

# Senzorska svojstva i koncentracije makro i mikroelemenata u medu kadulje

---

Žegrec, Marina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:697448>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**VETERINARSKI FAKULTET**

**Marina Žegrec**

**Senzorska svojstva i koncentracije makro i mikroelemenata u medu  
kadulje**

**Diplomski rad**

Zagreb, 2022.

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Veterinarski fakultet**  
**Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela**

**PREDSTOJNIK:**

Doc. dr. sc. Krešimir Matanović

**MENTORI:**

Prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger

Izv. prof. dr. sc. Dražen Lušić

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Andreja Prevendar Crnić
2. izv. prof. dr. sc. Dražen Lušić, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
3. prof. dr. sc. Ivana Tlak Gajger
4. doc. dr. sc. Krešimir Matanović (zamjena)

*Ovaj rad izrađen je u Zavodu za biologiju i patologiju riba i pčela Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Ivane Tlak Gajger i izv. prof. dr. sc. Dražena Lušića.*

**KRATICE:**

AK (aminokiselina)

K (kelvin)

Cd (kadmij)

Cr (krom)

Fe (željezo)

Ni (nikal)

Mn (mangan)

Pb (olovo)

As (arsen)

Hg (živa)

Cu (bakar)

Zn (cink)

ICP-MS (induktivno spregnuta plazma - masena spektrometrija)

c (koncentracija analita izražena kao mg/kg, odnosno,  $\mu\text{g/kg}$ )

CARI (Centre Apicole de Recherche et Information)

HUSAM (Hrvatska udruga senzorskih analitičara meda)

## SADRŽAJ

<b>1. Uvod</b> .....	1
<b>2. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja</b> .....	2
2.1. Pčelinja zajednica .....	2
2.2. Skupljanje hrane .....	2
2.2.1. Skupljanje peludi .....	2
2.2.2. Skupljanje nektara .....	4
2.3. Sazrijevanje meda .....	5
2.4. Kadulja ( <i>Salvia officinalis</i> L.) .....	5
2.5. Med .....	6
2.5.1. Sastav meda .....	7
2.5.2. Konzumacija meda .....	9
2.5.3. Med od kadulje .....	10
2.5.4. Medljikovac .....	12
2.5.5. Senzorska svojstva meda .....	12
2.6. Senzorska analiza .....	13
2.7. Fizikalno-kemijska analiza medova .....	16
2.8. Toksični elementi .....	20
2.8.1. Kadmij (Cd) .....	20
2.8.2. Krom (Cr) .....	20
2.8.3. Nikal (Ni) .....	20
2.8.4. Olovo (Pb) .....	21
2.8.5. Arsen (As) .....	21
2.8.6. Živa (Hg) .....	22

2.9.	Elementi u tragovima .....	22
2.9.1.	Bakar (Cu) .....	22
2.9.2.	Cink (Zn) .....	22
2.9.3.	Mangan (Mn).....	23
2.9.4.	Željezo (Fe).....	23
2.10.	Mikroskopska analiza .....	23
2.10.1.	Melisopalinološka analiza.....	23
2.11.	Med kao bioindikator okolišnog onečišćenja .....	25
<b>3.</b>	<b>Materijali i metode .....</b>	<b>26</b>
3.1.	Uzorkovanje meda .....	26
3.2.	Senzorska analiza .....	27
3.3.	Induktivno spregnuta plazma s masenom detekcijom (ICP-MS).....	27
3.3.1.	Opis metode .....	28
3.3.2.	Priprema uzoraka .....	28
3.3.3.	Izvođenje .....	30
3.4.	Statistička obrada podataka.....	31
<b>4.</b>	<b>Rezultati.....</b>	<b>32</b>
<b>5.</b>	<b>Rasprava.....</b>	<b>37</b>
<b>6.</b>	<b>Zaključci .....</b>	<b>39</b>
<b>7.</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>40</b>
<b>8.</b>	<b>Sažetak.....</b>	<b>49</b>
<b>9.</b>	<b>Summary .....</b>	<b>50</b>
<b>10.</b>	<b>Životopis .....</b>	<b>51</b>

## **Popis slika**

**Slika 1.** Pelud u peludnoj košarici na 3. paru nogu pčele radilice ([www.avi-fauna.info](http://www.avi-fauna.info)).

**Slika 2.** "Honey Aroma Wheel" (PIANA, M. L., 2004.).

## **Popis tablica**

**Tablica 1.** Šećeri prisutni u medu (BALL, 2007.).

**Tablica 2.** Kemijski sastav meda (BALL, 2007.).

**Tablica 3.** Podrijetlo prikupljenih uzoraka meda kadulje.

**Tablica 4.** Mješavina otopine korištenih standarda elemenata.

**Tablica 5.** Rezultati senzorske analize.

**Tablica 6.** Rezultati fizikalno-kemijske i melisopalinološke analize uzoraka meda kadulje.

**Tablica 7.** Koncentracija toksičnih elemenata u uzorcima meda kadulje.

**Tablica 8.** Koncentracija elemenata u tragovima u uzorcima meda kadulje.



## ZAHVALE

Želim se zahvaliti svojim mentorima prof. dr. sc. Ivani Tlak Gajger i izv. prof. dr. sc. Draženu Lušiću na pomoći, strpljenju i podršci tijekom pisanja ovog rada. Također, zahvaljujem dr. sc. Nini Bilandžić.

Zahvaljujem svojim roditeljima, sestri i bliskoj obitelji na sveukupnoj podršci i razumijevanju za vrijeme mog studiranja i što su mi omogućili da učim i radim ono što volim.

Hvala mojim najboljim prijateljicama što su uvijek bile tu uz mene, prolazile isto što i ja i na međusobnoj utjesi.

I na kraju, hvala mom partneru koji je također bio cijelo vrijeme uz mene, vjerovao u mene, bodrio me, tjerao naprijed i podržavao.

Ovo je vaš uspjeh koliko i moj. Bez vas ovo ne bi bilo moguće.

## 1. Uvod

Med je složen pčelinji proizvod koji ima i nutritivne i zdravstvene dobrobiti te se smatra hranom koja podržava zdravlje. Jedna od brojnih uniflornih vrsta meda je med od kadulje koji se široko koristi u tradicionalnoj medicini, posebice u liječenju respiratornih problema (GAŠIĆ i sur., 2015.). Zahvaljujući svojoj kvaliteti med se distribuira i konzumira na globalnoj razini, a postiže sve veću ekonomsku vrijednost na tržištu što ga čini privlačnim proizvodom za patvorenje (BARGANSKA i sur., 2015.).

Općenito, sastav meda ovisi o njegovom botaničkom i geografskom podrijetlu (BARGANSKA i sur., 2016.). Sukladno Europskom zakonodavstvu na svakom pakiranju meda ili meduna/medljikovca mora biti navedena zemlja podrijetla. U sastavu meda su prisutni i makro- i mikroelementi od kojih su neki, poput teških metala, toksični. Onečišćenju okoliša teškim metalima najviše doprinose industrija, promet i antropogena aktivnost. Zbog specifičnog načina života pčelinje zajednice ti elementi mogu iz biljaka, zraka, vode ili zemlje dospjeti u nektar, medljiku ili pelud koje pčele slupljačice unose u košnicu (BOGDANOV, 2006.). Odrasle pčele i njihove proizvode možemo promatrati kao bioindikatore okolišnog onečišćenja (CONTI i BOTRE, 2001.). Olovo (Pb) i kadmij (Cd) imaju najznačajnije toksično djelovanje stoga se i najviše istražuju (BOGDANOV, 2006.). Osim njih značajni su i živa, arsen i nikel.

U ovom radu koncentracija elemenata analizirana je metodom induktivno spregnute plazme s masenom detekcijom (ICP-MS), a provedena je i melisopalinoška te fizikalno-kemijska analiza uzoraka meda kadulje. Cilj istraživanja bio je utvrditi senzorska svojstva i prisutnost određenih makro- i mikroelemenata u uzorcima meda kadulje.

## 2. Pregled rezultata dosadašnjih istraživanja

### 2.1. Pčelinja zajednica

Pčelinja zajednica je organizam koji živi socijalnim načinom života, a čine ju odrasle pčele i leglo (WINSTON, 1987.). Matica je najveća, spolno zrela ženka i njezina uloga je dvojaka: polaganje jaja i koordiniranje ponašanja zajednice putem feromona. Radilice su sterilne ženke, te najmanji i najbrojniji članovi zajednice koje obavljaju niz zadataka unutar i izvan košnice. Trutovi su spolno zreli mužjaci zdepastog tijela. Razvijaju se iz neoplođenih jaja i njihov zadatak je parenje s maticom. Pčelinja zajednica, iako ima mnogo članova, predstavlja jedan organizam. Zajednica živi u košnici koja joj pruža zaštitu od vanjskih utjecaja i prostor za spremanje hrane (WINSTON, 1987.).

### 2.2. Skupljanje hrane

Svaki član zajednice ima jedinstvene nutritivne potrebe. Kvaliteta prirodne hrane (nektara i peluda) izravno utječe na zdravlje pčelinje zajednice i na njihovu mogućnost prezimljavanja (MAJAROŠ i sur., 2022.; SOMERVILLE, 2014.). Med i medljika zajednici predstavljaju izvor ugljikohidrata, dok pelud predstavlja glavni izvor bjelančevina i lipida, te i minerala i vitamina (WINSTON, 1987.). Radilice imaju specifičnu anatomsku građu tijela koja im omogućava skupljanje hrane. Nakon razvoja u leglu do odrasle jedinice koje traje 21 dan, postaju kućne pčele i obavljaju zadatke u košnici sljedeći 21 dan, a nakon toga izlaze iz košnice, postaju skupljačice i traže hranu, vodu i propolis (WINSTON, 1987.).

#### 2.2.1. Skupljanje peludi

Hitinski egzoskelet prekriven je dlačicama na koje se skuplja pelud pri sljetanju na cvijet. Pri letu pčelinje tijelo postane pozitivno nabijeno i uzrokuje "skakanje" peludnih zrnaca prema njemu. Na trećem paru nogu imaju anatomske strukture zvane peludna košarica i peludni češalj kojim češljaju tijelo i utiskuju skupljenu pelud u košaricu na suprotnoj nozi (WINSTON, 1987.).

Pčele skupljačice donose granule peluda u svojim peludnim košaricama u košnicu i pohranjuju ga u prazne stanice blizu legla. Kućne pčele utiskuju tu pelud dublje u stanicu, dodaju

specifične tvari i enzime i kada je  $\frac{3}{4}$  stanice popunjeno druge radilice poklope sada fermentiranu pelud malim slojem meda koji pomaže u očuvanju peludi. Iako pojedine pčele skupljaju pelud s jednog izvora, u stanicama u košnici je pelud uglavnom različitog botaničkog porijekla (WINSTON, 1987.).

Povećani poticaj pčelama za skupljanje peludi je povećanje površine saća s položenim leglom. Otkriven je dnevni ritam skupljanja peludi, odnosno biljke se prilagođavaju svojim oprašivačima i čine pelud dostupnu kada su oprašivači najviše aktivni (HERRERA, 1990.). Prije nego što može biti skupljen, cvjetni prašnici moraju otpustiti zrela peludna zrnca i to se događa u određeno doba dana, a razlikuje se od biljke do biljke (PERCIVAL, 1950.).



**Slika 1.** Pelud u peludnoj košarici na 3. paru nogu pčele radilice ([www.avi-fauna.info](http://www.avi-fauna.info)).

### 2.2.2. Skupljanje nektara

Nektar je stimulans koji su biljke razvile da bi privukle kukce oprašivače, no ne osiguravaju sve cvjetnice i lokacije jednako lučenje nektara. One cvjetnice koje proizvode velike količine nektara zovu se medonosne biljke. Lučenje nektara najizraženije je prva dva dana cvjetanja, a skupljanje je najizdašnije u rano jutro do rano popodne. Pčele skupljaju nektar cjevastom strukturom, rilcem, koji formira stražnja čeljust, jezik i dva usna pipala (WINSTON, 1987.). Nektar se sastoji od složenih šećera i vode. Glavni šećeri prisutni u nektaru su saharoza, glukoza i fruktoza. Manje zastupljeni su maltoza, rafinoza, melibioza, trehaloza i melecitoza (prikazano u Tablici 1.). Udio šećera kreće se 5-80%, većinom između 20-50%. Prisutne su i manje količine organskih kiselina, mineralnih soli, hlapljivih ulja, polisaharida, proteina, enzima, pigmenata i alkaloida. Oni su odgovorni za aromu i okus nektara.

Neko cvijeće nudi samo nektar, neko samo pelud, ali najčešće nude oboje. Variranja u koncentraciji šećera u nektaru ovise o vrsti cvijeta, vlazi tla, atmosferskim uvjetima, veličini i položaju cvijeta (BALL, 2007.). Skupljačice skupe pelud unutar 30 minuta, dok im je za skupljanje nektara potrebno između 27 minuta i 2 sata. Pčele prenose peludna zrnca na svom tijelu bile one skupljačice peluda ili nektara i bez obzira što se redovito češljaju, te na taj način sudjeluju u oprašivanju biljaka.

**Tablica 1.** Šećeri prisutni u medu (BALL, 2007.).

<b>Trisaharidi</b>	<b>Disaharidi</b>	<b>Monosaharidi</b>	<b>Oligosaharidi</b>
Rafinoza	Saharoza	Glukoza	Melecitoza
	Maltoza	Fruktoza	
	Trehaloza		
	Melibioza		

### 2.3. Sazrijevanje meda

Sazrijevanje meda je proces u kojem se složeni šećeri iz nektara pretvaraju u jednostavne šećere (glukozu i fruktozu) pomoću enzima i smanjuje se udio vode isparavanjem. Prilikom skupljanja nektara iz cvijeta, pčela radilica pohranjuje ga u prošireni dio jednjaka koji se zove medni mjehur. U tom procesu nektar se miješa sa sekretom hipofaringealne žlijezde i žlijezde slinovnice, a taj sekret sadrži enzime koji kemijski mijenjaju sastav nektara. Enzimi uključuju dijastazu i invertazu, a oba razgrađuju veće saharide, posebno saharozu, u monosaharide. Glukoza oksidaza je također prisutna. Pčela skupljačica dolaskom u košnicu preda nektar kućnoj pčeli preko rilca (*proboscis*), a kućna pčela sljedećih 15 do 20 minuta regurgitira i guta primljeni nektar. Pritom se nektar dodatno miješa sa sekretom žlijezdi (enzimima) i mijenja svoj sastav. Kad završi regurgitaciju, pčela odlaže kapljicu nektara u saće (BALL, 2007.).

Zreli med sadrži 20% vode ili manje. Aktivno isparavanje vode događa se izvan saća u košnici jer pčela upuhuje mjehuriće u sadržaj koji regurgitira i guta. Mjehurići tvore veliku površinu sadržaja naspram volumenu koja omogućava isparavanje vode u toploj i suhoj atmosferi košnice. Pasivan proces isparavanja vode započinje nakon odlaganja nektara u stanicu saća gdje se dodatno smanjuje udio vode u medu. Sazrijevajući med se konsolidira prije nego što pčele poklope stanicu s voštanim poklopcem (WHITE, 1992.).

### 2.4. Kadulja (*Salvia officinalis* L.)

*S. officinalis* višegodišnji je drvenasti grm koji je u znanstvenoj literaturi poznatiji pod imenima ljekovita kadulja, mirisava kadulja, ljekovita žalfija, primorska kadulja i kuš. Na području Hrvatske rasprostranjena je na krševitim predjelima Hrvatskog primorja i otoka, Dalmacije i nekim dijelovima Istre. Vrijeme cvatnje ovisi o nadmorskoj visini. Najranija cvatnja može se očekivati sredinom travnja i to na najjužnijim dijelovima pučinskih otoka (npr. otok Ilovik), dok na područjima udaljenijima od mora i na većim nadmorskim visinama cvjetanje traje do polovice lipnja. Pčelari najčešće tempiraju pčele za pašu kadulje sredinom svibnja. Kadulja je heliofit i odgovara joj toplo vrijeme s malo vlage u zraku i puno Sunčeve svjetlosti, dok joj promjenjivo,

kišno i hladno, te presuho i vjetrovito vrijeme ne pogoduje. Staništa su joj ugrožena zbog zarastanja površina šikarom i makijom (ŠIMIĆ, 1980.).

## 2.5. Med

Osnovne vrste meda prema podrijetlu su: cvjetni ili nektarni i medljikovac ili medun. Pravilnik o medu definira med kao prirodno sladak proizvod što ga medonosne pčele (*Apis mellifera*) proizvode od nektara medonosnih biljaka, sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja (NN 53/2015, 47/2017 ).

Pravilnik o kakvoći uniflornog meda (NN 122/09, 141/13) propisuje zahtjev kakvoće kojem uniflorni med mora udovoljavati u proizvodnji i pri stavljanju na hrvatsko tržište. Uniflorni med može se označiti prema određenoj biljnoj vrsti ako u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 45% peludnih zrnaca iste biljne vrste. Iznimno, postoje biljne vrste koje ne podliježu tom pravilu i postotku peludnih zrnaca. Tako npr. med kadulje (*S. officinalis* L.) mora sadržavati najmanje 15% peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu ili 10% uz karakteristična senzorska svojstva meda kadulje (miris, boja, okus). Za utvrđivanje sukladnosti meda sa zahtjevima kakvoće propisanim ovim Pravilnikom (NN 122/09, 141/13) u svrhu službene kontrole koriste se metode propisane Pravilnikom o medu (NN 53/2015, 47/2017).

Zbog svog specifičnog i složenog sastava, med predstavlja visoko vrijednu namirnicu u prehrani ljudi. Brojne bioaktivne komponente (glukoza i fruktoza, polifenoli, flavonoidi, aminokiseline i peptidi, makro i mikroelementi i organske kiseline) zaslužne su za korisna svojstva na ljudsko zdravlje i visoku hranjivost (ALVAREZ-SUAREZ i sur., 2010.). Najistaknutija svojstva su antimikrobna, antivirusna, antifungalna, protuupalna te antioksidativno djelovanje (SAMPATH KUMAR, 2010.). Makro i mikroelementi sudjeluju u biokemijskim procesima i neophodni su za pravilno funkcioniranje stanica i enzima. Njihov sadržaj u medu ovisi o njegovom botaničkom i geografskom podrijetlu, izravno je povezan s kemijskim sadržajem tla na području pčelinje paše i sastavu nektara, odnosno medne rose te je pod utjecajem i drugih čimbenika okoliša (BOGDANOV i sur., 2007.; BILUCA i sur., 2016.). Veće koncentracije teških metala kao što su Cd, Cr, Ni, Pb i Hg izmjereni su u medu u regijama s razvijenom industrijom (rudarstvo, taljenje i drugi industrijski tehnološki procesi) gdje je zagađenje teškim metalima ozbiljan problem (AGHAMIRLOU i sur., 2015.; ATANASSOVA i sur., 2016.). Prisutnost teških metala u hrani

moгу nepovoljno utjecati na zdravlje potrošača zbog toksičnih i karcinogenih učinaka (KOVAČIK i sur., 2016.) stoga je od velikog značaja praćenje koncentracije ovih elemenata u medu.

#### 2.5.1. Sastav meda

Med predstavlja složenu smjesu s više od 70 različitih sastavina. Neke dodaju pčele, neke potječu od medonosne biljke, a neke nastaju tijekom zrenja meda u saću (KRELL, 1996.). Varijabilni sastav meda posljedica je raznovrsnog izvora nektara (BALL, 2007.). U sastavu dominiraju ugljikohidrati (fruktoza i glukoza) te voda koji zajedno čine više od 99 % meda. Ostatak čine proteini (uključujući enzime), mineralne tvari, vitamini (vrlo male količine, nedovoljno za dnevni unos), organske kiseline, fenolni spojevi, arome (hlapljivi spojevi) i razni derivati klorofila. Iako čine <1% sastava, njihov udio uvelike utječe na nutritivna i senzorska svojstva meda (SINGHAL i sur., 1997.).

Nizak udio vode u sastavu karakterizira med. Kreće se između 15% i 23% (može i ispod 15%), no postavljena je zakonska granica od 20% vlage u medu iznad koje se med ne smije staviti na tržište (NN 53/2015, 47/2107). Narodna predaja kaže da je med hrana koja se ne kvari i to upravo zbog niskog udjela vode. Primjerice, bakterije ne mogu preživjeti u mediju tako visokog osmotskog tlaka (BALL, 2007.). No, to svejedno ne znači da je med uvijek u potpunosti siguran za konzumaciju. Može biti od nektra koji nije palatabilan ili koji je čak otrovan (npr. nektar rododendrona), te može sadržavati spore plijesni ili drugih organizama koji se mogu ponašati kao alergeni ili toksini (BALL, 2007.). Za vrijeme čuvanja meda udio vode nije stalan već ovisi o vlažnosti zraka (svojstvo higroskopnosti), ali također med i otpušta vlagu (sporiji proces). S obzirom da udio vode određuje stabilnost meda te njegovu otpornost na mikrobiološko kvarenje (fermentaciju i vrenje) tijekom čuvanja, ono se smatra najvažnijim pokazateljem kakvoće (BOGDANOV i sur., 1999.).

Omjer fruktoze i glukoze te omjer glukoze i vode u medu su vrlo bitni jer služe za predviđanje brzine kristalizacije meda. Med sa većom koncentracijom glukoze, a manjom koncentracijom fruktoze brže kristalizira. Kristalizacija je prirodno svojstvo svakog meda i ne utječe na njegovu kvalitetu, ali mijenja okus, boju (postaje svjetliji) i gubi prozirnost. Med je prezasićena otopina glukoze i on spontano prelazi u stanje ravnoteže tako da kristalizira višak glukoze u otopini. Proteini i aminokiseline u medu mogu biti biljnog (iz biljaka) i životinjskog (iz pčela) podrijetla. Najveći postotak zauzima aminokiselina prolin (50-85%) te služi kao kriterij za



procjenu kvalitete meda. U nekim slučajevima služi i kao kriterij za procjenu zrelosti meda, kao i pokazatelj otkrivanja šećernog patvorenja. (BOGDANOV, 2009.).

Med sadrži niz enzima. Invertaza, amilaza, glukoza oksidaza, katalaza, kiselna fosfataza, peroksidaza, esteraza, inulaza samo su neki. Aktivnost enzima, tj. aktivnost diastaze smatra se pokazateljem kvalitete, stupnja zagrijavanja i starosti te uvjeta skladištenja meda (MANDIĆ i sur., 2020.).

Organske kiseline najčešće se nalaze u obliku estera te su zaslužne za antibakterijsko djelovanje meda (niži pH inhibira rast mikroorganizma). Kiselost meda kreće se u rasponu od 8.7 do 59.5 meq/kg, a prosjek iznosi 29.1 meq/kg (PRICA i sur., 2014.). Povećana kiselost meda pokazatelj je procesa fermentacije i pretvorbe alkohola u organske kiseline, stoga je ukupna kiselost važan pokazatelj kvalitete meda (PRICA i sur., 2014.).

Neke vrste meda sadrže čitav niz mineralnih tvari od kojih su neke vrlo važne za pravilan rad ljudskog organizma, no količinski su slabo zastupljene. S druge strane, u sastavu meduna, odnosno medljikovaca (potječu od medne rose) mineralna komponenta je izražena. Najzastupljeniji je kalij koji zajedno s natrijem, kalcijem i fosforom čini najmanje 50% ukupnog udjela mineralnih tvari (AJIBOLA i sur., 2012.). Udio mineralnih tvari ovisi o njegovom botaničkom podrijetlu odnosno o sastavu tla i klimatskim uvjetima.

Flavonoidi su spojevi u medu s antioksidativnim učinkom i štite stanice od oksidacijskog stresa (utjecaja slobodnih radikala) (VAHČIĆ i MATKOVIĆ, 2009.).

Sadržaj fenolnih spojeva u medu ima značajan utjecaj na boju meda. Za boju meda, osim polifenolnih komponenti, najznačajniji su tzv. Maillardovi spojevi. Dokazano je da tamniji med ima više fenolnih spojeva od svjetlijeg meda (MEDA i sur., 2005.).

Hidroksimetilfurfural (HMF) ciklički je aldehid koji nastaje dehidracijom fruktoze i glukoze u kiselom mediju, a može nastati i u Maillardovim reakcijama. Pojava i udio HMF-a u medu ovise o vrsti meda, njegovoj pH-vrijednosti, udjelu kiselina i vlage, te o izloženosti svjetlosti. HMF je prirodno prisutan u medu, no u vrlo maloj koncentraciji (<1 mg/kg). Međutim, taj udio brzo raste ukoliko je temperatura okoliša iznad 20 °C. Koncentracija viša od 10 mg/kg može biti znak prekomjernog zagrijavanja prilikom prerade, no i manje brojke ukazuju na to. U svim medovima na globalnom tržištu maksimalno dozvoljen udio HMF-a iznosi 40mg/kg.

**Tablica 2.** Kemijski sastav meda (BALL, 2007.).

<b>Komponenta</b>	<b>Prosjek (%)</b>	<b>Raspon (%)</b>
Voda	17,2	12,2-22,9
Fruktoza	38,4	30,9-44,3
Glukoza	30,3	22,9-40,7
Saharoza	1,3	0,2-7,6
Ostali disaharidi	7,3	2,7-16,0
Glukuronska kiselina	0,57	0,17-1,17
Kiseline (osim glukuronske)	0,43	0,13-0,92
Laktomi	0,14	0,0-0,37
Minerali	0,17	0,02-1,03
Dušik	0,04	0,0-0,13

### 2.5.2. Konzumacija meda

Konzumacija meda danas je sve raširenija jer raste svijest o zdravoj prehrani ljudi. Zdrava prehrana prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) je prehrana koja pomaže u zaštiti od svih oblika malnutricije kao i od nezaraznih bolesti kao što su šećerna bolest, bolesti srca, moždani udar i maligne bolesti. Med poboljšava gastroenterološko i kardiovaskularno zdravlje, no valja imati na umu da se ovi zaključci temelje na istraživanjima u kojima je unos meda bio relativno visok, od 50 do 80g (BOGDANOV, 2009.; MANDIĆ i sur., 2020.).

Posebno je cjenjen u kulinarstvu gdje se često koristi kao zaslađivač umjesto rafiniranog bijelog šećera. Izvor je prirodne slatkoće u receptima i brz izvor energije jer se odmah apsorbira iz probavnog trakta, bez daljnje probave. Zbog toga ga i sportaši često konzumiraju nakon naporene aktivnosti. Mnoge karakteristike povezane su s antibakterijskim djelovanjem meda, uključujući visok sadržaj šećera i niski udio slobodne vode, umjerena kiselost te koncentracija vodikovog peroksida. Zbog tih svojstava razmatra se korištenje meda u tretiranju površinskih rana. Također je dokazano da je manuka med učinkovit u inhibiranju rasta biofilma *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*, bakterija koje su vrlo otporne na antibiotike, a često sudjeluju u patofiziologiji kroničnog rinosinuitisa (ABTAR, 2022.; CARON i CONNOR, 2013.; SINGH i DESAI, 2022.; ALANDEJANI, 2017.).

### 2.5.3. Med od kadulje

Med od kadulje obzirom na potražnju i cijenu koju postiže, smatra se jednim od najcjenjenijih vrsta meda u Hrvatskoj. Karakterističan je za područje hrvatske obale i otoka (Cres, Krk, Rab, Lošinj, Pag, Prvić, Goli Otok, Plavnik...) te pokazuje zajednički i specifični profil flavonoida što bi moglo biti temelj za razlikovanje kaduljinog meda od ostalih uniflornih medova (KENJERIĆ i sur., 2008.). Podaci istraživanja iz 2015. godine ukazuju na jasnu diferencijaciju uniflornog meda kadulje od ostalih uniflornih medova korištenjem skupine kemijskih markera (fenolni spojevi, ugljikohidrati i minerali). Među svim proučavanim uniflornim medovima vrste *Lamiaceae*, veći sadržaj bora i kalija primjećen je kod uniflornog meda kadulje, a turanoza i kemferol mogu se klasificirati kao markeri za autentifikaciju (GAŠIĆ i sur., 2015.). Paše kadulje ima i na lokacijama istočne Istre, Dalmacije, Dubrovačkog primorja i Crne Gore. Senzorske karakteristike meda prijavljene su po prvi puta u radu iz 2006.-te godine (LUŠIĆ i sur., 2006.). Boja je opisana kao bež do žad, ovisno o konzistenciji, miris je laganog do srednjeg intenziteta, blago opor i drvenast; okus karakterizira slaba slatkoća, izražena kiselost s karamelastom aromom i postojanim naknadnim okusom po voću. U istom radu po prvi puta je prijavljen i profil hlapljivih tvari u medu kadulje. Identificirano je i nekoliko spojeva po prvi puta u medu kadulje, npr. tetrahidro-2,2,5,5-tetrametilfuran, 3-heksenil ester butanske kiseline, 2-metilbenzen, maltol, metil ester 3-furanokarboksilne kiseline i benzenoctena kiselina. Na temelju dobivenih rezultata i s obzirom na nedostatak komparativne literature spojevi su predloženi kao hlapljive tvari

karakteristične za med kadulje (LUŠIĆ i sur., 2006.). Makro i mikroelementi prisutni su u manjem rasponu, između 0,04 i 0,2% (CORNARA i sur., 2017.). Med od kadulje (*Salvia officinalis* L.) ima općenito nizak sadržaj minerala, uglavnom zbog propusne prirode tla (vapnenac). Osim činjenice da kaduljin med ima relativno visoku koncentraciju kalija u sastavu, utvrđeno je da ukupni mineralni sastav nije posebno karakterističan te se ne može koristiti za razlikovanje od ostalih cvjetnih medova. Ipak, ti podaci mogu pomoći u razlikovanju geografskog podrijetla kaduljinog meda (LUŠIĆ i sur., 2008.). Europska direktiva (EC 2001/110) postavlja osnovne kriterije kvalitete i sastava meda. Strogo je propisano da na etiketi pakiranja mora biti navedeno botaničko i geografsko podrijetlo meda. Direktiva također postavlja specifične karakteristike sastava kao što su vlaga, sadržaj hidroksimetilfurfurala (HMF), sadržaj slobodnih kiselina, električna vodljivost, enzimska aktivnost itd. koje treba uzeti u obzir.

U ovom radu najviše nas zanima koncentracija teških metala u uzorcima jer med može sadržavati visoke razine toksičnih elemenata kao što su As, Cd, Hg i Pb, kao rezultat povećanih količina u nektaru biljaka. Uslijed velikih rudarskih i industrijskih aktivnosti toksični metali se apsorbiraju u tlo, atmosferu i vodu te posljedično u biljke. U tom slučaju predstavljaju opasnost za potrošača zbog toksičnih i karcinogenih učinaka elemenata prisutnih u medu (BILANDŽIĆ i sur., 2015.).

Da bi se med od kadulje smatrao uniflornim udio peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu mora biti minimalno 15 %. Iznimno može biti i 10 %, ali uz karakterističan miris, boju i okus za tu biljnu vrstu. Potvrda botaničkog podrijetla meda danas se određuje senzorskom analizom, mikroskopskom analizom (melisopalinološkom analizom) i određivanjem rutinskih fizikalno-kemijskih parametara (MILOJKOVIĆ-OPSENICA i sur., 2015.).

Senzorski profil meda od kadulje može se opisati kako slijedi: boja – bež do jantarna (ovisno o konzistenciji); miris – između laganog i srednjeg intenziteta, malo opor, drven; okus – slaba slatkoća, izražene kiselosti i kao karamela od jabuke, s postojanim voćnim okusom. To su najčešća osjetilna svojstva uzoraka meda od kadulje koji bi mogli biti predloženi kao standardni senzorski profil meda kadulje (LUŠIĆ i sur., 2007.).

#### 2.5.4. Medljikovac

Medljika ili medna rosa nije nektar već izlučevina kukaca (*Hemiptera*) koji sišu na živim dijelovima biljaka. Glavni izvori medljike su lisne i štitaste uši, ljuskari i skakavci. Oni urone dijelove svog usnog aparata u biljku i izluče koncentrirani otpad koji ima visok sadržaj šećera. Pčele skupljaju medljiku s biljke baš kao što bi i nektar i nose ga u košnicu radi pohranjivanja, no ukoliko je nektar dostupan rađe će izabrati nektar. Medljikovac može potjecati od zimzelenih biljaka kao što je jela ili smreka i listopadnih kao što su hrast, bukva i orah.

U razlikovanju cvjetnog meda od medljikovca koriste nam parametri: električna vodljivost, pH, specifična rotacija (OUCHEMOUKH i sur., 2007), sastav fenolnih spojeva i šećera (BOGDANOV i sur., 2004). Karakterizira ga viša vrijednost električne vodljivosti, viši pH, veća kiselost i udio pepela, tamnija boja, veći sadržaj oligosaharida i manji sadržaj monosaharida od cvjetnog meda (PITA-CALVO i VAZQUEZ, 2017.).

#### 2.5.5. Senzorska svojstva meda

Najvažnija senzorska svojstva meda su izgled, čistoća, boja, aroma, okus i taktilna prijatnost. Za neke vrste meda kemijsko-fizikalne analize ne pružaju dovoljno karakterističnih vrijednosti stoga je senzorska analiza neizostavna u procjeni kakvoće meda.

Boja meda kreće se od svijetložute, žute, smeđe do tamnosmeđe, no ima medova koji su i gotovo bezbojni, tzv. voden-bijeli poput meda od bagrema. Nakon kristalizacije med posvijetli, no potamni tijekom čuvanja. Bagremov med karakterizira izrazito svijetla boja, idealno voden-bijeli, dok je kestenov med tamniji sa notom crvene boje koja je upravo jedan od najjačih identifikatora ovog meda. Boja ostalih vrsta meda kreće se u nijansama između te dvije krajnosti. Tablica sa senzorskim identifikatorima pojedinih vrsta meda nalazi se u Prilogu 1.

Miris meda ponajviše određuje biljka od koje je dobiven.

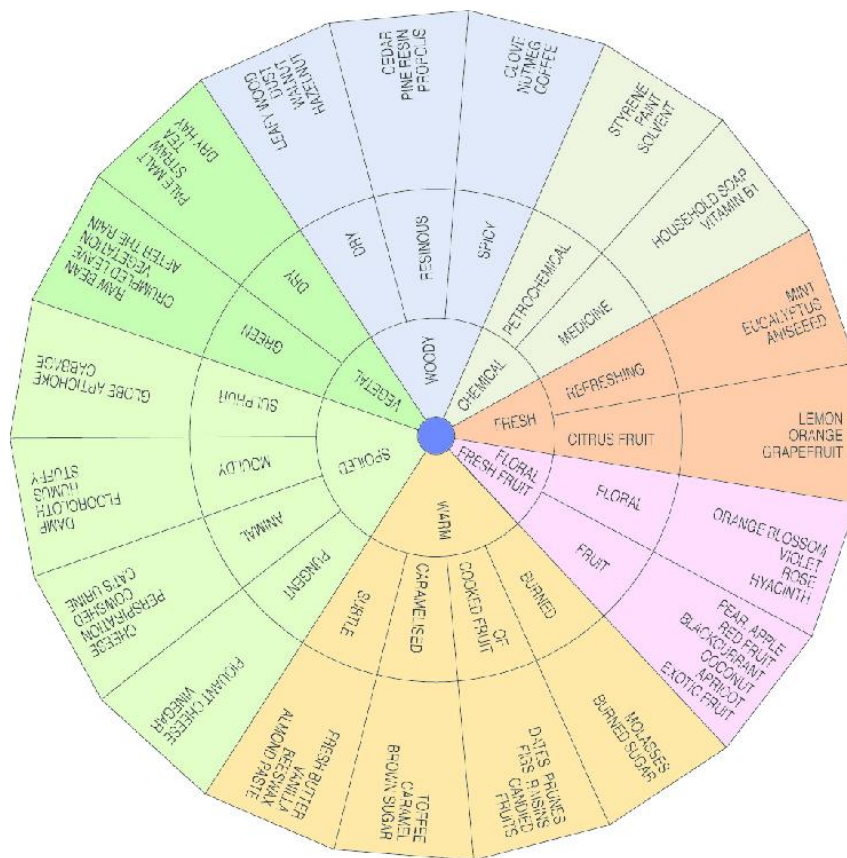
Punoću i prepoznatljivost okusa čini slatkoća, a ona ovisi o udjelu i omjeru glukoze, fruktoze, aminokiselina, eteričnih ulja i organskih kiselina. Kestenov med npr. odlikuje gorak okus. Med od kadulje oštrog je okusa, baš kao i med mente. Nakon fermentacije med poprima kiseo okus (ŠKENDEROV i IVANOV, 1986.).

## 2.6. Senzorska analiza

Senzorska analiza je analiza proizvoda kroz procjenu atributa percipiranih putem pet osjetila (organoleptički atributi), kao što su boja, miris, okus, dodir i tekstura. Senzorska analiza meda omogućava definiranje botaničkog podrijetla meda i identifikaciju te kvantifikaciju pojedinih nedostataka (fermentacija, nečistoće, neugodni mirisi i okusi). Također doprinosi definiranju standarda proizvoda i pomaže drugim kontrolama kojima med podliježe (kontrola podrijetla, kontrola specifičnog označavanja). Od velikog je značaja i u istraživanjima potrošačkih preferencija, odnosno averzija.

Neke karakteristike otkrivene senzorskom analizom mogu se otkriti i/ili potvrditi i laboratorijskom analizom (npr. fermentacija), no za neke karakteristike trenutno nema alternativne metode, stoga je senzorska analiza neizostavna. Posebno je važna za provjeru sukladnosti uniflornih medova jer može otkriti prisutnost botaničkih sastavina koje druge analitičke metode ne mogu, npr. fizikalno-kemijska i melisopalinološka metoda. U istraživanjima i kontrolama meda senzorska analiza najčešće služi kao dopuna i pomoć u interpretaciji sveukupnih analitičkih rezultata.

Priroda senzorske metode zahtijevala je pisanje jedinstvenog rječnika koji sadrži attribute i pojmove koji se koriste u osjetilnim opisima europskih uniflornih medova (PERSANO ODDO i PIRO, 2004.). Rječnik je napisan koristeći skupljeno znanje i iskustvo raznih stručnjaka koji su se bavili senzorskim opisivanjem meda. Belgijski tim iz CARI-ja (Centre Apicole de Recherche et Information) dao je vrijedan doprinos nadopunivši opise za miris i okus stvaranjem "kotača mirisa i arome za med" ("Honey aroma wheel") te je pomogao razviti standardiziranu terminologiju (PIANA i sur., 2004.).



**Slika 2.** "Honey Aroma Wheel" (PIANA, M. L., 2004.).

Standardizirana terminologija temelji se na stvarnim referencama tako da proizvod može biti dosljedno i nedvosmisleno opisan. Sadržava dovoljno širok raspon izraza za opisivanje svih mogućih varijacija meda. Opisi su raspodjeljeni u kotaču na sektore i subsektore i iskustvo je pokazalo da ovaj način opisivanja ima pozitivan utjecaj na komunikaciju i percepciju proizvoda te da su i sami potrošači počeli usvajati pojmove definirane u tehničke svrhe.

Cilj senzorske analize meda je procjena mirisa i okusa meda. Vizualne i taktilne karakteristike, iako su važne za sveukupnu procjenu, odvojene su od gustatorno-olfaktorne faze ocjenjivanja jer postoje dokazi da vizualno-taktilna procjena uvelike utječe na gustatorno-olfaktornu. Metoda se temelji na evaluaciji karakteristika okusa i mirisa meda od strane ocjenjivača obučениh za prepoznavanje senzornih podražaja prema standardima (ISO 8586-1, 1993; ISO 8586-2, 1994) i kvantifikaciji na nestrukturiranom mjerilu od 10 cm (ISO 4121, 1987).

Evaluacija se provodi prema uvjetima i općoj metodologiji utvrđenom u ISO-u 6658 (ISO 6658, 1985.).

Prostorija u kojoj se obavlja senzorna analiza mora biti u skladu s ISO 8589 (1988) i zadovoljavati minimalne zahtjeve što se tiče osvjetljenja, temperature, buke i mirisa. Kabine moraju biti postavljene tako da ocjenjivači mogu raditi sami bez ometanja.

Panel se sastoji od najmanje sedam ocjenjivača (izbor i obuka ocjenjivača prema ISO 8586). Ocjenjivači se moraju suzdržavati od pušenja i jela 30 min prije evaluacije te piti samo vodu. Također ne bi trebali koristiti bilo što intenzivnog mirisa i okusa (pasta za zube, vodica za ispiranje, parfemi i sl.). Svaki ocjenjivač dobije materijal i obrasce za ocjenjivanje. Obrazac popunjava samostalno koji po završetku preda voditelju panela. Sekcije se održavaju najmanje dva sata nakon glavnih obroka i redoslijed u kojima se uzorci prezentiraju ocjenjivačima treba varirati. Prvo se procjenjuje miris i ocjenjuje se kroz 20 do 30 sekundi nakon izlaganja uzorka nosnicama. Slijedi procjena okusa i u tu svrhu unese se žlicom 1 do 2 g meda u usta. Dopušteno je otopiti med u ustima prije nego što se polako proguta kako bi se percipirali okusi, aroma, bilo kakve druge senzacije i naknadni okus. Procjena nedostataka temelji se na identifikaciji odgovarajućeg referentnog standarda kojeg je ocjenjivač prethodno zapamtio te na kvantifikaciji intenziteta uzorka u odnosu na referentni standard na nestrukturiranoj skali od 10 cm. Nedostacima se smatraju neugodan miris i neugodan okus fermentacije te strani okusi i mirisi (npr. dim ili timol).

Procjenu sukladnosti uniflornih medova provodi panel specijaliziranih stručnih ocjenjivača koji su obučeni da prepoznaju različite uniflorne vrste, zapamtivši njihove tipične karakteristike kao i sve moguće varijacije. Sveukupna procjena i kvantifikacija prema zapamćenim karakteristikama ocjenjuje se na 10-centimatarskoj skali. Kriterij za odabir referentnih uzoraka jest njihova što savršenija usklađenost s fizikalno-kemijskim i melisopalinološkim karakteristikama (PERSANO ODDO i PIRO, 2004.) kako je prikazano u Prilogu 2.

Senzorska analiza ima široku primjenu u proizvodnji meda, no ipak korištenje te analize u polju znanosti i kontrole kvalitete zahtijeva njezino unaprjeđenje na modernije, pouzdanije i ponovljivije metode. Važno je napredovanje tradicionalne i moderne senzorske analize ruku pod ruku, tako da jedna drugu nadopunjuju (PIANA, 2004.).



Rezultati senzorske analize mogu otkriti različite vrste patvorenja meda. Izravno patvorenje znači dodavanje strane tvari, npr. šećerni sirup, izravno u med, dok neizravno krivotvorenje meda podrazumijeva prihranjivanje medonosnih pčela industrijskim šećerima. Postoje slučajevi patvorenja gdje se med ne proizvodi ni od nektara ni od medljike (kada se doda otopina šećera ili saharoze ili drugi proizvodi koji imaju sličan sastav i konzistenciju kao med, npr. fruktozni sirup) ili slučajevi gdje se patvoreni med dobiva hranjenjem pčela šećerom ili proizvodima od šećera, ili miješanjem prirodnog meda s patvorenim (MILOJKOVIĆ-OPSENICA i sur., 2015.).

## 2.7. Fizikalno-kemijska analiza medova

Rutinska fizikalno-kemijska analiza daje prilično ponovljive rezultate, čak i kada podaci korišteni za analizu uniflornih medova potječu iz više različitih laboratorija i iz različitih zemalja (PERSANO ODDO i PIRO, 2004.). Metode korištene za klasifikaciju meda uglavnom su one iste rutinske metode za kontrolu meda. Validirane su i usklađene od strane Međunarodne komisije za med (IHC) i mogu se koristiti u okviru Codex Alimentarius (CODEX ALIMENTARIUS, 2001.) i Direktive o medu Europske Unije (EUROPSKA DIREKTIVA, 2002.; BOGDANOV i sur., 1997.). Parametri koji se određuju rutinski jesu: boja, optička aktivnost, električna vodljivost, ugljikohidrati, pH i kiselost, prolin, enzimska aktivnost, udio vode, hidroksimetilfurfural (BOGDANOV i sur., 2004.).

### *Boja*

Boja je fizičko svojstvo koje potrošač odmah opazi. Koristan je kriterij za klasifikaciju uniflornih medova, a uvelike utječe i na cijenu koju postiže na tržištu. Boja meda varira od bistrih, preko jantarnih tonova do gotovo crne, najčešće svijetlo žuta, zelenkasta ili crvenkasta (TUBEROSO i sur., 2014.). Svjetliji med poput meda bagrema i citrusa dostižu najvišu cijenu. U Njemačkoj, Austriji i Švicarskoj posebno je cjenjen tamni medljikovac. Najčešće korištene metode temelje se na optičkoj usporedbi i gradiranju prema Pfundu (FELL, 1978.) ili Lovibond (AUBERT i GONNET, 1983.). Vrijednosti dobivene ovim usporedbama daju mjeru intenziteta boje, ali samo kod normalnog jantarnog tona boje meda i kod svjetlijih medova. Postoje i druge metode, kao npr. kolorimetrijska metoda CIE  $L^*a^*b^*$  tristimulus (AUBERT i GONNET, 1983.; ORTIZ

VALBUENA i SILVA LOSADA, 1990.; PERSANO ODDO i sur., 1995.) ili refleksijska spektroskopija (NEGUERELA i PEREZ, 2000.; TERRAB i sur., 2002.), no prije nego se uvrste u rutinsku kontrolu potrebno ih je validirati.

### *Optička aktivnost*

Med kao šećerna otopina ima svojstvo zakretanja ravnine polarizirane svjetlosti. Fruktioza pokazuje negativno zakretanje, dok glukoza pokazuje pozitivno zakretanje svjetlosti. Ukupno zakretanje ovisi o koncentraciji pojedinih šećera u medu. Ova metoda korisna je u razlikovanju medljikovaca (pozitivna vrijednost, desnorotirajući) i cvjetnog meda (negativna vrijednost, lijevorotirajući). Bogdanov i suradnici opisali su mjerenje optičke aktivnosti (polarimetriju) meda (BOGDANOV i sur., 1997.).

### *Električna vodljivost*

Mjerenje električne vodljivosti (VORWOHL, 1964.) trenutno predstavlja najkorisniji kvalitativni parametar za klasifikaciju uniflornih medova i može se odrediti relativno jeftinim uređajem. Mjerenje ovog parametra uvedeno je u Codex Alimentarius (2001.) i time je uklonjena potreba za određivanjem količine pepela. Također, ova metoda pomaže u razlikovanju medljikovaca od cvjetnih medova jer cvjetni medovi sadrže manju količinu minerala. (LUŠIĆ, 2008.). Mjerenje električne vodljivosti meda opisano je u radu Bogdanov i sur. (1997.). Zakonska regulativa propisuje da nektarni i miješani med moraju imati električnu vodljivost manju od 0,8 mS/cm, a medljikovac i med kestena veću od 0,8 mS/cm. Medovi eukaliptusa, vrijeska i lipe su iznimke zbog prirodno velikih varijacija u električnoj vodljivosti (ŠKENDEROV I IVANOV, 1986.).

### *Ugljikohidrati*

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda čineći oko 95% suhe tvari. Količina monosaharida, fruktoze i glukoze, pomaže u klasifikaciji uniflornih medova kao i omjer fruktoza-glukoza i glukoza-voda (PERSANO ODDO i PIRO, 2004.). Medljikovac sadrži veću količinu

oligosaharida, uglavnom trisaharida melecitoze i rafinoze, koji se ne pojavljuju u sastavu cvjetnog meda. To nam pomaže u razlikovanju medljikovaca od cvjetnog meda, no razlikovanje između različitih vrsta medljikovaca je teško. Sastav šećera može se odrediti različitim kromatografskim metodama (HPLC s refraktometrijskom detekcijom, kromatografija ionske izmjene s pulsnom amperometrijskom detekcijom (HPAEC-PAD) i plinskom kromatografijom (GC) s FID detekcijom). Metode su opisane i validirane pri IHC (BOGDANOV i sur., 1997.). Rezultati su usporedivi što se tiče glavnih šećera: fruktoze, glukoze i saharoze, dok je količina oligosaharida manje usporediva kada se procjenjuje različitim metodama zbog činjenice da ne postižu istu razinu odvajanja i osjetljivosti.

### *pH i kiselost*

Svi medovi su kiseli s pH vrijednošću između 3,5 do 5,5 zbog prisutnosti organskih kiselina koje doprinose okusu i otpornosti prema mikrobiološkom kvarenju. Glavna kiselina je glukonska kiselina. Slobodna kiselost, ukupna kiselost i pH imaju značaj u razlikovanju uniflornih medova, dok laktioni zbog svoje velike varijabilnosti ne pružaju korisne informacije (PERSANO ODDO i sur., 1986; PERSANO ODDO i PIRO, 2004.).

### *Prolin*

Prolin je glavna aminokiselina meda koju dodaje pčela. Služi kao kriterij određivanja zrelosti meda (VON DER OHE i sur., 1991.), no varijacije u uniflornih medova su visoke pa ne može poslužiti kao jedini parametar za klasifikaciju uniflornih medova (SANCHEZ i sur., 2001.; SABATINI i GRILLENZONI, 2002.; PERSANO ODDO i PIRO 2004.). Lako se određuje pomoću fotometrije (BOGDANOV i sur., 2004.).

### *Aktivnost enzima*

Aktivnost enzima opada tijekom skladištenja i zagrijavanja pa tako u svrhu klasifikacije uniflornih medova potrebno je koristiti samo svježije uzorke (BOGDANOV i sur., 1997.).

### *Udio vode*

Udio vode važan je kvalitativni parametar koji prvenstveno utječe na trajnost meda na polici, no u klasifikaciji uniflornih medova ima mali značaj. Međutim, ovisno o proizvodnoj sezoni i klimatskim uvjetima, uniflorni medovi pokazuju neke tipične razlike u udjelu vode koji utječu na fizička svojstva meda (viskoznost, kristalizacija) i također mogu utjecati na vrijednost omjera glukoze i vode (PERSANO ODDO i PIRO, 2004.). Vlaga se rutinski određuje refraktometrijski (indeks loma) (BOGDANOV i sur., 1997.).

### *Hidroksimetilfurfural (HMF)*

HMF je spoj koji nastaje kao proizvod Maillardovih reakcija u medu, ali i kao razgradni proizvod jednostavnih šećera (npr. glukoza ili fruktoza) na pH 5 ili nižem. Svježi med ima vrlo nisku razinu HMF-a i on se javlja prirodno. Najviše odražava svježinu meda, odnosno koristan je kriterij pregrijanosti meda (<40 mg/kg). Mora biti izmjereno prije procjenjivanja boje i mjerenja aktivnosti enzima da se potvrdi svježina i da med nije zagrijavan, tj. HMF mora biti niži od 15 mg/kg. Za određivanje HMF-a opisane su i potvrđene 3 metode (IHC, BOGDANOV i sur., 1997.), no dvije se preporučuju za korištenje: HPLC i White metoda.

### *Infracrvena spektroskopija (IR)*

Temelji se na apsorpciji elektromagnetskog zračenja u rasponu 800 do 2500 nm valne duljine. Prednosti ove metode jesu: brzina, ne uništavanje uzorka i mogućnost određivanja više mjernih veličina u jednom koraku. Nedostatci su da formiranje statističkog modela zahtijeva puno vremena i isplativo je samo u slučaju analiziranja većeg broja uzoraka. No, jednom kad je kalibracija napravljena ona može biti prenešena na drugi aparat. Prije uvođenja IR na listu međunarodnih standardnih metoda, treba ju uskladiti i validirati za rad sa svim glavnim komercijalnim vrstama meda. Nedavno je uspješno primijenjena za kvantitativno određivanje analita u medu (PERSANO ODDO i PIRO, 2004.).

## 2.8. Toksični elementi

### 2.8.1. Kadmij (Cd)

Kadmij je prijelazni teški metal koji se najčešće nalazi uz cink i olovo kao ruda u Zemljinoj kori. Pripada neesencijalnim mineralima i nema biološku primjenu u biljkama ili životinjama te se smatra vrlo toksičnim (GENCHI i sur., 2020.). Antropogeni izvori kadmija najčešće potječu iz rudarstva, izgaranjem fosilnih goriva, spaljivanjem otpada, emisijama iz elektrana i iz gnojiva. Topljiv je u vodi pa stoga može dospjeti do lokalnih vodenih tokova, a do atmosferskog onečišćenja dolazi zbog prisutnosti čestica prašine koje sadrže taj metal. Putujući zrakom i vodom akumulira se u tlu, jezerima, rijekama i oceanima (BRIFFA i sur., 2020.). Ne postoji izravna zakonska regulativa za maksimalno dopuštene koncentracije kadmija u medu, ali Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih onečišćivača u hrani određuje količinu kadmija u hrani (NN 154/2008). Europska komisija predložila je maksimalno dopuštenu količinu kadmija u medu 0,1 mg/kg (COMMISSION REGULATION, 1005/2015).

### 2.8.2. Krom (Cr)

Krom je prijelazni teški metal koji se prirodno nalazi u okolišu. Pripada skupini esencijalnih minerala za funkcioniranje ljudske biokemije u mikro dozama, ali u većim količinama može biti toksičan (ERTANI i sur., 2017.; SHANKERA i sur., 2005.). Onečišćenje vode i tla može nastati nepravilnim skladištenjem krutog i tekućeg otpada ili ispuštanjem vode iz industrija koje sadrže krom u lokalne površinske i podzemne vode (ATSDR, 2008.; OLIVEIRA, 2012.; TUMOLO i sur., 2020.). Industrijalizacija je znatno povećala količinu kroma koji ulazi u atmosferu, vodene tokove i tlo i dovela je do bioakumulacije u biljkama, životinjama i ljudima što uzrokuje potencijalnu prijetnju sigurnosti hrane, toksičnost, bolest i smrt.

### 2.8.3. Nikal (Ni)

Nikal je sveprisutni metal koji je čovjek koristio od antike kao prirodnu leguru za oružje. Srebrno-bijele je boje sa siderofilnim svojstvima i spada u prijelazne metale. Za razliku od topljivih soli nikla (klorid, nitrati, sulfati), metalni nikal, niklovi sulfidi i oksidi nisu topljivi u vodi. Nikal je vrlo pokretan u tlu, posebno u kiselim tlima. Proizvodnja nikla nastaje preradom nusproizvoda

rudarenja bakra. Malo je dokaza da se spojevi nikla nakupljaju u lancu prehrane. Također, nikel nije kumulativni toksin kod životinja ni u ljudi (BARCELOUX, 1999.).

#### 2.8.4. Olovo (Pb)

Olovo (Pb) je posttranzicijski metal koji se prirodno nalazi u okolišu, ponajviše u Zemljinoj kori. Spada u neesencijalne metale za biljke, životinje i ljude te je vrlo toksičan i u malim dozama (BRIFFA i sur., 2020.; VORVOLAKOS i sur., 2016.). Olovo može završiti u atmosferi prirodnim putem (erupcijama, erozijama, šumskim požarima), ali glavni uzrok onečišćenja je antropogeno djelovanje. Djelatnosti kao što su rudarstvo, izgaranje ugljena i nafte, ispušni plinovi vozila, industrijski procesi i spaljivanje otpada (CALLENDER, 2003.; BRIFFA i sur., 2020.; GAD i PHAM, 2014.; SINGH i sur., 2011.). Voda zagađena olovom ulazi u ribe i životinje procesima sličnim onima kod ljudi (ISHAQUE i sur., 2020.). Na taj način mogu ući u hranidbeni lanac i pridonijeti bioakumulaciji kod ljudi. Provodi se službena kontrola najviše dopuštene koncentracije olova u hrani prema Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 154/2008) i Pravilniku o planu uzorkovanja i metodama analiza za službenu kontrolu količina olova, kadmija, žive, anorganskog kositra, 3-monoklorpropandiola i benzo(a)pirena u hrani (NN 45/2008). Maksimalno dopuštena količina olova u medu iznosi 0,1 mg/kg (EU 1005/2015).

#### 2.8.5. Arsen (As)

Arsen je metaloid koji uz živu i olovo ima vrlo štetne učinke na ljudski organizam (PATRA, 2004). Poznati su primjeri epidemijskih zdravstvenih problema stotina tisuća ljudi (Bangladeš i Bengal) uzrokovanih onečišćenjem podzemnih voda arsenom (CHATTERJEE i sur., 1995.; DAS i sur., 1995.; DAS i sur. 1996.; ABERNATHY i sur., 1997.). Antropogeni izvori arsena u okolišu uključuju: izgaranje pri visokim temperaturama (elektrane na naftu i ugljen, spaljivanje otpada, cementare); otpad iz intenzivnog uzgoja; kompost i balegu; zbrinjavanje kućnog otpada; elektroničku industriju; proizvodnju i preradu rude; obradu metala; kemijske tvari (bojila i boje, sredstva za zaštitu drva, pesticidi, pirotehnika, sredstva za sušenje pamuka, reciklaža ulja i

otapala); farmaceutsku industriju (lijekovi) (SAVORY i WILLS, 1984.; PACYNA, 1987.; REIMANN i CARITAT, 1998.).

#### 2.8.6. Živa (Hg)

Živa je metal koji u anorganskom obliku dolazi u atmosferu iz antropogenih i prirodnih izvora. U atmosferi kruži i akumulira se kroz niz složenih fizikalno-kemijskih procesa na globalnoj razini i na području Arktika (AMAP, 2011.). Zbog njezinog dobro poznatog štetnog djelovanja na ljudski organizam nužno je djelovati s ciljem smanjenja antropogenih ispuštanja žive te smanjiti daljnje nakupljanje žive u okolišu (SCHARTUP i sur., 2022.; PATRA, 2004.).

### 2.9. Elementi u tragovima

#### 2.9.1. Bakar (Cu)

Bakar je prijelazni teški metal koji se prirodno nalazi u Zemljinoj kori iz koje ulazi u atmosferu trošenjem i erozijom, izbačen vulkanskim erupcijama ili kroz šumske požare. Spada u esencijalne minerale u tragovima i potreban je biljkama, životinjama i ljudima u mikrodozama. U rijetkim slučajevima može postati toksičan u višim koncentracijama (GAETKE i sur., 2014., YRUELA, 2009.). Glavni izvor onečišćenja bakrom, kao i većina onečišćenja teškim metalima, je posljedica rudarstva (CALLENDER, 2003.). Biljke trebaju bakar u mikrodozama za biološke funkcije te za normalan rast i razvoj.

#### 2.9.2. Cink (Zn)

Cink je prijelazni metal koji se često nalazi uz olovo i prirodno se pojavljuje u okolišu, ponajviše u Zemljinoj kori. U atmosferu dospijeva vulkanskom aktivnošću, erozijama, trošenjem stijena, isparavanjem i šumskim požarima (BRIFFA i sur., 2020.; CALLENDER, 2003.; SINGH i sur., 2011.). Esencijalni je mineral budući da ima biološke funkcije u biljkama, životinjama i ljudima (BRIFFA i sur., 2020.; BROWN i sur., 1993.; CABOT i sur., 2019.). Glavni izvor onečišćenja je iskopavanje cinka (CALLENDER, 2003.) dok istrošenost gumenih guma, proizvodnja cementa, spaljivanje otpada, rudarenje bakra, proizvodnja pesticida i gnojiva,

proizvodnja i taljenje željeza i čelika uvelike tome doprinose (BRIFFA i sur., 2020.; CALLENDER, 2003.; SINGH i sur., 2011.). Biljnim, životinjskim i ljudskim stanicama potrebna je homeostaza cinka za razvoj i preživljavanje jer i premalo i previše cinka mogu uzrokovati apoptozu stanica zbog nedostatka i toksičnosti (BRIFFA i sur., 2020.; CHASAPIS i sur., 2012.).

### 2.9.3. Mangan (Mn)

Mangan je drugi najzastupljeniji metal i 12. najzastupljeniji element u zemljinoj kori. Spada u esencijalne elemente u tragovima i nužan je za enzimske reakcije. Najveće kopneno nalazište na svijetu i ekonomske rezerve ovog elementa nalazi se u Kalahariju (KIRSCHVINK i sur., 2000.). Izvori onečišćenja su otpadne baterije i istrošene elektrode, ostaci iz industrije čelika. Minerali mangana zajedno s drugim rudama često se ispiru i završe u otpadnim vodama (DOBSON, 2004.; DAS i sur., 2011.).

### 2.9.4. Željezo (Fe)

Željezo je ključna endogena komponenta biljnog klorofila. Iako se u poljoprivrednom tlu nalazi u izobilju, njegovoj koncentraciji također doprinosi i gnojivo u obliku željeznog sulfata ( $\text{FeSO}_4$ ) za povećanje bioraspoloživosti (SHAN i sur., 2013.). Željezo u medu oksidira slobodne radikale kisika koje otpušta vodikov peroksid. Vodikov peroksid u medu se aktivira razrjeđivanjem. Za razliku od medicinskog vodikovog peroksida (obično 3%-ni), u medu je prisutan u koncentraciji od samo 1 mmol/L. Kada se med koristi lokalno (npr., obloga za rane), vodikov peroksid nastaje razrjeđivanjem s tjelesnim tekućinama. Kao rezultat, vodikov peroksid se sporo oslobađa i djeluje kao antiseptik (KUMAR i sur., 2010.).

## 2.10. Mikroskopska analiza

### 2.10.1. Melisopalinološka analiza

Melisopalinološka analiza meda klasična je metoda za određivanje botaničkog podrijetla meda, a trenutno se koristi i za određivanje geografskog podrijetla meda. To je jedna od najstarijih i najzahtjevnijih metoda koja zahtjeva visoke vještine i dobro uvježbane analitičare. Ova metoda



provodi se na mikroskopu brojanjem zrna peludi i određivanjem udjela pojedinih vrsta te otkrivanjem elemenata medljike. Peludna zrna razlikuju se po veličini, građi, boji, obliku eksine (stijenka peludnog zrna, može biti glatka, šupljikava, brazdasta), obliku (loptast, elipsodan, trokutast) i svako od ovih svojstava karakteristično je za određenu biljnu vrstu (BOGDANOV i MARTIN, 2002.). Peludna analiza može biti kvalitativna i kvantitativna. Kvalitativna analiza određuje botaničko i geografsko podrijetlo na temelju vrste peludnih zrnaca, a kvantitativnom analizom se određuje broj zrnaca i postotak pojedine vrste u 10 g uzorka meda (LOUVEAUX i sur., 1978.). Prednost ove metode jest što ne zahtijeva skupu opremu, dok je nedostatak potreba za visoko specijaliziranim osobljem. Pravilnikom o kakvoći uniflornog meda (NN 122/09, 141/13) zadani su zahtjevi kojima uniflori med mora udovoljiti pri proizvodnji i stavljanju na tržište Republike Hrvatske. Da bi se uniflori med mogao nazvati prema određenoj biljnoj vrsti u svom netopljivom sedimentu mora sadržavati najmanje 45% peludnih zrnaca iste vrste.

No, postoje biljke koje prirodno imaju podzastupljenu ili nadzastupljenu pelud u odnosu na danu količinu nektara. Pravilnik o kakvoći uniflornog meda (NN 122/09, 141/13) obuhvaća i te biljke te navodi minimalno propisane količine peludnih zrnaca za uniflori med proizveden od takvih biljaka. Primjerice, da bi se med od kadulje (*S. officinalis* L.) smatrao uniflorim udio peludnih zrnaca mora biti minimalno 15 % ili 10 % uz karakterističan miris, boju i okus za tu biljnu vrstu.

Budući da je pelud kadulje podzastupljena, a postotak peludi kadulje u sedimentu manji je od postotka odgovarajućeg nektara (RICCIARDELI D'ALBORE i GALARINI, 2000.), melisopalinološka procjena temeljila se na izražavanju reprezentativnosti peluda unutar četiri razreda učestalosti: "prevladavajuća pelud" (više od 45% peludnih zrnaca); "sekundarna pelud" (16–45%); "važan manji pelud" (3–15%); "najmanje peludi" (manje od 3%), kao i na prisutnost elemenata medljike (LOUVEAUX i sur., 1978.; VON DER OHE i sur., 2004.). Stoga treba uzeti u obzir i spektar peluda drugih nektarnih i ne-nektarnih biljnih vrsta. Najveći postotak peluda nektarnih biljaka potječe iz porodice Rhamnaceae, Sapindaceae (rod *Acer*) i Fagaceae (rod *Castanea*), dok izvori peluda ne-nektarnih biljaka pripadaju *Quercus* spp. (porodica Fagaceae) i vrstama iz porodice Graminaceae i Plantaginaceae (*Plantago* spp.). Sve biljke dijele razdoblje cvatnje kao i areal proširenosti. Ovaj karakterističan profil peludi i specifična kombinacija peludi drugih biljaka mogli bi se smatrati vrijednim pokazateljem geografskog podrijetla uzoraka

uniflornog meda kadulje. Uz melisopalinološku analizu, neizostavana je i senzorska analiza uzoraka meda kadulje da bi se potvrdila uniflornost (GAŠIĆ i sur., 2015.).

#### 2.11. Med kao bioindikator okolišnog onečišćenja

Toksični elementi i elementi u tragovima prisutni su prirodno u okolišu. U atmosferu dolaze prirodnim putem (vulkanskim erupcijama, šumskim požarima, erozijama) ili antropogenim djelovanjem (rudarstvo, industrija, promet). Teški metali iz atmosfere mogu se taložiti na tijelu pčele u dlačicama, pčele ih mogu unijeti u košnicu i/ili organizam peludom ili mogu biti aposrbirani u tijelo nektarom ili medljikom (PORRINI i sur., 2003.). Na akumuliranje teških metala u okolišu utječu vremenski uvjeti (kiša "ispere" čestice prašine dok vjetar "prenese" na drugo područje), godišnje doba (veće onečišćenje nektara u ljeto i jesen kada ga je manje nego u proljeće kad ga je više), a na med i botaničko podrijetlo (biljke s otvorenim cvijetom i pčelinji vosak više su izloženi onečišćenju) (PORRINI i sur., 2003.). Olovo i kadmij se istražuju puno više od žive i nikla. Olovo iz zraka i prometa izravno ulazi u nektar i medljiku. Utvrđene su manje koncentracije teških metala u medu nego u pčelama što je vjerojatno posljedica prerade meda (centrifugiranje i procjeđivanje) i uloge pčela kao filtera (LEITA i sur., 1996.). Ne postoji zakonska regulativa koja obvezuje uzorkovanje i pretragu meda na prisustvo i mjerenje koncentracije teških metala, no pčelinji proizvodi su prikladni za provođenje monitoringa onečišćenja okoliša olovom i kadmijem (BOGDANOV, 2006.).

### 3. Materijali i metode

#### 3.1. Uzorkovanje meda

Ukupno je prikupljeno 26 uzoraka meda koji su bili deklarirani kao med kadulje (*S. officinalis*). Uzorci meda prikupljeni su s područja Hrvatskog primorja i Dalmacije izravno od pčelara, pohranjeni u staklene posude te označeni. Bili su pohranjeni na sobnoj temperaturi, sklonjeni od svjetlosti do izvođenja analize. Najviše uzoraka prikupljeno je s otoka Paga (7 uzoraka) i s otoka Krka (5 uzoraka). S područja Kornata prikupljena su tri uzorka, dok su po dva uzorka prikupljena s područja Senja, Malog Lošinja i Žrnovice. Skupljen je i po jedan uzorak s područja Omišlja, Cresa, Grebašnice, Krasice i Novog Vinodolskog.

Uzorak iz Krasice eliminiran je jer je utvrđeno nasilno sušenje i gruba termička obrada, a jedan od uzoraka iz Žrnovice eliminiran je zbog utvrđene previsoke vlage te evidentne prisutnosti defekta (vrenja). Drugi uzorak iz Žrnovice i onaj prikupljen u Novom Vinodolskom svrstani su u medune.

Svi uzorci vrcani su između 28.5.2021. i 18.7.2021. Preostala 24 uzorka meda (uključujući i medune) podvrgnuti su analizi.

**Tablica 3.** Podrijetlo prikupljenih uzoraka meda kadulje.

Mjesto skupljanja	Broj uzoraka
Otok Pag	7
Otok Krk	5
Kornati	3
Senj	2
Mali Lošinj	2
Žrnovica	2
Omišalj	1
Cres	1

Grebaštica	1
Krasica	1
Novi Vinodolski	1

### 3.2. Senzorska analiza

Senzorska analiza provedena je po HUSAM (Hrvatska udruga senzorskih analitičara meda) obrascu za uniflorne med. S obzirom da nisu svi uzorci zadovoljili kriterije uniflornog meda od kadulje, korišteni su i obrasci za multiflorne medove. Obrazac se temelji na ocjenjivanju i opisivanju uzoraka meda kako bi se potvrdilo ili opovrgnulo deklarirano geografsko i botaničko podrijetlo meda te na taj način služi kao dopunska metoda fizikalno-kemijskoj i melisopalinološkoj analizi. Svaki parametar ocjenjuje se na skali od 0-100, ali i ukupni broj bodova je najviše 100 jer nemaju svi parametri jednak faktor značajnosti. Obrasci se razlikuju u tome što kod ocjenjivanja uniflornih medova postoji dodatan parametar 'boja-podudarnost' jer se ocjenjuje u kojoj se mjeri uzorak približava idealnom standardnom imaginarnom obrascu meda kadulje, dok kod ocjenjivanja multiflornih medova tog parametra nema jer podudarnost nije poželjna, već da je uzorak što dalje od uniflornih. Forma obrazaca za uniflorne i multiflorne medove je u Prilogu 2.

### 3.3. Induktivno spregnuta plazma s masenom detekcijom (ICP-MS)

Razvijena metoda prikladna je za kvantitativno određivanje metala u hrani i hrani za životinje primjenom ICP-MS. Koncentracija analita određuje se iz kalibracijske krivulje čiji je raspon od 1-500 µg/L.

### 3.3.1. Opis metode

Induktivno spregnuta plazma je struja visoko ioniziranog argona koji prolazi kroz magnetno polje zavojnice. Visoko frekventno magnetno polje ionizira argon, koji je inertni plin i formira se plazma. Plazma razvija temperature od 8000 do 10000K što joj omogućuje determinaciju oko 75 elemenata iz periodnog sustava.

Ova toplinska energija atomizira i ionizira uzorak. Ioni, zajedno s argonom, ulaze u maseni spektrometar preko sučelja koje razdvaja ICP, radeći pri atmosferskom tlaku (oko 760 tora), od masenog spektrometra koji radi na približno  $10^{-5}$  tora. Maseni spektrometar omogućuje detekciju iona na svakom omjeru mase i naboja u brzom slijedu, omogućujući određivanje pojedinačnih izotopa elementa. Nakon ulaska u maseni spektrometar, ioni prolaze kroz ionsku optiku, zatim kvadrupol prije nego što budu detektirani na detektoru. Ionska optika fokusira snop iona pomoću električnog polja. Plinove koje ICP koristi su argon, helij i vodik. Argon nam služi da bi formirali plazmu i očistili sistem od nečistoća prilikom pokretanja aparata dok helij služi za uklanjanje interferencija.

U ovom istraživanju utvrđivali smo prisutnost 10 elemenata u uzorcima meda kadulje: kadmija, kroma, nikla, olova, arsena, žive, bakra, cinka, mangana i željeza.

### 3.3.2. Priprema uzoraka

#### *Potrebne kemikalije*

- Ultračista voda
- Nitratna kiselina 67-69% suprapur čistoće
- Vodik-peroksid 30%
- Mješavina kalibracijskih standarda
- Mješavina internih standarda

#### *Potrebna oprema i materijal*

- Analitička vaga (preciznost  $\pm 0,0001$  g)
- Tehnička vaga (preciznost  $\pm 0,0001$  g)
- Odmjerne tikvice od 100 mL (Klasa A, preciznost  $\pm 0,1$  mL)

- Odmjerne tikvice od 25 mL (Klasa A, preciznost  $\pm 0,06$  mL)
- Pipete: za volumene do 100  $\mu$ L, do 200  $\mu$ L, do 500  $\mu$ L, do 1000  $\mu$ L
- Homogenizator s noževima (ili mikser)
- Digestor
- Hladnjak +2/+8 °C
- Ledenica s najnižom temperaturom od –18 °C
- ICP-MS, Agilent ICP-MS system Model 7900 (Agilent, Palo Alto, CA, SAD)
- Polipropilenske epruvete sa čepom od 50 ml
- Argon 5,0
- Helij 6.0
- Uljni kompresor zraka
- Uređaj za mikrovalnu razgradnju (mikrovalna pećnica) UltraWAVE ECR MW, Milestone Srl, Italija

Uzorci meda (0,5g) izvagani su u teflonske posudice. U UltraWAVE ECR MW dodano je 1mL deionizirane vode i 2,5 mL nitratne kiseline. Za slijepu probu reagensu u jednu posudicu je dodano 1 mL deionizirane vode i 2,5 mL nitratne kiseline u UltraWAVE ECR MW. Posudice su dobro zatvorene i stavljene u MW peć. Zatim se provodila mikrovalna razgradnja programom u dva koraka: (I) 20 min. na 1500W, 220°C i 110bar, (II) 10 min. na 1500 W, 220°C i 110bar. Nakon mikrovalne digestije i hlađenja na sobnu temperaturu, sadržaj posudica kvantitativno se prenio u odmjerne tikvice od 50 mL uz ispiranje sadržaja ultračistom vodom kako bi gubici analita bili što manji. Kvantitativna analiza provedena je preko metode kalibracijske krivulje. Kalibracijske krivulje izgrađene su s najmanje pet koncentracija standarda po elementu. Granice detekcije (LOD) izračunate su kao trostruka standardna devijacija od 20 uzastopnih mjerenja slijepa probe reagensu, pomnožena faktorom razrjeđenja korištenim za pripremu uzorka. Kvaliteta podataka provjerena je analizom certificiranog referentnog materijala SRM 1515 lišće jabuke (Nacionalni institut za standarde i tehnologiju, Gaithersburg, Maryland, SAD). Referentni materijal je tretiran i analiziran pod istim uvjetima kao uzorci.

### *Priprema negativne kontrole*

Za negativnu kontrolu koriste se uzorci u kojima su u prijašnjim analizama utvrđene koncentracije ispitivanih metala ispod limita kvantifikacije. Ukoliko nije moguće pronaći negativni uzorak, koristi se onaj s najmanje pronađenim koncentracijama ispitivanog analita.

### *Priprema obogaćenog uzorka*

Za obogaćenje se koriste uzorci u kojima su u prijašnjim analizama utvrđene koncentracije ispitivanih metala ispod limita kvantifikacije ili najmanjih pronađenih koncentracija i u njih se dodaju određene koncentracije analita (MDK vrijednosti).

### 3.3.3. Izvođenje

#### *Kalibracija*

Kalibraciju instrumenta provelo se u minimalno četiri točke i to prema Tablici 2. Svaka točka očitavala se u tri ponavljanja. Pri tome minimalni broj točaka na kalibracijskom pravcu je četiri, a kriterij za koeficijent korelacije je  $\geq 0.995$ .

Za kalibriranje instrumenta bilo je potrebno pripremiti mješavinu otopine standarda metala kao što slijedi (Tablica 4). Postavke instrumenta namještene su prema uputama proizvođača u normalnom (bez plina) modu i helij modu.

**Tablica 4.** Mješavina otopine korištenih standarda elemenata.

Element	Koncentracije standarda ( $\mu\text{g/L}$ )								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Cd</b>	0,1	0,25	1	5	10	20	50	100	500
<b>Cr</b>	0,1	0,25	1	5	10	20	50	100	500
<b>Ni</b>	0,1	0,25	1	5	10	20	50	100	500

<b>Pb</b>	0,1	0,25	1	5	10	20	50	100	500
<b>Cu</b>	0,1	0,25	1	5	10	20	50	100	500
<b>Zn</b>	0,1	0,25	1	5	10	20	50	100	500
<b>Mn</b>	0,1	0,25	1	5	10	20	50	100	500
<b>Fe</b>	10	25	100	500	1000	2000	5000	10000	50000
<b>As</b>	0,1	0,25	1	5	10	20	50	100	500

### *Mjerenje*

Pripremljeni uzorci su postavljeni u instrument u za to odgovarajuće polipropilenske epruvete, te su analizirani. Redoslijed očitavanja uzoraka nakon kalibracije: ICV → specifikacija reagensa → QC kontrola → uzorci → CCV (svakih 20 uzoraka) → QC kontrola.

Uzorak se automatskim uzorkovačem preko niza cjevčica i pumpe ubacuje u nebulizer (raspršivač) u komoru za raspršivanje gdje se miješa s inertnim plinom nosiocom argonom te se stvara fini aerosol. Uzorak u obliku aerosola nošen plinom (Ar) prolazi kroz plazmu gdje se ionizira. Zatim se propušta kroz konove, niz leća i analizator masa (quadropole) kako bi se propustili ioni od interesa. Propušteni ioni se detektiraju selektivno s obzorom na razliku mase i naboja  $m/z$ . Detektirana vrijednost se prikazuje kao „count“ (CPS) te se preko kalibracijskog pravca računa koncentracija (mg/kg) u uzorku. Prilikom izračuna koncentracije treba uzeti u obzir faktor razrjeđenja koji se razlikuje ovisno o masi odvage uzorka i volumena otapala.

### 3.4. Statistička obrada podataka

Statističke analize provedene su pomoću programa Statistica 10 (StatSoft® Inc., Tulsa, SAD). Koncentracije elemenata u različitim tipovima meda izražene su u mg/kg. Za određivanje distribucije podataka korišten je Shapiro-Wilkov test. Statistički značajne razlike izražene su na razinu vjerojatnosti od 0,05.



## 4. Rezultati

Rezultati su prikazani u Tablicama 5. do 8.

**Tablica 5.** Rezultati senzorske analize.

Šifra uzorka	Deklarirano	Izgled	Čistoća	Boja - podudarnost	Aroma - podudarnost	Okus	Taktilna prijatnost	Bodovi - medijana
181	Kadulja	99,0	100,0	89,5	96,0	97,5	99,0	97,09
314	Kadulja	93,5	100,0	93,5	95,5	97,5	98,5	96,79
185	Kadulja	97,5	100,0	95,0	95,5	95,9	98,0	96,38
621	Kadulja	95,0	100,0	95,0	95,0	95,0	95,0	95,42
356	Kadulja	100,0	100,0	97,5	94,0	90,0	97,0	94,16
627	Kadulja	93,0	97,5	95,0	96,0	90,0	98,5	93,77
321	Kadulja	100,0	100,0	94,0	93,0	87,5	100,0	93,12
352	Kadulja	97,5	100,0	90,0	90,0	91,0	95,5	92,69
351	Kadulja	98,0	100,0	90,0	92,5	90,0	94,0	92,61
625	Kadulja	97,5	100,0	99,0	90,0	87,5	99,0	92,58
202	Kadulja	95,0	97,0	94,0	90,0	90,0	96,0	92,24
823	Kadulja	96,5	97,5	85,0	90,0	90,0	96,5	91,73
203	Kadulja	92,5	97,5	90,0	90,0	88,5	97,0	91,29
854	Kadulja	96,5	97,5	81,0	92,5	89,0	91,0	90,67
201	Kadulja	100,0	92,5	90,0	90,0	85	98,0	90,26
703	Kadulja	97,0	99,0	87,5	90,0	82,5	90,0	88,14
212	Kadulja	85,0	100,0	90,0	80,0	85,0	92,0	86,74
416	Kadulja	95,0	100,0	90,0	90,0	77,5	90,0	86,27
816	Kadulja	97,0	93,5	80,0	85,0	80,0	90,0	85,06
482	Kadulja	85,0	91,5	87,5	87,5	80,0	88,5	84,78
419	Kadulja	92,5	97,5	87,5	82,5	80,0	86,5	84,62
204	Kadulja	90,0	100,0	87,0	80,0	80,0	90,0	84,61
341	Kadulja	90,0	87,5	90,0	80,0	77,5	85,0	82,06
417	Kadulja	90,0	97,5	80,0	89,0	72,5	85,0	81,86

855	Kadulja	95,5	100,0	70,0	82,5	71,0	81,0	79,20
210	Kadulja	55,0	75,0	50,0	50,0	50,0	50,0	52,52

**Tablica 6.** Rezultati fizikalno-kemijske i melisopalinološke analize uzoraka meda kadulje.

Šifra uzorka	Utvrđena vrsta	Datum vrcanja	Lokacija vrcanja	Peludna kadulja %	Vlaga %	HMF mg/kg	EP mS/cm <sup>2</sup>	Dijastaza	Najzastupljenija pelud
181	Kadulja	21.06.2021.	Senj	20	14,54	3,70	0,37	22,22	
314	Kadulja	10.06.2021.	Bunica, Senj	48	15,73	3,72	0,32	26,00	
185	Kadulja	18.06.2021.	Pag	24	14,55	4,72	0,31	20,00	57% Rhamnaceae
621	Kadulja	20.06.2021.	Stara Baška	16	16,73	6,46	0,39	25,00	46% Rhamnaceae
356	Kadulja	20.06.2021.	Šimuni, Pag	38	15,05	8,35	0,28	23,00	
627	Kadulja	Lipanj 2021.	Stara Baška	26	15,76	4,56	0,31	18,18	
321	Kadulja	15.06.2021.	Omišalj	34	16,11	6,59	0,45	25,00	
352	Kadulja	10.07.2021.	Proboj, Pag	2	15,05	5,28	0,44	33,33	69% Rhamnaceae
351	Kadulja	01.07.2021.	Stara Baška	8	16,31	2,71	0,45	30,00	
625	Kadulja	08.06.2021.	Cres	7	15,30	0,00	0,60	31,50	82% Rhamnaceae
202	Kadulja	Lipanj 2021.	Stara Baška	24	15,66	5,66	0,45	35,29	
823	Kadulja	15-16.06.2021.	Stara Baška	20	15,77	2,46	0,321	27,77	63% Rhamnaceae
203	Kadulja	25.06.2021.	Nerezine, otok Lošinj	10	15,74	0,00	0,62	24,00	58% Rhamnaceae
854	Kadulja	28.06.2021.	Šimuni, otok Pag	27	15,39	0,00	0,256	21,43	
201	Kadulja	21.06.2021.	Nerezine, otok Lošinj	1	14,99	0,00	0,58	20,69	62% Myrtaceae
703	Kadulja	28.06.2021.	Šimuni, otok Pag	27	15,39	0,00	0,256	21,43	
212	Medun	18.06.2021.	Žrnovica, Sv. Juraj	7	16,65	0,00	1,03	54,54	67% Rhamnaceae
416	Kadulja	03.06.2021.	Kornati	86	16,16	8,53	0,21	11,54	
816	Kadulja	28.06.2021.	Šimuni, otok Pag	33	15,87	0,00	0,234	18,75	50% Rhamnaceae
482	Kadulja	28.05.2021.	Grebaštica	4	16,00	7,78	0,43	23,07	49% Rhamnaceae
419	Medun	03.07.2021.	Zaleđe, Novi Vinodolski	3	17,58	0,00	0,87	28,57	38% Tillia
204	Kadulja	21.06.2021.	Šimuni	12	14,21	10,20	0,39	20,00	
417	Kadulja	01.06.2021.	Vrulje, Kornati	35	16,60	12,10	0,24	10,90	
855	Kadulja	01.06.2021.	Vrulje, Kornati	35	16,60	12,10	0,24	10,90	

Uzorci meda analizirani su metodom induktivno spregnute plazme s masenom detekcijom (ICP-MS). Rezultati su prikazani u Tablici 7.

**Tablica 7.** Koncentracija toksičnih elemenata u uzorcima meda kadulje.

Šifra uzorka	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)	As (mg/kg)	Hg (mg/kg)
181	0,00065	0,00875	0,04741	0,04884	0,00204	<0,001
314	0,00033	0,00462	0,15548	<0,01	0,00119	<0,001
185	0,00033	0,00175	0,01367	0,00134	0,00087	<0,001
621	0,00044	0,01443	0,05860	<0,01	0,00161	<0,001
356	0,00052	0,00283	0,01906	0,00468	0,00149	<0,001
627	0,00058	0,00699	0,05911	0,01	0,00163	<0,001
321	0,00066	0,00187	0,00929	0,00047	0,00104	<0,001
352	0,00062	0,01426	0,01064	<0,01	0,00103	<0,001
351	0,00053	0,01594	0,07664	0,00193	0,00206	<0,001
625	0,00027	0,00830	0,00594	<0,01	0,00138	<0,001
202	0,00061	0,01182	0,01270	0,01765	0,00184	<0,001
823	0,00043	0,00285	0,16876	<0,01	0,00098	<0,001
203	0,00036	0,18687	0,34951	<0,01	0,00184	<0,001
201	0,00050	0,00395	0,03311	<0,01	0,00212	<0,001
703	0,00043	0,00754	0,16462	<0,01	0,00148	<0,001
212	0,00058	0,01674	0,15432	0,00424	0,00235	<0,001
416	0,00038	0,00376	0,01833	<0,01	0,00133	<0,001
816	0,00045	0,00382	0,06222	0,00034	0,00122	<0,001
482	0,00168	0,00540	0,06192	<0,01	0,00174	<0,001
419	0,00082	0,00146	0,09136	<0,01	0,00127	<0,001
204	0,00036	0,00863	0,11368	0,00668	0,00171	<0,001
417	0,00042	0,00293	0,03929	<0,01	0,00096	<0,001

LOD mg/kg	<0,003	<0,005	<0,006	<0,003	<0,003	<0,001
LOQ mg/kg	<0,01	<0,021	<0,019	<0,01	<0,01	<0,001

\*LOD – limit detekcije

\*LOQ – limit kvantifikacije

**Tablica 8.** Koncentracija elemenata u tragovima u uzorcima meda kadulje.

Šifra uzorka	Mn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)
181	0,21523	0,44128	0,30245	0,62649
202	0,19880	0,55261	0,21669	0,57757
203	0,23795	1,63136	0,41599	1,00605
204	0,22434	0,73773	0,23025	0,45852
201	0,27311	0,95655	0,47218	0,67240
621	0,45932	0,30831	0,24372	0,33739
212	0,51828	2,45836	0,59973	1,34876
419	0,55001	0,90365	0,28621	0,81003
314	0,07436	0,36993	0,34743	0,25971
816	0,05729	0,25153	0,19450	0,73985
482	0,27914	0,77837	0,21346	0,49051
627	0,12221	1,22869	0,18413	0,96009
185	0,11343	0,05807	0,19801	0,36242
352	0,21869	0,42693	0,14724	0,58814
351	0,25624	0,96277	0,27023	0,36758
823	0,10265	0,11791	0,15960	0,28871
703	0,26569	0,32806	0,18179	0,19666
356	0,07958	1,13760	0,18372	0,26085
416	0,04046	0,09771	0,01841	0,13761
321	0,15151	0,43942	0,27067	0,37180

417	0,04484	0,09508	0,03452	0,16150
625	0,21395	0,20006	0,17818	1,35255
<b>LOD</b>	<b>&lt;0,006</b>	<b>&lt;0,002</b>	<b>&lt;0,003</b>	<b>&lt;0,006</b>
<b>LOQ</b>	<b>&lt;0,021</b>	<b>&lt;0,006</b>	<b>&lt;0,010</b>	<b>&lt;0,017</b>

\*LOD – limit detekcije

\*LOQ – limit kvantifikacije

## 5. Rasprava

Našim istraživanjem potvrđivali smo uniflornost uzoraka meda od kadulje melisopalinološkom analizom, analizom fizikalno-kemijskih parametara i ocjenjivanjem senzorskih svojstava te mjerili koncentracije toksičnih elemenata i elemenata u tragovima u uzorcima meda kadulje s područja Hrvatskog primorja i Dalmacije.

Melisopalinološka analiza provedena je kako bi se utvrdilo botaničko podrijetlo meda. Kadulja je prirodno hipopolenska mediteranska biljka s malom količinom peluda u cvjetovima (LUŠIĆ i sur., 2008.), no svejedno je zabilježen visok udio peludnih zrnaca, u jednom uzorku čak 86%. Rezultati, tj. postotak peludnih zrnaca prikazani su u Tablici 6.

Također, Tablicom 6. prikazani su rezultati mjerenja fizikalno-kemijskih parametara meda. U jednom od uzoraka zabilježen je udio vode 21,46% što je više nego što je zakonom propisano i dozvoljeno za stavljanje meda na tržište, stoga je taj uzorak eliminiran. Također, u tom uzorku utvrđeno je posljedično vrenje što je dodatan razlog eliminacije. Ostali uzorci zadovoljavali su propisanom udjelu vode.

Hidroksimetilfurfural u svim uzorcima nije prelazio maksimalno dozvoljenih 40mg/kg, no u jednom uzorku ipak je dosegao i 22,8 mg/kg što može biti pokazatelj prekomjernog zagrijavanja meda prilikom punjenja.

Električna vodljivost služi kao dobar kriterij za određivanje botaničkog podrijetla meda odnosno za razlikovanje nektarnog meda od medljikovca. Dva uzorka imaju električnu vodljivost veću od 0,8mS/cm<sup>2</sup> što nam govori da ne spadaju u nektarne medove nego u medune.

Od 26 prikupljenih uzoraka, 2 su eliminirana, a preostala 22 uzorka meda i 2 uzorka meduna podvrgnuta su daljnjoj analizi utvrđivanja koncentracije toksičnih elemenata i elemenata u tragovima. Uzorci su analizirani metodom induktivno spregnute plazme s masenom detekcijom (ICP-MS).

Ovim radom utvrđene su razlike u mineralnom sastavu i senzornim karakteristikama medova istog botaničkog podrijetla (*S. officinalis* L.) koji su potjecali iz različitih regija Hrvatske. Dosadašnja istraživanja potvrđuju utjecaj pčelarske sezone, odnosno utjecaj godišnjih doba na kemijski sastav u medu te utjecaj geografskog podrijetla (BILANDŽIĆ i sur., 2019.).

Med kadulje općenito ima nizak udio minerala (LUŠIĆ i sur., 2008.), ali ima visok udio kalija. Da je kalij kvantitativno najzastupljeniji potvrdilo je i naše istraživanje. Udio se kretao između 384 i 2268 mg/kg. Istraživanje mineralnog profila meda kadulje pomaže u kontroli kvalitete te pruža informacije o ukupnom sadržaju minerala, sadržaju pojedinih minerala ili razini toksičnih metala kao što su Pb, Cd, Cr, Hg i As u svrhu poboljšanja uvjeta pčelarenja i unaprjeđenja pčelarske prakse (LOUPPIS, 2019.). Potrošači meda obavezno moraju biti upoznati s kvalitetom meda koji kupuju tako da su njihova prava, zdravlje i prehrana zaštićeni.

Procjena sadržaja teških metala u medu ukazuje na mogućnost korištenja pčela i njihovih proizvoda kao bioindikatora mogućeg onečišćenja okoliša (PRZYBYŁOWSKI i WILCZYNSKA, 2001.). Tu nam pomaže činjenica da pčele preljeću veliko područje prilikom paše kao i kumulativni učinak onečišćivača okoliša u pčelinjim proizvodima.

## **6. Zaključci**

Od ukupno pretraženih 26 uzoraka meda potvrdili smo da prema botaničkom podrijetlu medu od kadulje pripada 15 uzoraka.

Senzorskom analizom potvrđena je visoka kvaliteta meda od kadulje podrijetlom iz Senja i otoka Paga.

Analizom rezultata pretraživanja uzoraka meda od kadulje utvrđena je niska koncentracija toksičnih metala te zadovoljavajuća koncentracija esencijalnih mikroelemenata čime zadovoljavaju kriterij sigurnosti hrane pri stavljanju na tržište.



## 7. Literatura

1. ABERNATHY, C. O., R. L., CALDERON, W. R. CHAPPELL (1997): Arsenic exposure and health effects. Proceedings 2<sup>nd</sup> International conference Arsenic exposure health effects, 12-14 June, San Diego, California. London: Chapman and Hall, 429.
2. ABTAR, H. K., J. J. TERRO, E. EL-HELOU, K. M. JAMMOUL, R. S. LAKKIS, N. H. ISMAIL, M. A. AL-RAISHOUNI, C. J. AOUN (2022): Manuka Honey Versus Wet to Dry Dressing for Wound Closure Time After Open Pilonidal Sinus Surgery. *Int. J. Clin. Res.* 3, 85-91.
3. AGHAMIRLOU, H. M., M. KHADEM, A. RAHMANI, A. SADEGHIAN, A. H. MAHVI, A. AKBARZADEH, S. NAZMARA (2015): Heavy metals determination in honey samples using inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *J. Environ. Health Sci.* 13, 39.
4. AJIBOLA, A., J. P. CHAMUNORWA, K. H. ERLWANGER (2012): Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutr. Metab.* 9, 61.
5. ALANDEJANI, T., J. G. MARSAN, W. FERRIS, S. ROBERT, F. CHAN (2017): Effectiveness of Honey on *S. aureus* and *P. aeruginosa* Biofilms. *Otolaryngol. Head Neck Sur.* 139, 107-107.
6. ALVAREZ-SUAREZ, J. M., S. TULIPANI, D. DIAZ, Y. ESTEVEZ, S. ROMANDINI, F. GIAMPIERI, E. DAMIANI, P. ASTOLFI, S. BOMPADRE, M. BATTINO (2010): Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem. Toxicol.* 48, 2490-2499.
7. AMAP Assessment (2011): Mercury in the Arctic. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway.
8. ANONIMUS (2015, 2017): Pravilnik o medu. *Narodne novine* (53/15, 47/17).
9. ANONIMUS (2009, 2013): Pravilnik o kakvoći uniflornog meda. *Narodne novine* (122/09, 141/13).

10. ANONIMUS (2001): Codex Alimentarius, Codex standard 12, Revised Codex Standard for Honey, Standards and Standard Methods, Vol. 11.
11. ANONIMUS (2002): European Commission (2002) Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey, OJEU, 47-52.
12. ANONIMUS (2008): Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani. NN (154/2008).
13. ANONIMUS (2008): Pravilniku o planu uzorkovanja i metodama analiza za službenu kontrolu količina olova, kadmija, žive, anorganskog kositra, 3-monoklorpropandiola i benzo(a)pirena u hrani. NN (45/2008).
14. ATANASSOVA, J., D. PAVLOVA, M. LAZAROVA, L. YURUKOVA (2016): Characteristics of honey from serpentine area in the eastern Rhodopes Mt. Bulgaria. Biol. Trace Elem. Res. 173, 247–258.
15. ATSDR (2008): Chromium Toxicity, Where Is Chromium Found? Dostupno: <https://www.atsdr.cdc.gov/csem/csem.asp?csem=10&po=5>.
16. AUBERT, S., M. GONNET (1983): Mesure de la couleur des miels, Apidologie 14, 105-118.
17. BAKER, H. G., I. BAKER (1982): Chemical Constituents of Nectar in Relation to Pollination Mechanisms and Phylogeny. Biochemical Aspects of Evolutionary Biology. University of Chicago Press: Chicago, 898–902.
18. BALL, D. W. (2007): The Chemical Composition of Honey. J. Chem. Educ. 84., 10.
19. BARCELOUX, D. G. (1999): Nickel. J. Toxicol.: Clin. Toxicol., 37:2, 239-258.
20. BARGANSKA, Z., M. SLEBIODA, J. NAMIESNIK (2015): Development of a gas chromatography – Tandem mass spectrometry procedure for determination of pesticide residues in honey and honeybee samples. J. Chromatograph Separat. Techniq. S6-002.
21. BARGANSKA Z., M. SLEBIODA, J. NAMIESNIK (2016): Honey bees and their products: Bioindicators of environmental contamination. Critical Reviews in J. environ. health sci. 46, 235-248.
22. BILANDŽIĆ, N., I. T. GAJGER, B. ČALOPEK, M. SEDAK, B. S. KOLANOVIĆ, I. VARENINA, Đ. B. LUBURIĆ, I. VARGA, M. ĐOKIĆ (2015): Sadržaj teških metala i elemenata u tragovima u različitim vrstama meda iz Dubrovačke županije. Veterinarska stanica 46, 359-368.

23. BILANDŽIĆ, N., M. SEDAK, M. ĐOKIĆ, A. G. BOŠKOVIĆ, T. FLORIJAČIĆ, I. BOŠKOVIĆ, M. KOVAČIĆ, Z. PUŠKADIJA, M. HRUŠKAR (2019): Element content in ten Croatian honey types from different geographical regions during three seasons. *J. Food Compost. Anal.* 84, 103-305.
24. BILUCA, F. C., F. BRAGHINI, L.V. GONZAGA, A.C.O. COSTA, R. FETT: Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (*Meliponinae*). *J. Food Compost. Anal.* 50, 61-69.
25. BLASA, M., M. CANDIRACCI, A. ACCORSI, M.P. PIACENTINI, M. C. ALBERTINI, E. PIATTI (2006): Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chem.* 97, 217-222.
26. BROWN, P. H, I. CAKMAK, Q. ZHANG (1993): Form and Function of Zinc Plants. *Zinc Soil. Plants.* 55, 93-106.
27. BOGDANOV, S., P. MARTIN, C. LÜLLMANN (1997): Harmonised methods of the European Honey Commission. *Apidologie*, 1-59.
28. BOGDANOV, S. (1999): Water content: comparison of refractometric methods with the Karl Fischer Method. Annual meeting of the International Honey Commission, Dijon.
29. BOGDANOV, S. (2002): Harmonised Methods of the International Honey Commission, Swiss Bee Research Centre, Bern, Switzerland.
30. BOGDANOV, S., K. RUOFF, L. PERSANO ODDO (2004): *Apidologie*, 35 (2004) S4-S17.
31. BOGDANOV, S. (2006): Contaminants of bee products. *Apidologie* 37, 1-18.
32. BOGDANOV, S., M. HALDIMANN, W. LUGINBUHL, P. GALLMAN (2007): Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. 269-275.
33. BOGDANOV, S., T. JURENDIC, R. SIEBER, P. GALLMANN (2009): Honey for Nutrition and Health: A Review. *J. Am. Coll. Nutr.* 27, 677-689.
34. BRIFFA, J., E. SINAGRA, R. BLUNDELL (2020): Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*. Vol. 6, 46-91.
35. CABOT, C., S. MARTOS, S. LLUGANY, B. GALLEGU, R. TOLRA, C. POSCHENRIEDER (2019): A Role for Zinc in Plant Defense Against Pathogens and Herbivores. *Front. Plant Sci.* 10, 1-15.

36. CALLENDER, E. (2003): Heavy Metals in the Environment-Historical Trends. *Treatise on Geochemistry* 9, 67-105.
37. CARON, D. M., L.J. CONNOR (2013): Honey bee biology and beekeeping. Wicwas Press, SAD, 259-260.
38. CHASAPIS, C. T., A. C. LOU SIDOU, C. A. SPILIOPOULOU, M. E. STEFANIDOU (2012): Zinc and human health: An update. *Arch. Toxicol.* 86, 521-534.
39. CHATTERJEE, A., D. DAS, B. K. MANDAL, T. R. CHOWDHURY, G. SAMANTA, D. CHAKRABORTI (1995): Arsenic in groundwater in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the world. Part I: arsenic species in drinking water and urine of affected people. *Analyst*, 120, 643-650.
40. CONTI, M. E., F. BOTRE (2001): Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environ. Monit. Assess.* 69, 267-282.
41. CORNARA, L., M. BIAGI, J. XIAO, B. BURLANDO (2017): Therapeutic Properties of Bioactive Compounds from Different Honeybee Products. *Front. Pharmacol.* 8, 412.
42. DAS, D., A. CHATTERJEE, B. K. MANDAL, G. SAMANTA, D. CHAKRABORTI (1995): Arsenic in groundwater in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the world. Part 2: arsenic concentration in drinking water, hair, nails, urine, skin-scale and liver tissue (biopsy) of the affected people. *Analyst*, 120, 917-924.
43. DAS, D., G. SAMANTA, B. K. MANDAL, i sur. (1996): Arsenic in groundwater in six districts of West Bengal, India. *Environ. Geochem. Health.*, 18, 5-16.
44. DAS, A. P., L.B. SUKLA, N. PRADHAN, S. NAYAK (2011): Manganese biomining: A review. *Bioresour. Tehnol.* 102, 7381-7387.
45. DOBSON, A.W., K. M. ERIKSON, M. ASCHNER (2004): Manganese Neurotoxicity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1012: 115-128.
46. ERTANI, A., A. MIETTO, M. BORIN, S. NARDI (2017): Chromium in Agricultural Soils and Crops: A Review. *Wat., Air, & Soil Pollution.* 228.
47. EUROPEAN COMMISSION. COMMISSION REGULATION (EU) No. 2015/1005 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of lead in certain foodstus. *O. J. Eur. Union* 161, 9-13.

48. GAD, S.C, T. PHAM (2014): Lead. Philip Wexler Encyclopedia of Toxicology. 3rd ed. London: Elsevier. 61-65.
49. GAETKE, L.M, H. S. CHOW-JOHNSON, C. K. CHOW (2014): Copper: Toxicological relevance and mechanisms. Arch. Toxicol. 88, 1929–1938.
50. GENCHI, G., M. S. SINICROPI, G. LAURIA, A. CAROCCI, A. CATALANO (2020): The Effects of Cadmium Toxicity. Int. J. Environ. Res. and Public Health. 17, 3782.
51. GOODMAN, L. (2003): Form and Function in the Honeybee. IBRA, Cardiff.
52. HERRERA, C. M. (1990): Daily patterns of pollinator activity, differential pollinating effectiveness, and floral resource availability, in a summer-flowering Mediterranean shrub. Oikos 58: 277-288.
54. ISHAQUE, A., S. ISHAQUE, A. ARIF, H. G. ABBAS (2020): Toxic Effects of Lead on Fish and Human. BCSRJ 1, 1-7.
55. KENJERIĆ, D., M. L. MANDIĆ, LJ. PRIMORAC, F. ČAČIĆ (2008): Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifloral honey. Food Chem. 110, 187-192.
56. KIRSCHVINK, J. L., E. J. GAIDOS, L. E. BERTANI, N. J. BEUKES, J. GUTZMER, L. N. MAEPA, R. E. STEINBERGER (2000): Paleoproterozoic snowball earth: extreme climatic and geochemical global change and its biological consequences. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 1400-1405.
57. KOVAČIK, J., J. GRUZ, O. BIBA, J. HEDBAVNY (2016): Content of metals and metabolites in honey originated from the vicinity of industrial town Košice (eastern Slovakia). Environ. Sci. Pollut. Res. 23, 4531-4540.
58. KRELL, R. (1996): Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural services bulletin, 124, Rim, Italija.
59. KUMAR, K. P. S., D. BHOWMIK, CHIRANJIB, BISWAJIT, M. R. CHANDIRA (2010): Medicinal uses and health benefits of Honey: An Overview. J. Chem. Pharm. Res. 2, 385-395.
60. LEITA, L., G. MUHLBACHOVA, S. CESCO, R. BARBATTINI, C. MONDINI (1996): Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination. Environ. Monit. Assess. 43, 1-9.
61. LOUPPIS, A. P., KARABAGIAS, I. K., PAPASTEPHANOU, C., BADEKA, A. (2019): Two-Way Characterization of Beekeepers' Honey According to Botanical

- Origin on the Basis of Mineral Content Analysis Using ICP-OES Implemented with Multiple Chemometric Tools. *Foods*. 8, 210.
62. LUŠIĆ, D., O. KOPRIVNJAK, D. JURIĆ, A. G. SABATINI, L. S. CONTE (2007): Volatile Profile of Croatian Lime Tree (*Tilia* sp.), Fir Honeydew (*Abies alba*) and Sage (*Salvia officinalis*) Honey. *Food Technol. Biotechnol.* 45, 156-165.
  63. LUŠIĆ, D., S. SPONZA, O. KOPRIVNJAK, A. G. SABATINI, C. MESSNER (2008): Mineral Content Of Sage Honey (*Salvia officinalis* L.) Deriving From North West Croatia. The 2008 Joint Central European Congress.
  64. LUŠIĆ, D., M. KNAPIĆ, O. KOPRIVNJAK, A. G. SABATINI, D. ĆURIĆ, N. VAHČIĆ (2008): Certain Standard Parameters of Sage (*Salvia officinalis* L.) Honey Quality Deriving From Kvarner Bay Coastal Area and Islands. The 2008 Joint Central European Congress.
  65. MAJOROŠ, A., I. TLAK GAJGER, M. I. SMODIŠ ŠKERL (2022): Prehrambeni stres pčelinjih zajednica (*Apis mellifera* L.): uzroci, učinci i mjere sprječavanja gubitaka. *Veterinarska stanica* 53, 461-474.
  66. MANDIĆ, M., P. SLIVA, J. KRKOVIĆ, A. PIEROBON, J. RALJEVIĆ, J. BOŠNIR, D. BRKIĆ, M. BUDEČ, D. LASIĆ (2020): Praćenje promjena kemijskih parametara meda ovisno o načinu njegova skladištenja. *J. Appl. Health Sci.* 6, 239-247.
  67. MEDA, A., C. E. LAMIEN, M. ROMITO, J. MILLOGOC, O. G. NACOUKMA (2005): Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* Vol. 91, 571-577.
  68. MILOJKOVIĆ-OPSENICA, D., D. LUŠIĆ, Ž. TEŠIĆ (2015): Modern analytical techniques in the assessment of the authenticity of Serbian honey. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 66, 233-24.
  69. NEGUERUELA, A. I., C. PEREZ ARQUILLUE (2000): Color measurement of rosemary honey in the solid state by reflectance spectroscopy with black background, *J. AOAC Int.* 83, 669-674.
  70. OLIVEIRA, H. (2012): Chromium as an Environmental Pollutant: Insights on Induced Plant Toxicity. *J. Bot.*, 375843.
  71. ORTIZ VALBUENA, A., M. C. SILVA LOSADA (1990): Caracterizacion cromatica (CIE L10, a10, b10) de las mieles de la alcarria y zonas adyacentes, *Cuad. Apic.* 8-11.

72. OUCHEMOUKH, S., H. LOUAILECHE, P. SCHWEITZER (2007): Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control* Vol. 18, 52-58.
73. PACYNA, J. M. (1987): Atmospheric emissions of arsenic, cadmium, lead and mercury from high temperature processes in power generation and industry. Lead, mercury, cadmium and arsenic in the environment. 31, 69-87.
74. PERCIVAL, M. (1950): Pollen Presentation and Pollen Collection. *The New Phytologist*. No. 1, 40-63.
75. PERSANO ODDO, L., E. BALDI, M.G. PIAZZA (1986): Acidità e pH nei principali mieli uniflorali Italiani, *Apicoltura* 2, 145-154.
76. PERSANO ODDO, L., R. PIRO (2004): Main European unifloral honeys: descriptive sheets, *Apidologie* 35, S38-S81.
77. PERSANO ODDO, L., M. G. PIAZZA, G. ZELLINI (1995): Caratteristiche cromatiche dei mieli uniflorali, *Apicoltura* 10, 109-120.
78. PIANA, M. L., L. PERSANO ODDO, A. BENTABOL, E. BRUNEAU, S. BOGDANOV, C. GUYOT DECLERK (2004): Sensory analysis applied to honey: state of the art. *Apidologie* 35: S26-S37.
79. PITA-CALVO, C., M. VAZQUEZ (2017): Differences between honeydew and blossom honeys: A review. *Trends. Food Sci. Technol.* Vol. 59, 79-87.
80. PORRINI, C., A. G. SABATINI, S. GIROTTI, S. GHINI, P. MEDRZYCKI, F. GRILLENZONI, L. BORTOLETTI, E. GATTAVECCHIA, G. CELLI (2003): Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. *Apiacta* 38, 63-70.
81. PRICA, N., M. ŽIVKOV-BALOŠ, S. JAKŠIĆ, Ž. MIHALJEV, B. KARTALOVIĆ, J. BABIĆ, S. SAVIĆ (2014): Moisture and acidity as indicators of the quality of honey originating from Vojvodina region. *Arch. Vet. Sci.* vol. 7, br. 2, 99-109.
82. PRZYBYŁOWSKI, P., A. WILCZYŃSKA (2001): Honey as an environmental marker. *Food Chem.* Vol. 74, 289-291.
83. REIMANN, C., P. DECARITAT (1998): *Chemical elements in the environment*, Springer, 398.

84. RICCIARDELI D'ALBORE, G., R. GALARINI (2000): Mediterranean Melissopalynology. Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia, Italy.
85. SABATINI, A. G., F. V., GRILLENZONI (2002): Contenuto in prolina in differenti mieli uniflorali, in: Sabatini A.G., Bolchi Serrini Frilli F., Porrini C., Il ruolo della ricerca in apicoltura, Litosei, Bologna, pp. 260-262.
86. SANCHEZ, M. D., J. F. HUIDOBRO, I. MATO, S. MUNIATEGUI, M. T. SANCHO (2001): Correlation between proline content of honeys and botanical origin, Dtsch. Lebensm. Rundsch. 97, 171-175.
87. SAVORY, J., M. R. WILLS (1984): Arsen. E. Merian (Ed.), Metalle in der Umwelt, VCH, Weinheim, 319-334.
88. SCHATUP, A. T., A. L. SOERENSEN, H. ANGOT, K. BOWMANN, N. E. SELIN (2022): What are the likely changes in mercury concentration in the Arctic atmosphere and ocean under future emissions scenarios? Sci. Total Environ., 836.
89. SHAN, Y., M. TYSKLIND, F. HAO, W. OUYANG, S. CHEN, C. LIN (2013): Identification of sources of heavy metals in agricultural soils using multivariate analysis and GIS. J. Soils Sediments. 13, 720-729.
90. SHANKERA, A. K., C. CERVANTES, H. LOZA-TAVERA, S. AVUDAINAYAGAM (2005): Chromium toxicity in plants. Environ. Int. 31, 739-753.
91. SINGH, R., N. GAUTAM, A. MISHRA, R. GUPTA (2011): Heavy metals and living systems: An overview. Indian J. Pharmacol. 43, 246-253.
92. SINGHAL, R. S., P. R. KULKARNI, D. V. REGE (1997): Handbook of indices of food quality and authenticity. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 371-379.
93. SINHG, S. i A. DESAI (2022): Honey has antibacterial properties against staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa, both of which were isolated from an infected wound. Int. J. Res. Public. Rev. 3, 4753-4757.
94. SOMERVILLE, D. C. (2014): Bee nutrition and plants visited. Bee health and veterinarians, 61-66. OIE, Pariz.
95. ŠIMIĆ, F. (1980): Naše medonosno bilje. Znanje, Zagreb.
96. ŠKENDEROV, S., C. IVANOV (1986): Pčelinji proizvodi i njihovo korišćenje. Nolit, Beograd.



97. TERRAB, A., M. J. DIEZ, F. J. HEREDIA (2002): Chromatic characterisation of Moroccan honeys by diffuse reflectance and tristimulus colorimetry - Non-uniform and uniform colour spaces. *Food Sci. Tech. Int.* 8, 189-195.
98. TUMOLO, M., V. ANCONA, D. DE PAOLA, D. LOSACCO, C. CAMPANALE, C. MASSARELLI, V. F. URICCHIO (2020.): Chromium Pollution in European Water, Sources, Health Risk, and Remediation Strategies: An Overview. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 17, 5438.
99. VAHČIĆ, N., D. MATKOVIĆ (2009): Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda.
100. VON DER OHE, W., J. H. DUSTMANN, K. VON DER OHE (1991): Prolin als Kriterium der Reife des Honigs, *Dtsch. Lebensm. Rundsch.* 87, 383-386.
101. VON DER OHE W., L. PERSANO ODDO, M. L. PIANA, M. MORLOT, P. MARTIN (2004). Harmonised methods of melissopalynology, *Apidologie* 35, S18-S25.
102. VORVOLAKOS, T. H, S. ARSENIU, M. SAMAKOURI (2016): There is no safe threshold for lead exposure: A literature review. *Psychiatriki.* 27, 204-214.
103. VORWOHL, G. (1964): Die Beziehungen zwischen der elektrischen Leitfähigkeit der Honige und ihrer trachtmässigen Herkunft, *Ann. Abeille* 7, 301–309.
104. WHITE, J. W. (1992): Honey. In: *The Hive and the Honey Bee*, revised edn. (Ed. J.M. Graham), Dadant & Sons, Hamilton, Illinois.
105. WINSTON, M. I. (1987): *The Biology of the Honeybee*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
106. YRUELA, I. (2009): Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Functional Plant Biology.* 36, 409-430.
107. <https://hirc.botanic.hr/fcd/DetailFrame.aspx?IdVrste=9528&taxon=Salvia+officinalis+L>.
108. <https://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
109. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet> 29 April 2020

## **8. Sažetak**

### **SENZORSKA SVOJSTVA I KONCENTRACIJE MAKRO I MIKROELEMENATA U MEDU KADULJE**

**Marina Žegrec**

Prikupljeno je 24 uzorka meda kadulje s područja Hrvatskog primorja i Dalmacije te su im određena senzorska svojstva, provedena je melisopalinološka i fizikalno-kemijska analiza i izmjerena koncentracija 10 elemenata. Provođenje senzorske analize pomaže u detekciji defekata, otkrivanju različitih vrsta patvorenja meda te kao dopunska metoda fizikalno-kemijskoj i melisopalinološkoj analizi otkriva neadekvatno označavanje meda vezano za botaničko i geografsko podrijetlo. Svrha ovog rada bila je potvrditi uniflornost uzoraka i okarakterizirati mineralni profil meda kadulje prikupljenih s različitih geografskih lokacija u Hrvatskoj te utvrditi koncentraciju važnijih makro- i mikroelemenata (kadmij, krom, nikal, olovo, živa, arsen, bakar, željezo, cink i mangan).

**Ključne riječi:** med, kadulja, senzorska svojstva, makro i mikroelementi

## 9. Summary

### SENSORY PROPERTIES AND CONCENTRATIONS OF MACRO AND MICROELEMENTS IN SAGE HONEY

Marina Žegrec

Twenty four samples of sage honey from the area of the Croatian coast and Dalmatia were collected and their sensory properties were determined, a melissopalynological and physical-chemical analysis was carried out and the concentration of 10 elements was measured. Conducting sensory analysis helps in detecting defects, detecting different types of honey adulteration, and as a supplementary method to physical-chemical and melissopalynological analysis, it reveals inadequate labeling of honey related to botanical or geographical origin. The main purpose of this study is to confirm the uniflorality of the samples and to characterize the mineral profile of sage honey collected from different geographical locations within Croatia and determine the concentration of important macro- and microelements (cadmium, chromium, nickel, lead, mercury, arsenic, copper, zinc, iron and manganese).

**Key words:** honey, sage, sensory properties, macro and microelements

## 10. Životopis

Rođena sam 1. svibnja 1997. godine u Zaboku. Nakon završene osnovne škole u Bedekovčini, upisala sam Gimnaziju Antuna Gustava Matoša u Zaboku (opći smjer). Maturirala sam 2016. godine i iste godine upisala Veterinarski fakultet u Zagrebu.

Na prvoj godini studija imala sam priliku praktimirati i upoznati se s jogom koja me privlačila još od srednjoškolskih dana. Ubrzo sam shvatila da je, uz veterinarsku struku, ovo još jedna moja strast i nešto čime se želim baviti. U jesen 2019.-te godine upisala sam tečaj za instruktoricu joga na Učilištu Sensa u Zagrebu te godinu dana kasnije završila i stekla diplomu. Od tada spajam ta dva životna puta i trudim se davati najbolje od sebe u jednom i u drugom.