

Melisopalinološka i fizikalno-kemijska svojstva meda od bršljana

Piližota, Jerolim

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/um:nbn:hr:204:699558>

Rights / Prava: [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**MELISOPALINOLOŠKA I FIZIKALNO-KEMIJSKA
SVOJSTVA MEDA OD BRŠLJANA**

DIPLOMSKI RAD

Jerolim Piližota

Zagreb, srpanj, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Ekološka poljoprivreda i agroturizam

**MELISOPALINOLOŠKA I FIZIKALNO-KEMIJSKA
SVOJSTVA MEDA OD BRŠLJANA**

DIPLOMSKI RAD

Jerolim Piližota

Mentor:

doc. dr. sc. Saša Prđun

Zagreb, srpanj, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Jerolim Piližota**, JMBAG 0269148364, rođen 16.10.1999. u Zadru, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

MELISOPALINOLOŠKA I FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA MEDA OD BRŠLJANA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studenta **Jerolim Piližota**, JMBAG 0269148364, naslova

**MELISOPALINOLOŠKA I FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA
MEDA OD BRŠLJANA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | |
|---------------------------------------|--------|-------|
| 1. doc. dr. sc. Saša Prđun | mentor | _____ |
| 2. izv. prof. dr. sc. Lidija Svečnjak | član | _____ |
| 3. doc. dr. sc. Dario Kremer | član | _____ |

Zahvala

Najveće zahvale idu dragom mentoru doc. dr. sc. Saši Prđunu koji mi je uveliko pomogao u pisanju ovoga rada. Hvala na razumijevanju, pomoći, susretljivosti i dragocjenim savjetima.

Od srca se zahvaljujem i izv. prof. dr. sc. Lidiji Svečnjak na bogatom znanju koje mi je prenijela kao i na svim motivirajućim riječima podrške koje mi je uputila.

Hvala i doc. dr. sc. Dariju Kremeru na pozitivnim riječima i autorskim fotografijama koje su korištene u ovome radu.

Hvala mojoj obitelji i prijateljima na bezuvjetnoj podršci tijekom svih godina školovanja.

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Cilj rada.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	2
2.1. Med.....	2
2.1.1. Kemijski sastav meda.....	2
2.1.2. Šećeri	3
2.1.3. Voda	3
2.1.4. Organske kiseline	3
2.1.5. Minerali.....	3
2.1.6. Enzimi.....	4
2.1.7. Proteini i aminokiseline	5
2.1.8. Vitamini.....	5
2.1.9. Hidroksimetilfurfural (HMF).....	6
2.2. Fizikalna svojstva meda	6
2.2.1. Kristalizacija.....	6
2.2.2. Viskoznost	7
2.2.3. Električna provodnost	7
2.2.4. Specifična toplina i toplinska provodnost	7
2.2.5. Optička aktivnost	7
2.2.6. Higroskopnost.....	8
2.3. Senzorska svojstva meda	8
2.3.1. Boja	8
2.3.2. Miris i aroma	9
2.3.3. Okus	9
2.4. Melisopalinološka analiza meda	9
2.5. Bršljan	10

2.5.1. Morfologija bršljana	10
2.5.2. Stanište i rasprostranjenost bršljana.....	11
2.5.3. Ljekovitost bršljana	12
2.5.4. Otravnost bršljana	13
3. MATERIJALI I METODE	14
3.1. Prikupljanje uzoraka meda.....	14
3.2. Melisopalinološka analiza	14
3.3. Fizikalno-kemijske analize	15
3.3.1. Utvrđivanje udjela vode	15
3.3.2. Određivanje električne provodnosti	16
3.3.3. Utvrđivanje pH vrijednosti.....	17
3.3.4. Aktivnost dijastaze.....	17
3.3.5. Utvrđivanje sadržaja hidroksimetilfurfurala	18
3.3.6. Određivanje specifične rotacije.....	18
3.3.7. Određivanje boje meda	19
3.3.8. Određivanje udjela šećera	19
3.4. Senzorska analiza meda.....	19
3.5. Statistička obrada podataka.....	19
4. REZULTATI I RASPRAVA	20
4.1. Melisopalinološka svojstva	20
4.2. Analiza fizikalno-kemijskih parametara	22
4.3. Senzorska svojstva meda od bršljana.....	23
5. ZAKLJUČAK	25
6. LITERATURA.....	26

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Jerolim Piližota**, naslova

MELISOPALINOLOŠKA I FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA MEDA OD BRŠLJANA

Obični bršljan (*Hedera helix* L.) je medonosna biljka koja tijekom jeseni proizvodi obilje nektara koji pčelama omogućuje kvalitetnu pašu prije zimovanja. Cilj ovog istraživanja bio je provesti melisopalinološku (peludnu) analizu, odrediti fizikalno-kemijske parametre te opisati senzorska svojstva meda od bršljana. Istraživanje je provedeno na 19 uzoraka meda od bršljana koji su prikupljeni od lokalnih pčelara iz 4 županije (Istarska, Krapinsko-zagorska, Zagrebačka i Vukovarsko-srijemska). Od fizikalno-kemijskih parametara analizirani su: udio vode, električna provodnost, pH vrijednost, aktivnost dijastaze, prisutnost HMF-a, specifična rotacija, boja, određeni su šećeri; fruktoza, glukoza, ksiloza, saharoza, maltoza, melečitoza i rafinoza te je određen omjer i zbroj fruktoze i glukoze. Raspon peludnih zrnaca bršljana kretao se od 51 do 98 % što ukazuje na to da su svi uzorci uniflorni (> 45 %). Prosječni udio vode iznosio je 17,9 %, električne provodnosti 0,50 mS/cm, pH vrijednosti 4,10, aktivnost dijastaze je 31,6 DN, HMF 1,20 mg/kg, boja meda iznosi 62 mm Pfundove ljestvice (svjetlo jantarna), dok je prosjek fruktoze bio 35,48 g/100 g, a glukoze 38,31 g/100 g. U dosadašnjoj znanstvenoj i stručnoj literaturi gotovo da i nema podataka o ovoj raritetnoj vrsti meda, stoga ovo istraživanje uvelike doprinosi opisivanju njegovih fizikalno-kemijskih i senzorskih svojstava.

Ključne riječi: med, bršljan, melisopalinologija, fizikalno-kemijska i senzorska svojstva

Summary

Of the master's thesis – student **Jerolim Piližota**, entitled

MELISSOPALYNOLOGICAL AND PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES OF IVY HONEY

Common ivy (*Hedera helix* L.) is a nectariferous plant that provides bees with abundant forage in the autumn, aiding their preparation for winter. The aim of this study was to conduct a melissopalynological (pollen) analysis, determine the physicochemical parameters, and describe the sensory properties of ivy honey. The research was conducted on 19 samples of ivy honey collected from local beekeepers in 4 counties (Istria, Krapina-Zagorje, Zagreb, and Vukovar-Srijem). The physicochemical parameters analyzed included: water content, electrical conductivity, pH value, diastase activity, presence of HMF (hydroxymethylfurfural), specific rotation, color, and the determination of sugars such as fructose, glucose, xylose, sucrose, maltose, melezitose and raffinose, as well as the ratio and total of fructose and glucose. The range of ivy pollen grains varied from 51 to 98%, indicating that all samples were unifloral (> 45%). The average water content was 17.9%, electrical conductivity 0.50 mS/cm, pH value 4.10, diastase activity 31.6 DN, HMF content 1.20 mg/kg, honey color 62 mm Pfund (light amber), with an average fructose content of 35.48 g/100 g and glucose 38.31 g/100 g. In the current scientific and professional literature, there is almost no data on this rare type of honey, hence this research significantly contributes to the description of its physicochemical and sensory properties.

Keywords: honey, ivy, melissopalynology, physicochemical and sensory properties

1. UVOD

Med je prirodna prehrambena namirnica koju pčele proizvode od nektara različitih medonosnih biljaka. Kemijski sastav meda uvelike čine šećeri i voda te manje zastupljene komponente kao što su proteini, aminokiseline, organske kiseline, vitamini i minerali. Kvaliteta meda povezana je s njegovim senzorskim, fizikalno-kemijskim i mikrobiološkim karakteristikama. Osim toga, na kvalitetu meda utječe izvor nektara i medljike koje pčele skupljaju, klimatski uvjeti, botaničko podrijetlo, metode obrade meda te uvjeti skladištenja (Ramly i sur., 2021).

Botaničko podrijetlo nektara ili medljike koje pčele skupljaju tijekom pašnog razdoblja ima ključan utjecaj na kemijski sastav meda, što posljedično utječe na brendiranje konačnog proizvoda. Iako se općenito smatra da medonosne pčele ostaju vjerne jednoj biljnoj vrsti tijekom skupljačke aktivnosti, često se događa da prikupljaju nektar i s drugih biljaka. Stoga, potpuno uniforan med u praksi ne postoji, štoviše, nektar različitih biljnih vrsta u promjenjivim omjerima doprinosi ukupnom sastavu pojedinog uzorka meda. Kemijski sastav meda određuje i kvaliteta te količina nektara koja se znatno razlikuje ovisno o klimatsko-zemljopisnim uvjetima i fiziološkim čimbenicima pojedinih biljnih vrsta. Uniforne vrste meda smatraju se najvažnijima u smislu njihove komercijalne važnosti na tržištu. Te vrste meda na tržištu postižu višu cijenu zbog svoje kvalitete koja proizlazi iz njihovih organoleptičkih svojstava. Zbog tih svojstava, uniforni med često je predmet patvorenja i neispravnog deklariranja (Svečnjak, 2015).

Obični bršljan (*Hedera helix L.*) je uobičajena i široko rasprostranjena jesenska cvjetnica koja se javlja u ruralnim i urbanim područjima diljem Europe, Sjeverne Afrike i Azije. Prirodno je rasprostranjen u Europi, Turskoj i na Bliskom Istoku. Istraživanje koje je provedeno u svrhu praćenja ishrane medonosne pčele gdje je utvrđena prosječna udaljenost traženja hrane praćenjem plesova pčela, smanjuje se tijekom ljetnih mjeseci (srpanj i kolovoz - oko 4 km) sve do jeseni (rujan i listopad - oko 2 km), što ukazuje na to da su cvjetni resursi (nekter i pelud) tijekom jesenskih mjeseci dostupniji pčelama uslijed povoljnijih vremenskih uvjeta. Upravo radi toga, relativno dugo razdoblje cvatnje bršljana u jesen i visok sadržaj šećera u nektaru čini ovu vrstu produktivnom medonosnom biljnom vrstom i važnom karikom u hranidbenom lancu medonosne pčele, ali i drugih kukaca koji se njome hrane (Garbuzov i Ratnieks, 2014; Konarska, 2014).

1.1. Cilj rada

Cilj ovoga rada je utvrditi peludni spektar, fizikalno-kemijska te senzorska svojstva raritetnog meda od bršljana.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Med

Med je proizvod sinergije između biljaka i pčela. On je prirodna slatka tvar nastala od nektara medonosnih biljaka ili biljnih izlučevina te izlučevina kukaca odnosno medljikovca, koje pčele sakupljaju, dodaju im svoje izlučevine, izdvajaju preostalu vodu i odlažu u stanice sača da sazrije.

Osnovna podjela meda prema podrijetlu je na nektarni i medljikovac. Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda nektarni med definira kao proizvod što ga pčele proizvode od nektara različitih medonosnih biljaka (bagrem, kadulja, lipa i dr.), a može biti uniforan i multiforan. Uniforan med u netopivom sedimentu treba sadržavati minimalno 45 % peludnih zrnaca iste medonosne vrste, odnosno treba prevladavati nektar jedne biljne vrste dok je za multiforan med karakteristično da je nastao od nektara različitih biljnih vrsta (NN 20/00).

Medljika ili medna rosa je slatkasta tvar koja se javlja na listovima i drugim dijelovima crnogoričnog i bjelogoričnog drveća. Proizvode je kukci iz reda *Homoptera* (jednakokrilci) od kojih svakako treba istaknuti lisne i štitaste uši. One sišu biljne sokove uz pomoć tankog i dugačkog rilca koje uvuku kroz biljno tkivo sve do sitastih cijevi u kojima se nalaze asimilati biljke koje iskorištavaju. U sitastim cijevima nalazi se biljni sok koji sadrži 10 - 30 % suhe tvari. Najveći dio čine ugljikohidrati (5 - 20 %), zatim pepeo (1 - 3 %), bjelančevine (0,03 - 0,27 %) te organske kiseline, enzimi i vitamini. Količina suhe tvari kod medljike kreće se od 5 do 18 %, specifična težina do 1,3 dok se sadržaj pH rasprostire od 5,1 do 7,9 (Kezić i sur., 2013).

2.1.1. Kemijski sastav meda

Med ima izuzetno složen kemijski sastav koji obuhvaća više od 70 različitih komponenti. Neke od tih komponenti dodaju pčele, neke dolaze od biljaka, a neke nastaju tijekom sazrijevanja meda u saču. Iako su analitičke metode vrlo napredne, kemijski sastav meda još uvijek nije u potpunosti razjašnjen, što otežava industrijsku proizvodnju i patvorenje te med zadržava status prirodnog proizvoda koji stvaraju isključivo pčele. Jedna od najznačajnijih karakteristika kemijskog sastava meda je njegova varijabilnost, što ukazuje na to da u praksi ne postoje dva potpuno identična uzorka meda. Kemijski sastav meda je vrlo promjenjiv, a on ovisi o bilnjom i zemljopisnom podrijetlu, klimatskim uvjetima, pasmini pčela te sposobnostima samih pčelara što podrazumijeva pravilan način dorade i skladištenja meda (Hegić, 2019).

2.1.2. Šećeri

Glavne i najzastupljenije komponente koje se pojavljuju u medu su šećeri. Utvrđeno je da više od 95 % suhe tvari čine šećeri. Po svojem kemijskom sastavu med podrazumijeva visoko koncentriranu otopinu dva najvažnija šećera, a to su glukoza (dekstroza) i fruktoza (levuloza). Također, u manjim količinama mogu se pronaći najmanje 22 druga složenja šećera. Fizikalna svojstva meda najviše ovise o njegovom sastavu šećera, dok se razlike među vrstama meda često pripisuju mirisnim tvarima, kiselinama, mineralima i pigmentima (White i Doner, 1980).

2.1.3. Voda

Nakon šećera, drugi najučestaliji sastojak u medu je voda. Prirodna vlažnost meda koja se nalazi u saču nastaje kao produkt sazrijevanja nektara. Količina vlage znatno utječe na čuvanje i kvalitetu meda. Nakon vrcanja meda može se promijeniti njegova vlažnost što ponajviše ovisi o uvjetima skladištenja. Sadržaj vode u medu jako varira te ovisi o klimatskim uvjetima, količini izlučenog nektara, botaničkom podrijetlu, uvjetima čuvanja meda te intervenciji pčelara. Utvrđeno je da se udio vode kreće od 14 do 20 % (White i Doner, 1980). Pravilnikom o medu (NN 53/15) propisano je da udio vode može iznositi najviše 20 % s izuzetkom do 23 % za meda od vrijeska.

2.1.4. Organske kiseline

Organske kiseline u medu čine samo 0,5 % suhe tvari te daju važan doprinos organoleptičkim svojstvima (boja i aroma) i fizikalno-kemijskim svojstvima meda kao što su električna provodnost, pH i kiselost. Utvrđeno je postojanje 30 organskih kiselina u medu. U istraživanjima provedenim 1930-ih godina smatralo se da su limunska i jabučna primarne kiseline koje su prisutne u medu, ipak Stinson i sur. (1960) utvrdili su da u medu najviše prevladava glukonska kiselina, koja nastaje putem djelovanja glukoza oksidaze na glukozu. Osim glukonske kiseline u medu su pronađene i druge kiseline poput mliječne, maslačne, octene, mravlje, oksalne, fumarne i jantarne (Mato i sur., 2003).

2.1.5. Minerali

Sadržaj minerala u medu slabo je zastupljen, kreće se od 0,02 do 1 %. Minerali utječu na okus meda te oni kao takvi smanjuju njegovu kiselost. Mineralni sastav meda ovisi o njegovom botaničkom podrijetlu i kemijskom sastavu tla. Tamniji medovi obično sadrže više minerala nego svjetlijih medova, pri čemu med medljikovac ima viši mineralni sadržaj od cvjetnog meda, dok multiflorni medovi imaju veći udio minerala u usporedbi s uniflornim vrstama meda (Chiranova i sur., 2021). U medu najzastupljeniji mineral je kalij, a slijede ga sumpor, fosfor, silicij, magnezij, bakar, željezo, natrij, kalcij i klor (Hernandez i sur., 2004).

2.1.6. Enzimi

Prisutnost enzima u medu jedna je od karakteristika po kojoj se med razlikuje od drugih sladila. Dio enzima potječe od pčela koje ga dodaju tijekom obrade nektara u med, dok ostali dolaze direktno iz peluda i nektara. Najvažniji enzimi koji se pojavljuju u medu su invertaza, amilaza (dijastaza) i glukoza oksidaza.

Invertaza je enzim koji nastaje iz podždrijelnih žlijezda tijekom prerade nektara i medljike. Glavna uloga invertaze je hidroliza saharoze, odnosno razgradnja na jednostavne šećere, glukozu i fruktozu. Sazrijevanjem meda djelovanje invertaze završava, no unatoč tome ona ostaje aktivna u medu neko vrijeme. Sadržaj invertaze ovisi o podrijetlu meda, starosti pčela, količini izlučivanja nektara i klimatskim uvjetima (Persano Oddo i sur., 1999).

Kod vrlo intenzivne paše, što je slučaj kod bagrema, aktivnost invertaze može se smanjiti što dovodi do toga da se kućne pčele jednostavno „začepe“ novostvorenim nektarom. Nektar se kratko vrijeme zadržava u mednom mjehuru pčela što dovodi do smanjenja količine invertaze u medu, a u konačnici podrazumijeva veći udio saharoze u medu. Za vrijeme vlažnog vremena, niskih temperatura i umjerenog izlučivanja nektara pčele posjećuju više cvjetova, duže prerađuju nektar što rezultira povećanjem invertaze (Prđun, 2017).

Aktivnost enzima invertaze izražava se kao broj invertaze (IN) koji označava količinu saharoze u gramima koju za 1 sat razgradi invertaza u 100 grama meda. Invertazna aktivnost koristi se kao pokazatelj kvalitete, uvjeta skladištenja te stupnja zagrijavanja meda (Bogdanov i sur., 1997).

Dijastaza ili amilaza smatra se iznimno bitnim enzimom, ne zbog uloge u medu koliko zbog njegove funkcije u analitičkim analizama meda. Po svojem kemijskom sastavu enzim amilaza građen je od α -amilaze koja razgrađuje velike molekule škroba na dekstrine i β -amilaze, koja nadalje sudjeluje u razgradnji škroba na disaharid maltozu (Kezić i sur., 2013).

Jedinica aktivnosti enzima dijastaze poznatija kao Gotheova jedinica ili dijastatski broj (DN) predstavlja količinu enzima koja je potrebna za razgradnju 0,01 g škroba u trajanju od sat vremena na 40 °C (Bogdanov i sur., 1997). Jedan od ključnih parametara aktivnosti enzima dijastaze je u određivanju stupnja zagrijavanja meda tijekom prerade i skladištenja. Kao i svi ostali enzimi, enzim dijastaza osjetljiv je na toplinu, a budući da je lako mjerljiv, koristi se za određivanje stupnja oštećenja meda zagrijavanjem. Prema dostupnim informacijama čuvanjem meda na 30 °C tijekom 200 dana dolazi do degradacije polovice enzima dijastaze. Iz ovoga se može zaključiti da, osim zagrijavanja, na sadržaj dijastaze također može utjecati i duljina skladištenja na visokim temperaturama (Babacan i Rand, 2006). Što se tiče sadržaja enzima dijastaze, on najviše varira ovisno o podrijetlu meda, poznato je da med od citrusa i bijele djeteline ima nizak sadržaj dijastaze, dok se za med od heljde smatra da ima najveću vrijednost. Osim botaničkog podrijetla, na količinu dijastaze utječe i pH vrijednost, količina nektara te hranidba pčela (Čaušević i sur., 2017).

Glukoza oksidaza također se smatra važnijim enzimom prilikom nastajanja meda. Enzim potječe iz podždrijelnih žljezda pčela koje ga dodaju u periodu sazrijevanja nektara. Glavna uloga enzima glukoze oksidaze je oksidacija malih količina glukoze pri čemu se stvara glukonolakton, koji se dalje formira u glukonsku kiselinu. Kao produkt ove reakcije nastaje vodikov peroksid koji ima baktericidno djelovanje. Vodikov peroksid brzo se razgrađuje na vodu i kisik, a njegova proizvodnja i razgradnja je kontinuirana dok se nektar pretvara u med (Mahmoud, 2006). Glukoza oksidaza je najaktivnija u razrijeđenom ili nezreloj medu kada je koncentracija šećera 25 - 30 % (Crane, 1990).

Aktivnost glukoza oksidaze smanjena je djelovanjem svjetlosti, topline i drugih izvora energije (mikrovalovi). Također, količina glukoza oksidaze različita je ovisno o vrsti meda i uglavnom je veća u medljikovcu nego u nektarnom medu (Vahčić i Matković, 2009).

2.1.7. Proteini i aminokiseline

Poznato je da med sadrži malu i promjenjivu količinu proteina. Sadržaj proteina kreće se do najviše 0,7 %. Najzastupljenija aminokiselina u medu je prolin koja se ujedno koristi kao indikator zrelosti i mogućeg patvorenja meda jer potječe direktno od pčela. Sadržaj prolina u medu treba biti veći od 200 mg/kg, dok se za vrijednosti ispod 180 mg/kg smatra da je med patvoren dodatkom šećera. Analizom različitih vrsta meda utvrđeno je prisustvo i drugih aminokiselina kao što su glutaminska kiselina, alanin, leucin, fenilalanin, izoleucin i druge (Bogdanov, 2011).

2.1.8. Vitamini

U medu su pronađeni vitamini, ali se zbog malih količina ne smatraju značajnim izvorom hranjivih tvari za ljudski organizam. Glavni izvor vitamina u medu su nektar, a posebno pelud, stoga zastupljenost određenih vitamina u veliku ovisi o botaničkom podrijetlu meda. Med sadrži vitamine B skupine i vitamin C koji su topivi u vodi. Najvažniji vitamini B skupine koji se pojavljuju u medu su tiamin, riboflavin, nikotinamid, pirodiksin, pantotenska kiselina, biotin i folna kiselina. Vitamin C većinom se nalazi u saču jer se tijekom obrade meda može izgubiti. U određenim vrstama meda, poput livadnog, moguće je pronaći različite količine vitamina E, vitamina A te vitamina K. Također, prilikom filtracije meda, dolazi do uklanjanja peludi i smanjenja količine vitamina (Vahčić i Matković, 2009).

2.1.9. Hidroksimetilfurfural (HMF)

Hidroksimetilfurfural (HMF) je ciklički aldehid koji nastaje dehidracijom glukoze i fruktoze u kiselom mediju, a može nastati i u Maillardovim reakcijama. Pri povišenoj temperaturi brzina reakcije je veća, a porast brzine proporcionalan je porastu temperature. HMF smatra se glavnim čimbenikom kvalitete i svježine meda. U svježem izvrcanom medu gotovo je neprimjetan, no koncentracija mu se polako povećava tijekom dugotrajnog neprikladnog skladištenja meda, ovisno o pH vrijednosti meda i temperaturi na kojoj se skladišti. Osim toga, na povećanje razine HMF-a u medu utječe udio kiselina, vlaga te izloženost meda svjetlošću. Visoke razine HMF-a (iznad 100 mg/kg) mogu biti parametar patvorenja meda (Hegić i sur., 2019).

2.2. Fizikalna svojstva meda

Fizikalna svojstva meda uključuju kristalizaciju, viskoznost, električnu provodnost, specifičnu toplinu i toplinsku provodnost, optičku aktivnost te higroskopnost. S obzirom na raznoliki sastav meda, očekivano je da će vrijednosti navedenih parametara varirati i biti specifične za pojedinu vrstu meda.

2.2.1. Kristalizacija

Kristalizacija je prirodna pojava kojom med iz tekućeg stanja prelazi u polučvrsto stanje. Poznato je da je med visoko koncentrirana otopina dvaju šećera (glukoze i fruktoze) u kojoj prevladava više od 70 % šećera i manje od 20 % vode. Sadržaj glukoze i fruktoze varira ovisno o vrsti meda. Načelno, udio glukoze u medu kreće se od 25 do 40 %, dok udio fruktoze u medu iznosi od 30 do 44 %. Ravnoteža spomenuta dva šećera glavni je razlog kristalizacije meda, stoga ako u medu ima više glukoze u odnosu na fruktozu, proces kristalizacije biti će ubrzan uz sitnije kristale, suprotno, kod medova koji imaju veći sadržaj fruktoze, kristalizacija se odvija sporije, stvarajući krupnije i nepravilnije kristale (Hamdan, 2015).

Vahčić i Matković (2009) navode kako medljikovac koji ima veći sadržaj glukoze u odnosu na fruktozu ima veću sklonost kristalizaciji. Nadalje, kristalizacija ovisi i o drugim čimbenicima u medu kao što su udio minerala, organskih kiselina, proteina, vlažnost zraka i temperatura skladištenja meda. Također, kristalizacija može biti potaknuta česticama peludi, prašinom, voskom i potresanjem meda. Optimalna temperatura za kristalizaciju iznosi od 10 do 20 °C, autori su ustanovili da ispod 5 °C te iznad 27 °C ne dolazi do pojave kristalizacije. Povrh toga, dekristalizacija meda provodi se na temperaturama ispod 40 °C kako bi se očuvali prisutni enzimi i vrijedni sastojci meda. Od svih vrsta meda, medljikovac, med od suncokreta i maslačka ističu se brzinom kristalizacije.

2.2.2. Viskoznost

Viskoznost meda predstavlja njegov otpor izlijevanju. Sadržaj viskoznosti u medu prvenstveno ovisi o sadržaju vode, ako je relativna gustoća veća, a manji postotak vode, viskoznost meda je veća. Osim sadržaja vode na viskoznost utječe sastav nektara, temperatura (povećanje temperature dovodi do smanjenja viskoznosti i obrnuto), broj i veličina prisutnih kristala u medu, prisustvo ugljikohidrata točnije odnos između monosaharida i oligosaharida kao i sadržaj proteina (Kezić i sur., 2013). Bogdanov (2011) u medu uočava pojavu koja se naziva tiksotropija. Ona nastaje zbog velikog sadržaja bjelančevina (koloidnih tvari) što dovodi do povećanja viskoznosti i pojave želatinozne konzistencije meda, a karakteristična je za med od vrijeska i manuke.

2.2.3. Električna provodnost

Električna provodnost svojstvo je neke tvari koja može provoditi električnu struju, a jedinica u kojoj se izražava je „Millisiemens po centimetru“ (mS/cm). U medu električnu struju provode disocirane kiseline i minerali koji su prisutni u ionskom obliku (Kezić i sur., 2013). Ovisno o botaničkom podrijetlu meda, električna provodnost meda pokazuje značajne oscilacije, a kreće se između 0,06 i 2,17 mS/cm (Persano Oddo i Piro., 2004). Električna provodnost koristi se kao parametar za utvrđivanje botaničkog podrijetla meda odnosno omogućuje lakše razlikovanje nektarnih vrsta meda od medljikovca. Prema Pravilniku o medu (NN 53/15) nektarni i miješani med mora imati električnu provodnost do najviše 0,80 mS/cm, dok medljikovac i med od kestena minimalno 0,80 mS/cm. Iznimke su medovi od lipe, eukaliptusa, planike, vrijesa i vrijeska zbog varijacija u električnoj provodnosti.

2.2.4. Specifična toplina i toplinska provodnost

Prema Persano Oddo i sur. (1995) specifična toplina meda varira između 0,56 i 0,73 kal/g/°C što ovisi o sastavu i stupnju kristalizacije. Za razliku od vode, koja ima toplinsku provodnost od 14×10^{-4} kal/cm/sec/°C, med pokazuje nisku toplinsku provodnost koja iznosi $12,9 \times 10^{-4}$ kal/cm/sec/°C, što znači da nije dobar vodič topline. Prilikom zagrijavanja meda, posebno ako je kristaliziran u velikim spremnicima, dublji slojevi meda ostaju duže vrijeme hladni. Zbog toga, kako bi se smanjio rizik od prekomjernog zagrijavanja vanjskih slojeva koji su bliži izvoru topline, preporuča se korištenje nižih temperatura tijekom dužeg perioda (Contessi, 2004).

2.2.5. Optička aktivnost

Med je tvar koja je optički aktivna, točnije može promijeniti smjer ravnine polarizirane svjetlosti. Za provođenje optičke aktivnosti u medu zaslužni su ugljikohidrati. Glukoza, disaharidi, trisaharidi i oligosaharidi zakreću ravninu polarizirane svjetlosti udesno, dok fruktoza to čini ulijevo.

Optička aktivnost kod medljikovca je pozitivna zbog većeg sadržaja oligosaharida, prvenstveno zbog šećera melecitoze i erloze što dovodi do skretanja svjetlosti udesno, dok je za nektarne vrste meda optička aktivnost negativna jer imaju veći sadržaj fruktoze što u konačnici rezultira zakretanjem svjetlosti ulijevo (Kezić i sur., 2013).

2.2.6. Higroskopnost

Pojam higroskopnosti odnosi se na sposobnost tvari da upija vlagu iz okoliša. U kontaktu sa zrakom med upija ili oslobađa vlagu, što ovisi o sadržaju vode u medu i relativnoj vlažnosti zraka. Med će apsorbirati vlagu iz zraka u prostoru u kojem je relativna vlažnost zraka iznad 60 %. Ako je relativna vlažnost niža onda med otpušta vlagu. Higroskopnost meda uvjetovana je velikom količinom šećera (najčešće fruktoze) te je specifična za pojedinu vrstu meda (Pencheva i sur., 2018). Ova fizikalna odlika od iznimne je važnosti jer skladištenjem meda u vlažnim prostorijama dolazi do povećanja vlage u medu koja može potaknuti fermentaciju i uzrokovati kvarenje meda (Yao, 2003).

2.3. Senzorska svojstva meda

Senzorska analiza je znanstvena disciplina procjene hrane pomoću osjetila vida, mirisa, okusa, dodira i sluha. Postoje tri metode senzorske procjene: opisna – podrazumijeva korištenje određene terminologije u svrhu opisivanja pojedinih karakteristika proizvoda, razlikovna – temelji se na usporedbi dvaju ili više prehrambenih proizvoda te metoda sklonosti – subjektivna metoda u kojoj se ocjenjuje prihvatljivost i upečatljivost proizvoda. Najvažnija senzorska svojstva meda su boja, miris i okus. Senzorska analiza meda u kombinaciji s fizikalno-kemijskim analizama te peludnom analizom meda služi za utvrđivanje zemljopisnog i botaničkog podrijetla (Hegić i sur., 2019).

2.3.1. Boja

Boja meda uglavnom potječe od medonosne biljke s koje je pčela skupljala nektar, a kreće se od bezbojne, preko žute sve do tamnocrvene i gotovo crne. Razlike u boji između tamne i svijetle vrste meda pripisuju se razlikama u koncentraciji pigmentiranih spojeva kao što su karotenoidi, flavonoidi, kinoni i obojeni produkti Maillardove reakcije koji tamnom medu daju žutu, narančastu i smeđu boju. Za tamnu boju meda također su zaslužni i fenolni spojevi koji sudjeluju u oksidaciji polifenola u semikinone i kinone koji stvaraju širok spektar boja od žute do smeđe (Brudzynski, 2023). Promjene u boji meda mogu biti posljedica intervencija pčelara ili primjena različitih metoda kod proizvodnje i obrade kao što je korištenje starih ploča ili kontakt s metalima. Osim toga, izlaganje meda svjetlu i visokim temperaturama dovodi do promjene boje (Becerril-Sánchez i sur., 2021).

Nakon kristalizacije med postaje svjetliji zbog bijelih kristala glukoze, ali s vremenom tijekom skladištenja potamni, a taj se proces ubrzava ako se med čuva na višim temperaturama (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.2. Miris i aroma

Hlapljivi i poluhlapljivi aromatični organski spojevi koji se nalaze u nektaru biljaka prvenstveno su odgovorni za mirisne osobine meda. Ugljikovodici su glavni hlapljivi spojevi koji su prisutni u medu. Osim ugljikovodika na mirisne komponente utječe i niz drugih kemijskih spojeva, a to su: aldehydi, ketoni, alkoholi, esteri, benzen i njegovi derivati, terpeni i njihovi derivati, sumpor te ciklički spojevi. Miris i aroma meda mogu proizlaziti iz jednog istaknutog ili više hlapljivih spojeva. Uniflorne vrste meda sadrže karakteristične senzorske profile arome u usporedbi s multiflornim vrstama meda (Cuevas-Glory i sur., 2006).

2.3.3. Okus

Okus meda u najvećoj mjeri ovisi o biljnoj vrsti, sastavu šećera, sadržaju kiselina i drugih tvari. Med karakterizira iznimna slatkoća ponajviše zbog sadržaja fruktoze. Ona je dva i pol puta slađa od glukoze te jedan i pol put od saharoze. Sve vrste meda nemaju jednaku slatkoću zbog različitog omjera fruktoze i glukoze. Kiselost u medu proizlazi od kiselina te je utvrđeno da sadržaj kiselina nije povezan s pH vrijednošću, već dolazi do proporcionalnog odnosa između sadržaja minerala i pH vrijednosti. Ovo se javlja zbog toga što med ima snažan puferski kapacitet kod onih vrsta koje imaju povećani sadržaj minerala (Prđun, 2017).

2.4. Melisopalinološka analiza meda

Melisopalinologija je grana palinologije koja proučava pelud i ostale mikroskopom vidljive elemente koji su prisutni u talogu meda. Općenito, talog meda sastoji se od peludnih zrnaca i elemenata medljike, a mogu biti prisutni kristali, kvasci i druge čestice (primjese, biljni dijelovi i škrobna zrnca), čija prisutnost je uobičajena za med (Kezić i sur., 2013). Melisopalinološka analiza koristi se za utvrđivanje botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda. Zemljopisno podrijetlo meda može se odrediti za med čija pelud nije potpuno uklonjena filtriranjem, dok je za određivanje botaničkog podrijetla meda potrebno da je med odvojen centrifugiranjem. Određivanje zemljopisnog podrijetla meda temelji se na determinaciji i brojanju peludnih zrnaca i ostalih čestica u medu. Ova analiza može biti orientacijska ili potpuna. Orientacijska analiza ograničena je za determinaciju najčešćih čestica koje se pojavljuju u medu (sedimentu), a potpuna analiza uključuju determinaciju svih peludnih zrnaca i ostalih mikroskopskih sastojaka prisutnih u sedimentu.

Na prisutnost peludi u medu mogu utjecati brojni čimbenici. Jedan od čimbenika je morfologija i fiziologija biljke, naime, postoje određene biljne vrste koje stvaraju malo peludi ili imaju sterilne prašnike koji ne proizvode pelud, kao na primjer neke vrste agruma. Postoje dvije vrste kontaminacije koje mogu utjecati na prisutnost peludi u medu. Prva kontaminacija odvija se u košnici tijekom stvaranja meda i unošenja peludi, pri čemu skupljačice peludi fizički kontaminiraju nektar u otkopljenim stanicama peludom biljaka koje su posjetile. Druga vrsta kontaminacije nastaje tijekom tehnoloških postupaka, kada pelud nekontrolirano ulazi u med prilikom otklapanja saća i pripreme okvira za vrcanje meda. Nadalje, proces filtracije nektara u tijelu pčele također utječe na količinu peludi u njemu. Tijekom skupljanja nektara i prerade meda, pelud se učinkovito odvaja u mednom mješavini pčele preko međucrijeva, koje djeluje kao regulator filtracije i protoka hrane u srednje crijevo. Uklanjanje peludi zavisi o trajanju zadržavanja nektara u mednom mješavini, količini prerade meda, veličini peludnih zrnaca i strukturi eksine. Veća i bodljikava peludna zrnca lakše se odstranjuju. Zbog svega navedenog, pelud može biti: normalno zastupljena, podzastupljena (relativno mala količina peludi u odnosu na količinu nektara) te nadzastupljena (relativno velika količina peludi u odnosu na količinu nektara) (Prđun, 2017).

2.5. Bršljan

2.5.1. Morfologija bršljana

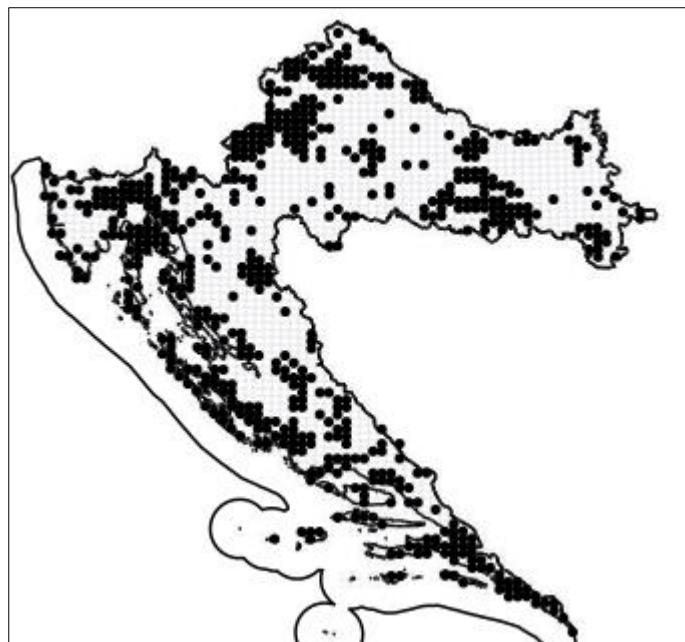
Obični bršljan (*Hedera helix L.*) je vazdazelena drvenasta penjačica iz porodice *Araliaceae* (Juss. 1789). Bršljan raste kao puzavica ili penjačica koja uz pomoć adventivnog (zračnog) korijena može doseći visinu do 30 metara. Pri penjanju se adventivnim korijenjem pričvršćuje za podloge kao što su zidovi, debla drugog drveća, stijene i slično. Na plodnim izbojcima listovi su cjeloviti, malo sjajni, jajasto ramboidni, dugi 6 - 10 cm, a široki do 12 cm, sa šiljastim vrhom. Listovi na neplodnim izbojcima su dlanasto urezani ili razdijeljeni, na 3 - 5 tupih, rjeđe šiljastih režnjeva, srcaste osnovice, dugi 4 - 5 cm, s gornje strane su tamnozeleni, a uz žile su bjelkasti, matirani ili sjajni. Za mlade listove je karakteristično da su prekriveni dlačicama, dok su stariji goli i kožasti. Cvjetovi su pravilni, žutozeleni, dvospolni, mirisni, smješteni u polu kuglastom štitastom cvatu (slika 1). Bršljan pčele uveliko posjećuju zbog obilja nektara i peludi. Plod bršljana je tamnoprlava boba promjera oko 5 mm, u kojoj se nalazi do 5 bridastih sjemenki (Kremer i sur., 2021; Franjić i Škvorc, 2010).



Slika 1. Cvijet bršljana
(izvor: Kremer, 2019)

2.5.2. Stanište i rasprostranjenost bršljana

Bršljan je prirodno rasprostranjen na području zapadne Europe, Turske i Bliskog istoka odakle se proširio na zapadnu Aziju, kao i na ostatak svijeta. Nalazimo ga diljem Hrvatske (slika 2), kao penjačicu koja raste na osunčanim, toplijim i sjenovitim staništima, a najviše preferira plodna, svježa i vapnenasta tla (Kremer i sur., 2021).



Slika 2. Rasprostranjenost bršljana u Hrvatskoj
(izvor: Nikolić, 2015, <http://hirc.botanic.hr/fcd>)

2.5.3. Ljekovitost bršljana

Bršljan se od davnina smatra ljekovitom biljkom. Još su stari Grci koristili bršljan u kulturnim obredima kao biljku koja sprječava trovanja, a božanstva mnogih kultura prikazivana su s listovima bršljana. Doživi duboku starost od nekoliko stotina godina pa se smatra znakom privrženosti, vjernosti i neprolaznih osjećaja (Nikolić i Kovačić, 2008).

U svibnju ili lipnju beru se razvijeni krpasti listovi u donjem dijelu biljke (slika 3), zatim se suše te se koriste u ljekovite svrhe. Osušena droga ima specifičan miris i gorko-kiselkast okus. Od pripravaka uglavnom se koristi čaj od bršljana.

Droga sadrži mješavinu različitih triterpenskih saponina (6 %), a glavni saponin je hederasaponin C. U drogi su također prisutni i brojni flavonoidi, kao što su glikozid kvercetin, antocijani, kavena i klorogenska kiselina, mnogobrojni steroli, polini te manja količina hlapivih ulja.

Pripravci od bršljana djeluju sekretolično, olakšavaju iskašljavanje, ublažavaju grčeve te sprječavaju upale odnosno posjeduju antiflogistično djelovanje. Saponin α-hederin onemogućava nakupljanje tekućine u tkivima (antiedemično djelovanje).

Kod ostalih saponina bršljana ustanovljeno je efikasno djelovanje protiv mikroorganizama, bakterija, gljivica, protozoa i glista. Bršljan se najviše koristi za razrjeđivanje sluzi kod upornog, suhog kašlja, hripavca i bronhitisa (Toplak Galle, 2005).



Slika 3. Ljekoviti listovi bršljana
(izvor: Kremer, 2019)

2.5.4. Otrovnost bršljana

U svim dijelovima biljke prisutni su toksični triterpenski saponini, a najviše ih ima u plodovima – bobama bršljana (slika 4), što ukazuje na to da je bršljan toksična biljka po čovjeka. Prilikom oralne primjene njihova resorpcija je poprilično niska, stoga se ne očekuje hemoliza, ali kod osjetljivih osoba može doći do slabosti i povraćanja. Za razliku od čovjeka, ptice su otporne na otrov, pa vrlo rado brste bobice bršljana. Također, prilikom doticaja s listovima bršljana može doći do iritacije kože. Nadraženost kože uzrokuje spoj falkarinol koji se nalazi i u nekim drugim biljkama (Nikolić i Kovačić, 2008; Toplak Galle, 2005).



Slika 4. Otrovni plodovi bršljana
(izvor: Kremer, 2019)

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Prikupljanje uzoraka meda

Uzorci meda od bršljana (slika 5) prikupljeni su od lokalnih pčelara s područja Istarske, Krapinsko-zagorske, Zagrebačke i Vukovarsko-srijemske županije u jesen 2023. godine. Ukupno je prikupljeno 20 uzoraka s tim da je jedan uzorak izlučen iz dalnjih analiza jer mu je udio vode prelazio 20 % (ustanovljeno je 20,3 %) što ne odgovara Pravilniku o medu (NN 53/15).

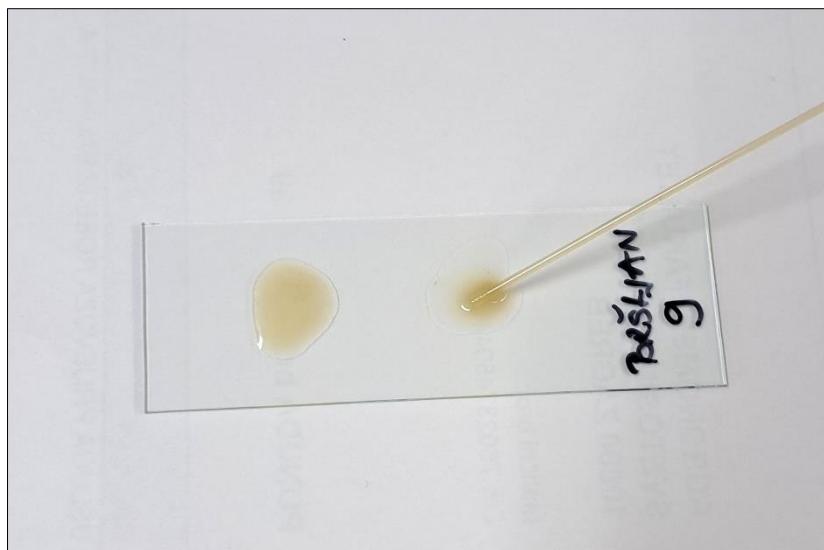


Slika 5. Med od bršljana

3.2. Melisopalinološka analiza

Na prikupljenim su uzorcima meda kvalitativnom melisopalinološkom analizom (Von der Ohe i sur., 2004) utvrđena njihova melisopalinološka svojstva. Identifikacija i brojanje peludnih zrnaca izvršena je pod svjetlosnim mikroskopom (Carl Zeiss Axio) pri povećanju od 400-1 000 x te pomoću zbirke referentnih uzoraka peludnih zrnaca u obliku nativnih preparata (interna zbirka Zavoda za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju, Agronomski fakultet) i literature (Ricciardelli D'Albore, 1998; von der Ohe i von der Ohe, 2000). Nakon pripreme uzoraka za melisopalinološku analizu (slika 6) promatran je oblik, boja i veličina peludnog zrnca, struktura eksine te broj i mesta pora klijanja.

Iz ukupnog (apsolutnog) broja peludnih zrnaca izračunate su pojavnost i učestalost biljnih vrsta unutar svakog uzorka meda. Relativne frekvencije bile su podijeljene u 4 skupine: > 45 % prevladavajuća pelud, 15 – 45 % prateća pelud, 3 – 15 % sporedna pelud i < 3 % rijetka pelud.



Slika 6. Priprema uzorka za melisopalinološku (peludnu) analizu

3.3. Fizikalno-kemijske analize

3.3.1. Utvrđivanje udjela vode

Udio vode u medu utvrđen je refraktometrijskom metodom, a indeks refrakcije je određen stolnim refraktometrom Mettler Toledo Easy R40 (slika 7). Rezultat je izraženo u %-tnom udjelu vode.



Slika 7. Utvrđivanje udjela vode stolnim refraktometrom

3.3.2. Određivanje električne provodnosti

Određivanje je provedeno na konduktometru Mettler Toledo SevenDirect SD30 (USA). Otopljena je količina meda koja odgovara 20 g suhe tvari meda u svježe destiliranoj vodi te je kvantitativno preneseno u odmjernu tikvicu od 100 ml i dopunjeno s destiliranom vodom do oznake (slika 8), nakon čega je određena električna provodnost otopine (slika 9), a rezultat je izražavan u mS/cm.



Slika 8. Priprema uzorka meda za utvrđivanje električne provodnosti



Slika 9. Utvrđivanje električne provodnosti pomoću konduktometra

3.3.3. Utvrđivanje pH vrijednosti

Utvrdjivanje pH vrijednosti u medu obavljeno je standardnom potenciometrijskom metodom pri čemu je pH vrijednost određena pomoću digitalnog pH-metra Seven Compact 5210 Mettler Toledo kalibriranim na 2 kalibracijske točke (pH 4 i 9). Odvagano je 10 g uzorka meda, kojih je potom otopljeno u 75 ml destilirane vode. Nakon što se otopina stabilizirala, uronjena je potenciometrijska elektroda te je poslije nekoliko minuta očitana pH vrijednost na zaslonu pH-metra (slika 10).



Slika 10. Određivanje pH vrijednosti meda od bršljana

3.3.4. Aktivnost dijastaze

Određivanje aktivnosti dijastaze u medu temelji se na fotometrijskoj metodi u kojoj se u vodi netopivi škrob, polimer koji nosi plavu boju koristi kao supstrat. Supstrat hidrolizira α -amilaza prisutna u medu, dajući plavo obojene produkte topive u vodi, koji se određuju fotometrijski na 620 nm. Apsorbancija otopine izravno je proporcionalna aktivnosti dijastaze uzorka. U odmjernu tikvicu od 100 ml odvagano je 1 g uzorka meda, otopljeno s acetatnim puferom i nadopunjeno do oznake. U epruvetu je preneseno 5 ml pripremljene otopine meda koja je stavljena na termostatiranje u vodenu kupelj na 40 °C najmanje 5 minuta. U drugoj epruveti je pripremljena slijepa proba koja sadrži 5 ml acetatnog pufera te je tretirana jednako kao otopina uzorka. U obje epruvete dodana je Phadebas tableta pincetom te je mjereno vrijeme i reakcija je zaustavljena točno nakon 30 minuta dodatkom 1 ml 0,5 M otopine natrijevog hidroksida. Otopine su zatim profiltrirane kroz filter papir te je mjerena apsorbancija na 620 nm na spektrofotometru UV-1800 (Shimadzu Corp., Japan).

Apsorbancija slijepе probe oduzeta je od apsorbancije uzorka (ΔA_{620}). Kod vrijednosti većih od 1,0 uzorak je razrijeđen s vodom. Sve analize provedene su u paralelama.

Izračun:

$$DN=28,2 * \Delta A_{620} + 2,64$$

Za uzorke čiji rezultati ukazuju na DN vrijednost manju od 8 koristi se slijedeća jednadžba:

$$DN=35,2 * \Delta A_{620} - 0,64$$

3.3.5. Utvrđivanje sadržaja hidroksimetilfurfurala

Metoda se temelji na određivanju UV apsorbancije HMF-a na 284 nm pri čemu je korišten spektrofotometar UV-1800 (Shimadzu Corp., Japan). Kako bi se izbjegle smetnje drugih komponenata na navedenoj valnoj duljini, određuje se razlika apsorbancije čiste vodene otopine meda i iste otopine nakon dodatka bisulfita. Udio HMF-a računa se nakon oduzimanja pozadinske apsorbancije na 336 nm. U čašu je odvagano 5 g meda, uzorak je otopljen u 25 ml destilirane vode te je kvantitativno prenesen u odmjernu tikvicu od 50 ml. Nakon dodatka po 0,5 ml Carrez I i Carrez II otopine tikvica je nadopunjena do oznake destiliranom vodom. Otopina je filtrirana kroz filter papir uz odbacivanje prvih 10 ml filtrata. U dvije epruvete otpipetira se 5 ml filtrata. U jednu epruvetu dodano je 5 ml vode (otopina uzorka), a u drugu 5 ml natrijeva bisulfita (standardna otopina). Određena je apsorbancija otopine uzorka prema standardnoj otopini na 284 i 336 nm u 10-mm kvarcnoj kiveti, a rezultati su izražavani u mg/kg meda.

3.3.6. Određivanje specifične rotacije

Mjerenjem specifične rotacije određuje se kut rotacije polariziranog svjetla natrijeve D linije kod 20 °C u vodenoj otopini meda koncentracije 1 g/ml u cijevi duljine 1 dm. Specifična rotacija određena je na polarimetru Polax-2L (ATAGO, Japan). Odvagano je 12 g meda (što odgovara 10 g suhe tvari meda) i otopljen u destiliranoj vodi te preneseno u odmjernu tikvicu od 100 ml. Otopini meda dodano je 10 ml Carrez I otopine i 10 ml Carrez II otopine. Odmjerna tikvica nadopunjena je destiliranom vodom do 100 ml. Nakon što je otopina odstojala 24 sata, filtrirana je te joj je očitan kut skretanja, α , na polarimetru. Sve analize provedene su u paralelama.

Izračun:

$$[\alpha]_{20}^D = \frac{\alpha * 100}{L * p}$$

α – očitani kut rotacije

L – dužina cijevi u dm

p – grami suhe tvari

3.3.7. Određivanje boje meda

Određivanje boje meda napravljeno je pomoću Lovibond komparatora (Amesbury, UK), a temelji se na mjerenu transmitancije uzorka meda na 430 i 530 nm (AOAC International, 2002.). Transmitancija je izražena preko milimetara Pfundove skale koja je podijeljena u sedam kategorija: bezbojna (0 – 8 mm Pfund), jako bijela (9 – 17 mm Pfund), bijela (18 – 34 mm Pfund), jako svjetlo jantarna (35 – 50 mm Pfund), svjetlo jantarna (51 – 85 mm Pfund), jantarna (86 – 114 mm Pfund) i tamno jantarna (> 114 mm Pfund) (Pontis i sur., 2014).

3.3.8. Određivanje udjela šećera

Analiza ugljikohidrata u uzorcima meda provedena je na uređaju za visokotlačnu tekućinsku kromatografiju (Shimadzu Corp., Japan) koji se sastoji od detektora indeksa loma (RID-10A), HPLC kolone (Agilent Zorbax NH₂, 4,6*250 mm, veličina čestica 5 µm), kvartarne pumpe (LC-20AD), pećnice (CRO-20AC) te autosamplera (SIL-10AF). Pokretna faza sastojala se od acetonitrila (J. T. Baker, Avantor, Poljska) i ultrapročišćene vode u omjeru 70:30, protok mobilne faze bio je 1 ml/min, temperatura kolone 30 °C, a volumen injektiranja 10 µl. Ovom metodom određeni su: glukoza, fruktoza, saharoza, ksiloza, maltoza, melečitoza i rafinoza. Identifikacija i kvantifikacija je provedena pomoću software-a (LabSolution Lite Version 5.52) koji kroz usporedbu vremena zadržavanja i površina pikova ugljikohidrata iz meda i standarda istih izračunava konačne koncentracije. Za analizu je odvagano 5 g uzorka meda u odmjernu tikvicu od 100 ml te je dodano 25 ml metanola te je odmjerna tikvica nadopunjena do oznake s ultrapročišćenom vodom. Otopina je profiltrirana kroz filter za šprice za vodene otopine veličine pora 0,22 µm. Profiltrirana otopina je stavljena u vialu za autosampler te analizirana na uređaju.

3.4. Senzorska analiza meda

Senzorsku analizu (procjena vizualnih i mirisno-okusnih karakteristika) prikupljenih uzoraka meda od bršljana proveo je panel od tri educirana i obučena senzorna ocjenjivača. Svaki uzorak meda ocjenjivan je opisnim ocjenama (1-5).

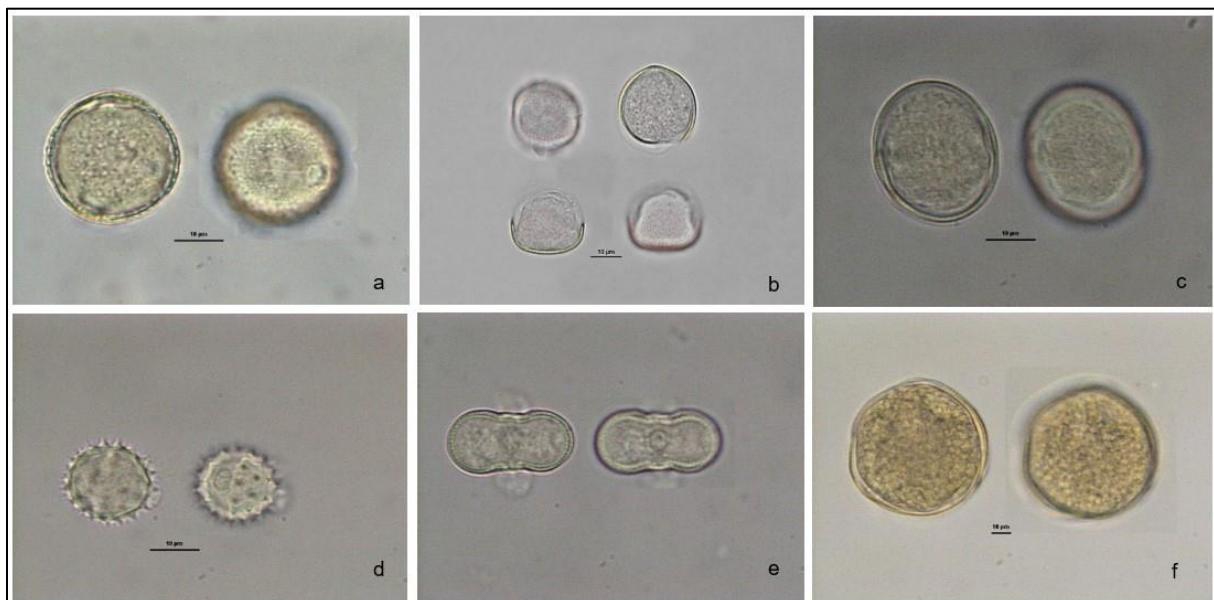
3.5. Statistička obrada podataka

Fizikalno-kemijski podaci analizirani su deskriptivnom statistikom pomoću programa Microsoft Office Excel 2018. Rezultati koji se odnose na ostale ispitivane parametre prikazani su za svaku pojedinu metodu; to uključuje rezultate za melisopalinološku analizu u vidu peludnog spektra i rezultate senzorske analize u smislu opisa vizualnih i organoleptičkih (mirisnih i okusnih) karakteristika meda od bršljana.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Melisopalinološka svojstva

Temeljem provedene kvalitativne melisopalinološke analize (tablica 1) ustanovljeno je da je svih 19 uzoraka uniflorno (> 45 % peludnih zrnaca bršljana). Raspon uniflornosti kretao se od 51 do 98 %. Zabilježena je pelud iz 9 botaničkih porodica. U polovici uzoraka pronađena je pelud biljaka iz porodice glavočike - Asteraceae (10), zatim iz porodice štitarke - Apiaceae (9) te iz porodice mahunarke (lepirnjače) - Fabaceae (2). Nadalje u 4 uzorka determinirana je pelud djeteline (*Trifolium* spp.), u 2 uzorka determinirana je pelud iz porodice krkavine – Rhamnaceae, a u 1 uzorku su pronađeni peludna zrnca iz porodica: usnače – Lamiaceae, trave – Poaceae, kupusnjače (krstašice) – Brassicaceae te iz porodice porečnice – Boraginaceae. Najčešće se pojavljuje pelud vriska (*Satureja* spp.) koja je zabilježena u 10 uzoraka. U 6 uzoraka meda od bršljana pronađena je pelud sviba (*Cornus sanguinea*) i pelud šparoge (*Asparagus* spp.), dok je u 2 uzorka pronađena pelud pitomog kestena (*Castanea sativa*) te pelud krkavine (*Rhamnus* spp.). U prevladavajuću skupinu (svih 19 uzoraka) spada pelud od bršljana dok u prateću skupinu spada pelud od šparoge (2 uzorka) s udjelom od 25 i 22 %. Također, u ovu skupinu uključena je i pelud trušljike (*Frangula alnus*) čiji udio iznosi 21 %. U jednom uzorku pronađena je pelud suncokreta (*Helianthus annuus*) s udjelom od 3 %, trušljike (*Frangula alnus*) od 2 % zatim pelud amorce (*Amorpha fruticosa*) i livadne zečine (*Centaurea jacea*) s udjelom od 1 %. Pelud najučestalijih biljnih vrsta ustanovljenih u medu od bršljana prikazana je na slici 11.



Slika 11. Pelud bršljana (a), šparoge (b), vriska (c), biljaka iz porodice Asteraceae (d) i Apiaceae (e) te sviba (f)

Tablica 1. Rezultati melisopalinološke analize meda od bršljana (n= 19)

Uzorak	Udio peludi		
	(> 45 %)	(16 - 45 %)	(3 - 15 %)
1. <i>H. helix</i> 87 %			Rhamnaceae 2 %, Apiaceae 2 %, <i>Trifolium</i> spp. 2 %, nedeterminirane 2 %, <i>Cornus sanguinea</i> 1 %, Asteraceae (<i>Taraxacum</i> form) 1 %, <i>Lamiaceae</i> 1 %
2. <i>H. helix</i> 87 %		Apiaceae 8 %	Castanea sativa 2 %, nedeterminirane 2 %, Rhamnaceae 1 %
3. <i>H. helix</i> 83 %		Asteraceae 4 %, Castanea sativa 4 %, <i>Helianthus annuus</i> 3 %	nedeterminirane 2 %, Fabaceae (<i>Robinia</i> form) 2 %, Poaceae 1 %, Apiaceae 1 %
4. <i>H. helix</i> 92 %		Asteraceae 4 %	nedeterminirane 2 %, <i>Cornus sanguinea</i> 1 %, <i>Liliaceae</i> 1 %
5. <i>H. helix</i> 96 %			nedeterminirane 2 %, <i>Amorpha fruticosa</i> 1 %, Asteraceae 1 %
6. <i>H. helix</i> 51 %	<i>Frangula alnus</i> 21 %	Asteraceae 13 %, Fabaceae 5 %, nedeterminirane 5 %, <i>Trifolium</i> spp. 3 %	<i>Cornus sanguinea</i> 2 %, <i>Lamiaceae</i> (<i>Mentha</i> form) 1 %
7. <i>H. helix</i> 88 %		Asparagus spp. 4 %, <i>Satureja</i> spp. 3 %	nedeterminirane 2 %, <i>Rhamnus</i> spp. 2 %, Brassicaceae 1 %
8. <i>H. helix</i> 90 %		Asteraceae 4 %, nedeterminirane 3 %	Apiaceae 2 %, Boraginaceae 1 %
9. <i>H. helix</i> 87 %		Asteraceae 6 %	Fabaceae 2 %, nedeterminirane 2 %, <i>Trifolium</i> spp. 1 %, <i>Cornus sanguinea</i> 1 %, <i>Centaurea jacea</i> 1 %
10. <i>H. helix</i> 98 %			nedeterminirane 1 %, <i>Liliaceae</i> 1 %
11. <i>H. helix</i> 94 %		nedeterminirane 3 %	<i>Satureja</i> spp. 1 %, Asteraceae 1 %, Asteraceae (<i>Taraxacum</i> form) 1 %
12. <i>H. helix</i> 75 %		Asparagus spp. 14 %, <i>Tilia</i> spp. 4 %, <i>Satureja</i> spp. 3 %	Apiaceae 2 %, nedeterminirane 2 %
13. <i>H. helix</i> 82 %		Apiaceae 11 %	<i>Tilia</i> spp. 2 %, <i>Satureja</i> spp. 2 %, nedeterminirane 1 %, Asparagus spp. 1 %, <i>Rhamnus</i> spp. 1 %
14. <i>H. helix</i> 97 %			<i>Satureja</i> spp. 1 %, nedeterminirane 1 %, Asparagus spp. 1 %
15. <i>H. helix</i> 65 %	Asparagus spp. 25 %	Apiaceae 5 %, <i>Satureja</i> spp. 3 %	nedeterminirane 1 %, Asteraceae 1 %
16. <i>H. helix</i> 96 %			nedeterminirane 2 %, <i>Satureja</i> spp. 1 %, Apiaceae 1 %
17. <i>H. helix</i> 95 %			nedeterminirane 2 %, <i>Satureja</i> spp. 2 %, Asteraceae 1 %
18. <i>H. helix</i> 95 %			nedeterminirane 2 %, <i>Satureja</i> spp. 2 %, Asteraceae 1 %
19. <i>H. helix</i> 61 %	Asparagus spp. 22 %	<i>Tilia</i> spp. 7 %, <i>Satureja</i> spp. 5 %, nedeterminirane 3 %	Apiaceae 2 %

4.2. Analiza fizikalno-kemijskih parametara

Na prikupljenim uzorcima meda od bršljana ($n= 19$) analizirani su sljedeći fizikalno-kemijski parametri: udio vode, električna provodnost, prisutnost hidroksimetilfurfurala (HMF), specifična rotacija, boja, sadržaj šećera; fruktoza, glukoza, ksiloza, saharoza, maltoza, melecitoza i rafinoza, a u konačnici određen je omjer te zbroj fruktoze i glukoze u medu (tablica 2). Prisutnost vode u medu jedna je od važnijih tehnoloških odlika meda, a sadržaj vode utječe na čuvanje i kakvoću meda. U istraživanim uzorcima meda udio vode (%) kretao se u rasponu od 14 do 20 %, a prosječna vrijednost za navedeni parametar iznosila je 18 %. Zbog cvatnje u jesen, klimatskih prilika koje tada prevladavaju (relativno visoka vlažnost zraka) i brojčano slabijih pčelinjih zajednica u to vrijeme (priprema za zimovanje) med od bršljana ima iznimno visok udio vode što prije ili kasnije dovodi do njegove fermentacije. Nadalje, drugi analizirani parametar je električna provodnost. Električnu provodnost provode disocirane kiseline i minerali prisutni u ionskom obliku te ona kao takva ima važnu ulogu u analitici meda jer omogućuje razlikovanje nektarnih vrsta meda od medljikovca. Na analiziranim uzorcima meda od bršljana električna provodnost prosječno je iznosila $0,50 \text{ mS/cm}$, s minimalnom vrijednošću od $0,33 \text{ mS/cm}$ i maksimalnom vrijednošću od $0,78 \text{ mS/cm}$ što odgovara Pravilniku o medu. Općenito, med karakterizira kiseo medij. Prosječna vrijednost pH meda od bršljana iznosila je 4,10. Minimalna vrijednost pH iznosila je 3,84 dok je maksimalna vrijednost bila svega 4,76. Dijastaza je enzim koji posjeduje značajnu ulogu u analitičkim metodama, iako njegovo podrijetlo u medu još uvijek nije poznato. Aktivnost dijastaze smatra se jednim od glavnih parametara koji određuje intenzitet zagrijavanja meda prilikom prerade i skladištenja. Jedinica u kojoj se izražava dijastazna aktivnost naziva se DN – dijastazni broj. U ovom istraživanju prosječna aktivnost dijastaze bila je 31,6 DN, minimalna aktivnost dijastaze 14,9 DN, a maksimalna 62,2 DN. Navedene vrijednosti odgovaraju Pravilniku o medu koji kaže kako dijastazna aktivnost ne smije biti manja od 8 DN. Sljedeće analizirano fizikalno svojstvo jest prisutnost hidroksimetilfurfurala (HMF), njegov se udio povećava tijekom zagrijavanja i dugotrajnog skladištenja meda te se koristi kao jedan od glavnih parametara kakvoće meda. Prosječna vrijednost HMF-a u uzorcima meda od bršljana iznosila je $1,20 \text{ mg/kg}$, dok je minimalna bila $0,00 \text{ mg/kg}$, a maksimalna vrijednost $4,50 \text{ mg/kg}$ što odgovara Pravilniku o medu u kojem je propisana najveća dozvoljena vrijednost za HMF, a to je 40 mg/kg . Boja meda varira ovisno o vrsti medonosno biljke, a svojstvena je za svaku pojedinu vrstu meda. Uglavnom se izražava u milimetrima ljestvice po Pfundu. Prosječna vrijednost boje iznosila je 62 mm Pfund , što med od bršljana svrstava u svjetlo jantarnu boju. Šećeri su glavni sastojak meda i čine 73 - 83 % njegovog sastava, pri čemu su najzastupljenija dva monosaharida, fruktoza i glukoza. Osim slatkoće i energetske vrijednosti, šećeri najviše utječu na fizikalna svojstva meda kao što su kristalizacija, viskoznost i higroskopnost. Med od bršljana sadrži više glukoze u usporedbi s fruktozom, što uzrokuje bržu kristalizaciju.

Sukladno tome, prosječna količina glukoze u medu od bršljana iznosi 38,31 g/100 g s minimalnom vrijednošću od 26,49 g/100 g i maksimalnom do 43,29 g/100 g. Što se tiče fruktoze, njezina zastupljenost je niža te prosječno iznosi 35,48 g/100 g, minimalna vrijednost istog šećera iznosi 30,89 g/100 g, a maksimalna 41,61 g/100 g. Osim dva osnovna šećera u medu, analizirani su i ostali viši šećeri: ksiloza, saharoza, maltoza, melecitoza i rafinoza. Maksimalna količina saharoze u medu od bršljana iznosila je 2,69 g/100 g što je svakako u skladu s Pravilnikom o medu koji općenito dopušta najviše 5 g/100 g saharoze u medu. Također, određen je omjer fruktoze i glukoze (F/G), koji je karakterističan za pojedine vrste meda i obično je veći od 1,0. Prosječna vrijednost omjera fruktoze i glukoze iznosila je 0,94. Zbroj fruktoze i glukoze (F+G) u uzorcima bršljanovog meda kretao se od 59,93 do 81,58 g/100 g s prosječnom vrijednošću od 73,79 g/100 g. Svi navedeni fizikalno-kemijski parametri koji su provedeni na 19 uzoraka meda od bršljana u skladu su s kriterijima propisanim Pravilnikom o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda (NN 20/00) te Pravilnikom o medu (NN 53/15).

Tablica 2. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza meda od bršljana (n= 19)

Parametar	Jedinica	Prosjek	Minimum	Maksimum	SD*
Udio vode	%	17,9	14,0	20,0	1,7
Električna provodnost	mS/cm	0,50	0,33	0,78	0,12
pH	-	4,10	3,84	4,76	0,19
Aktivnost dijastaze	DN	31,6	14,9	62,2	12,1
Hidroksimetilfurfural (HMF)	mg/kg	1,20	0,00	4,50	1,30
Specifična rotacija	α_D^{20}	-6,5	-12,4	-2,6	2,5
Boja	mm Pfund	62	46	77	8
Fruktoza	g/100 g	35,48	30,89	41,61	3,17
Glukoza	g/100 g	38,31	26,49	43,29	4,82
Ksiloza	g/100 g	0,04	0,03	0,06	0,01
Saharoza	g/100 g	0,26	0,00	2,69	0,64
Maltoza	g/100 g	1,89	0,10	3,96	1,12
Melecitoza	g/100 g	0,59	0,03	2,70	0,89
Rafinoza	g/100 g	0,08	0,03	0,33	0,06
F/G	-	0,94	0,72	1,26	0,15
F+G	g/100 g	73,79	59,93	81,58	5,82

*SD – standardna devijacija

4.3. Senzorska svojstva meda od bršljana

Nakon utvrđivanja senzorskih svojstva može se zaključiti da je med od bršljana sklon brzoj kristalizaciji sa sitnim kristalima što mu daje finu strukturu. Miris je izražen, biljni, po cvijetu bršljana, kemijski, jako intenzivan. Okus mu je jako postojan sa srednje izraženom slatkoćom i slabo izraženom kiselošću. Aroma je jako izražena i postojana, slična mirisu.

Provedeno istraživanje prvo je ovakvoga tipa u Hrvatskoj gdje su se na 19 uzoraka prikupljenih od lokalnih pčelara utvrdila melisopalinološka, fizikalno-kemijska te senzorska svojstva meda od bršljana. Rezultati istraživanja služit će za lakšu karakterizaciju meda od bršljana s obzirom da je pojava ovog meda u uniflornom obliku izrazito rijetka te o njemu gotovo da i nema dostupnih podataka u znanstvenoj i stručnoj literaturi.

U preliminarnom istraživanju, talijanski znanstvenici proveli su istraživanje na 5 komercijalnih uzoraka meda od bršljana koji su prikupljeni s različitih područja u Italiji. Analizirani fizikalno-kemijski parametri uključivali su električnu provodnost, pH, prisustvo HMF-a, određivanje boje te aktivnost dijastaze. Električna provodnost u prosjeku iznosila je 0,50 mS/cm, a prosječna pH vrijednost bila je 4,0. Prisustvo HMF-a određeno je pomoću RP-HPLC-UV metode pri čemu su svi uzorci bili unutar zakonskih granica (40 mg/kg) što ukazuje na visok stupanj svježine meda. Nadalje, boja je određena spektrofotometrijskom metodom koju je predložio White, temeljem toga med od bršljana svrstali su pod tamni med (100 mm Pfund). Primjetili su da boja meda od bršljana može varirati od ekstra svjetlo jantarne do tamno jantarne. Također, ustanovili su dobру korelaciju između boje i električne provodnosti. U daljnjoj analizi proučavana je aktivnost dijastaze određena spektrofotometrijskom metodom koju su predložili McClearly i sur. (2002), a izražena je u jedinicama po Schade-u (DA). Rezultati su pokazali da med od bršljana usporedno s ostalim medovima proizvedenim tijekom jeseni posjeduje visoku aktivnost dijastaze s prosječnom vrijednošću od 18 DA (Ciulu i sur., 2016). Svi analizirani parametri pokazuju veliku sličnost s dobivenim rezultatima našeg istraživanja.

Sljedeće istraživanje analiziralo je 25 uzoraka jesenskog meda iz zapadnog Mediterana, točnije s područja Španjolske (Mallorca, Eivissa i Baleari). U okviru istraživanja je obavljena kvalitativna i kvantitativna melisopalinološka analiza te su utvrđeni udio vode, električna provodnost, boja i senzorska svojstva. Peludnom analizom identificirane su 54 vrste peludi koje pripadaju u 29 botaničkih porodica. U svim uzorcima pronađene su samo dvije svojte: rogač (*Ceratonia siliqua*) i mnogocvjetni vrijes (*Erica multiflora*). Od analiziranih uzoraka, 17 je svrstano kao unifloran med, 10 kao med od rogača, 6 kao med od vrijesa, a samo 1 kao unifloran med od bršljana (*Hedera helix*), dok je preostalih 8 uzoraka bilo multiflorno. Ustanovljeno je da med od bršljana ima visoku električnu provodnost, ali manju od mnogocvjetnog vrijesa i rogača. Osim toga, u medu od bršljana pronađena je značajna prisutnost peludi mnogocvjetnog vrijesa i rogača. Svi analizirani uzorci pokazuju visok sadržaj vode i električne provodnosti (Boi i sur., 2013).

5. ZAKLJUČAK

- Obični bršljan (*Hedera helix L.*) je medonosna jesenska biljka koja u povoljnim godinama proizvodi obilje nektara i peludi koje pčele intenzivno skupljaju. Klimatske promjene, globalno zatopljenje te visoke temperature između 25 i 30 °C tijekom rujna pogoduju cvjetanju i proizvodnji ove raritetne vrste meda.
- Provedenom kvalitativnom melisopalinološkom analizom utvrđena su njegova melisopalinološka svojstva. Svi analizirani uzorci su bili uniflorni. Raspon uniflornosti kretao se od 51 do 98 %, a zabilježena su peludna zrnca iz 9 botaničkih porodica.
- Udio vode varirao je od 14,0 do 20,0 % s prosjekom od 17,9 %, udio električne provodnosti kretao se u rasponu od 0,33 do 0,78 mS/cm s prosječnom vrijednošću od 0,50 mS/cm.
- Prosječna pH vrijednost iznosila je 4,10, dok je prosječna aktivnost dijastaze bila 31,6 DN.
- Sadržaj HMF-a bio je nizak s prosječnom vrijednošću od 1,20 mg/kg što ukazuje na to da su svi uzorci meda od bršljana bili svježi.
- Boja meda od bršljana iznosila je 62 mm Pfundove ljestvice, što ga klasificira kao svijetlo jantarni med.
- Raspon fruktoze kretao se od 30,89 do 41,61 g/100 g, dok je prosječna vrijednost iznosila 35,48 g/100 g.
- Glukoza je varirala od 26,49 do 43,29 g/100 g s prosjekom od 38,31 g/100 g. Prosječni omjer fruktoze i glukoze iznosio je 0,94, dok je njihov zbroj bio 73,79 g/100 g.

6. LITERATURA

1. Babacan S., Rand A. G. (2006). Purification of Amylase from Honey. Food Chemistry and Toxicology.
2. Bogdanov S. (2011). Honey Composition. The Honey Book. Chapter 5. Bee Product Science. (Dostupno na: www.bee-hexagon.net, pristupljeno: 28.04.2024.)
3. Bogdanov S. (2011). Physical Properties of Honey. Book of Honey. Chapter 4. (Dostupno na: www.bee-hexagon.net, pristupljeno: 02.05.2024.)
4. Bogdanov S., Martin P., Lüllmann C. (1997). Harmonised methods of the European Honey Commission. Apidologie. 1-59
5. Boi M., Llorens J. A., Cortés L., Lladó G., Llorens L. (2013). Palynological and chemical volatile components of typically autumnal honeys of the western Mediterranean. 52(2): 93-105.
6. Brudzynski K. (2023). Unexpected Value of Honey Color for Prediction of a Non-Enzymatic H₂O₂ Production and Honey Antibacterial Activity: A Perspective.
7. Chirisanova A., Capcanari T., Boistean A., Khanchel I. (2021). Bee honey: history, characteristics, properties, benefits and adulteration in the beekeeping sector. Journal of Social Sciences. 4(3): 98-114
8. Ciulu M., Piana F., Spano N., Sanna G. (2016). Preliminary analytical characterization of new beehive products from Italy: the case of ivy honey.
9. Contessi A. (2004). Le api: Biologia, allevamento, prodotti. Bologna, Italy.
10. Crane E. (1990). Bees and beekeeping: science, practice and world resources. Oxford, United Kingdom.
11. Cuevas-Glory L. F., Pino A. J., Santiago S. L., Sauri-Duch E. (2007). Analytical, Nutritional and Clinical Methods. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. Food Chemistry. 103: 1032-1043
12. Čaušević B., Haurdić B., Jašić M., Bašić M. (2017). Enzymatic activities in honey. Book of abstracts and full papers from second congres of beekeeping and bee products - with international participation - beekeeping and bee products.
13. Franjić J., Škvorc Ž. (2010). Šumsko drveće i grmlje Hrvatske. Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet.
14. Garbuzov M., L.W. Ratnieks F. (2014). Ivy: an underappreciated key resource to flower-visiting insects in autumn. Laboratory of Apiculture & Social Insects, School of Life Sciences, University of Sussex, Brighton, UK. Insect Conservation and Diversity. 7: 91-102
15. Hamdan K. (2015). Crystallization of Honey. Apeldoorn. The Netherlands.
16. Hegić G. (2019). Pčelarstvo, apiterapija, apiturizam; Priručnik. Geromar. Sveta Nedelja.

17. Hernandez O. M., Fraga J. M. G., Jimenez A. I., Jimenez F., Arias J. J. (2004). Characterization of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chemistry*. 93: 449-458
18. Kežić N., Bubalo D., Grgić Z., Dražić M., Barišić D., Filipi J., Jakopović I., Ševar M., Krakar D., Tretinjak V. (2013). Priručnik. Konvencionalno i ekološko pčelarenje. Zagreb.
19. Konarska A. (2014). Characteristics of flower nectaries of *Hedera helix* L. (Araliaceae). *Acta Scientiarum Polonorum., Hortorum Cultus. University of Life Sciences in Lublin*. 13(3): 109-122
20. Kremer D., Brajković J., Bubalo D. (2021). Medonosno bilje regije Gacke. Hrvatska gospodarska komora.
21. Mahmoud A. A., Owayss A. A. (2006). A modified method to determine hydrogen peroxide activity as a criterion for bee honey quality. *Annals of Agric Sci., Moshtohor*. 44(4): 1629-1639
22. Mato I., Huidobro J. F., Simal-Lozano J., Sancho T. M. (2003). Significance of Nonaromatic Organic Acids in Honey. *Journal of Food Protection*. 66(12): 2371-237
23. McCleary B. V., Sturgeon R. (2002). Measurement of alpha-amylase in cereal, food and fermentation products. *Cereal Foods World*. 47(7): 299-310
24. Narodne novine 20/2000. Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda
25. Narodne novine 53/2015. Pravilnik o medu
26. Nikolić T. (2015). Flora Croatica baza podataka. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilišta u Zagrebu. (Dostupno na: <http://hirc.botanic.hr/fcd>, pristupljeno: 22.05.2024.)
27. Nikolić T., Kovačić S. (2008). Flora Medvednice. 250 najčešćih vrsta Zagrebačke gore. Školska knjiga, Zagreb.
28. Pavlova T., Stamatovska V., Kalevska T., Dimov I., Nakov G. (2018). Quality characteristics of honey: a review. *Proceedings of University of Ruse*. 57: 31-37
29. Persano Oddo L., Piazza M. G., Pulcini P. (1999). Invertase activity in honey. *Apidologie*. 30: 57-65
30. Persano Oddo L., Piazza M. G., Sabatini A. G., Accorti M. (1995). Characterization of unifloral honeys. *Apidologie*. 26: 453-465
31. Persano Oddo L., Piro R. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*. 35: 38-81
32. Pontis J.A., Costa L,A,M,A,, Silva S,J,R,D,. Flach A, (2014). Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil, *Food Science Technology*, 34: 69-73
33. Prđun S. (2017). Skupljačka aktivnost pčelinje zajednice na paši i sastav nektara i meda unšijske mandarine (*Citrus unshiu* Marc.). Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
34. Quintero-Dominguez R., Reyes-Carillo L. J., de la Cruz-Larios L., González- Eguiarte. (2018). Bee Honey Color Variation throughout the Year. *Asian Food Science Journal*. 1(2): 1-6

35. Ramly N. S., Rosidi Sujanto I. Z., Ghani A. A., Huat J. T. W., Alias N., Ngah N. (2021). The Impact of Processing Methods on the Quality of Honey: A Review. *Malaysian Journal of Applied Sciences*. 6(1): 99-110
36. Ricciardelli d'Albore, G. (1998). *Mediterranean melissopalygnology*; Universita degli Studi di Perugia, Facolta di Agraria, Istituto di Entomologia Agrari: Perugia, Italy.
37. Ruoff K. (2006). Authentication of the Botanical Origin of Honey. Dissertation submitted to ETH Zurich for the degree of Doctor of Sciences.
38. Stinson E. E., Subers M. H., Petty J., White Jr. J. W. (1960). The composition of honey. V. Separation and identification of the organic acids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 89: 6-12
39. Svečnjak L. (2015). Infracrvena spektroskopija u identifikaciji botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
40. Toplak Galle K. (2005). Domaće ljekovito bilje. Mozaik knjiga, Zagreb.
41. Vahčić N., Matković D. (2009). Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda. (Dostupno na: www.pcelinjak.hr, pristupljeno: 02.05.2024.)
42. Von der Ohe W., Persano Oddo L., Piana L., Morlot M., Martin P. (2004). Harmonised methods of melissopalynological analysis, *Apidologie*, 35, special issue. 18-25
43. Von der Ohe, K., Von der Ohe, W. (2000). Celle's mellisopalynological Collection; Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde: Celle, Germany.
44. White J. W., Doner L.W. (1980). Honey composition and properties. Beekeeping in the United States. Agriculture handbook. 335: 82-91
45. Yao L., Bhandari R. Bhesh., Datta N., Singanusong R., D'Arcy R. B. (2003). Crystallisation and moisture sorption properties of selected Australian unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 884-888

Životopis

Jerolim Piližota rođen je 16.10.1999. u Zadru. Osnovnu školu završio je 2015. godine, a srednju Prirodoslovno-grafičku školu, usmjerenje – ekološki tehničar 2019. godine. Fakultetsko obrazovanje započinje 2019. godine na Sveučilištu u Zadru na Odjelu za ekologiju, agronomiju i akvakulturu gdje upisuje prijediplomski studij Primijenjene ekologije u poljoprivredi. Na istom Odjelu obnaša dužnost studentskog predstavnika. U ljeto 2022. završava prijediplomski studij i postaje sveučilišni prvostupnik (baccalaureus) inženjer primijenjene ekologije u poljoprivredi. Iste godine upisuje diplomski studij na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer Ekološka poljoprivreda i agroturizam. Stručnu praksu obavlja u Laboratoriju za analizu pčelinjih proizvoda i biologiju pčela na Zavodu za ribarstvo, pčelarstvo, lovstvo i specijalnu zoologiju. Tijekom studija volontira na brojnim manifestacijama (Završna konferencija SAN projekta, Konferencija Dalmatinka, MUZZA, Festival znanosti, Dan očaranosti biljkama i AgroAdvent) gdje usavršava svoje komunikacijske i socijalne vještine, a član je i Vrtlarske grupe – izvannastavne aktivnosti Agronomskog fakulteta.