Slovenski čebelar, 11: 305-307
- Mlaker – Šumenjak M. 2011. Čebela se predstavi. Učbenik za ljubitelje čebel. 3. izd. Ljubljana, Čebelarska zveza Slovenije: 8-9
- Molyneux P. 2004. The use of the stabile free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26, 2: 211-219
- Nagai T., Sakai M., Inoue R., Inoue H., Suzuki N. 2001. Antioxidant activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. Food Chemistry, 75, 2: 237-240
- Nayik G.A., Dar B.N., Nanda V. 2016. Physico-chemical, rheological and sugar profile of different unifloral honeys from Kashmir valley of India. Arabian Journal of Chemistry, doi:10.1016/j.arabjc.2015.08.017: 12 str. (v tisku)
- Objava vloge na podlagi člena 6(2) Uredbe Sveta (ES) št. 510/2006 o zaščiti geografskih označb in označb porekla za kmetijske proizvode in živila: Povzetek Uredbe sveta (ES) št. 510/2006 »Kraški med« ES št.: SI-PDO-0005-0532-24.03.2006. 2012. Uradni list Evropske unije, 55, C290: 7-13
- Obranovič B. 2014. Javorjev med, Javorjev med iz doline reke Kolpe. Kočevje, Čebelarstvo MA-JA: 1 str.
<http://www.publishwall.si/oglasnik/oglas/ogled/34852/Javorjev-med-Javorjev-med-iz-doline-reke-Kolpe-Cebelarstvo-MA-JA> (maj 2014)
- Özcan M. M., Ölmez Ciler. 2014. Some qualitative properties of different monofloral honey. Food Chemistry, 163: 212-218
- Pasini F., Gardini S., Marcazzan G. L., Caboni M. F. 2013. Buckwheat honey: Screening of composition and properties. Food Chemistry, 141: 2802-2811
- Pereira C., Barros L., Vilas-Boas M., Ferreira I.C.F.R. 2013. Potentiating effects of honey on antioxidant properties of lemon-flavoured black tea. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 64, 2: 230-234
- Perna A., Intaglietta I., Simonetti A., Gambacorta E. 2013. A comparative study on phenolic profile, vitamin C content and antioxidant activity of Italian honeys of different botanical origin. International Journal of Food Science and Technology, 48: 1899-1908
- Piana M. L., Oddo L. P., Bentabol A., Bruneau E., Bogdanov S., Declerck C. G. 2004. Sensory analysis applied to honey: state of the art. Apidologie, 35, 1: S26-S37
- Pichichero E., Canuti L., Canini A. 2009. Characterization of the phenolic and flavonid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89, 4: 609-616

Pravilnik o medu. 2011. Uradni list Republike Slovenije, 21, 4: 345-347

Robbins R.J., Bean S.R. 2004. Development of a quantitative high-performance liquid chromatography-photodiode array detection measurement system for phenolic acids. *Journal of Chromatography A*, 1038,1-2: 97-105

Ruisinger B., Schieberle P. 2012. Characterization of the key aroma compounds in rape honey by means of the molecular sensory science concept. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 4186-4194

Russell K. 2010. Tehnične smernice za ohranjanje in rabo genskih virov: divja češnja (*Prunus avium*). *Gozdarski vestnik*, 68, 7/8: 369-374

Sabo M., Potočnjak M., Banjari I., Petrović D. 2011. Pollen analysis of honeys from Varaždin Country, Croatia. *Tübinak*, 35: 581-587

Seljak J. 1996. Statistične metode. Ljubljana, Visoka upravna šola: 197-199

Senegačnik J. 1998. Prehrana čebel. V: Od čebele do medu. Poklukar J. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 61-69

Serrano S., Espejo R., Villarejo M., Jordal M.L. 2007. Diastase and invertase activities in Andalusian honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1: 76-79

Silva T.M.S., dos Santos F.P., Evangelista-Rodrigues A., da Silva E.M.S., da Silva G.S., de Novais J.S., dos Santos F.D.A.R., Camara C.A. 2013. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29: 10-18

Silva P. M., Gauche C., Gonzaga L.V., Costa A.C.O., Fett R. 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196: 309-323

Silvano M. F., Varela M. S., Palacio M. A., Ruffinengo S., Yamul D. K. 2014. Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region. *Food Chemistry*, 152: 500-507

Socha R., Juszczak L., Pietrzyk S., Gałkowska D., Fortuna T., Witczak T. 2011. Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 528-534

Soler C., Gil M., Garcia-Viguera C., Tomás-Barberán F.A. 1995. Flavonoid patterns of French honeys with different floral origin. *Apidologie*, 26, 1: 53-60

Šegatin N., Rudan-Tasič D., Poklar Ulrih N. 2011. Fizikalnokemijske metode v živilstvu: laboratorijske vaje. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 86-89

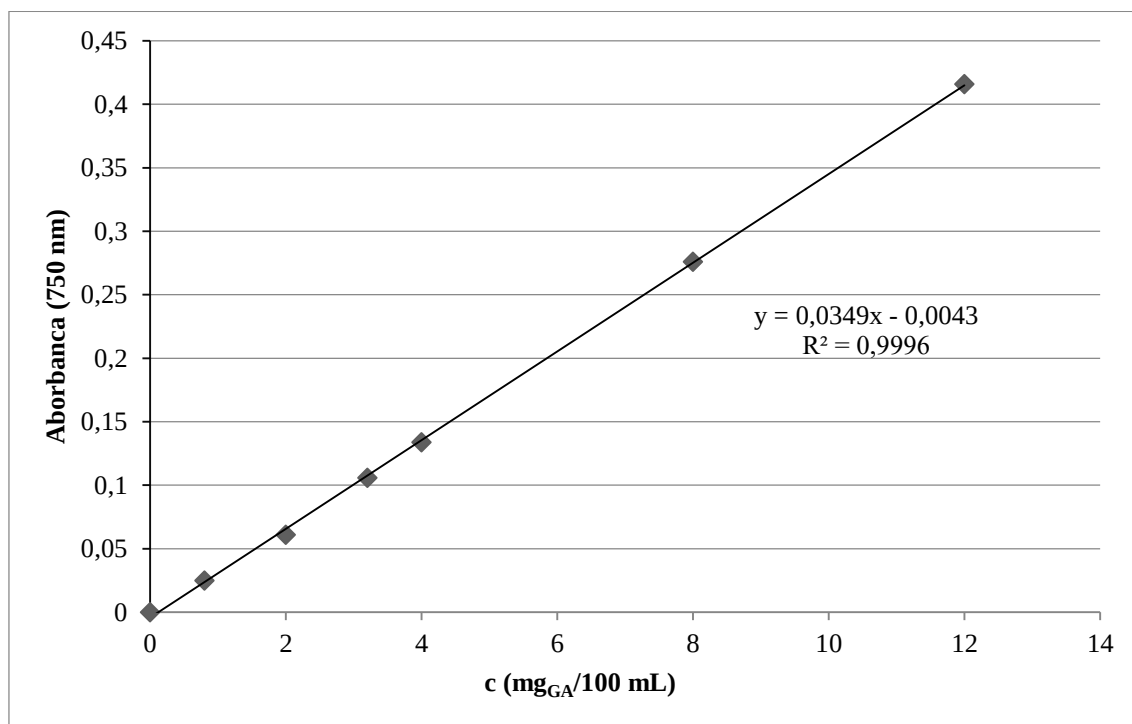
- Štajner D., Popović B. M., Čanadanović-Brunet J., Dilas S., Četković G. 2014. Nutritive composition and free radical scavenger activity of honey enriched with of *Rosa* spp. LWT - Food Science and Technology, 55: 408-413
- Taranov G. F. 2013. Hrana in prehrana čebel. Grosuplje, Partner Graf: 127 str.
- Tomás-Barberán F.A., Martos I., Ferreres F., Radovic B., Anklaam E. 2001. HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81, 5: 485-496
- Ulusoy E., Kolayli S., Sarikaya A. O. 2010. Antioxidant and microbial activity of different floral origin honeys from Türkiye. Journal of Food Biochemistry, 34, 1: 321-335
- Umeljić V. 2012. Čebelarstvo za začetnike in strokovnjake. Kamnik, Partner graf: 23-36
- Veselič Ž., Pisek R., Kolenko J. 2010. V Sloveniji raste več vrst javorjev. Slovenski čebelar, 10: 316-318
- Von der Ohe W., Persano-Oddo L., Piana M. L., Morlot M., Martin P. 2004. Harmonized methods of melissopalynology. Apidologie, 35: 18-25
- Vrhovšek U. 2001. Flavonoidi kot predstavniki antioksidantov. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi 2001. Portorož, 8-9 nov. 2001. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 97-106
- Yao L., Datta N., Tomás-Barberán F.A., Ferreres F., Martos I., Singanusong R. 2003. Flavonoids, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. Food Chemistry, 81, 2: 159-168
- Zhou J., Li P., Cheng N., Gao H., Wang B., Wei Y., Cao W. 2012. Protective effects of buckwheat honey on DNA damage induced by hydroxyl radicals. Food and Chemical Toxicology, 50: 2766-2773
- Zhou J., Suo Z., Zhao P., Cheng N., Gao H., Cao W. 2013. Jujube honey from China: Physicochemical characteristics and mineral contents. Journal of Food Science, 78, 3: 387-394

ZAHVALA

PRILOGE**Priloga A1. Podatki za umeritveno krivuljo in preračun za določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v medu**

	$V_{\text{izhod.raztop.}}$ (mL)	c (mg _{GA} /100 mL)	c (mg _{GA} /kg medu)	A_1 (nm)	A_2 (nm)	$\bar{A}$ (nm)
S ₀	0	0	0	0	0	0
S ₁	0,4	0,8	80	0,023	0,027	0,025
S ₂	1,0	2,0	200	0,061	0,060	0,061
S ₃	1,6	3,2	320	0,106	0,106	0,106
S ₄	2,0	4,0	400	0,132	0,136	0,134
S ₅	4,0	8,0	800	0,273	0,278	0,276
S ₆	6,0	12,0	1200	0,413	0,418	0,416

Koncentracija izhodne raztopine galne kisline: 2,00 mg/mL

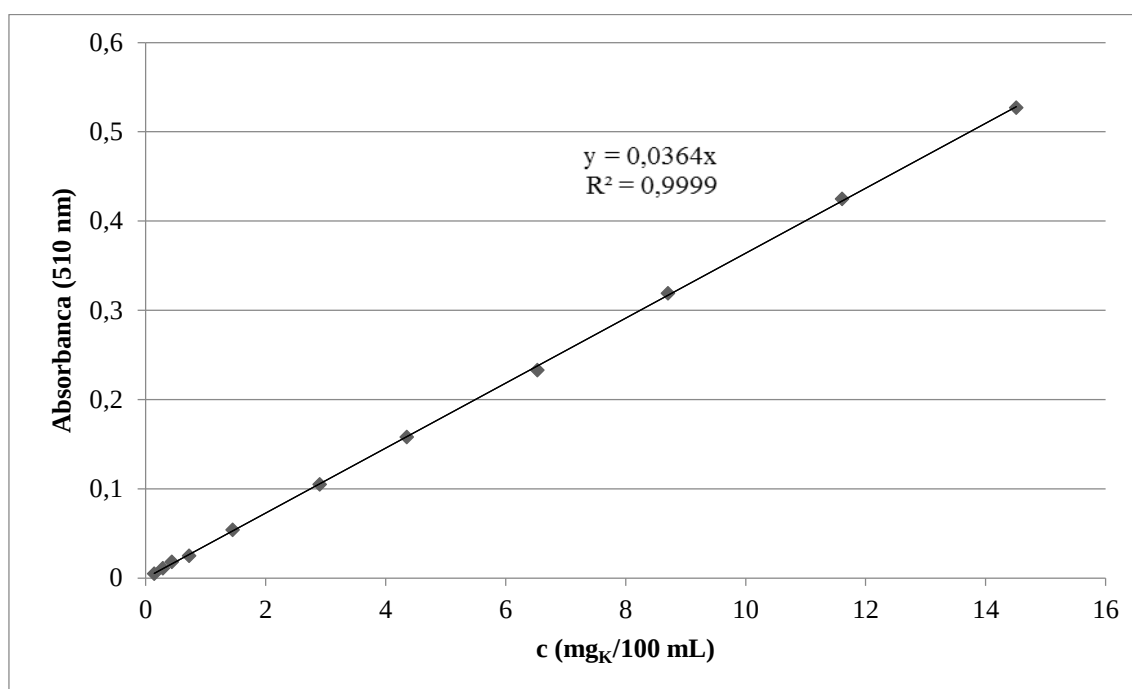
 $\bar{A}$ – povprečna vsebnost absorbanc A_1 in A_2 **Priloga A2. Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin**

Priloga B1. Podatki za umeritveno krivuljo in preračun za določanje vsebnosti flavonoidov v medu

	$V_{\text{izhod, raztop.}}$	$c \text{ (mg}_K/100 \text{ mL)}$	$c \text{ (mg}_K/\text{kg medu)}$	$\bar{A} \text{ (nm)}$
S_0	0,5	0,1451	14,51	0,005
S_1	1,0	0,2902	29,02	0,011
S_2	1,5	0,4353	43,53	0,018
S_3	2,5	0,7255	72,55	0,025
S_4	5,0	1,451	145,1	0,054
S_5	10	2,902	290,2	0,105
S_6	15	4,353	435,3	0,158
S_7	22,5	6,530	653,0	0,233
S_8	30	8,706	870,6	0,319
S_9	40	11,61	1161	0,425
S_{10}	50	14,51	1451	0,527

Koncentracija izhodne raztopine katehina: 0,2902 mg/mL

$\bar{A}$ – povprečna vsebnost absorbanc A_1 in A_2

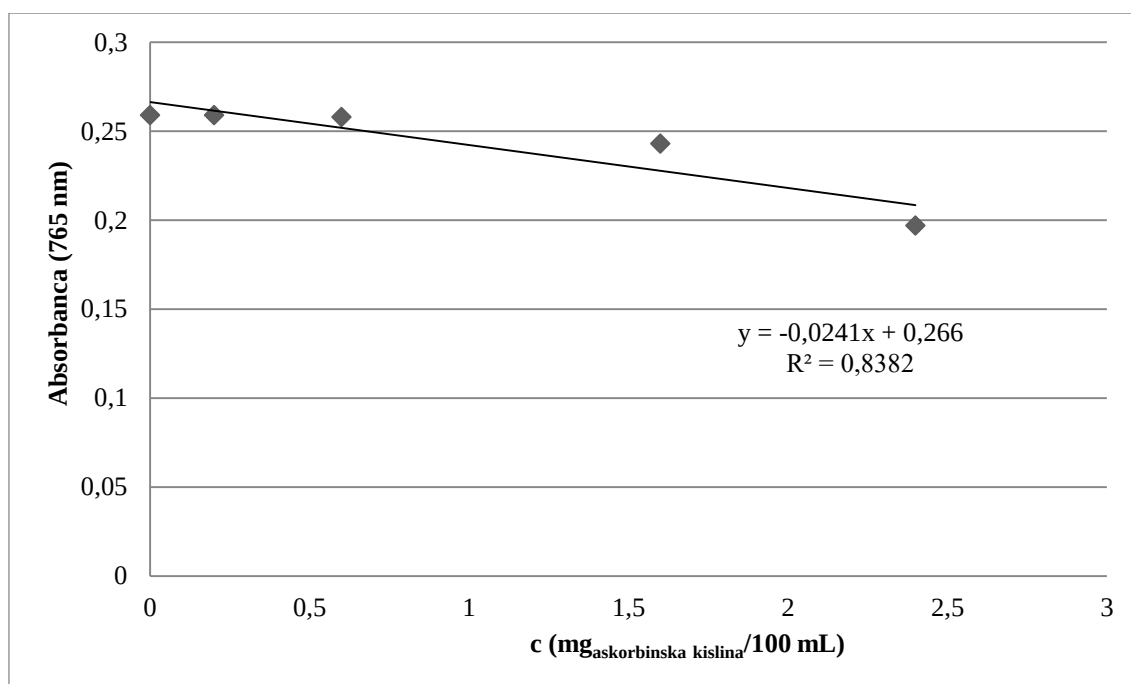


Priloga B2. Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti flavonoidov

Priloga C1. Podatki za umeritveno krivuljo in preračun za določanje vsebnosti L-askorbinske kisline (vitamin C) v medu

	$V_{\text{izhod.raztop.}}$	$c \text{ (mg}_{\text{askorb. kisl.}}/100 \text{ mL)}$	$c \text{ (mg}_{\text{askorb. kisl.}}/100 \text{ g medu)}$	$A_1 \text{ (nm)}$	$A_2 \text{ (nm)}$	$\bar{A} \text{ (nm)}$
S_0	0	0	0	0,259	0,259	0,259
S_1	0,25	0,2	20,0	0,258	0,259	0,259
S_2	0,75	0,6	60,0	0,258	0,257	0,258
S_3	2,00	1,6	160,0	0,241	0,244	0,243
S_4	3,00	2,4	240,0	0,197	0,197	0,197

Koncentracija izhodne raztopine askorbinske kisline: 0,800 mg/mL

 $\bar{A}$ – povprečna vsebnost absorbanca A_1 in A_2 

Priloga C2: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti L-askorbinske kisline (vitamin C)

Priloga D1. Vsebnosti vode, prostih, skupnih kislin in laktonov, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter L-askorbinske kisline vrednost pH, električne prevodnosti, diastaznega števila in antioksidativne učinkovitosti v ajdovem medu

Št. vzorca Parameter	Med ajde							
	AJ1	AJ2	AJ3	AJ4	AJ5	$\bar{x}$	SD	KV (%)
Vsebnost vode (g/100 g)	16,0	15,2	14,0	15,4	16,3	15,4	0,9	5,9
EP (mS/cm)	0,780	0,734	1,06	1,00	0,651	0,845	0,2	21
Vsebnost prostih kislin (mekv/kg)	26,8	22,8	29,1	16,3	28,5	24,7	5,3	22
Vsebnost laktonov (mekv/kg)	3,17	2,96	7,29	6,09	4,74	4,85	1,9	38
Vsebnost skupnih kislin (mekv/kg)	30,0	25,7	36,4	22,3	33,3	29,5	5,6	19
Vrednost pH	3,55	3,85	3,84	4,32	3,84	3,88	0,3	7,1
Diastazno število	27,5	24,7	38,5	19,2	15,7	25,1	8,8	35
AU (DPPH metoda) (%)	57,8	66,5	49,6	69,4	67,9	62,2	8,4	13
Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mgGA/kg)	318	317	466	222	289	322,5	89	28
Vsebnost flavonoidov (mgK/kg)	63,2	63,2	77,8	54,9	77,8	67,4	10	15
Vsebnost L-askorbinske kisline (mg/100 g)	42,2	42,2	20,5	52,0	34,6	38,3	11,7	31

EP - električna prevodnost; AU - antioksidativna učinkovitost: delež inhibicije pri poskusu med 0,15 g medu in 0,225 μ mol DPPH

Priloga D2. Vsebnosti vode, prostih, skupnih kislin in laktonov, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter L-askorbinske kisline vrednost pH, električne prevodnosti, diastaznega števila in antioksidativne učinkovitosti v rešeljikovem medu

Št. vzorca Parameter	Med rešeljike													
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	$\bar{x}$	SD	KV (%)
Vsebnost vode (g/100 g)	15,5	17,6	16,4	16,0	17,2	15,5	14,6	15,9	16,0	16,2	14,6	15,9	1,0	6,0
EP (mS/cm)	0,573	0,947	1,20	0,966	0,913	0,752	1,11	0,699	0,481	0,918	0,711	0,843	0,2	26
Vsebnost prostih kislin (mekv/kg)	18,2	20,5	46,1	16,4	18,5	20,3	26,6	26,3	39,1	31,7	27,6	26,5	9,4	35
Vsebnost laktonov (mekv/kg)	6,34	5,42	2,00	2,96	3,87	3,78	4,87	5,10	4,33	4,47	5,15	4,39	1,2	28
Vsebnost skupnih kislin (mekv/kg)	24,6	25,9	48,1	19,3	22,3	24,1	31,5	31,4	43,4	36,2	32,7	30,9	9,0	29
Vrednost pH	3,72	3,90	4,44	4,27	3,86	4,07	4,32	4,09	4,69	4,23	4,10	4,15	0,3	6,7
Diastazno število	14,8	32,0	43,1	19,9	16,0	15,8	66,7	35,6	16,9	30,3	26,2	28,8	16	54
AU (DPPH metoda) (%)	61,2	53,0	47,7		56,1	48,0	33,3	39,2	67,3	45,8	54,9	50,6	10	20
Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mgGA/kg)	212	204	399	228	190	277	445	291	192	419	284	286	94	33
Vsebnost flavonoidov (mgK/kg)	78,8	55,9	103		60,4	79,7	107	67,8	54,9	113	81,5	80,1	21	26
Vsebnost L-askorbinske kisline (mg/100 g)	32,0	36,9	29,5	45,8	36,9	27,5	32,8	28,8	35,8	6,99	7,01	29,1	12	41

EP - električna prevodnost; AU - antioksidativna učinkovitost: delež inhibicije pri poskusu med 0,15 g medu in 0,225 μ mol DPPH[•]

Priloga D3. Vsebnosti vode, prostih, skupnih kislin in laktonov, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter L-askorbinske kisline vrednost pH, električne prevodnosti, diastaznega števila in antioksidativne učinkovitosti v javorjevem medu

Št. vzorca Parameter	Med javorja														
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	$\bar{x}$	SD	KV (%)
Vsebnost vode (g/100 g)	15,2	16,8	15,1	15,3	16,9	16,4	16,2	16,4	15,3	16,4	15,7	15,6	15,9	0,6	4,1
EP (mS/cm)	0,834	1,85	0,871	0,854	0,851	0,980	1,07	1,005	0,861	1,20	0,999	1,06	1,04	0,3	27
Vsebnost prostih kislin (mekv/kg)	10,8	16,7	14,7	15,2	16,3	13,8	22,7	15,0	9,83	19,4	14,5	28,4	16,4	5,1	31
Vsebnost laktonov (mekv/kg)	2,46	5,15	2,77	2,32	3,12	2,65	3,54	2,81	1,77	2,66	4,95	3,37	3,13	1,0	32
Vsebnost skupnih kislin (mekv/kg)	13,2	21,9	17,5	17,5	19,4	16,4	26,3	17,8	11,6	22,1	19,5	31,8	19,6	5,5	28
Vrednost pH	4,69	4,73	4,35	4,31	4,16	4,47	4,10	4,56	4,80	4,46	4,52	4,32	4,46	0,2	4,9
Diastazno število	18,1	19,7	18,9	19,5	15,9	18,9	14,2	34,8	18,3	19,8	16,1	14,4	19,0	5,4	28
AU (DPPH metoda) (%)	54,6	68,3	54,8	54,7	48,3	53,3	58,3	47,6	52,8	55,9	31,3		52,7	8,9	17
Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mgGA/kg)	241	297	256	276	301	250	307	302	250	257	388	208	278	46	17
Vsebnost flavonoidov (mgK/kg)	53,1	55,9	59,5	59,5	65,9	69,6	71,4	64,1	52,2	66,8	81,5	58,6	63,2	8,5	13
Vsebnost L-askorbinske kisline (mg/100 g)	69,6	67,3	69,8	31,1	16,3	33,1	28,8	39,4	37,3	18,4	39,3	28,8	39,9	19	47

EP - električna prevodnost; AU - antioksidativna učinkovitost: delež inhibicije pri poskusu med 0,15 g medu in 0,225 μ mol DPPH[•]

Priloga D4. Vsebnosti vode, prostih, skupnih kislin in laktonov, skupnih fenolnih spojin, flavonoidov ter L-askorbinske kisline vrednost pH, električne prevodnosti, diastaznega števila in antioksidativne učinkovitosti v medu divje češnje

Št. vzorca Parameter	Med divje češnje													SD	KV (%)
	Č1	Č2	Č3	Č4	Č5	Č6	Č7	Č8	Č9	Č10	SD1/DČ11	SD2/DČ12	$\bar{x}$		
Vsebnost vode (g/100 g)	16,5	14,8	16,5	15,1	14,8	15,7	17,7	18,6	14,9	15,8	15,3	16,2	16,0	1,2	7,5
EP (mS/cm)	0,623	0,752	0,572	0,952	0,711	0,583	0,819	0,661	0,466	0,440	0,844	0,771	0,683	0,2	23
Vsebnost prostih kislin (mekv/kg)	20,1	15,2	14,7		12,3	14,2	33,7	15,7	18,4	28,6	19,8	24,1	19,7	6,7	34
Vsebnost laktonov (mekv/kg)	2,51	1,31	2,39		0,00	2,36	3,75	1,39	2,93	4,96	4,20	6,00	2,89	1,7	60
Vsebnost skupnih kislin (mekv/kg)	22,6	16,5	17,1		12,3	16,6	37,4	17,1	21,3	33,6	24,0	30,1	22,6	8,0	35
Vrednost pH	3,83	4,12	3,86		4,23	4,01	3,84	4,55	4,14	3,91	3,98	3,76	4,02	0,2	5,7
Diastazno število	14,0	26,4	15,1	21,1	21,5	12,0	24,6	20,5	20,7	18,3	25,7	21,6	20,1	4,5	23
AU (DPPH metoda) (%)	65,2	63,1	67,2	45,7	62,7	57,7	59,2	68,7	45,7	45,0	54,7	57,4	57,7	8,4	15
Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mgGA/kg)	139	221	179	272	168	225	289	128	118	108	278	245	197	66	33
Vsebnost flavonoidov (mgK/kg)	39,4	50,4	39,4	73,3	47,6	70,5	71,4	38,5	43,0	35,7	61,4	49,5	51,7	14	27
Vsebnost L-askorbinske kisline (mg/100 g)	38,6	44,0	38,2	5,19	5,17	14,7	14,7	14,7	44,3	55,6	40,5	32,8	29,0	17	59

EP - električna prevodnost; AU - antioksidativna učinkovitost: delež inhibicije pri poskusu med 0,15 g medu in 0,225 μ mol DPPH $^{\cdot}$.

Priloga E. Rezultati multivariatne analize fizikalno-kemijskih parametrov po obdelavi z linearno diskriminantno analizo (LDA) v štirih vrstah medu

Classification Results^a							
Vrsta			Predicted Group Membership				Total
			Ajdov med	Rešeljikov med	Javorjev med	Med divje češnje	
Original	Count	Ajdov med	5	0	0	0	5
		Rešeljikov med	0	10	0	1	11
		Javorjev med	0	0	12	0	12
		Med divje češnje	1	0	0	11	12
	%	Ajdov med	100,0	0,0	0,0	0,0	100,0
		Rešeljikov med	0,0	90,9	0,0	9,1	100,0
		Javorjev med	0,0	0,0	100,0	0,0	100,0
		Med divje češnje	8,3	0,0	0,0	91,7	100,0