

UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

Milica S. Jovetić

**SADRŽAJ ELEMENATA KAO
POKAZATELJ AUTENTIČNOSTI MEDA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF CHEMISTRY

Milica S. Jovetić

**THE CONTENT OF ELEMENTS AS THE
INDICATOR OF HONEY AUTHENTICITY**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Mentor: dr **Duška Milojković-Opsenica**, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet

Članovi komisije: dr **Jelena Trifković**, docent
Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet

dr **Nebojša Nedić**, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

dr **Marijana Ćurčić**, docent
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Datum odbrane:

U Beogradu, _____ 2018.

Ova doktorska disertacija je urađena na Katedri za analitičku hemiju Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod mentorstvom dr Dušanke Milojković-Opsenice, redovnog profesora Hemijskog fakulteta. Deo ispitivanja u okviru disertacije je rađen u laboratoriji Centra za ispitivanje namirnica d.o.o. i u Institutu MOL d.o.o.

Zahvaljujem se mom mentoru, dr Dušanki Milojković-Opsenici, na izuzetnom razumevanju i uloženoj energiji tokom svih ovih godina, kao i na pomoći i više nego korisnim sugestijama tokom izrade disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem dr Nebojši Nediću na idejama, interesovanju i podršci, dr Marijani Ćurčić na svesrdnoj pomoći i vrednim savetima, i dr Jeleni Trifković na pomoći oko obrade rezultata i velikoj podršci svih ovih godina.

Mojoj kolegici Azri Redžepović hvala za svu energiju i entuzijazam koje je uložila da upotpunimo ovaj rad analizama pesticida, i hvala joj na podstreku kada je bilo teško. Takođe, zahvaljujem se kolegama Veri Petrović i Draganu Hadžiću, na pomoći oko pripreme uzoraka. Veliko hvala dr Jeleni Mutić, Slađani Đurđić i Vesni Vukojević. Zahvaljujem se dr Iliji Brčeskom na pomoći i efikasnoj realizaciji ispitivanja PAH.

Hvala mojoj kolegici dr Kristini Lazarević na podršci, kao i svim ostalim kolegama iz Centra za ispitivanje namirnica na pokazanom razumevanju i interesovanju.

I na kraju, ali ne po značaju, hvala mojoj porodici na podstreku i razumevanju.

Ovaj rad posvećujem mojoj ćerki Bojani, i najveće hvala njoj na strpljenju.

Sadržaj elemenata kao pokazatelj autentičnosti meda

Predmet istraživanja u okviru ove disertacije bila je karakterizacija odabranih uzoraka najzastupljenijih vrsta monofloralnog meda (meda od bagrema, od lipe i od suncokreta) na osnovu njihovog mineralnog sastava, kao i klasifikacija i diferencijacija prema njihovom botaničkom i geografskom poreklu primenom hemometrijskih tehnika. Ispitano je ukupno 206 uzoraka pet različitih botaničkih vrsta (162 uzoraka meda od bagrema, 11 uzoraka meda od lipe, 23 uzorka meda od suncokreta, 7 uzoraka meda od uljane repice i 3 uzorka meda od bosiljka), sakupljenih iz šest različitih regiona Srbije.

Ova studija je pružila osnovne informacije o sadržaju dvanaest makro i mikroelemenata i elemenata u tragovima (K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Fe, Mn, Co, Cd, Cr i Ni) u izvornom srpskom medu. Sadržaj metala je određen primenom induktivno spregnute plazme - optičke emisije spektrometrije (ICP – OES). Mineralni markeri za deklarisanje autentičnosti tri glavne vrste monofloralnog meda (bagremovog, lipovog i suncokretovog), u smislu njihovog botaničkog i geografskog porekla, su ustanovljeni primenom hemometrijskih tehnika - analize glavnih komponenata (PCA) i metode delimičnih najmanjih kvadrata sa diskriminantnom analizom (PLS-DA). Najvažniji elementi za diskriminaciju između uzoraka poreklom od ove tri botaničke vrste su kalijum, kalcijum i magnezijum. Na klasifikaciju lipovog meda najveći pozitivan uticaj ima sadržaj kalijuma, dok model za suncokretov med ukazuje na pozitivne vrednosti regresionih koeficijenata za kalcijum i magnezijum, a negativne vrednosti za kalijum. U skladu sa sastavom zemljišta, model za bagremov med naglašava pozitivan uticaj nikla, kobalta, hroma i kadmijuma, a suprotan uticaj kalijuma, kalcijuma i magnezijuma. Mogućnost diferencijacije meda po regionalnom poreklu proverena je na statistički značajnom broju uzoraka meda od bagrema. Dobijeni PCA model je pokazao da prisustvo minerala i elemenata u tragovima u ovoj vrsti meda uglavnom zavisi od same biljne vrste i njene specifične tendencije za bioakumulaciju pojedinih elemenata, a ne od tipa i sastava zemljišta.

U okviru ovog rada su predstavljene i rezultati za sadržaj minerala i metala u tragovima, kao i za osnovne fizičko-hemijske parametre u medu od bosiljka. U ovom medu su najzastupljeniji minerali kalijum, kalcijum i magnezijum, a u odnosu na ostale botaničke vrste sadrži nešto veće količine bakra, kobalta i hroma. S obzirom na odsustvo podataka u raspoloživoj literaturi, rezultati prikazani u ovoj disertaciji, bez obzira na mali broj uzoraka, pružaju jedan od prvih uvida u karakteristike meda od bosiljka kao retke vrste meda.

U okviru ove disertacije sprovedeno je jedno od prvih detaljnih ispitivanja meda i polena poreklom iz isključivo gradske sredine. Pored osnovnih fizičko-hemijskih parametara, sadržaj deset metala (Pb, Cd, As, Hg, Cu, Zn, Fe, Mn, Cr i Ni), petnaest policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH) i ostataka 123 pesticida određen je u 23 uzorka meda, kao i u 16 uzoraka polena. Metali su, osim u uzorcima meda i polena, kvantifikovani i u 6 uzoraka cvetnog nektara. Sadržaj metala je određen primenom induktivno spregnute plazme - masene spektrometrije (ICP-MS). Za određivanje sadržaja PAH je primenjena visokoeffikasna tečna hromatografija sa fluorescentnom detekcijom (HPLC-FLD), a za analizu ostataka pesticida primenjena je gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC-MS). Prema rezultatima za sadržaj određenih metala utvrđeno je da ispitani urbani med ispunjava zahteve srpske i evropske regulative. Sadržaj 123 analizirana pesticida u medu bio je ispod granice kvantifikacije primenjene metode. Koncentracije PAH su u medu bile ispod maksimalno dozvoljenih količina definisanih za hranu. Kod polena je uočena povećana koncentracija metala, posebno žive i hroma, kao i PAH, što ukazuje na aerozagađenje kojem je polen izložen.

Ključne reči: autentičnost; monofloralni med; sadržaj minerala; botaničko poreklo; geografsko poreklo; multivarijantna hemometrijska analiza; urbani med; kontaminanti; sadržaj toksičnih metala

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Analitička hemija

UDK broj: 543

The Content of Elements as the Indicator of Honey Authenticity

The subject of the research in this dissertation was the characterization of selected samples of the most common types of monofloral honey (acacia, linden and sunflower honey) based on their mineral composition, as well as classification and differentiation according to their botanical and geographical origin using chemometric techniques. A total of 206 samples of five different botanical species were examined (162 acacia honey samples, 11 linden honey samples, 23 sunflower honey samples, 7 rape honey samples and 3 basil honey samples), collected from six different regions of Serbia.

This study provided basic information on the content of twelve macro and microelements and trace elements (K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Fe, Mn, Co, Cd, Cr and Ni) in the genuine Serbian honey. The metal content was determined by inductively coupled plasma - optical emission spectrometry (ICP - OES). Mineral markers for declaring the authenticity of the three main types of monofloral honey (acacia, linden and sunflower) in terms of their botanical and geographical origin have been established using chemometric techniques – principal component analysis (PCA) and partial least square – discriminant analysis (PLS-DA). The most important elements for discrimination between samples originating from these three botanical species are potassium, calcium and magnesium. Potassium content has the most positive effect for the classification of linden honey, while the sunflower honey model indicate positive values of regression coefficients for calcium and magnesium, and negative values for potassium. In accordance with the soil composition, the model for acacia honey emphasize the positive influence of nickel, cobalt, chromium and cadmium, and the opposite influence of potassium, calcium and magnesium. The possibility of differentiating honey by regional origin was tested on a statistically significant number of acacia honey samples. The obtained PCA model showed that the presence of minerals and trace elements in this type of honey mainly depends on the botanical species and its specific tendency for bioaccumulation of certain elements, not on the type and composition of the soil. The results for the content of trace minerals and metals, as well as basic physical-chemical parameters in basil honey were presented in this study. The most abundant minerals in this honey were potassium, calcium and

magnesium, and in comparison to the other botanical species this honey contained higher amount of copper, cobalt and chromium. The results shown in this dissertation, regardless of the small number of samples, provide one of the first insights into the characteristics of basil honey as a rare type of honey, due to the lack of information in the available literature.

One of the first detailed investigation of honey and pollen from exclusively urban area was carried out within this dissertation. In addition to basic physicochemical parameters, the content of ten metals (Pb, Cd, As, Hg, Cu, Zn, Fe, Mn, Cr and Ni), fifteen polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and residues of 123 pesticides in 23 samples of honey and 16 samples of pollen. Metals, except in honey and pollen samples, were quantified in 6 samples of floral nectar. The metal content was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). High performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLD) was employed to determine the PAH content, and gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) was employed for the analysis of pesticide residues. According to the results for the content of certain metals, it has been concluded that the tested honey met the requirements of Serbian and European regulations. The content of 123 analyzed pesticides in honey was below the limit of the quantification of the applied method. PAH concentrations in honey were below the maximum levels defined for food. Increased concentration of metals, especially mercury and chromium, as well as PAH, were found in pollen, indicating the air pollution to which the pollen is exposed.

Key words: authenticity; monofloral honey; mineral content; botanical origin; geographic origin; multivariate chemometric analysis; urban honey; contaminants; heavy metals content

Scientific field: Chemistry

Field of Academic Expertise: Analytical Chemistry

UDC Number: 543

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DEO.....	4
2.1. O medu.....	4
2.1.1. Istorijat.....	4
2.1.2. Definicija i sastav.....	5
2.1.3. Nutritivna i terapijska svojstva meda.....	5
2.2. Poreklo meda i klasifikacija.....	7
2.3. Autentičnost meda.....	8
2.4. Markeri autentičnosti meda.....	11
2.4.1. Minerali i elementi u tragovima.....	11
2.4.1.1. Sadržaj minerala i botaničko poreklo meda.....	12
2.4.1.2. Sadržaj minerala i geografsko poreklo meda.....	13
2.4.1.3. Analitičke metode za određivanje metala u medu.....	15
2.4.2. Ugljeni hidrati.....	21
2.4.3. Aminokiseline.....	22
2.4.4. Fenolna jedinjenja.....	23
2.5. Fizičko-hemijski parametri meda.....	24
2.5.1. Sadržaj vode.....	26
2.5.2. Slobodna kiselost i pH.....	26
2.5.3. Specifična optička rotacija.....	26
2.5.4. Električna provodljivost.....	26
2.6. Kontaminanti meda.....	27
2.6.1. Toksični metali.....	27
2.6.2. Policiklični aromatični ugljovodonici (PAH).....	29
2.6.3. Pesticidi.....	30
2.7. Nestajanje pčela i značaj koncepta urbanog pčelarstva.....	30
3. EKSPERIMENTALNI DEO.....	32
3.1. Uzorci.....	32

3.2. Određivanje sadržaja minerala, mikroelemenata i metala u tragovima primenom ICP-OES.....	34
3.3. Određivanje sadržaja metala primenom ICP-MS.....	36
3.4. Određivanje sadržaja policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH).....	37
3.5. Određivanje ostataka pesticida.....	39
3.6. Statistička obrada rezultata.....	41
4. NAŠI RADOVI.....	43
4.1. Procena autentičnosti monofloralnog meda na osnovu sadržaja minerala.....	44
4.1.1. Određivanje sadržaja makroelemenata, mikroelemenata i elemenata u tragovima.....	45
4.1.1.1 Rezultati.....	45
4.1.2. Statistička analiza rezultata.....	51
4.2. Određivanje parametara kvaliteta i bezbednosti „urbanog“ meda.....	64
4.2.1. Osnovni fizičko-hemijski parametri „urbanog“ meda.....	64
4.2.2. Određivanje sadržaja metala.....	66
4.2.2.1. Metali u uzorcima meda.....	66
4.2.2.2. Metali u uzorcima polena.....	68
4.2.2.3. Metali u uzorcima nektara.....	69
4.2.3. Određivanje sadržaja policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH).....	70
4.2.3.1. PAH u uzorcima meda.....	71
4.2.3.2. PAH u uzorcima polena.....	73
4.2.4. Određivanje ostataka pesticida.....	75
5. ZAKLJUČAK.....	78
6. LITERATURA.....	80
7. PRILOG.....	100
8. BIOGRAFIJA.....	114

1. UVOD

Autentičnost hrane je u današnje vreme pitanje od izuzetne važnosti, kako za potrošače, tako i za proizvođače, prehrambenu industriju, trgovinu i regulatorna tela. Potrošačima je neophodna pouzdana informacija o hrani koju kupuju i konzumiraju, a sa druge strane, proizvođačima je potrebno da se zaštite od nelojalne konkurencije. Utvrđivanje autentičnosti hrane podrazumeva proveru usklađenosti sa deklaracijom, bilo u pogledu porekla, načina proizvodnje ili tehnologije prerade. Proizvodi kod kojih su naznačena specifična svojstva kvaliteta, zbog kojih im je i vrednost visoka, često se pogrešno, tj. lažno deklariraju, što za posledicu ima dovođenje potrošača u zabludu i ekonomsku štetu. S tim u vezi, dokaz o poreklu je za bezbednost i kvalitet hrane i zaštitu potrošača od jednakog značaja kao i usklađenost sa regulativama ili međunarodnim standardima. Analitičke procedure za utvrđivanje autentičnosti su važne i sa komercijalnog i sa gledišta zakonske regulative. Razvoj sofisticirane analitičke opreme i metoda, kao i napredak informacionih tehnologija omogućili su vrlo precizna merenja, na osnovu kojih se pouzdano može odrediti poreklo hrane **(1)**.

Med je jedna od retkih prirodnih, tj. neprerađenih namirnica, veoma značajna zbog svojih nutritivnih i terapijskih svojstava, i upravo iz tih razloga, vrlo podložna falsifikovanju. Takođe, med čije su karakteristike definisane i čija je autentičnost potvrđena, ima i odgovarajuću vrednost na tržištu.

Autentičnost meda se može posmatrati sa dva aspekta: autentičnost vezana za proizvodnju (dodatak šećera, uklanjanje ili dodavanje vode, zagrevanje) i autentičnost meda vezana za njegov naziv, tj. botaničko i geografsko poreklo. Klasičan pristup utvrđivanju autentičnosti meda obuhvata određivanje fizičko-hemijskih parametara (sadržaj vode, električna provodljivost, sadržaj šećera, odnos sadržaja glukoze i fruktoze, enzimska aktivnost, boja, optička rotacija, pH, kiselost i sadržaj hidroksimetilfurfurala (HMF)), kao i melisopalinološku i senzorsku analizu **(2, 3)**. Na osnovu rezultata ovih ispitivanja se ocenjuje usaglašenost sa zahtevima regulativa **(4-6)** za određenu vrstu meda. Ovakav pristup, međutim, pored toga što je vremenski i materijalno zahtevan, ima

i ograničenja, jer količina polena u medu i neke fizičko-hemijske karakteristike zavise od mnogobrojnih faktora (biljne vrste, geografskog područja, klimatskih uslova, sezone, pčelarske tehnike, itd.), što otežava evaluaciju rezultata i zahteva visoko obučeno osoblje za njihovo izvođenje. Iz tog razloga se poslednjih godina razvijaju sofisticirane instrumentalne metode za utvrđivanje autentičnosti meda, zasnovane na određivanju njegovih karakterističnih komponenti: šećera, minerala, elemenata u tragovima, isparljivih jedinjenja, aminokiselina, fenolnih jedinjenja i dr. i definisanju markera botaničkog i geografskog porekla meda **(7-13)**.

Kriterijumi i analitičke procedure za utvrđivanje autentičnosti meda još uvek nisu jasno uspostavljeni, a način da se do njih dođe je sistematska karakterizacija meda i stvaranje odgovarajućih baza podataka. Ovo je aktuelna problematika u svim zemljama i podržana je od strane Međunarodne komisije za med (International Honey Commission, IHC, www.ihc-platform.net).

Kao doprinos tome, predmet istraživanja u okviru ove disertacije je karakterizacija odabranih uzoraka najzastupljenijih vrsta monofloralnog meda (meda od bagerema, od lipe i od suncokreta) na osnovu njihovog mineralnog sastava, kao i klasifikacija i diferencijacija prema njihovom botaničkom i geografskom poreklu primenom hemometrijskih tehnika. Uzorci za ovu studiju su pribavljeni uz pomoć Saveza pčelarskih organizacija Srbije (SPOS, www.spos.info). Ukupno 206 uzoraka pet različitih botaničkih vrsta (162 uzoraka meda od bagerema, 11 uzoraka meda od lipe, 23 uzorka meda od suncokreta, 7 uzoraka meda od uljane repice i 3 uzorka meda od bosiljka) sakupljeno je iz šest različitih regiona Srbije. Botaničko poreklo uzoraka je definisano od strane SPOS-a, na osnovu podataka pčelara i senzornih karakteristika, a potvrđeno je fizičko-hemijskom i hemometrijskom analizom **(3)**.

Pored navedenog, posebna pažnja u okviru ove disertacije je posvećena ispitivanju meda sa aspekta bezbednosti. Štetne supstance koje se mogu naći u medu potiču od indirektnog zagađenja - iz životne sredine ili primenom agrotehničkih mera, ili od direktne kontaminacije zbog neadekvatne pčelarske prakse **(14-16)**.

Pčele, pre svega, ali i med i ostali pčelinji proizvodi, predstavljaju vrlo dobre indikatore hemijskog zagađenja životne sredine. Kontaminanti se mogu detektovati u medu i drugim

pčelinjim proizvodima, a njihov štetni uticaj se može odraziti i na stepen mortaliteta kod pčela (17-20).

Savremeno pčelarstvo se susreće sa dramatičnim smanjenjem broja pčelinjih društava u celom svetu tokom poslednjih 10-15 godina. Prema podacima Evropske agencije za bezbednost hrane (European Food Safety Authority, EFSA, www.efsa.europa.eu) i organizacije Greenpeace (www.greenpeace.org), u Evropi je zabeležen gubitak od 25% društava od 1985. godine, u Sjedinjenim Američkim Državama 40% od 2006. godine, a u Velikoj Britaniji čak 45% od 2010. godine (21, 22). Ova pojava, opisana kao sindrom nestajanja pčela (eng. Colony Collapse Disorder, CCD), može se pripisati uglavnom kombinovanom dejstvu faktora kao što su neadekvatna pčelarska praksa, uslovi okoline, hemijski i biološki faktori (21, 23). Sindrom nestajanja pčela predstavlja ogromnu opasnost za ekosistem, ali ima za posledicu i ogromnu materijalnu štetu. Evropska agencija za životnu sredinu (European Environment Agency, EEA, www.eea.europa.eu) poslednjih godina razvija koncept tzv. urbanog pčelarstva, odnosno gajenje pčela u strogo gradskim sredinama, koji za cilj, pre svega, ima pospešivanje polinacije radi očuvanja biljnog sveta (24, 25). Stoga, poseban izazov predstavlja detaljno ispitivanje kvaliteta i bezbednosti meda proizvedenog na ovaj način, imajući u vidu izloženost gradskih sredina raznovrsnom zagađenju.

U okviru ove disertacije je sprovedeno jedno od prvih detaljnih ispitivanja meda i polena poreklom iz isključivo gradske sredine, i to upravo na prisustvo potencijalnih kontaminenata, pre svega teških metala, policikličnih aromatičnih ugljovodonika, kao i ostataka pesticida. U raspoloživoj literaturi skoro i da nema podataka o sistematskom ispitivanju fizičko-hemijskih parametara i kontaminenata u „urbanom” medu. Kako se na životnu sredinu sve više reflektuju uticaji globalnog zagađenja poreklom od industrije, saobraćaja i sl., i kako je sve manje, u ekološkom smislu, čistih područja, od izuzetne je važnosti dobiti uvid u kvalitet i bezbednost pčelinjih proizvoda poreklom iz urbanih sredina. Sa druge strane, rezultati ovog istraživanja predstavljaju i doprinos razvoju urbanog pčelarstva, čiji je značaj za očuvanje pčelinjih društava, pospešivanje polinacije i obogaćivanje gradske flore veliki.

2. TEORIJSKI DEO

2.1. O medu

2.1.1. Istorijat

Istorija meda, najstarijeg prirodnog slatkiša i zaslađivača, vrlo je duga i zanimljiva. Pčele su na Zemlji prisutne oko 50 miliona, dok se čovek pojavio pre oko 200 hiljada godina, pa se može reći da je med u ljudskoj ishrani zastupljen oduvek, kroz ceo razvoj čovečanstva. Neki istoričari smatraju da su naši preci otkrili med otprilike kada i vatru, pre oko 40 000 godina. Na zidovima pećina u okolini Valensije u Španiji pronađene su slike na kojima su prikazani prizori sakupljanja meda, nastale oko 7000. godine pre nove ere. Pored meda, podjednako važan materijal za praistorijskog čoveka je bio i pčelinji vosak, koji je korišćen u tehnološke, ritualne, kozmetičke i medicinske svrhe. Tragovi voska su pronađeni u lipidnim ekstraktima uzetim sa praistorijske grnčarije, i pretpostavlja se da potiču iz meda korišćenog za pravljenje obroka ili od samog voska koji je u tim posudama prerađivan pa se, usled ponovljenih kontakata, apsorbovao (26).

Prvi počeci gajenja pčela vezuju se za Daleki Istok, dok se sa pravim, organizovanim pčelarstvom počelo oko 2400. godine pre nove ere, na području starog Egipta. U drevnim civilizacijama Egiptu, Persiji, antičkoj Grčkoj i Rimu, pčele i med su imali mističnu i religijsku ulogu. Med je bio vrlo skupocen i posebno cenjen, čak je služio kao sredstvo za plaćanje. Još u to vreme bila su poznata njegova lekovita svojstva, a takođe je korišćen i za negu i ulepšavanje. Pčelinji vosak se upotrebljavao kao gorivo za lampe, a njime se tretiralo i keramičko posuđe nakon pečenja, kako bi postalo vodootporno (26).

I u srednjem veku med je bio izuzetno cenjen, a ljudi koji su se bavili sakupljanjem meda su imali povlašćen položaj. Uništavanje ili krađa košnica su drakonski kažnjavani - odsecanjem ruku, čak i smrtnom kaznom. Tokom vladavine Karla Velikog, uzgajanje pčela je bilo obavezno na svakom posedu, nameti feudalcima su se plaćali dobijenim

proizvodima, tako da je med bio privilegija bogatih. Pčele su se uzgajale i na crkvenim posedima, posebno zbog potreba za voskom, od kojeg su pravljene sveće (27).

Dugo godina med je bio najvažniji izvor ugljenih hidrata i zaslađivač. Sa industrijalizacijom, u 19. veku počinje masovna proizvodnja šećera, znatno jeftinijeg i dostupnijeg, čime med biva skoro potpuno potisnut. Počeci modernog pčelarstva se vezuju za Luidija Savanija, koji je postavio principe racionalnog pčelarstva u cilju dobijanja kvalitetnijeg meda. Krajem 19. veka, major Hruška je izumeo centrifugu za vrcanje meda, čime je omogućeno njegovo lakše izuzimanje iz ćelija saća i znatno poboljšan proces dobijanja meda. Početkom 20. veka urađene su prve melisopalinološke analize i prve klasifikacije meda prema botaničkom poreklu (28).

2.1.2. Definicija i sastav

U domaćoj i stranoj regulativi med se definiše kao prirodna, slatka supstanca koju proizvode medonosne pčele (*Apis mellifera* L.) preradom nektara biljaka, ili iz sokova sa živih delova biljaka ili sakupljanjem ekskreta insekata koji se hrane sišući sokove sa živih delova biljaka, koji pčele sakupljaju, prerađuju i dodaju sopstvene specifične supstance, dehidriraju i odlažu u ćeliju saća do sazrevanja (4-6).

Med je viskozna, aromatična, slatka namirnica u čijem sastavu dominiraju šećeri. Pored šećera, u medu su prisutni i voda, proteini, enzimi, aminokiseline, organske kiseline, karotenoidi, vitamini, minerali, elementi u tragovima, pigmenti, aromatična jedinjenja, polifenoli i čvrste čestice, koje potiču od postupka sakupljanja meda (29-30).

2.1.3. Nutritivna i terapijska svojstva meda

Na osnovu sastava meda prikazanog u **Tabeli 1**, vidi se da su najzastupljenije komponente šećeri (oko 80%) i to, pre svega, monosaharidi fruktoza i glukoza, dok je udeo ostalih di-, tri- i oligosaharida mnogo manji. U procesu varenja fruktoza i glukoza vrlo brzo dospevaju u krv, što med čini vrlo efikasnim izvorom energije. Sadržaj ostalih komponenti meda (proteina, minerala, aminokiselina, itd.) je relativno nizak, ispod ili oko 1%. Kada se ovi podaci sagledaju sa aspekta preporučenih dnevnih unosa, npr. za proteine

ili minerale, može se zaključiti da je doprinos meda vrlo mali, međutim, njegova nutritivna vrednost se smatra velikom zbog mnoštva povoljnih fizioloških efekata (29). Mikronutrijenti iz meda poboljšavaju varenje i apsorpciju glavnih hranljivih sastojaka, ali i onih neophodnih za održavanje metaboličkih i ostalih telesnih funkcija (31).

Tabela 1. Sastav meda (%) (29)

Sastojak	Cvetni (nektarni) med		Med od medljike (medljikovac)	
	prosečno	min. – maks.	prosečno	min. – maks.
Voda	17,2	15-20	16,3	15-20
Monosaharidi				
<i>Glukoza</i>	38,2	30-45	31,8	28-40
<i>Fruktoza</i>	31,3	24-40	26,1	19-32
Trisaharidi				
<i>Melezitoza</i>	<0,1	4,0	0,3-22,0	<0,1
<i>Erloza</i>	0,8	0,5-6	1,0	0,1-6
<i>Ostali</i>	0,5	0,5-1	3,0	0,1-6
<i>Neodređeni oligosaharidi</i>	3,1		10,1	
Ukupni šećeri	79,7		80,5	
Minerali	0,2	0,1-0,5	0,9	0,6-2,0
Aminokiseline, proteini	0,3	0,2-0,4	0,6	0,4-0,7
Kiseline	0,5	0,2-0,8	1,1	0,8-1,5

Flavonoidi i fenolne kiseline, kojih takođe ima u medu u različitoj količini u zavisnosti od botaničke vrste, ispoljavaju različite biološke efekte, među kojima je i antioksidativno dejstvo **(30)**.

Mnoge naučne studije se poslednjih godina bave potencijalnom primenom meda u terapijske svrhe i navode dokaze za njegovo antioksidativno, antiinflamatorno i antibakterijsko dejstvo **(32)**.

Rahman i saradnici su u svom preglednom članku dali osvrt na istraživanja vezana za med kao perspektivni nutraceutik - hranu koja pruža medicinsku ili zdravstvenu dobit, uključujući prevenciju ili lečenje bolesti, i to za tretman određenih neuroloških stanja, zbog svog anksiolitičkog, antinociceptivnog, antikonvulzivnog i antidepresivnog dejstva. Pored toga, navodi se i da med poboljšava oksidativni status mozga **(33)**.

Do sada je, u tom smislu, najdetaljnije ispitan manuka med. Manuka (*Leptospermum scoparium* J.R. Forst & G. Forst, Myrtaceae) je zimzeleno drvo i raste nekultivisano na Novom Zelandu. Med od manuke ima vrlo snažno antimikrobno i antioksidativno dejstvo. Ova svojstva se mogu pripisati specifičnom polifenolnom profilu, kao i drugim bioaktivnim jedinjenjima, pre svega glioksalu i metilglioksalu. Med od manuke se primenjuje za tretman inficiranih rana, a ono što mu daje prednost u odnosu na konvencionalne antibiotike je nemogućnost antibiotske rezistencije **(34)**.

2.2. Poreklo meda i klasifikacija

Hemijski sastav, senzorske karakteristike (boja, miris i ukus), kao i biološki efekti meda u velikoj meri zavise od njegovog botaničkog porekla, ali i od mnoštva drugih faktora: geografskog područja, klimatskih i meteoroloških uslova, pčelarske prakse, procesa prerade, pakovanja i skladištenja **(29-30)**.

Prema svom poreklu med može biti: cvetni ili nektarni, koji se dobija od cvetnog nektara i medljikovac, koji se dobija sakupljanjem ekskreta insekata (*Hemiptera*) koji se hrane sokovima sa živih delova biljaka ili sekreta sa živih delova biljaka **(4, 5)**.

Cvetni, odnosno nektarni med se klasifikuje kao monofloralni i polifloralni. Monofloralni med potiče uglavnom od jedne botaničke vrste i naziva se po njoj, dok polifloralni sadrži nektar ili medljiku nekoliko biljnih vrsta, od kojih nijedna nije dominantna. Fizičke, hemijske i melisopalinološke karakteristike monofloralnih vrsta meda znatno variraju u zavisnosti od botaničke vrste. Persano Oddo i Piro su u saradnji sa timom evropskih istraživača okarakterisali najvažnije evropske vrste monofloralnog meda, na osnovu njihovih senzorskih i fizičko-hemijskih parametara, kao i na osnovu melisopalinološke analize (35), a Međunarodna komisija za med je definisala standarde kvaliteta (36). Sa druge strane, s obzirom na značajan varijabilitet među podacima za prethodno navedene parametre, karakterizacija polifloralnog meda predstavlja vrlo kompleksan zadatak (37). Polifloralni med je lakše proizvesti i samim tim je zastupljeniji na tržištu. Međutim, prema podacima sa vodećih tržišta Evropske Unije - Nemačke i Francuske, kao i Velike Britanije, potrošači više cene i sve više traže monofloralne vrste meda, posebno med od bagrema, heljde, deteline, četinara, manuke i sl. (38). Razlozi za to su specifičan ukus i aroma određene botaničke vrste meda, ali i to što se monofloralne vrste meda smatraju vrlo perspektivnim lekovima prirodnog porekla i što je terapijsko dejstvo nekih vrsta, kao npr. manuka meda, već naučno potvrđeno (34).

2.3. Autentičnost meda

Za većinu namirnica su, u okviru zakonskih propisa, uspostavljeni standardi kvaliteta koji definišu i zahteve u pogledu hemijskog sastava i senzorskih svojstava. Sa ekonomske tačke gledišta, utvrđivanje autentičnosti proizvoda je neophodno kako bi se izbegla nelojalna konkurencija čiji je uticaj na tržište i ekonomiju negativan (39).

Zahvaljujući svojim izuzetnim nutritivnim i terapijskim svojstvima, med postaje sve cenjenija namirnica, pa tako i pitanje njegove autentičnosti postaje sve aktuelnije. Autentičnost se može razmatrati sa aspekta samog procesa dobijanja meda (sprečavanje falsifikovanja i prerađivanja) i sa aspekta botaničkog i geografskog porekla meda. Prema izveštaju Komiteta za životnu sredinu, javno zdravlje i bezbednost hrane Evropskog Parlamenta, med se našao na šestom od deset mesta na listi namirnica koje su pod

najvećim rizikom od prevara **(40)**. Najčešće prevare su vezane za falsifikovanje - dodavanje šećera, odnosno šećernih sirupa u med ili, tokom proizvodnje, preteranim hranjenjem pčela šećerom. Osim toga, med je često pogrešno deklarisan u pogledu botaničkog ili geografskog porekla. Upravo zato je od suštinske važnosti čvrsto uspostaviti sledljivost, kako bi se sektor pčelarstva očuvao poštenim i održivim **(41, 42)**. U Evropskoj Direktivi 2001/110/EC su postavljeni kriterijumi vezani za sastav meda, kako bi se sprečilo plasiranje falsifikata ili pogrešno deklarisanog meda na tržište **(5)**.

Med je prirodni proizvod, čiji je sastav vrlo promenljiv, zavisno od botaničkog i geografskog porekla, kao i od faktora sredine, i baš zbog toga je teško uspostaviti specifične kriterijume, na osnovu kojih bi se nedvosmisleno razlikovao od neautentičnog proizvoda **(42)**.

Autentičnost meda se utvrđuje na osnovu komplementarnih ispitivanja: senzorske, melisopalinološke analize i analize određenih fizičko-hemijskih parametara. Za tu svrhu postoje standardne procedure **(43-45)**. Tradicionalni i najpoznatiji način za utvrđivanje botaničke i geografske autentičnosti meda je melisopalinološka analiza, odnosno identifikacija polena prisutnog u medu mikroskopskim pregledom i poređenjem nalaza sa literaturnim podacima. Ova metoda zahteva izuzetno iskustvo i stručnost, zbog određenih ograničenja, koja se moraju uzeti u obzir prilikom evaluacije rezultata. Različite biljne vrste proizvode različite količine polena, koje, opet, variraju od sezone do sezone. Isto tako, pčele mogu uzeti polen, a da uopšte ne sakupe nektar određene biljne vrste. Prilikom ceđenja meda može doći do gubitka polena. Sa druge strane, jedan od načina da se med falsifikuje je dodavanje polenovih zrna. Polenska analiza, kao i neke hemijske metode, daju odlične rezultate kod određivanja geografskog porekla meda, ukoliko se radi o geografski i klimatski izrazito različitim područjima. Ako to nije slučaj, rezultati se tumače uz pomoć softvera posebno namenjenih za analizu polenovih zrna, ili primenom sofisticiranih statističkih metoda. Stoga je, uz melisopalinološko ispitivanje, za utvrđivanje autentičnosti meda neophodno sprovesti i senzorsku i analizu fizičko-hemijskih parametara meda (sadržaj šećera, enzimska aktivnost, sadržaj HMF, sadržaj prolina) **(2, 39, 46, 47)**.

Sve navedeno predstavlja kompleksan analitički zadatak, vrlo zahtevan što se tiče potrebnog vremena i stručnog iskustva i, iako može da ukaže ili čak potvrdi moguće manipulacije, najčešće ipak nije dovoljno da se dokažu.

U proteklih dvadeset godina su sprovedene mnoge studije sa ciljem pouzdane karakterizacije i klasifikacije meda. Ono što im je zajedničko je pokušaj iznalaženja nekog pouzdanog hemijskog markera autentičnosti (profil šećera, sadržaj minerala i mikroelemenata, sastav aminokiselina, sadržaj isparljivih jedinjenja, polifenolni profil, odnos stabilnih izotopa itd.). U okviru ovih istraživanja se za određivanje potencijalnih markera primenjuju i razvijaju nove efikasne analitičke metode koje bi, kombinovane sa nekom od hemometrijskih tehnika, bile pouzdan način za utvrđivanje autentičnosti (**30, 39, 48, 49, 50, 51**).

Zajednički zaključak svih ovih istraživanja je da se, baš zbog svojstava meda kao prirodnog proizvoda i raznih uticaja na njegov hemijski sastav (geografsko poreklo, sezona sakupljanja, način čuvanja, vrste pčela, čak i interakcije između hemijskih jedinjenja i enzima u medu), ne može naći dovoljno pouzdan hemijski marker za precizno razlikovanje između botaničkih vrsta. Mnogo je pouzdanije osloniti se na određivanje više od jedne klase jedinjenja u kombinaciji sa tehnikama za statističku obradu rezultata, poput analize glavnih komponenata (Principal component analysis, PCA) ili klusterske analize (Cluster analysis, CA) (**13**).

Metode koje služe za otkrivanje falsifikata meda moraju biti nezavisne od pomenutih promenljivih faktora. Analiza odnosa stabilnih izotopa ugljenika (Stable Carbon Isotope Ratio Analysis, SCIRA) je zvanična metoda za utvrđivanje autentičnosti sa aspekta falsifikovanja meda dodavanjem šećera, ili hranjenja pčela šećerom. Monokotiledone (C4) biljke, poput šećerne trske ili kukuruza i dikotiledone biljke (C3), biljke koje su izvor nektara, imaju različit odnos stabilnih izotopa ugljenika, zbog različitih fotosintetičkih ciklusa (**52**). Poslednjih godina dominiraju metode poput masene spektrometrije odnosa izotopa (Isotope Ratio Mass Spectrometry, IRMS). Na osnovu odnosa stabilnih izotopa ugljenika $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ može se utvrditi da li je šećer u medu poreklom od nektara, odnosno medljike ili potiče iz dodatog šećernog sirupa (**42, 53**). Metode zasnovane na analizi odnosa izotopa se, osim za otkrivanje falsifikata meda, mogu primeniti i za određivanje porekla meda. Dinca i saradnici su kombinovanom primenom IRMS i SNIF-NMR

metoda (Site-Specific Natural Isotopic Fractionation Measured by Nuclear Magnetic Resonance) i hemometrije dobili vrlo dobre rezultate u vezi određivanja i geografskog i botaničkog porekla meda (54).

2.4. Markeri autentičnosti meda i analitičke metode za njihovo određivanje

U ovom delu disertacije su razmotreni neki od potencijalnih markera autentičnosti meda, kao i pregled analitičkih tehnika za njihovo određivanje.

2.4.1. Minerali i elementi u tragovima

Metali (minerali, makro- i mikroelementi i metali u tragovima) prisutni u medu su jedan od potencijalnih markera za utvrđivanje autentičnosti meda i istraživanja u delu ove disertacije su bila posvećena tome.

Sadržaj minerala u medu je relativno nizak, od 0,1-0,2% u nektarnom medu do preko 1% u medu od medljike. Najzastupljeniji metal u medu je kalijum (45-85% od ukupnog sadržaja minerala). Sledeći su po zastupljenosti natrijum, kalcijum i magnezijum. Bakar, gvožđe, cink i mangan su prisutni u nešto manjim količinama. Pored njih, u medu se nalaze i metali u tragovima, u vrlo malim koncentracijama (<1 µg/g). Minerali u medu većinom potiču iz nektara ili medljike i polena. Oni se, zapravo, transportuju iz zemljišta do biljke posredstvom korenovog sistema, prolaze do nektara, a zatim do meda. Na koncentraciju metala u nektaru i medu, naročito kalijuma, natrijuma, kalcijuma, magnezijuma i mangana, utiče sastav zemljišta, što je određeno geohemijskim i geološkim karakteristikama. Sadržaj metala u medu takođe zavisi od cvetnih vrsta medonosnih biljaka, cvetne gustine i sastava nektara i polena. Stoga bi se med, na osnovu sadržaja metala, mogao klasifikovati prema svom botaničkom i geografskom poreklu (55, 56).

Metali se u medu mogu naći i usled različitih antropogenih aktivnosti, kao što je primena agrotehničkih mera, usled blizine industrijskih postrojenja ili deponija. Iz tih razloga med može poslužiti kao vrlo koristan pokazatelj za procenu zagađenja životne sredine **(16, 57-60)**.

Tokom poslednjih godina su sprovedene mnoge studije koje su se bavile određivanjem sadržaja minerala u medu, različitim metodama, koje su za cilj imale istraživanje botaničkog ili geografskog porekla meda, ili karakterizaciju određenih vrsta meda. U **Tabeli 2.** je dat prikaz nekih od radova vezanih za evropski med, sa podacima o botaničkom i geografskom poreklu ispitivanih uzoraka, kao i rezultatima određivanja metala (K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Fe, Mn, Ni i Cr) i primenjenim metodama za njihovo određivanje.

2.4.1.1. Sadržaj metala i botaničko poreklo meda

Golob i saradnici su analizirali mikro- i elemente u tragovima u slovenačkom medu primenom fluorescentne spektroskopije X-zraka - ukupne refleksije (Total Reflection X-ray Fluorescence, TXRF) i ustanovili statistički značajne razlike među različitim botaničkim vrstama. Takođe, ispitani uzorci su se razlikovali po tome da li su nektarne vrste meda ili medljikovci **(61)**. Još obimnija studija slovenačkog meda, koja je obuhvatila ispitivanje 264 uzorka istom metodom (TXRF) i primenu hemometrijskih tehnika za tumačenje rezultata, pokazala je da su ključni elementi za razlikovanje botaničkog porekla hlor, kalijum, mangan i rubidijum **(62)**. Karakterizacija italijanskog meda (bagremovog, polifloralnog i medljikovca) obuhvatila je određivanje fizičko-hemijskih parametara (pH-vrednost, sadržaj šećera i vode) i određivanje sadržaja: Na, K, Ca, Mg, Cu, Fe i Mn. Dobijeni rezultati su statistički obrađeni pomoću PCA i linearne diskriminantne analize (Linear Discriminant Analysis, LDA), pri čemu se pokazalo da su parametri za diskriminaciju sadržaj magnezijuma i pH-vrednost meda, a primenjena LDA je rezultovala dobrom klasifikacijom uzoraka bagremovog meda i medljikovca **(63)**. Bogdanov i saradnici su na osnovu sadržaja elemenata u tragovima u 95 uzoraka meda poznatog botaničkog i geografskog porekla istakli da su različitosti posledica, pre svega, botaničkih faktora **(57)**.

Rezultati ispitivanja sadržaja metala i metaloida u uzorcima meda od uljane repice i medljikovca iz Poljske su takođe omogućili dobru klasifikaciju, posle primene CA za obradu dobijenih rezultata (56). Fermo i saradnici su za određivanje minerala u uzorcima meda iz Italije i sa područja Zapadnog Balkana primenili jonsku hromatografiju (Ion chromatography, IC), a rezultate obradili primenom PCA i hijerarhijske klusterske analize (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) koje su ukazale na razlike između nektarnih vrsta meda i medljikovca (64). Na osnovu sadržaja elemenata u tragovima potvrđeno je razlikovanje uzoraka hrvatskog meda prema botaničkom poreklu (65). Czipa i saradnici su primenom induktivno spregnute plazme - masene spektrometrije (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) analizirali 16 elemenata u 34 uzorka mađarskog meda, različitog botaničkog porekla. Primenjena LDA za obradu dobijenih rezultata je pokazala odlično razdvajanje bagremovog meda, meda od uljane repice i suncokretovog meda (66). Oroian i saradnici su primenom iste analitičke tehnike (ICP-MS) i nakon obrade rezultata multivarijantnom hemometrijskom analizom, dobili odlično razdvajanje uzoraka meda prema botaničkom poreklu. Dominantni elementi za uspostavljanje razlika su bili sadržaj K, Mg i Ca (67).

2.4.1.2. Sadržaj metala i geografsko poreklo meda

Geografsko poreklo tri vrste slovenačkog monofloralnog meda (bagremov, lipov i med od kestena) istraženo je na osnovu analize fizičko-hemijskih parametara, sadržaja elemenata i odnosa stabilnih izotopa ugljenika i azota, kombinovanih sa hemometrijskim metodama za obradu rezultata. Lipov med je u potpunosti klasifikovan prema svom regionalnom poreklu, dok je uspešnost razdvajanja bagremovog meda i meda od kestena bila nešto slabija. Autori su ukazali da su za klasifikaciju uzoraka meda od kestena prema definisanim makroregionima značajni parametri sadržaj sumpora, pepela i kalijuma (68). Na osnovu sadržaja minerala u bagremovom medu iz pet regiona Hrvatske, tokom dve sezone, i PCA zaključeno je da su aluminijum (region Bjelovar-Bilogora), gvožđe (regioni Bjelovar-Bilogora i Istra), bakar (region Istočna Hrvatska) i kalijum (region Istra) tipični minerali za bagremov med iz navedenih regiona (69). Diskriminacija uzoraka meda iz dva regiona Italije – Kalabrije i Sicilije, postignuta je primenom PCA, a potpuna klasifikacija uzoraka potvrđena je primenom kanonske diskriminantne analize (Canonical Discriminant Analysis, CDA) (70).

Mnogi autori u svojim studijama ističu da se razlike u mineralnom sastavu meda mogu pripisati i botaničkom i geografskom poreklu (71-74).

Neke od studija su sprovedene u cilju karakterizacije meda poreklom od određene botaničke vrste i određenog geografskog porekla na osnovu mineralnog sastava. Karakterizacija meda i informacije o njegovim svojstvima su značajne jer mu direktno podižu tržišnu vrednost. Patruica i saradnici su, kroz dve studije, analizirali sadržaj metala u medu od bagrema iz različitih regiona Rumunije i sadržaj metala u uzorcima meda različitog botaničkog porekla (med od bagrema, lipe, suncokreta i polifloralni med). Sadržaj makroelemenata (Ca, Na, K i Mg) ukazao je na sličnost između uzoraka meda od bagrema iz različitih regiona (75, 76). Nowak i saradnici su analizirali sadržaj elemenata u tragovima (As, Cd, Pb, Zn, Cu, Mn, Ni, Mg, Fe i Cr) u uzorcima meda različitog botaničkog, a istog geografskog porekla (Donja Šlezija). Dobijeni rezultati su ukazali na razlike između uzoraka u skladu sa njihovim botaničkim poreklom (77). U uzorcima mađarskog meda od bagrema iz različitih delova zemlje, prikupljenim od pčelara i u marketima, tokom četiri godine, određen je sadržaj Al, Cu, Fe, Li, Sr, Zn, As, Ba, Cd, Cr i Ni. Autori su ukazali na varijacije rezultata od godine do godine, i na vrlo malu količinu toksičnih metala (As, Cd) u svim uzorcima (78).

Neki autori su za karakterizaciju meda, pored ispitivanja sadržaja minerala, izvršili i analizu fizičko-hemijskih parametara, melisopalinološku analizu, ali i određivanje sadržaja fenolnih jedinjenja. Atanassova i saradnici su okarakterisali bugarski medljikovac, na osnovu sadržaja vode, pH, električne provodljivosti i sadržaja 19 elemenata. Za uzorke medljikovca se kao karakteristika izdvajaju visoka električna provodljivost (preko 0,8 mS/cm) i sadržaj K, P, Ca i Mg (79). Stihi i saradnici zaključuju da se na osnovu osnovnih fizičko-hemijskih parametara i sadržaja minerala, primenom relativno jednostavnih i jeftinih, ali vrlo pouzdanih metoda, može dobiti vrlo jasan uvid u kvalitet meda (80). Za karakterizaciju meda od kestena iz severozapadne Španije upotrebljeni su parametri poput sadržaja fenolnih jedinjenja i minerala, ali i fizičko-hemijski parametri (pH, aktivnost dijastaze, boja, sadržaj fruktoze i glukoze), a zatim je primenom hemometrijskih tehnika procenjena korelacija između fizičko-hemijskih varijabli i antioksidativnih sastojaka (81).

2.4.1.3. Analitičke metode za određivanje metala u medu

Sadržaj metala u medu se može odrediti primenom različitih analitičkih metoda, uglavnom spektroskopskih, kao što su plamena atomska apsorpciona ili emisiona spektroskopija (Flame Atomic Absorption Spectrometry/Flame Atomic Emission Spectrometry, FAAS/FAES) i elektrotermalna atomska apsorpciona spektroskopija (Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, ETAAS), sa prethodnom mineralizacijom uzorka **(63, 82)**. FAAS i FAES se primenjuju za određivanje najzastupljenijih minerala u medu - alkalnih i zemnoalkalnih metala (K, Na, Ca i Mg). Primenom FAAS se određuju i mikroelementi i, čak, neki metali u tragovima (Zn, Fe, Cu, Mn, Co, Ni, Sr, Pb, Cd). Često se, prilikom određivanja metala FAAS tehnikom, mineralizovanim uzorcima dodaju tzv. hemijski modifajeri (soli lantana, cezijuma i sl.) za uklanjanje različitih interferencija. Ipak, za kvantifikaciju mikroelemenata i metala u tragovima tehnika izbora je ETAAS, zbog izuzetne osetljivosti. ETAAS takođe zahteva upotrebu hemijskih modifajera (amonijum dihidrogenfosfata, magnezijum nitrata, paladijum nitrata, i njihovih smeša), kako bi se uklonile interferencije od matriksa i kontrolisala atomizacija **(55)**.

Poslednjih godina se sve više primenjuju tehnike poput induktivno spregnute plazme - optičke emisiona spektrometrije (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, ICP-OES) i induktivno spregnute plazme - masene spektrometrije (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) **(10, 83, 84)**. Njihova glavna karakteristika je visoka efikasnost – mogućnost multielementalne analize velikog broja uzoraka meda, za relativno kratko vreme. ICP-OES odlikuju široki opseg linearnosti, visoka osetljivost i preciznost, i odsustvo hemijskih interferencija. ICP-MS je vrlo osetljiva tehnika i njenom primenom je moguće odrediti elemente u tragovima sa visokom preciznošću i tačnošću **(55, 56)**.

U nekim studijama su metali u medu određeni primenom fluorescentne spektroskopije X-zraka - ukupne refleksije (Total Reflection X-ray Fluorescence, TXRF) **(62, 85)**, jonske hromatografije (Ion Chromatography, IC) **(64)** i elektrohemijskih tehnika - potenciometrijske striping analize **(86)** i anodne striping voltametrije **(87)**.

Tabela 2. Sadržaji minerala i metala u tragovima (mg/kg) u evropskim vrstama meda, objavljeni u različitim studijama

Botaničko poreklo	Zemlja porekla	n	K	Ca	Mg	Na	Cu	Zn	Fe	Mn	Ni	Cr	Metoda	Ref
Bagrem	Slovenija	9	390	9,4	- ^{a)}	-	-	-	-	1,5	-	-	TXRF ^{b)}	(61)
Bagrem	Slovenija	54	284*	-	-	-	-	-	-	4,25*	-	-	TXRF	(62)
Bagrem	Slovenija	55	287*	17,7*	-	-	-	-	-	6,7*	-	-	TXRF	(68)
Bagrem	Hrvatska	19	304,7	349,3	8,02	33,9	18,6	0,55	2,77	-	-	-	FAAS ^{c)} , GFAAS ^{d)}	(65)
Bagrem	Hrvatska	200	298,8*	96,72*	19,93*	84,34*	0,28*	5,6*	1,11*	0,17*	0,36*	-	ICP-MS ^{e)}	(69)
Bagrem	Mađarska	44	-	-	-	-	0,325	1,75	2,18	-	0,098	0,027	ICP-OES ^{d)}	(78)
Bagrem	Mađarska	8	181	23,6	12,8	-	0,13	1,58	0,429	0,837	-	0,014	ICP-OES, ICP-MS	(66)
Bagrem	Rumunija	3	136,35*	192,65*	20,872*	27,102*	0,1425*	0,3253*	3,7935*	0,4002*	-	-	AAS ^{g)}	(75)
Bagrem	Rumunija	3	454*	7,06*	13,40*	17,25*	0,26*	2,09*	2,01*	0,10*	0,005*	-	AAS	(76)
Bagrem	Rumunija	9	553,867	52,914	51,212	171,149	1,822	2,421	19,387	1,715	0,191	0,051	ICP-MS	(67)
Bagrem	Rumunija	14	262*	68*	-	-	0,39*	2,7*	5,5*	-	-	-	XRF ^{h)} , FAAS, GFAAS	(80)
Bagrem	Bugarska	6	126	32	6	8,11	<0,01-	0,22	0,83	0,11	<0,01-	<0,01-	ICP-AES ⁱ⁾	(72)
Bagrem	Srbija	3	503,8*	61,5*	12,5*	12,2*	-	-	-	-	-	-	IC ^{j)}	(64)
Bagrem	Kosovo	2	267,6*	13,4*	3,8*	10,1*	-	-	-	-	-	-	IC	(64)
Bagrem	Albanija	2	18,0*	16,8*	8,7*	2,8*	-	-	-	-	-	-	IC	(64)
Bagrem	Turska	1	-	-	-	-	0,29	0,84	2,81	0,35	0,53	0,024	AAS	(88)
Bagrem	Italija	23	307	32,71	7,27	12,86	0,67	-	4,51	0,33	-	-	FAAS, GFAAS	(63)
Bagrem	Italija	2	158,5*	9,9*	3,2*	7,1*	-	-	-	-	-	-	IC	(64)
Bagrem	Italija	3	719	115	70	91	0,17	2,03	2,05	1,01	0,06	0,68	ICP-OES, ICP-MS	(70)
Bagrem	Švajcarska	7	-	-	-	-	0,180	0,217	0,278	0,453	0,056	0,003	ICP-MS	(57)
Bagrem	Nemačka	1	324,6	60,75	88,4	15,69	-	3,44	67,18	4,15	0,15	-	AAS	(89)

Tabela 2. (nastavak)

Botaničko poreklo	Zemlja porekla	n	K	Ca	Mg	Na	Cu	Zn	Fe	Mn	Ni	Cr	Metoda	Ref
Bagrem	Poljska	1	-	-	13,8	-	0,44	1,96	1,08	0,27	0,85	-	ICP-AES	(77)
Bagrem	Poljska	5	166	48,8	10,1	13	0,1	4,1	1,2	0,5	0,3	ND	AAS	(74)
Kesten	Slovenija	25	3500	150	-	-	-	-	-	28	-	-	TXRF	(61)
Kesten	Slovenija	38	3483*	-	-	-	-	-	-	23,61*	-	-	TXRF	(62)
Kesten	Slovenija	37	3673*	146*	-	-	-	-	-	22,9*	-	-	TXRF	(68)
Kesten	Slovenija	1	1575,6	108,6	24,3	8,7	-	-	-	-	-	-	IC	(64)
Kesten	Hrvatska	1	1812,1	129,8	30,6	7,8	-	-	-	-	-	-	IC	(64)
Kesten	Hrvatska	9	2824,4	486,7	59,1	35,8	6,19	0,89	3,57	-	-	-	FAAS, GFAAS	(64)
Kesten	Bugarska	1	1628	66	16	9,55	0,09	0,2	0,59	3,73	<0,01	<0,01	ICP-AES	(72)
Kesten	Kosovo	1	1099	67,6	20,7	8,7	-	-	-	-	-	-	IC	(64)
Kesten	Albanija	1	1394,8	87,3	116,2	9,0	-	-	-	-	-	-	IC	(64)
Kesten	Turska	15	5007	481	-	28,00	0,43	2,20	3,20	17,20	-	ND	AAS	(71)
Kesten	Turska	1	-	-	-	-	0,16	0,34	3,28	0,18	0,06	0,01	AAS	(88)
Kesten	Italija	16	-	-	-	-	-	17,869	27,294	-	-	0,830	ICP-OES	(73)
Kesten	Italija	3	2242,8*	146,6*	40,7*	12,3*	-	-	-	-	-	-	IC	(64)
Kesten	Italija	8	3100	179	122	84	0,27	3,5	3,97	2,06	0,14	0,18	ICP-OES, ICP-MS	(70)
Kesten	Španija	41	2602	158	171	34	2,0	2,0	3,0	-	-	-	AAS	(81)
Kesten	Poljska	1	709	55	49,3	7,8	0,6	0,7	1,4	0,8	ND	0,5	AAS	(74)
Lipa	Slovenija	7	780	43	-	-	-	-	-	2,8	-	-	TXRF	(61)
Lipa	Slovenija	28	1805*	-	-	-	-	-	-	3,71*	-	-	TXRF	(62)
Lipa	Slovenija	30	1740*	65,3*	-	-	-	-	-	3,65*	-	-	TXRF	(68)
Lipa	Hrvatska	11	1574,8	387,8	25,5	31,9	20,6	6,78	4,02	-	-	-	FAAS, GFAAS	(65)
Lipa	Mađarska	1	955	45,7	28,6	-	0,320	2,15	0,612	1,36	-	0,037	ICP-OES, ICP-MS	(66)

Tabela 2. (nastavak)

Botaničko poreklo	Zemlja porekla	n	K	Ca	Mg	Na	Cu	Zn	Fe	Mn	Ni	Cr	Metoda	Ref	
Lipa	Rumunija	3	591*	55,63*	17,79*	36,96*	0,44*	1,60*	2,99*	0,10*	0,025*		AAS	(76)	
Lipa	Rumunija	9	955,289	137,854	50,549	123,754	1,563	2,655	19,156	0,868	0,122	0,029	ICP-MS	(67)	
Lipa	Rumunija	12	291*	43*	-	-	0,62*	2,9*	6,9*	-	-	-	XRF, FAAS, GFAAS	(80)	
Lipa	Bugarska	5	792	77	21	7,50	0,12	1,04	1,62	2,45	<0,01-	<0,01-	ICP-AES	(72)	
Lipa	Turska	1	-	-	-	-	0,14	0,48	2,97	0,14	0,22	0,004	AAS	(88)	
Lipa	Italija	2	1653,5*	86,2*	31,3*	16,8*	-	-	-	-	-	-	IC	(64)	
Lipa	Švajcarska	8	-	-	-	-	0,382	0,999	0,654	1,292	0,040	0,003	ICP-MS	(57)	
Lipa	Poljska	1	-	-	13,0	-	0,52	13,41	2,11	1,39	0,89	-	ICP-AES	(77)	
Lipa	Poljska	7	393	39,7	16	18,9	0,3	8,4	2,5	1,1	0,4	0,2	AAS	(74)	
Medljikovac	Rumunija	9	1648,16	101,518	75,415	229,333	3,354	3,871	28,285	2,529	0,325	0,049	ICP-MS	(67)	
Medljikovac	Bugarska	30	1331	103	83	17	0,55	1,2	3,0	12	<0,01-	<0,01-	ICP AES	(79)	
Medljikovac	Albanija	1	340,6	41,2	16,3	21,0	-	-	-	-	-	-	IC	(64)	
Medljikovac	Italija	2	2569	397,9	64,3	62,45	1,94	-	8,65	0,45	-	-	FAAS, GFAAS	(63)	
Medljikovac	Italija	1	1819,7	68,1	55,8	25,3	-	-	-	-	-	-	IC	(64)	
Medljikovac	Švajcarska	19	-	-	-	-	1,450	1,528	2,769	5,72	0,665	0,007	ICP-MS	(57)	
Medljikovac	Poljska	19	2387,6*	25,7*	3,44*	28,99*	1,02*	3,18*	7,2*	4,09*	0,965*	0,0270*	FAAS, ICP-MS	(56)	
Medljikovac	Poljska	6	621,0	53,4	45,2	20,0	0,90	5,2	2,70	3,5	0,4	ND	AAS	(74)	
Uljana repica	Mađarska	6	332	51,2	17,7	-	0,164	3,66	1,35	0,614	-	0,01	ICP-OES, ICP-MS	(66)	
Uljana repica	Rumunija	2	214*	49*	-	-	0,39*	4,7*	10,7*	-	-	-	XRF, FAAS, GFAAS	(80)	
Uljana repica	Bugarska	6	105	46	11	8,49	<0,01-	0,02	0,25	1,01	0,17	0,04	0,01	ICP-AES	(72)

Tabela 2. (nastavak)

Botaničko poreklo	Zemlja porekla	n	K	Ca	Mg	Na	Cu	Zn	Fe	Mn	Ni	Cr	Metoda	Ref	
Uljana repica	Poljska	1	-	-	17,4	-	0,85	1,54	1,43	0,45	0,54	<0,005	ICP-AES	(77)	
Uljana repica	Poljska	11	200,3*	52,4*	6,17*	29,30*	1,69*	0,94*	2,9*	0,37*	0,087*	0,0298*	FAAS, ICP-MS	(56)	
Uljana repica	Poljska	5	190,0	51,3	18,9	11,2	0,1	2,1	3,00	0,6	0,3	ND	AAS	(74)	
Suncokret	Mađarska	5	439	111	22,4	-	0,27	3,35	0,648	1,1	-	0,010	ICP-OES, ICP-MS	(66)	
Suncokret	Rumunija	2	563*	48,33*	21,72*	30,04*	0,46*	2,665*	3,21*	0,10*	0,003*	ND	AAS	(76)	
Suncokret	Rumunija	9	849,36	163,878	63,772	154,068	2,390	3,241	24,009	1,001	0,183	0,037	ICP-MS	(67)	
Suncokret	Rumunija	4	179*	50*	-	-	0,22*	3,6*	10,5*	-	-	-	XRF, FAAS, GFAAS	(80)	
Suncokret	Bugarska	6	247	71	14	7,58	<0,01-	0,07	0,61	1,93	0,36	0,98	0,01	ICP-AES	(72)
Suncokret	Turska	1	-	-	-	-	0,02	0,39	1,71	0,02	0,04	-	AAS	(88)	

Tabela 2. – Objašnjenje:

n - broj uzoraka

* naknadno izračunate srednje vrednosti, na osnovu podataka objavljenih u originalnom radu

a) vrednost nije data u originalnom radu

b) TXRF- fluorescentna spektroskopija X-zraka - ukupna refleksija (Total Reflection X-ray Fluorescence)

c) FAAS- atomska apsorpciona spektrometrija – plamena tehnika (Flame Atomic Absorption Spectrometry)

d) GFAAS- atomska apsorpciona spektrometrija – tehnika grafitne peći (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry)

e) ICP-MS- induktivno spregnuta plazma - masena spektrometrija (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)

- f) ICP-OES- induktivno spregnuta plazma - optička emisiona spektrometrija (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)
- g) AAS- atomska apsorpciona spektrometrija (Atomic Absorption Spectrometry)
- h) XRF- fluorescentna spektroskopija X-zraka (Reflection X-ray Fluorescence)
- i) ICP-AES- induktivno spregnuta plazma - atomska emisiona spektrometrija (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry)
- j) IC- jonska hromatografija (Ion Chromatography)

2.4.2. Ugljeni hidrati

Ugljeni hidrati (šećeri) predstavljaju glavni sastojak meda, od čega oko 75% čine monosaharidi glukoza i fruktoza. Pored njih, u medu se, u manjoj meri, nalazi i oko 25 oligosaharida (di-, tri- i tetrasaharidi). Najzastupljeniji disaharidi su saharoza, turanoza, maltoza, izomaltoza i trehaloza, a trisaharidi melezitoza, erloza i rafinoza. Jedan od najčešćih načina za falsifikovanje meda je vezan upravo za ugljene hidrate - dodavanje invertnog, kukuruznog, fruktoznog kukuruznog sirupa i sl. (30, 90, 91). Određivanje ugljenohidratnog sastava meda je jedan od potencijalnih alata za utvrđivanje njegove autentičnosti.

Sastav šećera u medu je u korelaciji sa šećernim profilom prekursora, tako da su fruktoza i glukoza u većem ili manjem stepenu prisutni i u nektaru ili ugljenohidratnom ekskretu insekata koji sišu tečnost iz floema - složenog biljnog provodnog tkiva, čija je funkcija transport rastvorene organske supstance od mesta gde se sintetiše, najčešće od lista, do svih ostalih delova biljke. Monosaharidi dodatno nastaju i u samom medu, inverzijom saharoze pod dejstvom enzima invertaze (92). Iako šećerni sastav nektara nije u potpunosti istražen, smatra se da se poreklo mnogih oligosaharida u medu ne može pripisati nektaru, već reakcijama trans-D-glikozilacije. D-glukopiranozilne ili D-fruktofuranozilne grupe se prenose do molekula receptora koji može biti mono-, oligo- ili polisaharid. Ove procese katalizuju enzimi α - i β -glukozidaza (93). Takođe, tokom stajanja meda dolazi i do neenzimske kondenzacije monosaharida kiselom katalizom i formiranja jedinjenja poput difruktoza anhidrida, uz istovremeni gubitak fruktoze (94). Neki od radova su ukazali na slab potencijal oligosaharida za određivanje botaničkog porekla meda, jer su male razlike u količini tih manje zastupljenih šećera, što je objašnjeno činjenicom da oni u medu nastaju usled inverzije. (92, 95-97). Sadržaj fruktoze i glukoze, kao i odnosi fruktoza/glukoza i glukoza/voda se prema mnogim autorima smatraju korisnim parametrima za klasifikaciju monofloralnih vrsta meda (35, 98, 99).

Oligosaharidni profil je pouzdan pokazatelj za klasifikaciju samo u slučaju monofloralnih vrsta meda kod kojih je vrlo izraženo poreklo od jedne biljne vrste, ali je i tada vrlo teško izdvojiti jedan šećer kao marker porekla. Zbog toga, većina studija za diferencijaciju

meda prema botaničkom poreklu sugerise korišćenje odnosa određenih šećera, i to u kombinaciji sa još nekim kriterijumom, npr. električnom provodljivošću, polifenolnim profilom i sl. **(100)**.

Metode primenjene za određivanje šećera se baziraju na fizičkim karakteristikama šećera (merenje optičke aktivnosti, gustine i indeksa refrakcije) i na hemijskim reakcijama reaktivnih grupa **(46)**. Hromatografske metode pružaju najveće mogućnosti za razdvajanje i detekciju šećera. Najčešće se koriste: visokoefikasna tečna hromatografija sa refraktometrijskom detekcijom (High-performance Liquid Chromatography Refractive Index, HPLC-RI) **(101)**, visokoefikasna tečna hromatografija sa pulsnom amperometrijskom detekcijom (High-performance Liquid Chromatography Pulse Amperometric Detector, HPLC-PAD) **(7)**, anjonskoizmenjivačka visokoefikasna tečna hromatografija (High-performance Anion Exchange Chromatography, HPAEC) **(102)**, gasna hromatografija sa plameno-jonizujućom detekcijom (Gas Chromatography Flame Ionization Detector, GC-FID) **(13)** i gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (Gas Chromatography Mass Spectrometry, GC-MS) **(103)**. Pored ovih, primenjuju se i spektroskopske metode: infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (Fourier-transform infrared spectroscopy, FTIR) i ramanska spektroskopija **(104)**.

2.4.3. Aminokiseline

Aminokiseline u medu potiču iz ekskreta pčela i iz nektara, odnosno medljike, a najviše iz polena, tako da određivanje aminokiselinskog profila može poslužiti za klasifikaciju meda prema botaničkom poreklu. Veći deo aminokiselina u medu nalazi se u vezanom obliku, samo petina od ukupne količine su slobodne **(105)**. Međutim, iako je med poreklom od iste botaničke vrste, zbog dodatka slobodnih aminokiselina od strane pčela, velike su varijacije u njihovom sadržaju, tako da ovaj parametar, sam za sebe, ne može biti upotrebljen za pouzdanu klasifikaciju meda, već se pored njega mora uzeti u obzir i neki drugi, npr. sadržaj šećera, minerala, ili neki od fizičko-hemijskih parametara **(12, 106)**. U medu je detektovano 27 aminokiselina **(107)**. Dominantan je prolin, njegov udeo je 50-85% od ukupnog sadržaja aminokiselina. Prolin u med dospeva iz pljuvačnih ekskreta pčela, za vreme procesa konverzije nektara, odnosno medljike u med, tako da ne može biti pouzdan pokazatelj botaničkog porekla. Visok sadržaj prolina je karakterističan za medljikovce. Arginin je, opet, karakterističan za med od kestena, a triptofan za

bagremov med **(105)**. Sadržaj prolina, zajedno sa aktivnošću određenih enzima, može biti merilo za zrelost meda. **(108)**. Isto tako, ukoliko je niži od 180 mg/kg, sadržaj prolina može ukazati na falsifikate meda usled dodavanja šećera **(109)**. Sadržaj prolina u pravom medu bi trebalo da je veći od 200 mg/kg **(110)**.

Po pravilu, metode za identifikaciju i određivanje sadržaja aminokiselina u medu podrazumevaju ekstrakciju uzorka, derivatizaciju aminokiselina, i razdvajanje i određivanje hromatografskim tehnikama (GC ili HPLC). Što se detekcije tiče, smatra se da je masena spektrometrija selektivnija u odnosu na detekciju u UV-Vis oblasti ili fluorescentnu detekciju **(111)**.

Cotte i saradnici su izvršili karakterizaciju meda od lavande na osnovu analize aminokiselinskog sastava, primenom HPLC i korišćenjem PCA za obradu rezultata. Takođe, oni su u svojoj studiji, primenom istog metoda, detektovali dodatak šećernog sirupa u med od repice i jele **(112)**. U studiji poljskog meda različitog botaničkog porekla zaključeno je da je za jasno razdvajanje uzoraka meda prema botaničkom poreklu profil aminokiselina nedovoljan, zbog izrazitog varijabiliteta među rezultatima **(106)**. Sa druge strane, u kineskoj studiji koja je obuhvatila ispitivanje aminokiselinskog sastava u uzorcima meda poreklom od pet botaničkih vrsta, postignuto je zadovoljavajuće razdvajanje, nakon primene diskriminantne analize (Discriminant Analysis, DA) **(113)**. U okviru prvog sistematskog proučavanja srpskog meda, pored ostalog, analizirani su i profili aminokiselina 192 uzorka meda od sedam različitih botaničkih vrsta, poreklom sa cele teritorije Srbije. PCA i LDA su pokazale odlično razdvajanje meda od bosiljka od ostalih vrsta. LDA je, takođe, pokazala umeren prediktivni potencijal za razdvajanje bagremovog, lipovog, suncokretovog i meda od uljane repice. U ovoj studiji su po prvi put prezentovani aminokiselinski profili meda od zlatnog pruta i heljde **(12)**.

2.4.4. Fenolna jedinjenja

Fenolna jedinjenja obuhvataju oko 10 000 različitih jedinjenja, koja se, prema osnovnoj strukturi, mogu grupisati u nekoliko klasa. Mogu da se podele na ne-flavonoide (fenolne kiseline) i flavonoide (flavoni, flavonoli, flavanoni, flavanoli, antocijanidini, izoflavoni i halkoni). Fenolna jedinjenja u svojoj strukturi imaju aromatičan prsten sa jednom, ili više hidroksilnih grupa, i mogu varirati od jednostavnih do kompleksnih fenolnih polimera, velikih molekulskih masa **(30)**. Neka od ovih jedinjenja, npr.

flavonoidi, imaju izraženo antioksidativno dejstvo. Flavonoidi su biljni fenolni pigmenti. Prisutni su u polenu (oko 0,5%), propolisu (oko 10%) i medu (oko 0,6%) (46).

Sastav fenolnih jedinjenja u medu zavisi od botaničke vrste od koje med potiče, faktora sredine, geografskog područja, uslova skladištenja i prerade (114). Stoga, analiza polifenolnog profila meda pruža mogućnosti za određivanje njegovog botaničkog (115), ali i geografskog porekla. (116). Ferreres i Tomás-Barberán su u svom radu istakli karakterističan flavonoidni profil meda od eukaliptusa, koji bi se mogao koristiti za određivanje porekla (117). Kečkeš i saradnici su takođe ukazali na potencijal analize flavonoida u kombinaciji sa hemometrijskim tehnikama, za utvrđivanje botaničkog porekla meda. Rezultati dobijeni u studiji srpskog meda pokazuju sličnosti u sastavu flavonoida kod uzoraka meda poreklom od višegodišnjih biljaka (bagrem i lipa), s jedne strane, i kod uzoraka poreklom od jednogodišnjih biljaka (suncokret, bosiljak, zlatni prut, uljana repica, heljda), sa druge. Kao potencijalni specifični markeri su izdvojeni kvercentin, eriodikitiol i *cis, trans*-abscisinska kiselina (118). Jasicka-Misiak i saradnici su u uzorcima belgijskog polifloralnog meda odredili visok sadržaj elaginske kiseline, koja je istaknuta kao potencijalni hemijski marker za razlikovanje polifloralnog meda iz severne Belgije u odnosu na ostale (119). Za određivanje fenolnih jedinjenja uglavnom se primenjuju metode tačne hromatografije kombinovane sa različitim tehnikama za detekciju (52, 120). Brčić-Karačonji i Jurica su za određivanje homogentizinske kiseline, hemijskog markera karakterističnog za med od planike (*Arbutus unedo* L.) primenili GC-MS (121).

2.5. Fizičko-hemijski parametri meda

U narednom delu dat je kratak osvrt na neke od osnovnih fizičko-hemijskih parametara meda. Naime, za tumačenje rezultata i u cilju donošenja validnih zaključaka, prilikom utvrđivanja autentičnosti meda preko nekog od navedenih hemijskih markera, veoma je važno, između ostalog, uzeti u obzir i osnovne fizičko-hemijske parametre. Zahtevi u pogledu melisopalinološke analize, senzornih svojstava i fizičko-hemijskih parametara kvaliteta meda su definisani u okviru zakonskih regulativa (4-6). U Tabeli 3. je dat prikaz nekih od ovih zahteva.

Tabela 3. Fizičko-hemijski parametri kvaliteta meda (izdvojeno iz Pravilnika o kvalitetu meda i drugih proizvoda pčela (Službeni Gl. RS br. 101/15))

Parametar	Vrednost
Šećeri	
Sadržaj glukoze i fruktoze	
Cvetni (nektarni) med	ne manje od 60 g/100g
Medljikovac	ne manje od 45 g/100 g
Sadržaj saharoze	
Za sve vrste meda	ne više od 5 g/100 g
Bagrem (<i>Robinia pseudoacacia</i>), lucerka (<i>Medicago sativa</i>), vres (<i>Calluna vulgaris</i>), slatkovina, eukaliptus (<i>Eucalyptus camadulensis</i>), agrumi (<i>Citrus spp.</i>)	ne više od 10 g/100 g
Lavanda (<i>Lavandula spp.</i>)	ne više od 15 g/100 g
Sadržaj vode	
Za sve vrste meda	ne više od 20 %
Vres (<i>Calluna vulgaris</i>)	ne više od 23 %
Sadržaj materija nerastvorljivih u vodi	
Za sve vrste meda	ne više od 0,1 g/100 g
Slobodne kiseline	
Za sve vrste meda	ne više od 50 meq/kg
Električna provodljivost	
Vrste meda koje nisu dole navedene i mešavine tih vrsta	ne više od 0,8 mS/cm
Medljikovac, med od kestena i njihove mešavine Izuzeci: planika (<i>Arbutus unedo</i>), vres, eukaliptus, lipa, manuka (<i>Leptospermum</i>), čajevac	ne manje 0,8 mS/cm
Aktivnost dijastaze nakon prerade i mešanja, kao dopunski faktor	
Sve vrste meda	ne manje od 8
Vrste meda sa niskom prirodnom količinom enzima (npr. med od citrusa) i količinom HMF ne većom od 15 mg/kg	ne manje od 3
Sadržaj HMF nakon prerade i mešanja, kao dopunski faktor	
Sve vrste meda	ne više od 40 mg/kg
Med koji vodi poreklo iz predela tropske klime	ne više od 80 mg/kg

2.5.1. Sadržaj vode

Sadržaj vode u medu, u zavisnosti od botaničkog porekla, stepena zrelosti koji je med dostigao u košnici, načina obrade i uslova čuvanja, iznosi od 15 do 21%. Med iz područja sa visokom vlagom, ili koji je sakupljan u kišnoj sezoni, sadrži veću količinu vode. Sadržaj vode je veoma bitan parametar za stabilnost i održivost meda, jer ukoliko je povećan može doći do nepoželjnog procesa fermentacije **(30)**.

2.5.2. Slobodna kiselost i pH

Prosečna vrednost pH meda je, usled prisustva organskih kiselina, između 3,5 i 5,5 **(108)**. Vrednost pH za med nije definisana propisima, ali je određivanje ovog parametra vrlo korisno u okviru procene autentičnosti, posebno za otkrivanje falsifikata. Naime, dodati fruktozni sirupi znatno podižu pH u odnosu na prirodni med. Slobodna kiselost je parametar usko vezan za proces kvarenja meda. Povišene vrednosti slobodne kiselosti (iznad 50 meq/kg) su pokazatelj fermentacije šećera koji prelaze u kiseline **(30)**.

2.5.3. Specifična optička rotacija

Kako su šećeri glavni sastojci meda (80%), med, kao i svaki rastvor šećera, pokazuje sposobnost zaokretanja ravni polarizovane svetlosti. Fruktoza daje negativnu optičku rotaciju, dok glukoza daje pozitivnu. Ukupna optička rotacija meda upravo zavisi od koncentracija prisutnih šećera. Nektarni med, u kojem je sadržaj fruktoze dominantan, ima negativnu specifičnu rotaciju, za razliku od medljikovca, u kojem su zastupljeniji glukoza, di- i oligosaharidi, usled čega pokazuje pozitivnu specifičnu rotaciju. S tim u vezi, specifična optička rotacija je parametar na osnovu kojeg se, pre svega, mogu razdvojiti nektarn med od medljikovca, a do izvesne mere, može koristiti i za klasifikovanje nektarnih monofloralnih vrsta meda **(108)**.

2.5.4. Električna provodljivost

Električna provodljivost meda potiče od prisustva minerala, organskih kiselina i proteina. Ovaj parametar se, takođe, koristi za razlikovanje nektarnih vrsta meda od medljikovca, ali i za klasifikaciju nektarnog meda prema botaničkom poreklu **(30, 108)**.

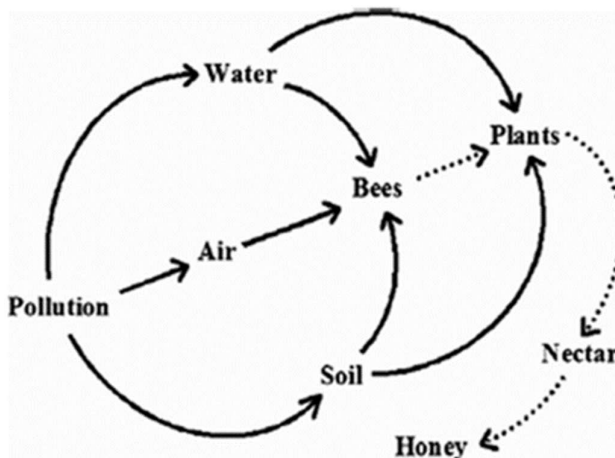
2.6. Kontaminanti meda

Sa aspekta monitoringa životne sredine pčele predstavljaju izvrsne mobilne uzorkivače, ali i bioindikatore hemijskog zagađenja, s obzirom da tokom svog leta dolaze u kontakt sa različitim zagađivačima (17). Štetno dejstvo raznih kontaminanata se, pre svega, manifestuje visokim stepenom mortaliteta kod pčela, ali se njihovo prisustvo može detektovati i u medu i ostalim pčelinjim proizvodima (20). Med i ostali pčelinji proizvodi mogu biti kontaminirani indirektno, iz životne sredine ili usled primene agrotehničkih mera, ili direktno, usled neadekvatne pčelarske prakse. Glavni kontaminanti poreklom iz životne sredine su toksični (teški) metali, pesticidi, polihlorovani bifenili (PCB), policiklični aromatični ugljovodonici (PAH), bakterije, genetski modifikovani organizmi i radioaktivnost. Štetne supstance koje se u medu i drugim proizvodima mogu naći usled neadekvatne pčelarske prakse su supstance za kontrolu štetočina i bolesti pčela (akaricidi, antibiotici, pesticidi itd.) i teški metali poreklom iz pčelarske opreme i posuđa za skladištenje meda (14-16).

2.6.1. Toksični metali

Kao što je već rečeno, sadržaj metala u medu je u najvećoj meri određen njegovim botaničkim i geografskim poreklom. Kako su pčele izložene zagađivačima koji se nalaze na površini od oko 7 km² u okolini pčelinjaka, i dolaze u kontakt sa vazduhom, zemljištem i vodom, za očekivati je da med bude koristan pokazatelj zagađenja teškim metalima. (Slika 1.) Teški metali potiču od industrije, saobraćaja, primene veštačkih đubriva koja sadrže kadmijum, kao i pesticida na bazi žive i arsena, koji se još uvek koriste u nekim zemljama. (83, 122). Hemijski sastav, samim tim i sadržaj metala u polenu, takođe zavisi od botaničkog i geografskog porekla, ali i postupka prerade i pčelarskih aktivnosti. Kako je izložen izvorima zagađenja iz životne sredine i polen može sadržati razne kontaminante. Zaključak brazilske studije je da se polen, zbog svoje podložnosti kontaminaciji neorganskim elementima, može smatrati korisnim bioindikatorom zagađenja životne sredine (123). Metali u tragovima iz vazduha se mogu deponovati na dlačicama tela pčele i zajedno sa polenom dospeti u košnicu. Isto tako, može ih

apsorbovati cvetni nektar ili se mogu transportovati putem vode ili medljike. Sve ovo rezultuje zagađenjem pčelinjih proizvoda i narušava njihovu bezbednost i kvalitet (124). Vazduh i zemljište sadrže toksične teške metale, uglavnom olovo i kadmijum. Olovo u nektar ili medljiku dospeva direktno, iz vazduha, za razliku od kadmijuma, koji se iz zemljišta, kroz biljku transportuje u nektar ili medljiku. Međutim, mnoga istraživanja ukazuju na relativno nisku kontaminaciju meda olovom, kadmijumom i pesticidima, što je najverovatnije usled filtrirajućih efekata pčela (14).



Slika 1. Prirodni i antropogeni izvori metala u medu (53)

Do kontaminacije meda može doći i tokom procesa proizvodnje i obrade, preko opreme i alata. Materijali od kojih je pčelarska oprema napravljena, poput aluminijuma, nerđajućeg čelika i galvanizovanog čelika, mogu otpustiti u med kontaminante kao što su Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Pb, Ni i Zn (125). Oprema predviđena za proizvodnju, kao i posuđe za skladištenje meda moraju biti izrađeni od adekvatnih materijala specijalno namenjenih za hranu (126).

Teški metali se akumuliraju u vitalnim organima, posebno jetri i bubrezima, i dovode do progresivnih štetnih efekata različitim mehanizmima: interferencija sa esencijalnim metalima, oksidativnog stresa i interakcija sa ćelijskim makromolekulima (127). Elementi kao što su Se, Cu, Mn, Fe, Ni i Zn su neophodni za normalno odvijanje metaboličkih procesa u organizmu, ali ukoliko su prisutni u većoj količini, predstavljaju rizik po ljudsko zdravlje, upravo ugrožavajući metabolizam. Prisustvo Pb, Cd, Ni i Cr je nepoželjno, zbog njihovog izraženog kancerogenog i citotoksičnog dejstva (128).

Što se tiče zakonske regulative, u pogledu maksimalno dozvoljenih količina (MDK) pojedinih metala u medu, evropski propisi definišu MDK samo za olovo (**129**), dok su u srpskoj regulativi definisane MDK za Pb, Cd, As, Zn, Fe i Cu (**130**).

2.6.2. Policiklični aromatični ugljovodonici (PAH)

Policiklični aromatični ugljovodonici (PAH) predstavljaju veliku grupu liposolubilnih organskih jedinjenja koja u svojoj strukturi sadrže dva ili više kondenzovanih aromatičnih prstenova. PAH su proizvodi pirolitičkih procesa, posebno nepotpunog sagorevanja organske supstance tokom industrijskih procesa i drugih ljudskih aktivnosti: prerade uglja i sirove nafte, sagorevanja prirodnog gasa, grejanja, spaljivanja otpada, saobraćaja, kuvanja i pušenja. Takođe, oni nastaju i prirodnim procesima kao što je karbonizacija (**131**). Štetan uticaj PAH na ljudski organizam se ispoljava kroz mutageno i karcinogeno dejstvo (**132**). Na osnovu monitoringa uzoraka iz životne sredine Agencija za zaštitu životne sredine Sjedinjenih Američkih Država (United States Environmental Protection Agency - U.S. EPA) je navela 16 najčešće prisutnih PAH: acenaften, acenaftilen, antracen, fluoranten, fluoren, naftalen, fenantren, piren, benzo[a]antracen, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[ghi]perilen, benzo[a]piren, krizen, dibenz[a,h]antracen i indeno[1,2,3-cd]piren. PAH u hranu dospevaju iz vazduha, vode i zemljišta, ali i usled procesa prerade hrane. Evropska Komisija je ustanovila MDK u hrani za sumu četiri PAH: benzo[a]piren, benzo[a]antracen, benzo[b]fluoranten i krizen, kao i za sam benzo[a]piren. Ovakav pristup je obezbedio da se hrana u kojoj benzo[a]piren nije detektovan, ali su prisutni ostali PAH, ne može naći na tržištu.

Što se meda i pčelinjih proizvoda tiče, situacija je slična: do kontaminacije dolazi iz životne sredine, ali i usled pčelarskih aktivnosti kao što je zadimljavanje pčela u košnici u toku rada sa njima ili pri skidanju medišnih nastavaka radi vrcanja meda (**133**). Maksimalno dozvoljene količine PAH su, i u evropskoj i u domaćoj regulativi, definisane za namirnice koje sadrže masti i ulja i kod kojih procesi dimljenja ili sušenja mogu dovesti do kontaminacije (**130, 134, 135**). Za med i ostale pčelinje proizvode nisu propisane MDK. Sadržaj ovih jedinjenja je praćen kroz razne studije (**133, 135-141**). Povišen nivo PAH je zabeležen u uzorcima meda ili drugih pčelinjih proizvoda poreklom iz urbanih, odnosno industrijskih oblasti (**136, 138**).

2.6.3. Pesticidi

Primena pesticida u poljoprivredi je neizbežna i neophodna u cilju povećanja produktivnosti. Međutim, ukoliko se sprovodi bez kontrole i na neadekvatan način, što je, na žalost, česta pojava, može dovesti do vrlo ozbiljnih posledica, između ostalog, do ugroženosti pčelinjih društava i kontaminacije njihovih proizvoda. Pesticidi koji služe za zaštitu useva do košnica dospevaju preko kontaminiranih pčela i voska. U med, takođe, mogu dospeti i fungicidi koji se koriste za zaštitu voćnjaka i uljane repice.

Pesticidi se primenjuju i za zaštitu pčela od različitih bolesti i štetočina, što takođe nosi rizik od direktne kontaminacije proizvoda. Kontaminacija meda i drugih proizvoda akaricidima, primenjenih za zaštitu pčela, je čak češća od kontaminacije iz okoline.

Organski kontaminanti i polihlorovani bifenili (PCB) poreklom od transformatorskih i motornih ulja, rashladnih tečnosti, maziva i sl. su i dalje prisutni u životnoj sredini i takođe ugrožavaju pčele i njihove proizvode (**15, 142, 143**). U okviru Regulative EU 396/2005 (**144**) i regulative Republike Srbije (**130**) definisane su MDK za širok spektar pesticida. Pored toga, u Regulativi EU 37/2010 propisane su MDK za ostatke farmakološki aktivnih supstanci u medu (**145**).

2.7. Nestajanje pčela i značaj koncepta urbanog pčelarstva

Pčele su efikasni i pouzdani polinatori, one sistematično posećuju biljke, sakupljaju nektar i polen, bez uništavanja biljke, i na taj način održavaju biodiverzitet i produktivnost i prirodnih i poljoprivrednih ekosistema (**17**). Njihovi proizvodi, sa druge strane, doprinose ljudskoj ishrani i zdravlju.

Savremeno pčelarstvo se susreće sa dramatičnim smanjenjem broja pčelinjih društava u celom svetu tokom poslednjih 10-15 godina. Prema podacima Evropske agencije za bezbednost hrane (EFSA) i organizacije Greenpeace, u Evropi je zabeležen gubitak od 25% kolonija od 1985. godine, u Sjedinjenim Američkim Državama 40% od 2006. godine, a u Velikoj Britaniji čak 45% od 2010. godine (**21, 22**). Ova pojava, opisana kao

sindrom nestajanja pčela (eng. Colony Collapse Disorder), može se pripisati uglavnom kombinovanom dejstvu faktora kao što su neadekvatna pčelarska praksa, uslovi okoline, hemijski i biološki faktori (21, 23). Sindrom nestajanja pčela predstavlja ogromnu opasnost za ekosistem, ali za posledicu ima i ogromnu materijalnu štetu. Mere za sprečavanje ove pojave podrazumevaju, pre svega, kontrolisanu upotrebu hemijskih sredstava za zaštitu bilja i pravilno sprovedenu zaštitu i tretman pčela. Evropska agencija za životnu sredinu (EEA) poslednjih godina razvija koncept tzv. urbanog pčelarstva, odnosno gajenje pčela u strogo gradskim sredinama, koji za cilj, pre svega, ima pospešivanje polinacije radi očuvanja biljnog sveta (24, 25).



Slika 2. Košnice na Gradskoj većnici u Kopenhagenu.

Preuzeto sa: <http://www.kobenhavnergron.dk/place/bybier-kobenhavns-radhus/>

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Uzorci

Uzorci meda predviđeni za ispitivanje mineralnog sastava u okviru disertacije obezbeđeni su od strane Saveza pčelarskih organizacija Srbije (SPOS) [www.spos.info]. Sakupljeno je ukupno 206 uzoraka monofloralnog meda pet botaničkih vrsta: meda od bagrema – 162 uzorka, suncokreta - 23, lipe - 11, uljane repice - 7 i 3 uzorka meda od bosiljka, proizvedenih u proleće i leto 2009. godine. Uzorci meda su poticali sa cele teritorije Srbije. Pregled ispitivanih vrsta meda sa podacima o njihovom regionalnom poreklu je dat u **Tabeli 4**. Uz uzorke, SPOS je obezbedio podatke o botaničkom i regionalnom poreklu meda, kao i podatke o proizvođačima. Botaničko poreklo uzoraka je definisao SPOS na osnovu podataka pčelara i senzornih karakteristika, a potvrđeno je i određivanjem osnovnih fizičko-hemijskih parametara i hemometrijskom analizom (**3**). Uzorci su dostavljeni u laboratoriju u staklenoj ili plastičnoj ambalaži, u količini od oko 500 g i čuvani su na sobnoj temperaturi (20-22 °C) do analize.

Uzorke meda, polena i cvetnog nektara, predviđene za sistematsko ispitivanje kvaliteta i sadržaja potencijalnih kontaminanata okoline sakupio je stručni tim sa Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Uzorci potiču iz oglednog pčelinjaka smeštenog u Zemunskom parku, u samom centru beogradske opštine Zemun. Sakupljeno je ukupno 23 uzorka neprerađenog polifloralnog meda (16 uzoraka iz 2015. i 7 iz 2016. godine), 13 uzoraka polena (10 iz 2015. i 3 iz 2016. godine) i 6 uzoraka cvetnog nektara. Uzorci meda i polena su prikupljeni u istom kalendarskom periodu. Pregled uzoraka urbanog meda, polena i nektara je dat u **Tabeli 5**. Kako bi se procenio kvalitet urbanog meda, u 16 uzoraka iz 2015. godine izmereni su sledeći fizičko-hemijski parametri: sadržaj vode, električna provodljivost, optička rotacija i slobodna kiselost, primenom metoda preporučenih od strane Međunarodne komisije za med (**45**). Uzorci meda i polena su čuvani u polietilenskim teglicama (Lab Logistics Group GmbH, Nemačka). Uzorci nektara, s obzirom na malu količinu, čuvani su u polietilenskim vialama (Eppendorf AG,

Nemačka). Do analize, uzorci meda su čuvani na sobnoj temperaturi, u mraku, uzorci polena u frižideru na 4 - 8 °C, dok su uzorci nektara bili duboko zamrznuti na -18 °C.

Tabela 4. Pregled uzoraka meda prema botaničkim vrstama i regionalnom poreklu

Region	Broj uzoraka po botaničkoj vrsti i regionu				
	Bagrem (<i>Robinia pseudoacacia</i>)	Suncokret (<i>Helianthus annuus</i>)	Lipa (<i>Tilia spp.</i>)	Uljana repica (<i>Brassica napus</i>)	Bosiljak (<i>Ocimum basilicum</i>)
Centralna Srbija	61	-	-	-	-
Vojvodina	9	23	4	7	3
Istočna Srbija	34	-	7	-	-
Zapadna Srbija	32	-	-	-	-
Južna Srbija	24	-	-	-	-
Beograd	2	-	-	-	-

Tabela 5. Pregled analiziranih uzoraka meda, polena i cvetnog nektara

Oznaka uzorka	Opis	Oznaka uzorka	Opis
h1	Med, April 2015.	h11	Med, Jul 2015.
h2	Med, April 2015.	h12	Med, Jul 2015.
h3	Med, April 2015.	h13	Med, Jul 2015.
h4	Med, April 2015.	h14	Med, Jul 2015.
h5	Med, Maj 2015.	h15	Med, Avgust 2015.
h6	Med, Maj 2015.	h16	Med, Avgust 2015.
h7	Med, Maj 2015.	h17	Med, April 2016.
h8	Med, Maj 2015.	h18	Med, April 2016.
h9	Med, Jun 2015.	h19	Med, Jun 2016.
h10	Med, Jun 2015.	h20	Med, Jun 2016.

Tabela 5. (nastavak)

Oznaka uzorka	Opis	Oznaka uzorka	Opis
h21	Med, Jun 2016.	p11	Polen , April 2016.
h22	Med, Jun 2016.	p12	Polen, Jun 2016.
h23	Med, Oktobar 2016.	p13	Polen, Oktobar 2016.
p1	Polen, April 2015.	n1	Nektar, April 2016.
p2	Polen, April 2015.	n2	Nektar, April 2016.
p3	Polen, Maj 2015.	n3	Nektar, Jun 2016.
p4	Polen, Maj 2015.	n4	Nektar, Jun 2016.
p5	Polen, Maj 2015.	n5	Nektar, Jun 2016.
p6	Polen, Maj 2015.	n6	Nektar, Jun 2016.
p7	Polen, Jun 2015.		
p8	Polen, Jun 2015.		
p9	Polen, Jul 2015.		
p10	Polen, Jul 2015.		

3.2. Određivanje sadržaja minerala, mikroelemenata i metala u tragovima primenom ICP-OES

Princip

Sadržaj minerala, odnosno makroelemenata (K, Mg, Na i Ca), mikroelemenata (Fe, Zn, Mn, Cu i Co) i elemenata u tragovima (Cd, Cr i Ni) je određen primenom induktivno spregnute plazme - optičke emisije spektrometrije (ICP-OES). Uzorci meda su pripremljeni primenom mikrotalasne digestije.

Reagensi i standardi

- Azotna kiselina 65% (for analysis, EMSURE® ISO), Merck, Nemačka

- Vodonik-peroksid 35% (for analysis, EMSURE[®] ISO), Merck, Nemačka
- Dejonizovana voda (električne provodljivosti 18,2 MΩ cm), dobijena korišćenjem Simplicity[®] sistema za prečišćavanje vode (Merck Millipore, SAD)
- Multielementalni standardni rastvor, (koncentracije 1g/L (Specpure[®] Alfa Aesar by Thermo Scientific, Velika Britanija)

Oprema

- Optički emisioni spektrometar sa induktivno spregnutom plazmom (iCAP 6500 Duo ICP, Thermo Scientific, Velika Britanija)
- Mikrotalasna digestiona jedinica (Ethos 1, Milestone, Italija), sa rotorom visokog pritiska

Postupak

U politetrafluoroetilenske (PTFE) kivete za mikrotalasnu digestiju je odmereno je oko 0,6-0,7 g meda. U kivete je dodato 7 mL 65% azotne kiseline i 1 mL 35% vodonik-peroksida. Temperaturski režim je programiran na sledeći način: zagrevanje do 200 °C 15 min, a zatim digestija na 200 °C 15 min. Rastvor nakon mikrotalasne digestije je, uz ispiranje kivete malim porcijama dejonizovane vode, prenet u normalni sud i dopunjen do 50 mL. Na isti način je pripreman i rastvor slepe probe. Sadržaj metala u rastvorima mineralizovanih uzoraka je određen primenom ICP-OES, pod sledećim uslovima: Rf snaga 1150 W; protok gasa - argona: 12,0 L/min (glavni); 0,5 L/min (pomoćni); 0,5 L/min (u nebulajzeru); protok uzorka 1,0 mL/min; izabrane talasne dužine: K (769,9 nm); Mg (279,5 nm); Na (589,6 nm); Ca (318,0 nm); Fe (234,3 nm); Zn (213,9 nm); Mn (259,4 nm); Cu (224,7 nm); Co (228,6 nm); Cd (214,4 nm); Cr (283,6 nm) i Ni (231,6 nm).

3.3. Određivanje sadržaja metala primenom ICP-MS

Princip

Sadržaj metala (Pb, Cd, As, Cu, Zn, Fe, Mn, Ni, Cr i Hg) je određen primenom induktivno spregnute plazme - masene spektrometrije (ICP-MS). Uzorci meda, polena i nektara su pripremljeni primenom mikrotalasne digestije.

Reagensi i standardi

- Azotna kiselina 65% (for analysis EMSURE® ISO), Merck, Nemačka
- Vodonik-peroksid 30% (for analysis EMSURE® ISO), Merck, Nemačka
- Dejonizovana voda (električne provodljivosti 18,2 MΩ cm), dobijena korišćenjem Simplicity® sistema za prečišćavanje vode (Merck Millipore, SAD)
- Multielementalni standardni rastvor, koncentracije 1g/L (Certipur®, Merck, Nemačka)
- Ostatak uzorka iz programa za ispitivanje osposobljenosti (FAPAS 07286-Metallic contaminants in honey), radi kontrole kvaliteta analitičke procedure

Oprema

- Maseni spektrometar sa induktivno spregnutom plazmom (iCAP Q, Thermo Scientific X series 2, SAD) sa softverom Qtegra Instrument Control
- Mikrotalasna digestiona jedinica (Ethos Touch, Milestone, Italija), sa rotorom visokog pritiska

Postupak

U politetrafluoroetilenske (PTFE) kivete za mikrotalasnu digestiju je odmereno je oko 0,5 g meda, 0,3 g polena i 0,4-0,5 g nektara. U kivete je dodato 7 mL 65% azotne kiseline i 2 mL 35% vodonik-peroksida. Temperaturski režim digestije je programiran na sledeći način: zagrevanje do 180 °C 15 min, zatim do 220 °C 15 min i, na kraju, do 240 °C 10

min. Rastvor nakon mikrotalasne digestije uzoraka meda i polena je, uz ispiranje kivete malim porcijama dejonizovane vode, prenet u normalni sud i dopunjen do 50 mL, a rastvor nakon digestije nektara u normalni sud od 25 ml. Na isti način je pripreman i rastvor slepe probe. Sadržaj metala u rastvorima mineralizovanih uzoraka je određen primenom ICP-MS, pod sledećim uslovima: Rf snaga 1548 W; protoci gasa: 13,9; 1,09; 0,8 L/min; vreme akvizicije: 3×50 s; tačka po pik: 3; vreme zadržavanja: 10 ns; pulsni mod detektora. Mereni izotopi: ^{50}Cr , ^{55}Mn , ^{57}Fe , ^{60}Ni , ^{65}Cu , ^{68}Zn , ^{75}As , ^{111}Cd , ^{202}Hg i ^{208}Pb .

3.4. Određivanje sadržaja policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH)

Princip

Sadržaj PAH je određen primenom visokoeфикаsne tečne hromatografije sa fluorescentnom detekcijom (HPLC-FLD). Uzorci meda i polena su pripremljeni primenom QuEChERS-a - ekstrakcijom/raspodelom u acetonitrilu i prečišćavanjem disperzivnom ekstrakcijom čvrste faze (dSPE).

Reagensi i standardi

- Acetonitril, čistoće $\geq 99.9\%$ (LiChrosolv®), Merck, Nemačka
- QuEChERS kit za PAH sa pakovanjem soli (sadrži 4 g anhidrovanog magnezijum-sulfata (MgSO_4) i 0,5 g natrijum-hlorida (NaCl)), Restek, SAD
- Kivete za centrifugiranje sa 900 mg anhidrovanog MgSO_4 , 150 mg primarnog sekundarnog amina (PSA) i 150 mg oktadecilsilana (ODS, tj. C18) za disperzivnu ekstrakciju čvrste faze (dSPE), Restek, SAD
- Standard PAH mix 16 (100 mg/L): Naphthalene, Acenaphthylene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benz[a]anthracene, Chrysene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[a]pyrene,

Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Dibenz[a,h]anthracene, Benzo[g,h,i]perylene;
Neochema, Nemačka

- Dejonizovana voda (električne provodljivosti 18,2 MΩ cm), dobijena korišćenjem Simplicity® sistema za prečišćavanje vode (Merck)
- Mobilne faze: A - voda; B - acetonitril

Oprema

- Tečni hromatograf visokih performansi (HPLC-FLD) (Thermo Spectra System, SAD) sa fluorescentnim detektorom (FL2000/FL3000 ULTRAFLUOR, Thermo, SAD) i C18 kolonom za PAH (4,6 × 250 mm; i.d. 5 μm- Agilent Zorbax Eclipse), opremljen softverom ChromQuest 4.2.35

Postupak

U polipropilensku kivetu zapremine 50 mL odmereno je $5 \pm 0,1$ g meda ili $2 \pm 0,1$ g polena, nakon čega je dodato 10 mL dejonizovane vode. Posle 30 minuta dodato je 10 mL acetonitrila, kiveta je snažno mućkana 1 min, a zatim je dodat kit sa solima za PAH. Uzorak je ponovo snažno mućkan 1 min, a zatim centrifugiran brzinom od 3500 obrtaja u minutu tokom 5 min. Nakon toga, 6 mL acetonitrilne frakcije je prebačeno u dSPE polipropilensku kivetu zapremine 6 mL. Sadržaj kivete je snažno mućkan 1 min i centrifugiran 5 min, brzinom od 3500 obrtaja u minutu.

5 mL čistog rastvora je prebačeno u staklenu kivetu zapremine 15 mL i eluat je uparen u blagoj struji azota, na 60 °C, do suvog ostatka. Ostatak je rastvoren u 1 mL acetonitrila. Ekstrakt uzorka u acetonitrilu je filtriran (0,45 μm najlonski membranski filter) i analiziran primenom HPLC-FLD. Injektovano je 50 μL uzorka.

Temperatura kolone je bila ambijentalna (25 °C). Gradijentno eluiranje je programirano na sledeći način: 50% B (0 - 0,7 min), sa protokom 1,5 mL/min; 50% B do 75% B linearno (0,7 - 12 min), sa protokom 2,0 mL/min; 100% B (12 - 25 min), sa protokom 2,0 mL/min; 100% B do 50% B linearno (25 - 30 min), sa protokom od 1,5 mL/min. Kvantifikacija PAH je izvršena pomoću eksterne kalibracije.

3.5. Određivanje ostataka pesticida

Princip

Ostaci pesticida su analizirani primenom gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom (GC-MS). Uzorci meda i polena su pripremljeni primenom QuEChERS-a - ekstrakcijom/raspodelom u acetonitrilu i prečišćavanjem disperzivnom ekstrakcijom čvrste faze (dSPE).

Reagensi i standardi

- Acetonitril, čistoće $\geq 99.9\%$ (LiChrosolv[®]), Merck, Nemačka
- QuEChERS kit za pesticide sa pakovanjem soli (sadrži 4 g anhidrovanog MgSO₄, 1 g NaCl, 1 g trinatrijum-citrata dihidrata i 0,5 g dinatrijumhidrogen-citrata seskvihidrata), Restek, SAD
- Kivete za centrifugiranje sa 900 mg anhidrovanog MgSO₄, 150 mg primarnog skundarnog amina (PSA) i 150 mg oktadecilsilana (ODS, tj. C18) za disperzivnu ekstrakciju čvrste faze (dSPE), Restek, SAD
- Multirezidualni standardi pesticida [Organochlorine Pesticide Mix AB#3 Restek (SAD), 531.2 Carbamate Pesticide Cal Mix Restek (SAD), Minnesota Ag List 1 Pesticides Mix A Restek (SAD), 527 Pesticide Calibration Standard #1 Restek (SAD), 8140/8141 OP Pesticide Calibration Mix A Restek (SAD), Pesticides - Mix E27 Lab Standards (Italija), Pesticides - Mix F30 Lab Standards (Italija), Pesticides - Mix E30 Lab Standards (Italija)] i pojedinačni rezidualni standardi pesticida [Biphenyl Sigma-Aldrich (Nemačka), Burpofezin Dr. Ehrenstorfer GmbH (Nemačka), Dimethomorph Dr. Ehrenstorfer GmbH (Nemačka), Diphenylamine Dr. Ehrenstorfer GmbH (Nemačka), Fenamidone Dr. Ehrenstorfer GmbH (Nemačka), Fenhexamid Dr. Ehrenstorfer GmbH (Nemačka), Fipronil-sulfone Lab Standards (Italija), Iprodione Dr. Ehrenstorfer GmbH (Nemačka), Prothioconazole-desthio Sigma-Aldrich, Terbutylazine Dr.

Ehrenstorfer GmbH (Nemačka), Tetramethrin Dr. Ehrenstorfer GmbH (Nemačka)]. Rastvor trifenil fosfata (TPP), Restek (SAD) je korišćen kao interni standard

- Dejonizovana voda (električne provodljivosti 18,2 MΩ cm), dobijena korišćenjem Simplicity® sistema za prečišćavanje vode (Merck)

Oprema

- Gasni hromatograf sa masenim detektorom (GC-MS) (7890A GC sistem, 5975C MS sistem i 7683B autosempler, Agilent Technologies, SAD), sa kolonom HP-5MS UI 0,25 μm, 0.25 mm × 30 m (Agilent Technologies, SAD)

Postupak

U polipropilensku kivetu zapremine 50 mL odmereno je $5 \pm 0,1$ g meda ili $2 \pm 0,1$ g polena, nakon čega je dodato 10 mL dejonizovane vode i 50 μL internog standardnog rastvora (TPP, 20 μL/mL). Posle 30 minuta dodato je 10 mL acetonitrila, sadržaj kivete je snažno mućkan 1 min, a zatim je dodat QuEChERS kit sa solima za pesticide. Uzorak je ponovo snažno mućkan 1 min, a zatim centrifugiran brzinom od 3500 obrtaja u minutu tokom 5 min. Nakon toga, 5 mL acetonitrilne frakcije je prebačeno u dSPE polipropilensku kivetu zapremine 6 mL. Kiveta je snažno mućkana 1 min i centrifugirana 5 min, brzinom od 3500 obrtaja u minutu.

5 mL čistog rastvora je prebačeno u staklenu kivetu zapremine 15 mL i eluat je uparen u blagoj struji azota, na 60 °C, do suvog ostatka. Ostatak je rastvoren u 1 mL acetonitrila i 1 μL ekstrakta uzorka u acetonitrilu je injektovan u GC-MS sistem.

Kolona je postavljena na konstantan pritisak. Temperatura injektora iznosila je 250 °C, a uzorak je injektovan u „splitless” modu.

Temperatura kolone je programirana na sledeći način: početna temperatura je bila 70 °C (2 min), povećana je na 150 °C (25 °C/min, u trajanju od 0 min), pa na 200 °C (3 °C/min, u trajanju od 0 min), i zatim na 280 °C (8 °C/min, u trajanju od 10 min). Ukupno trajanje programa je bilo 41,9 min. Jonizacioni potencijal MS bio je 70 eV, a temperature sledeće: jonskog izvora 230 °C, transfer linije 280 °C, and analizatora 150 °C. Maseni spektrometar je radio u „scan” i „selected-ion monitoring (SIM)” modu.

3.6. Statistička obrada rezultata

Svi eksperimentalni rezultati su, pre dalje statističke obrade, prikupljeni i obrađeni u programu Microsoft Excel.

Parametri deskriptivne statistike i Kruskal-Wallis-ov test su izvedeni korišćenjem demo verzije NCSS statističkog paketa (Hintze, J. (2001), NCSS and PASS Number Cruncher Statistical Systems, Kaysville, Utah).

Analiza glavnih komponenta (PCA) i metoda delimičnih najmanjih kvadrata sa diskriminantnim pristupom (Partial Least Square – Discriminant Analysis, PLS-DA) izvedene su korišćenjem PLS Toolbox statističkog paketa (Eigenvectors Inc.v.7.0.5) u okviru MATLAB verzije 7.12.0 (R2011a) (MathWorks INC, Natick, MA, USA). Za PCA je korišćen *Singular Value Decomposition (SVD)* algoritam i 95% nivo značajnosti za Hotelling-ovu raspodelu. Analiza je zasnovana na korelacionom matriksu i faktori sa svojstvenim vrednostima većim od 1 su uključeni u model. Kod PLS-DA metode primenjen je SIMPLS (Statistically Inspired Modification of PLS) algoritam. On izračunava PLS faktore kao linearnu kombinaciju originalnih varijabli tako da se kriterijum kovarijantnosti učini što značajnijim, poštujući pri tome određena ograničenja koja se odnose na ortogonalnost i normiranje. Prema SIMPLS algoritmu analiza svojstvenih vrednosti se izvodi na originalnoj XY matrici projektovanoj na vektore koeficijenata latentnih varijabli iz prethodnih komponenta, a ne projektovanjem osiromašene matrice. Validacija PLS-DA modela izvedena je korišćenjem metode preklapanja (venetian blinds). Metoda preklapanja predstavlja metodu kod koje se test set formira tako što se među podacima jedan objekat označi sa s - i svi objekti počevši od onog numerisanog kao prvi do s -tog objekta čine test set. Ova metoda je jednostavna i laka za primenu ukoliko postoji relativno veliki broj objekata kod kojih nije utvrđena određena pravilnost u redosledu. Kvalitet modela ocenjen je kroz sledeće parametre: 1) R^2_{Cal} , koeficijent determinacije koji se odnosi na rezultate iz kalibracionog seta, R^2_{CV} , koeficijent determinacije koji je rezultat unakrsne validacije, R^2_{PRED} , koeficijent determinacije koji se odnosi na rezultate iz test seta – ove tri vrednosti bi trebalo da budu

što više, 2) *RMSEC (Root Mean Square Errors of Calibration)*, koren srednjeg kvadratnog odstupanja koji se odnosi na rezultate iz kalibracionog seta, *RMSECV (Root Mean Square Errors of Cross-Validation)*, koren srednjeg kvadratnog odstupanja koji je rezultat unakrsne validacije, *RMSEP (Root Mean Square Errors of Prediction)*, koren srednjeg kvadratnog odstupanja koji se odnosi na rezultate iz test seta – ove tri vrednosti bi trebalo da budu što je moguće niže, sa što manjom međusobnom razlikom. Sadržaj elemenata je poslužio kao ulazni set podataka. Vrednosti molekulskih deskriptora su centrirane u odnosu na srednju vrednost i normirane na jediničnu vrednost standardne devijacije. Nakon izvršenog autoskaliranja svi objekti su simetrično raspoređeni oko koordinatnog početka, varijable su bile istih dimenzija i promenjen je međusobni odnos objekata.

4. NAŠI RADOVI

Ovom disertacijom su obuhvaćena dva izuzetno važna pitanja vezana za med, kao jednu od retkih još uvek prirodnih namirnica - autentičnost (u smislu botaničkog i geografskog porekla) i bezbednost po zdravlje potrošača, sagledanih, pre svega, sa aspekta sadržaja metala. Metali u medu prvenstveno potiču iz zemljišta i medonosnih biljaka, što ukazuje na botaničko i geografsko poreklo nektara, odnosno meda. Takođe, oni se u medu, pored ostalih kontaminanata, mogu naći usled indirektnog zagađenja iz životne sredine ili direktne kontaminacije zbog neadekvatne pčelarske prakse, što ima negativan uticaj na kvalitet i bezbednost meda. Zbog sve većih potreba čovečanstva za hranom, da bi se proizvele dovoljne količine, upotreba hemijskih sredstava za zaštitu bilja i životinja je neminovnost. Pored toga, na životnu sredinu se sve više reflektuju uticaji globalnog zagađenja poreklom od industrije, saobraćaja i sl., tako da je u današnje vreme sve manje čistih područja u ekološkom smislu. Pčele, prvenstveno, ali i med i ostali pčelinji proizvodi, predstavljaju vrlo dobre indikatore hemijskog zagađenja životne sredine, na osnovu kontaminanata koji se u njima mogu detektovati.

Jedan od ciljeva ovog istraživanja je karakterizacija odabranih uzoraka najzastupljenijih vrsta monofloralnog meda u Srbiji (bagremovog, lipovog i suncokretovog) na osnovu njihovog mineralnog sastava, a zatim i klasifikacija i diferencijacija prema njihovom botaničkom i geografskom poreklu primenom naprednih hemometrijskih tehnika.

Pored navedenog, u okviru ove disertacije je sprovedeno jedno od prvih detaljnih ispitivanja meda i polena poreklom iz isključivo gradske sredine, i to upravo na prisustvo potencijalnih kontaminanata, pre svega teških metala, kao i policikličnih aromatičnih ugljovodonika i ostataka pesticida.

4.1. Procena autentičnosti monofloralnog meda na osnovu sadržaja minerala

Srbija, kao zemlja sa umerenom kontinentalnom klimom i raznovrsnom florom, ima dugu pčelarsku tradiciju. Ovi povoljni prirodni uslovi svakako utiču na kvalitet i specifične karakteristike proizvedenog meda. Najzastupljenije vrste monofloralnog meda su med od bagrema (*Robinia pseudoacacia*), med od lipe (*Tilia spp.*) i med od suncokreta (*Helianthus annuus*). Srpski med je, zbog svojih karakteristika, vrlo tražen na inostranim tržištima. U 2017. godini je izvezeno 2538 t meda (Republički zavod za statistiku, www.stat.gov.rs), najviše u evropske zemlje - Italiju, Norvešku i Nemačku, a sve više se otvaraju i tržišta Švajcarske, Španije, Francuske i Japana (www.spos.info).

Da bi srpski med bio adekvatno plasiran i konkurentan na stranom tržištu mora, pre svega, da ispunjava zahteve zvaničnih regulativa, čime se potvrđuje autentičnost u pogledu proizvodnje i prerade (5, 6). Pored toga, neophodno je potvrditi i njegovu autentičnost vezano za botaničko i geografsko poreklo.

U tom smislu, jedan od ciljeva ove disertacije bio je da se najpre dobiju osnovne informacije o sadržaju minerala u monofloralnom medu sa teritorije naše zemlje - bagremovom, suncokretovom, lipovom, medu od uljane repice i medu od bosiljka, i time doprinese ukupnom istraživanju evropskog monofloralnog meda. Drugi cilj je bilo uspostavljanje jasnih kriterijuma za klasifikaciju i diferencijaciju uzoraka bagremovog, suncokretovog i lipovog meda na osnovu sadržaja minerala i primenom statističkih tehnika za prepoznavanje obrazaca. Konačno, s obzirom na značajan broj uzoraka bagremovog meda, prikupljenih iz različitih regiona Srbije, treći cilj bio je pokušaj da im se na osnovu njihovih elementarnih profila odredi regionalno poreklo.

4.1.1. Određivanje sadržaja makroelemenata, mikroelemenata i elemenata u tragovima

4.1.1.1. Rezultati

U **Tabeli 6.** su prikazani sažeti parametri deskriptivne statistike dobijeni određivanjem sadržaja dvanaest analiziranih metala u bagremovom, suncokretovom, lipovom medu, medu od uljane repice i medu od bosiljka. Rezultati za sve pojedinačne uzorke su dati u **Prilogu.**

Tabela 6. Parametri deskriptivne statistike dobijeni analizom sadržaja metala u uzorcima monofloralnog meda

Parametar		Med od bagrema n = 162	Med od suncokreta n = 23	Med od lipe n = 11	Med od uljane repice n = 7	Med od bosiljka n = 3
Na (mg/kg)	Srednja vrednost	14,7	21,1	13,2	19,2	13,6
	SD	8,1	12,7	6,4	11,9	8,3
<i>LOQ = 0,025 mg/kg</i>	Medijana	12,5	19,0	14,2	14,22	11,8
	Maksimum	39,7	52,3	28,7	37,6	22,7
	Minimum	3,4	6,0	6,3	8,2	6,4
K (mg/kg)	Srednja vrednost	200	398	1543	372	270
	SD	64	119	189	177	76
<i>LOQ = 0,025 mg/kg</i>	Medijana	176	391	1540	280	257
	Maksimum	423	631	1788	677	351
	Minimum	91	174	1293	193	201
Ca (mg/kg)	Srednja vrednost	27,3	87,0	84,1	49,3	46,8
	SD	10,0	29,9	20,6	17,8	2,6
<i>LOQ = 0,025 mg/kg</i>	Medijana	26,3	85,5	90,0	46,1	45,9
	Maksimum	68,0	145,4	114,2	76,0	49,7
	Minimum	11,1	21,3	57,1	29,3	44,8

Tabela 6. (nastavak)

Parametar		Med od bagrema n = 162	Med od suncokreta n = 23	Med od lipe n = 11	Med od uljane repice n = 7	Med od bosiljka n = 3
Mg (mg/kg)	Srednja vrednost	6,4	22,4	19,5	13,5	13,2
	SD	2,3	7,2	3,5	5,5	2,8
<i>LOQ = 0,025 mg/kg</i>	Medijana	5,7	22,0	18,0	10,2	14,2
	Maksimum	16,0	36,5	24,3	22,2	15,5
	Minimum	2,9	8,8	15,1	8,8	10,1
Zn (mg/kg)	Srednja vrednost	2,8	3,2	1,4	1,1	2,0
	SD	11,3	7,3	1,0	0,3	1,4
<i>LOQ = 0,002 mg/kg</i>	Medijana	1,1	1,6	1,1	1,1	1,5
	Maksimum	121,2	36,5	4,1	1,6	3,6
	Minimum	0,2	0,6	0,4	0,7	1,0
Fe (mg/kg)	Srednja vrednost	1,57	1,75	1,44	2,35	1,17
	SD	1,58	0,91	1,01	2,24	0,37
<i>LOQ = 0,010 mg/kg</i>	Medijana	1,15	1,54	0,99	1,57	1,21
	Maksimum	13,73	3,89	3,48	7,23	1,51
	Minimum	0,30	0,64	0,60	0,70	0,78
Cu (mg/kg)	Srednja vrednost	0,22	0,26	0,25	0,23	0,29
	SD	0,12	0,09	0,08	0,07	0,09
<i>LOQ = 0,002 mg/kg</i>	Medijana	0,19	0,25	0,23	0,23	0,30
	Maksimum	0,73	0,55	0,40	0,34	0,38
	Minimum	0,06	0,10	0,16	0,14	0,20

Tabela 6. (nastavak)

Parametar		Med od bagrema n = 162	Med od suncokreta n = 23	Med od lipa n = 11	Med od uljane repice n = 7	Med od bosiljka n = 3
Mn (mg/kg)	Srednja vrednost	1,55	0,75	1,56	0,57	0,66
	SD	6,01	1,18	0,89	0,60	0,68
<i>LOQ = 0,005 mg/kg</i>	Medijana	0,30	0,30	1,41	0,28	0,40
	Maksimum	70,12	4,53	3,32	1,89	1,43
	Minimum	0,02	0,06	0,29	0,19	0,14
Co (mg/kg)	Srednja vrednost	0,11	0,07	0,07	0,07	0,14
	SD	0,31	0,07	0,14	0,05	0,10
<i>LOQ = 0,002 mg/kg</i>	Medijana	0,04	0,04	0,03	0,04	0,16
	Maksimum	3,34	0,29	0,50	0,14	0,23
	Minimum	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03
Cr (µg/kg)	Srednja vrednost	68	53	51	161	73
	SD	89	41	61	213	15
<i>LOQ = 2 µg/kg</i>	Medijana	38	44	35	46	81
	Maksimum	573	200	230	580	82
	Minimum	4	4	4	4	56
Ni (µg/kg)	Srednja vrednost	67	42	25	58	35
	SD	56	29	26	52	14
<i>LOQ = 2 µg/kg</i>	Medijana	58	37	14	38	38
	Maksimum	348	106	83	142	48
	Minimum	4	4	0,4	4	20
Cd (µg/kg)	Srednja vrednost	3	5	1	2	1
	SD	7	12	3	2	2
<i>LOQ = 2 µg/kg</i>	Medijana	0,2	1	0,2	0,2	0,2
	Maksimum	68	46	11	6	3
	Minimum	0,01	0,05	0,2	0,1	0,2

Najzastupljeniji metal u svih pet botaničkih vrsta meda je kalijum, što je očekivano, s obzirom da je kalijum esencijalni element označen kao primarni makronutrient, neophodan za rast i razvoj biljaka. Prosečna količina kalijuma u uzorcima kreće se od 200 do 1543 mg/kg. Sadržaj kalijuma u lipovom medu (1543 mg/kg) je pet do sedam puta veći nego u medu poreklom od ostalih botaničkih vrsta. Sledeći po zastupljenosti element je kalcijum (od 27,3 do 87,0 mg/kg). Njegova koncentracija je najveća u suncokretovom i lipovom medu (87,0 i 84,1 mg/kg), što je dva puta više nego u medu uljane repice i bosiljka, a čak četiri puta više nego u uzorcima bagremovog meda. Što se tiče natrijuma i magnezijuma, prisutni su u značajnoj, ali nekoliko puta manjoj količini, u poređenju sa sadržajem kalijuma i kalcijuma. Kalcijum i magnezijum su sekundarni makronutrijenti koje biljke moraju dobiti iz podloge za rast. Ostali analizirani metali (Zn, Fe, Cu, Mn i Co) su prisutni u manjoj količini, dok se neki od njih, poput hroma, nikla i kadmijuma detektuju u tragovima, i koncentracija im je izražena u µg/kg.

Što se sadržaja glavnih minerala tiče, prosečne količine u monofloralnim vrstama meda iz Srbije u velikoj meri odgovaraju rezultatima iz sličnih studija sprovedenih poslednjih godina u Evropi, prvenstveno u zemljama iz okruženja (**65, 66, 69, 72, 74, 76, 146**). Komparativni pregled ovih rezultata je dat u **Tabeli 7**.

Prosečna količina kalijuma u lipovom medu iz Srbije je veća nego u bugarskom, rumunskom i mađarskom medu, ali vrlo slična onoj u lipovom medu poreklom iz Hrvatske. Ovo se može objasniti sličnim geohemijskim i geološkim uslovima u dve susedne zemlje, na područjima gde raste lipa. Međutim, sa druge strane, prosečan sadržaj kalcijuma u našem lipovom medu je skoro pet puta niži od sadržaja kalcijuma u hrvatskom. Što se tiče koncentracija ostalih minerala, uglavnom su slične onim u lipovom medu iz susednih zemalja. Prema sadržaju minerala, srpski suncokretov med je uglavnom sličan istoj vrsti meda iz okruženja. Što se meda od uljane repice tiče, količina glavnih minerala je gotovo identična u medu iz Srbije, Hrvatske i Mađarske, što se i dá očekivati, s obzirom da je Vojvodina, odakle potiče ispitivani med, deo Panonske nizije kojoj, opet, pripadaju istočna Hrvatska (oblasti Srijem, Baranja i Slavonija), kao i cela teritorija Mađarske. Sadržaj natrijuma u poljskom medu od uljane repice je niži nego u onima poreklom iz Srbije i Hrvatske.

Tabela 7. Komparativni pregled sadržaja metala u medu iz zemalja okruženja

Med od bagrema	K (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Na (mg/kg)	Ref.
Srbija (n=162)	199 (91-423)	27,3 (11,1-68,0)	6,4 (2,9-16,0)	14,7 (3,4-39,7)	
Bugarska (n=6)	126	32	6,0	8,1	(72)
Rumunija (n=3)	356-521	5,2-10,2	7,1-18,3	22,1-51,06	(76)
Mađarska (n=8)	181 (130-197)	23,6 (3,6-43,2)	12,8 (3,4-23,2)	-	(66)
Hrvatska (n=19)	305	349,3	8,02	33,9	(65)
Hrvatska (n=200)	206-428	33,5-329,3	12,3-49,1	23,3-218,0	(69)
Med od lipe					
Srbija (n=11)	1543 (1293-1788)	84,1 (57,1-114,2)	19,5 (15,1-24,3)	13,2 (6,3-28,7)	
Bugarska (n=5)	792	77	21	7,5	(72)
Rumunija (n=3)	494-735	35,5-76,5	15,7-20,5	1,9-32,6	(76)
Hrvatska (n=11)	1575	387,8	25,5	31,9	(65)
Mađarska (n=1)	955	45,7	28,6	-	(66)
Med od suncokreta					
Srbija (n=23)	381 (174-631)	87,0 (21,3-145,4)	22,4 (8,8-36,5)	21,1 (6,0-52,3)	
Bugarska (n=6)	247	71	14	7,58	(72)
Rumunija (n=2)	552-574	36,3-60,4	20,4-23,1	24,9-35,2	(76)
Mađarska (n=5)	439 (376-539)	111 (58,2-181)	22,4 (11,3-32,3)	-	(66)

Tabela 7. (nastavak)

Med od uljane repice	K (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Na (mg/kg)	Ref.
Srbija (n=7)	372 (193-677)	49,3 (29,3-76,0)	13,5 (8,8-22,2)	19,2 (8,2-37,6)	
Mađarska (n=6)	332 (178-587)	51,2 (23,7-79,8)	17,7 (10,1-34,1)	-	(66)
Hrvatska (n=21)	268,5 (103-460)	54,0 (29,9-91,9)	12,6 (5,8-26,3)	22,5 (3,9-44,6)	(146)
Poljska (n=5)	190 (85-494)	51,3 (22,1-62,4)	18,9 (9,5-32,1)	11,2 (7,0-26,0)	(74)

Pri razmatranju rezultata vezanih za suncokretov i med od uljane repice ono što treba istaći su vrlo niske koncentracije kadmijuma u obe vrste (prosečna vrednost 2 i 5 µg/kg, respektivno), uprkos činjenici da te botaničke vrste potiču sa poljoprivrednog zemljišta (Vojvodina), gde je upotreba veštačkih đubriva intenzivna. Slični rezultati za kadmijum su zabeleženi i kod mađarskog suncokretovog meda i meda od uljane repice (1,15 i 0,736 µg/kg, respektivno) **(66)**. Poznata je štetnost kadmijuma po zdravlje ljudi i po životnu sredinu. U poljoprivredno zemljište, osim prirodnim putem, dospeva i usled antropogenih aktivnosti, između ostalog, preko vode za navodnjavanje ili primenom fosfatnih đubriva **(147)**.

Bagrem, kao botanička vrsta, prisutan je na celoj teritoriji Srbije i njegov med se, stoga, najviše i proizvodi. Bagremov med je vrlo tražen na tržištu i postiže visoku cenu. Našim istraživanjem su obuhvaćena 162 uzorka bagremovog meda iz svih šest regiona Srbije. Upravo je veliki broj uzoraka razlog značajnog varijabiliteta među rezultatima. Kada se naš bagremov med uporedi sa uzorcima iz zemalja okruženja, zapaža se sličnost u sadržaju minerala. Sadržaj kalijuma (91,4 - 423 mg/kg) je sličan kao u bagremovom medu iz Bugarske (126 mg/kg), Mađarske (130 - 197 mg/kg) i Hrvatske (304,7 mg/kg), a nešto je niži nego u rumunskom medu (356 - 521 mg/kg). Što se kalcijuma tiče, srpski med (11,1 - 68,0 mg/kg) je sličan bugarskom (32 mg/kg) i mađarskom medu (3,65 - 43,2 mg/kg). Sadržaj ovog minerala je niži u bagremovom medu iz Rumunije (5,22 - 10,16 mg/kg), dok je, sa druge strane, hrvatski bagremov med znatno bogatiji kalcijumom (349,3 mg/kg). Po sadržaju magnezijuma i natrijuma, naš bagremov med odgovara bagremovom medu iz susednih zemalja **(Tabela 7)**.

Nedovoljan broj uzoraka meda od bosiljka (tri uzorka, iz Vojvodine) onemogućava validnu statističku analizu. Pošto je ovo izuzetno retka vrsta meda, u raspoloživoj literaturi gotovo i da nema objavljenih radova posvećenih ovoj botaničkoj vrsti. Prema parametrima deskriptivne statistike (**Tabela 6**) sadržaj glavnih minerala (K, Ca, Mg i Na) u medu od bosiljka je relativno nizak. Posmatrajući vrednosti medijana, prema sadržaju kalijuma i natrijuma ovaj med je najbližiji medu od bagrema, a prema sadržaju kalcijuma i magnezijuma medu od uljane repice. Što se sadržaja mikroelemenata i metala u tragovima tiče, med od bosiljka ima nešto viši sadržaj bakra i kobalta u odnosu na ostale botaničke vrste a, takođe, sadrži i najveću količinu hroma. U okviru ovog rada su u uzorcima meda od bosiljka, pored sadržaja minerala i metala u tragovima, određeni i neki od osnovnih fizičko-hemijskih parametara, kako bi se obezbedio uvid u njegove karakteristike. Rezultati analize fizičko-hemijskih parametara (sadržaj vode, specifična rotacija, električna provodljivost, slobodna kiselost i pH) su dati u **Tabeli 8**. Sadržaj vode i slobodna kiselost u sva tri uzorka su u skladu sa zahtevima domaće i evropske regulative (**4-6**). Očekivano, specifična optička rotacija ima negativnu vrednost, što je karakteristično za cvetni (nektarni) med. Električna provodljivost, manja od 0,8 mS/cm, takođe je svojstvena nektarnom medu.

Tabela 8. Rezultati fizičko-hemijskih parametara za med od bosiljka sa područja Vojvodine

Uzorci	Sadržaj vode (%)	Specifična optička rotacija (°)	Električna provodljivost na 20°C (mS/cm)	Slobodna kiselost (meq/kg)	pH
b1	18,68	-15,3	0,28	27,0	3,79
b2	15,26	-10,2	0,23	24,0	3,67
b3	16,96	-9,0	0,20	17,6	3,76

4.1.2. Statistička analiza rezultata

S obzirom na veliki varijabilitet u sadržaju pojedinačnih elemenata u ispitivanim uzorcima meda (**Tabela 6**), za analizu su primenjene neparametrijske statističke metode. Poređenje medijana koje odgovaraju sadržaju metala u pet botaničkih vrsta meda izvršeno je primenom Kruskal-Wallis-ovog testa za svaku varijablu pojedinačno, uzimajući

odgovarajuću vrstu meda kao jedan faktor (**Tabela 9**). U slučajevima kada je primećena statistički značajna razlika među medijanima primenjen je Kruskal-Wallis-ov test višestrukog poređenja Z-vrednosti. Vrste meda koje su razdvojene na osnovu sadržaja metala su označene u zagradi.

Medijane većine parametara, izuzev Zn, Fe, Co, Cr i Cd, se statistički značajno razlikuju između posmatranih grupa, odnosno botaničkih vrsta meda. Rezultati Kruskal-Wallis-ovog Z-testa pokazuju da se na osnovu mineralnog sastava bagremov med može jasno razlikovati od lipovog, suncokretovog, meda od uljane repice i meda od bosiljka.

Tabela 9. Kruskal-Wallis-ov test

Varijabla	Botaničko poreklo ^{a)}		Geografsko poreklo ^{b)}	
	P ^{c)}	Z-vrednost ^{d)}	P	Z-vrednost ^{c)}
K	<0,0001	A (L, R, S)	0,0030	ZS (CS, IS, JS)
Ca	<0,0001	A (B, L, R, S)	0,0146	V (CS, IS, JS, ZS)
Mg	<0,0001	A (B, L, R, S)	0,0003	V (CS, IS, JS) ZS (CS, IS, JS)
Na	0,0002	A (R, S)	0,1214	-
Zn	0,0665	-	0,0645	-
Fe	0,2015	-	0,0478	B (JS, V, ZS) IS (JS)
Cu	0,0280	A (S)	0,0076	B (CS, JS, V) IS (CS, JS)
Mn	0,0449	A (L) L (S)	0,0002	ZS (CS, IS, JS, V) B (V)
Co	0,3723	-	0,6704	-
Cr	0,4973	-	0,1660	-
Ni	0,0050	A (L, S)	0,0835	-
Cd	0,7065	-	0,1933	-

^{a)} Oznaka botaničkog porekla: A-med od bagrema, B-med od bosiljka, L- med od lipe, R-med od uljane repice, S- med od suncokreta

^{b)} Oznaka geografskog porekla: CS-centralna Srbija, V-Vojvodina, IS-istočna Srbija, ZS-zapadna Srbija, JS-južna Srbija, B-Beograd

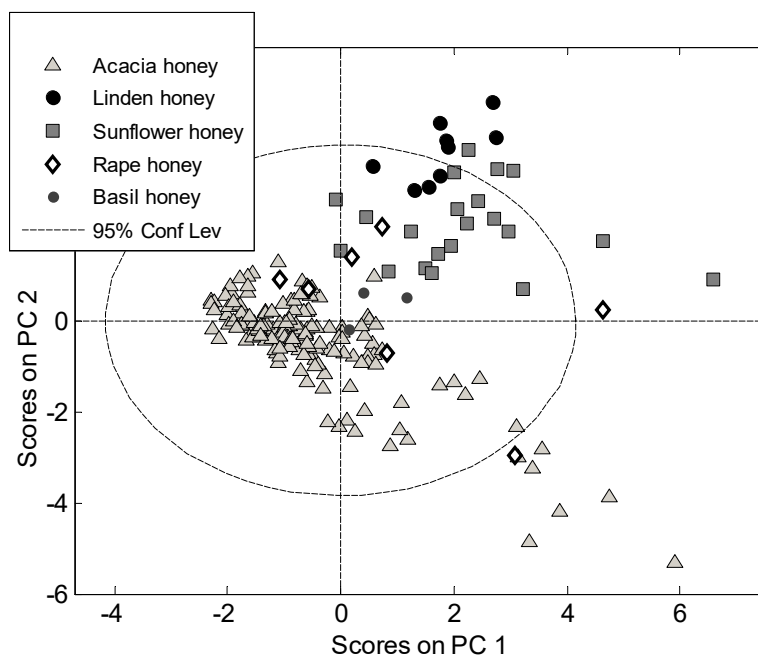
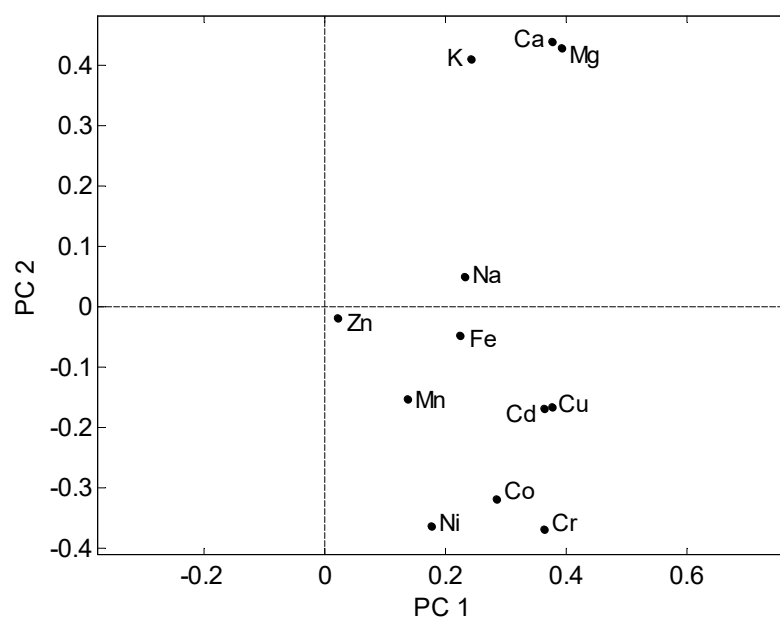
^{c)} Podaci ne potiču iz iste populacije ukoliko je $P < 0,05$

^{d)} Medijane se značajno razlikuju ako je $Z > 1,9600$

Pored univarijantne statističke analize, primenjene su i multivarijantne metode, PCA i PLS-DA, kako bi se uspostavili kriterijumi za diferencijaciju i klasifikaciju različitih vrsta meda na osnovu njihovog botaničkog porekla. PCA je upotrebljena u cilju pronalaženja sličnosti, tj. logičnih obrazaca prepoznavanja među podacima. Dobijeni šestokomponentni PCA model objašnjava 79,24% ukupnog varijabiliteta među podacima. Prva glavna komponenta (PC1) obuhvata 24,21%, a druga glavna komponenta (PC2) 21,03% ukupnog varijabiliteta. Nizak ukupni varijabilitet podataka obuhvaćen dvema glavnim komponentama je očekivan kada se posmatraju prirodni uzorci kod kojih je varijabilitet relativno veliki.

Vrednosti skorova, odnosno njihova uzajamna projekcija, za prve dve glavne komponente, kao i uzajamna projekcija koeficijenata latentnih varijabli vektora prikazani su na **Slici 3**. Uzimajući u obzir PC1 i PC2 vrednosti skorova (**Slika 3a**) uočavaju se tri grupe uzoraka koje pripadaju trima različitim botaničkim vrstama meda (bagrem, suncokret i lipa). Među uzorcima meda od uljane repice i bosiljka došlo je do preklapanja Hotelling-ovih T^2 elipsi, što znači da nema jasne diferencijacije ove dve vrste meda. Uzajamna projekcija koeficijenata latentnih varijabli vektora (**Slika 3b**) ukazuje na korelaciju između varijabli i glavnih komponenti i ukazuje na parametre sa najvećim uticajem na diskriminaciju među uzorcima. Sve varijable pokazuju pozitivan uticaj na PC1, pri čemu Ca, Mg i K imaju visoko pozitivan, a Ni, Co i Cr visoko negativan uticaj na PC2. Grupe metala, Ca, Mg i K, zatim Mn, Co i Cr i, na kraju Cd i Cu, su blisko povezane na grafiku i prema tome, blisko i pozitivno međusobno korelisane. Osim toga, Ca i Mg nisu povezani (vektori grade ugao od 90°) sa Mn, Co i Cr.

Imajući u vidu da se minerali iz zemljišta transportuju u biljku posredstvom korenovog sistema, njihova koncentracija u medu bi bila pod uticajem sastava zemljišta, koji je, opet, određen geohemijskim i geološkim prilikama datog regiona. U tom smislu, tri glavne zone zemljišta u reljefu Srbije ukazuju na višu koncentraciju Ca u severnom delu zemlje zbog prisustva crnice (černozema), koju karakteriše prisustvo kalcijum-karbonata (CaCO_3) i visokokvalitetni kalcijumov humus. Visoke koncentracije Al, Fe, Mg, Ni, Co i Cr, praćene deficitom Ca su karakteristične za metamorfne stene serpentinite u Zapadnoj i Istočnoj Srbiji (**148**), dok su povišene koncentracije Mn i Fe u gajnjači (eutričnom kambisolu) i smonici (vertisolu) karakteristične za centralni i istočni deo zemlje (**149**).

**a****b**

Slika 3. PCA model za srpski monofloralni med: a) grafički prikaz vrednosti skorova, b) uzajamna projekcija koeficijena latentnih varijabli vektora

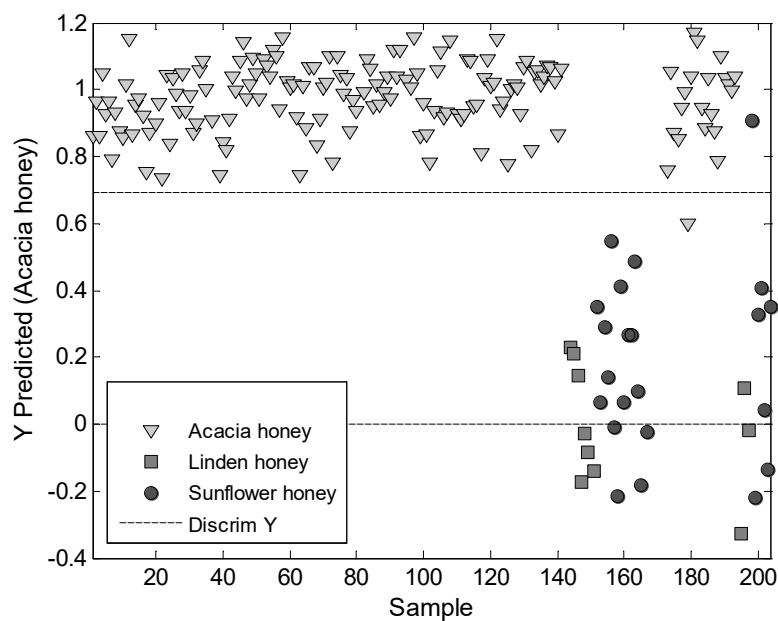
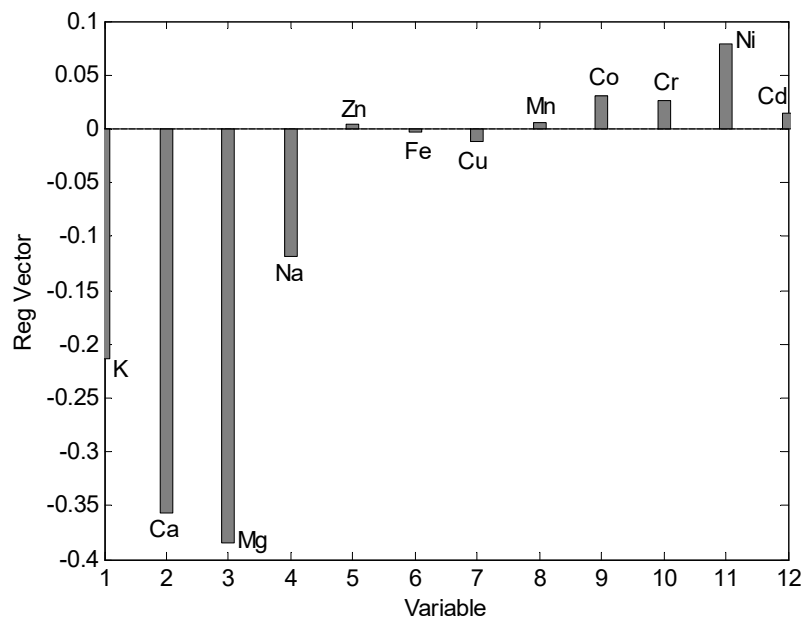
Suncokret se, kao što je već rečeno, uglavnom uzgaja u severnom delu Srbije, tako da je veći sadržaj kalcijuma određen u uzorcima meda očekivan u skladu sa sastavom zemljišta. Lipov med je poreklom iz istočnog i severnog regiona Srbije, pa je grupisanje uzoraka ove vrste meda rezultat povećanog sadržaja Mg u serpentinitima istočne Srbije, kao i povećanog sadržaja K u ovoj oblasti, što je primećeno već u ispitivanju uzoraka polifloralnog meda (150), kao i većeg sadržaja Ca u severnom regionu. Bagrem je zastupljen na većini teritorije Srbije, a posebno u zapadnom i istočnom delu, za koje su karakteristične stene serpentiniti, tj. minerali Fe, Ni, Co i Cr. Stoga je PCA potvrdila činjenicu da na sadržaj minerala u medu utiče sastav zemljišta. Međutim, ne sme se zanemariti i to da se bioakumulacija minerala u biljkama odnosi na upijanje iz svih izvora kombinovano (zemljišta, vode i vazduha), da se ovaj proces različito odigrava u različitim biljkama, i da je bioakumulacija minerala u korenu, stabljici i cvetovima biljke različita (151).

U cilju dobijanje matematičkog modela koji bi se iskoristio za predviđanje botaničkog porekla najzastupljenijih vrsta meda u Srbiji (bagremov, lipov i suncokretov med), ili za potvrdu najznačajnijih parametara koji diskriminišu analizirane uzorke, uzorci su simultano modelovani primenom metode delimičnih najmanjih kvadrata sa diskriminantnim pristupom (PLS-DA). Ova statistička metoda predstavlja klasičnu regresiju metodom delimičnih-najmanjih kvadrata kod koje je zavisno-promenljiva kategorijska varijabla, tj. ukazuje na klasu ili kategoriju uzoraka. Broj latentnih varijabli (LV) je izabran na osnovu minimalne vrednosti $RMSECV$, što postižu četiri LV. Klasifikacija i validacija rezultata, izražene kao R^2_{cal} , R^2_{CV} , R^2_{PRED} , $RMSEC$, $RMSECV$ i $RMSEP$ vrednosti, za tri modela predstavljene su u **Tabeli 10**. Parametri PLS-DA modela su statistički značajni, sa relativno visokim vrednostima R^2_{cal} , R^2_{CV} i R^2_{PRED} , i malom razlikom između $RMSEC$, $RMSECV$ i $RMSEP$ vrednosti. Stoga, podaci o sadržaju minerala u monofloralnim vrstama srpskog meda omogućavaju precizno predviđanje botaničkog porekla meda i predstavljaju korisnu alatku za određivanje autentičnosti uzoraka.

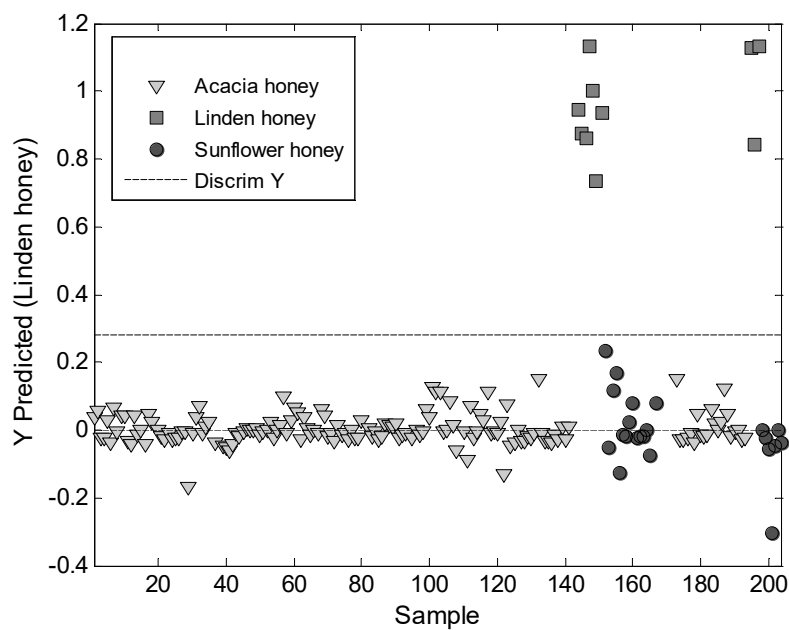
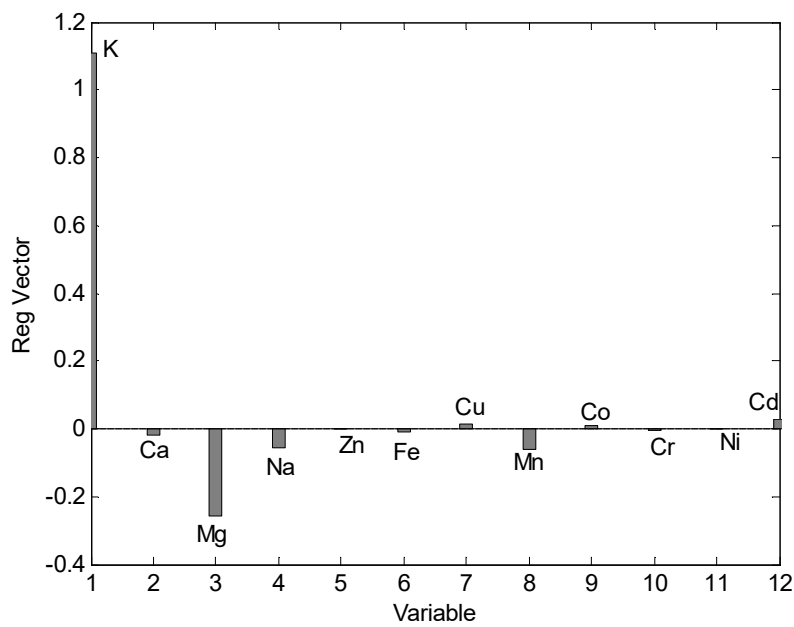
Tabela 10. Statistički parametri za PLS-DA modele

	Med od bagrema	Med od lipe	Med od suncokreta
R^2_{cal}	0,8569	0,9219	0,7856
R^2_{CV}	0,8348	0,8990	0,7237
R^2_{PRED}	0,7393	0,9348	0,7403
$RMSEC$	0,1313	0,0577	0,1361
$RMSECV$	0,1413	0,0657	0,1555
$RMSEP$	0,2423	0,0824	0,2148

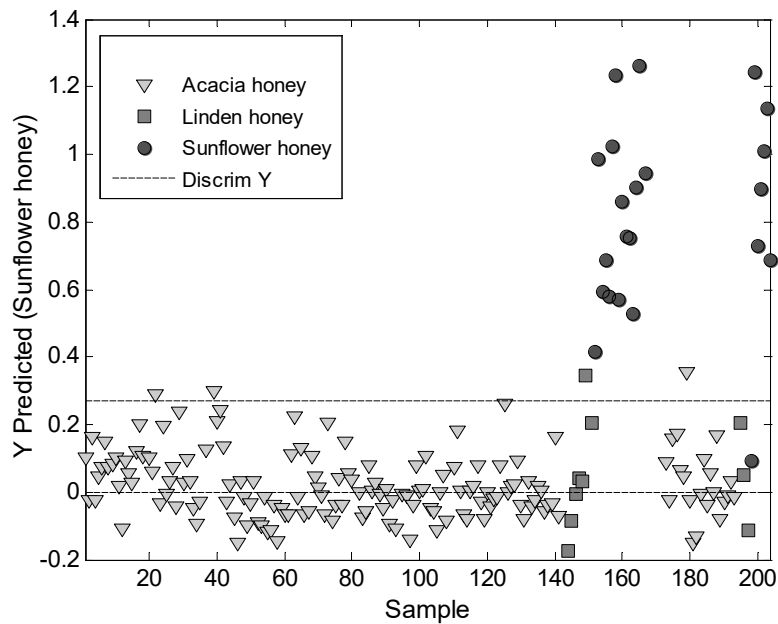
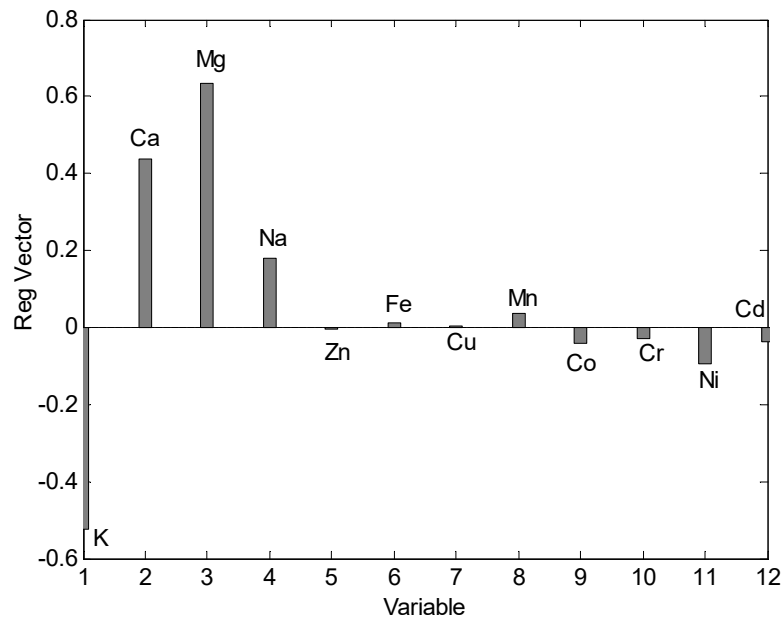
Grafički prikazi vrednosti skorova takođe potvrđuju dobru prediktivnu sposobnost PLS-DA modela za uzorke meda od bagrema, lipe i suncokreta (**Slike 4a, 5a i 6a**). Vrednosti regresionih koeficijenata koji ukazuju na značaj pojedinačne varijable u regresionim modelima prikazane su na **Slikama 4b, 5b i 6b**. Kao što se sa slika može videti, najvažniji deskriptori za diskriminaciju među uzorcima bili su K, Ca i Mg, i to sa suprotnim uticajem. U skladu sa sastavom tla, model koji određuje bagremov med ukazuje na pozitivan uticaj Ni, Co, Cr i Cd i suprotni uticaj K, Ca i Mg. Najveći pozitivan uticaj na klasifikaciju lipovog meda ima sadržaj K, dok je uticaj svih ostalih parametara zanemarljiv. Model za suncokretov med pokazuje visoke pozitivne vrednosti koeficijenta regresije za Ca i Mg i negativne vrednosti za K.

**a****b**

Slika 4. PLS-DA model za med od bagrema, a) grafički prikaz skorova podataka, b) grafički prikaz vrednosti regresionih koeficijenata u modelima

**a****b**

Slika 5. PLS-DA model za med od lipe, a) grafički prikaz skorova podataka, b) grafički prikaz vrednosti regresionih koeficijenata u modelima

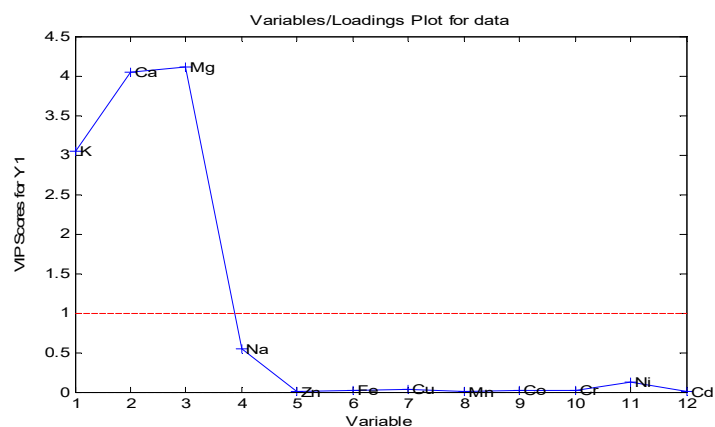
**a****b**

Slika 6. PLS-DA model za med od suncokreta, a) grafički prikaz skorova podataka, b) grafički prikaz vrednosti regresionih koeficijena u modelima

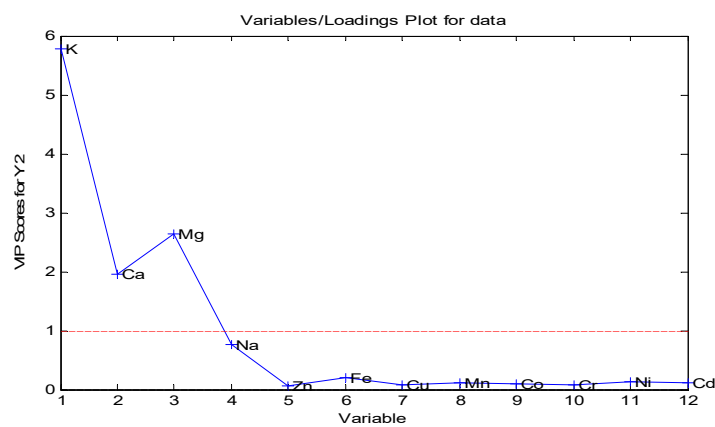
Značaj određene varijable, u smislu njenog udela u objašnjenju zavisno promenljive i varijanse nezavisno promenljivih, izražava se kroz tzv. VIP vrednost (Variable Importance for the Projection – varijable značajne za projekciju) (**Slika 7**). Varijable sa vrednostima VIP-skorova većim od 1 smatraju se najznačajnijim za objašnjenje podataka zavisno promenljive, tj. za određivanje klase uzoraka. Najveći uticaj na klasifikaciju tri posmatrane botaničke vrste imaju K, Ca i Mg.

Prikazani rezultati ukazuju na to da je mineralni sastav meda povezan sa njegovim botaničkim poreklom, koje je, opet, u bliskoj vezi sa geografskim područjem odakle med potiče. Uzorci meda istog cvetnog porekla mogu imati prilično različit hemijski sastav, usled različite akumulacije fitohemikalija, klimatskih uslova (sunčeva svetlost, vlaga), karakteristika zemljišta i zastupljenosti različitih minerala u zemljištu.

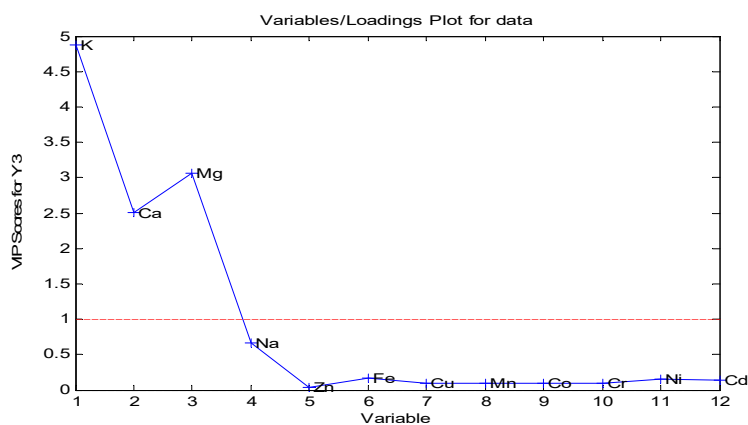
Mogućnost određivanja geografskog porekla specifične vrste meda na osnovu sadržaja minerala uz primenu hemometrijskih metoda za obradu ovih podataka, ispitano je na uzorcima bagremovog meda. Bagrem, kao botanička vrsta, je zastupljen na celoj teritoriji Srbije, tako da se njegov med najviše proizvodi. Zahvaljujući pogodnim senzorskim svojstvima, bagremov med ima najvišu cenu i vrlo je tražen na tržištu. Varijabilitet među podacima je relativno visok usled velikog broja prirodnih uzoraka. Kruskal-Wallis-ov test, kojim su upoređivanje vrednosti medijana za šest regiona u Srbiji (Centralna Srbija, Vojvodina, Istočna Srbija, Zapadna Srbija, Južna Srbija i Beogradski region), je potvrdio statistički značajne razlike između regiona, i to u sadržaju K, Ca, Mg, Fe, Cu i Mn (**Tabela 9**). Generalno, zapadna Srbija i Vojvodina se razlikuju od ostalih regiona po sadržaju makroelemenata, dok se region Beograda izdvaja po sadržaju Fe, Cu i Mn. Beograd je najveći grad u Srbiji i glavni industrijski i trgovački centar zemlje, tako da povišena koncentracija pomenutih metala može biti posledica uticaja urbane sredine ili nekih zagađivača u blizini mesta gde su uzorci prikupljeni.



Bagremov med



Lipov med



Suncokretov med

Slika 7. VIP skorovi za PLS-DA modele

Za pouzdanije zaključke primenjena je multivarijantna analiza podataka koji se odnose na sastav elemenata u uzorcima meda od bagrema, u cilju određivanja njihovog geografskog porekla. Dobijen je PCA model čijih je pet glavnih komponenti objašnjavalo 69,61% ukupnog varijabiliteta među podacima. Uočeno je značajno preklapanje podataka, ukazujući na činjenicu da objekti variraju pre zbog nekoliko interagujućih minerala, nego zbog sadržaja određenog minerala. To nam pokazuje da minerali u medu u najvećoj meri zavise od biljnih vrsta koje proizvode polen, odnosno nektar, i cvetne gustine u određenom geografskom području. Name, bioakumulacija metala u korenu, stabljici i cvetu biljke je različita i specifična za određene biljne vrste, nezavisno od sastava zemljišta. Ovaj zaključak je podržan i činjenicom da je sadržaj metala u bagremovom medu koji potiče iz susednih zemalja sličan našim rezultatima (65, 66, 69, 72, 76). Svaka posebna glavna komponenta objašnjava različit izvor minerala ili različitu sposobnost dospevanja u biljku. Ukupan varijabilitet obuhvaćen svakom od glavnih komponenti, kao i uticaj pojedinačnih varijabli na svaku od glavnih komponenata sažeti su u **Tabeli 11**.

Tabela 11. Uticaj pojedinačnih varijabli na svaku od glavnih komponenata

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
K		0,8377			
Ca		0,6144			
Mg		0,8170			
Na			-0,5391		
Zn				0,8620	
Fe	-0,5848				
Cu	-0,7349				
Mn			0,7828		
Co	-0,6678				
Cr	-0,8588				
Ni	-0,5894				0,5347
Cd	-0,8252				
Ukupna varijansa (%)	34,32	46,68	56,86	63,56	69,61

PC1 objašnjava 34,32% ukupne varijanse i prvenstveno je mera negativno korelisanih varijabli Fe, Cu, Co, Cr, Ni i Cd, mikroelemenata i metala u trgovima. Ovi metali potiču od siderofilnih i halkofilnih elemenata koji praktično nemaju afinitet za kiseonik, nego formiraju jače veze sa ugljenikom ili sumporom i pokazuju slično ponašanje u zemljištu. PC1 obuhvata najveći broj međusobno povezanih varijabli. PC2 obuhvata 12,36% ukupne varijanse i prvenstveno je posledica pozitivno koreliranih K, Ca i Mg, glavnih makronutrienata. Alkalni i zemnoalkalni metali pripadaju litofilnim elementima koji ostaju na ili blizu površine, gde se lako kombinuju sa kiseonikom, formirajući jedinjenja koja ne potonu u jezgro. U tom obliku biljke ekstrahuju ove metale zajedno. PC3 objašnjava 10,18% ukupne varijanse i pokazuje negativnu vezu sa sadržajem Na i pozitivnu sa sadržajem Mn, što ukazuje na njihovo isto poreklo. Mn i Na su litofilni elementi, kao i K, Ca i Mg, ali pripadništvo ovih elemenata različitim glavnim komponentama ukazuje na različitu apsorpciju istih od strane biljke. PC4 objašnjava 6,70% ukupne varijanse i pokazuje samo pozitivnu vezu sa sadržajem Zn. Poreklo Zn u medu zasniva se na lakoj apsorpciji ovog elementa od strane biljaka zahvaljujući visokoj pokretljivosti u tlu (**152**). Pored toga, Zn je slabo gradi helatne komplekse zbog čega ga biljke takođe lako apsorbuju. PC5 objašnjava 6,05% ukupne varijanse i određena je sadržajem Ni koji takođe ulazi i u PC1, ukazujući na činjenicu da Ni u biljci potiče iz dva izvora.

4.2. Određivanje parametara kvaliteta i bezbednosti „urbanog” meda

Ideja da se detaljnije ispita med poreklom iz urbanih područja potekla je iz studije sprovedene u saradnji sa SPOS, u kojoj je analizirano ukupno 379 uzoraka monofloralnog i polifloralnog meda sa cele teritorije Srbije. U ovim uzorcima su ispitani fizičko-hemijski parametri, uključujući i sadržaj metala, u cilju definisanja osnovih karakteristika srpskog meda. Iako je određeni broj uzoraka poticao iz širih urbanih područja ili sa poljoprivrednog zemljišta, gde se intenzivno primenjuju agrotehničke mere, sadržaj teških metala, na primer kadmijuma, nije prešao maksimalno dozvoljenu količinu propisanu zakonskom regulativom (153,154).

Sa druge strane, kako je navedeno u Uvodu, u cilju očuvanja pčelinjih kolonija, Evropska agencija za životnu sredinu (EEA) je 2011. godine započela projekat gajenja pčela u gradovima (The Project City Bees) (24, 25). Kako je u gradovima rizik od pesticida minimalan, a kako pčele filtriraju sakupljeni nektar, pretpostavka je da u medu proizvedenom u gradskom području nema nečistoća. Međutim, osim par istraživanja (155), studije koje se bave kvalitetom i bezbednošću meda poreklom iz isključivo urbanih sredina su retke, i ne može se pouzdano tvrditi da je takav med u potpunosti čist i bezbedan po zdravlje potrošača.

Glavni cilj ovog dela disertacije je da pruži potpunije informacije vezane za parametre kvaliteta i, posebno, određene kontaminante, prvenstveno toksične metale, koji bi potencijalno mogli biti prisutni u, takozvanom, „urbanom” medu. Da bi se dobila potpunija slika o uticaju urbane sredine, ispitano je i prisustvo policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH) i ostataka pesticida, a pored meda su analizirani još i polen i cvetni nektar.

4.2.1. Osnovni fizičko-hemijski parametri „urbanog” meda

Analizi kontaminata sredine u 16 uzoraka polifloralnog meda iz 2015. godine prethodilo je ispitivanje sledećih fizičko-hemijskih parametara: sadržaja vode, električne provodljivosti, specifične optičke rotacije i slobodne kiselosti, primenom metoda preporučenih od strane Međunarodne komisije za med (45). Rezultati ovih ispitivanja su

dati u **Tabeli 12**. Na osnovu dobijenih rezultata se može zaključiti da uzorci u najvećoj meri ispunjavaju propisane zahteve u pogledu kvaliteta (**4, 5**). Isto tako, dobijeni rezultati korespondiraju sa rezultatima iz studije koja je obuhvatila uzorke meda iz pčelinjaka stacioniranih u područjima oko gradova Srbije (**155**).

U dva uzorka ispitivanog meda (h2 i h6) sadržaj vode je bio nešto iznad najvećeg dozvoljenog (20%), prema navedenim regulativama. S obzirom da su ta dva uzorka iz aprila i maja 2015. godine (**Tabela 5**), nešto povećan sadržaj vode bi se mogao objasniti padavinama i povećanom vlažnošću vazduha, karakterističnim za proleće. U svim ispitanim uzorcima urbanog meda slobodna kiselost je bila manja od 50 meq/kg. Uzorci iz aprila i dva uzorka iz maja 2015. (h1 - h6) imaju negativnu optičku rotaciju, ali im je električna provodljivost iznad 0,8 mS/cm, što je svojstveno monofloralnim vrstama meda kao što su med od kestena ili lipe (**35**). Uzorci meda iz jula i avgusta 2015. godine (h11 - h16) imaju visoko pozitivnu specifičnu rotaciju i električnu provodljivost iznad 0,8 mS/cm što je karakteristično za medljikovac (**35**). Za ostatak uzoraka iz maja i juna 2015. (h7 - h10) se na osnovu ova dva parametra može reći da imaju osobine cvetnog (nektarnog) meda.

Tabela 12. Rezultati fizičko-hemijskih parametara za uzorke meda iz 2015. godine

Uzorci	Sadržaj vode (%)	Specifična optička rotacija (°)	Električna provodljivost na 20°C (mS/cm)	Slobodna kiselost (meq/kg)
h1	17,25	-3,8	1,69	32,1
h2	21,40	-19,7	0,92	20,8
h3	17,95	-9,5	1,35	27,3
h4	18,10	-5,8	1,54	35,4
h5	18,35	-6,0	1,48	27,8
h6	21,35	-20,6	0,97	28,6
h7	16,60	-13,7	0,11	11,9
h8	17,70	-21,5	0,14	14,2
h9	18,60	-19,1	0,81	10,1
h10	17,50	-9,8	0,48	5,8
h11	16,15	12,6	2,22	26,5
h12	15,50	43,1	2,89	19,4
h13	14,75	34,9	2,51	20,3
h14	14,70	45,2	2,85	17,5
h15	15,15	47,8	2,52	16,6
h16	15,10	37,7	1,69	25,4

4.2.2. Određivanje sadržaja metala

Kvantifikovano je deset metala (Pb, Cd, As, Cu, Zn, Fe, Hg, Mn, Ni i Cr) u uzorcima meda, polena i nektara, primenom ICP-MS. Uzorci su pripremljeni primenom mikrotalasne digestije. Postupak pripreme i samog određivanja su detaljno opisani u Eksperimentalnom delu.

4.2.2.1. Metali u uzorcima meda

Rezultati određivanja sadržaja pojedinačnih metala u uzorcima meda, kao i MDK za pojedine metale prema propisima Republike Srbije (**130**) su prikazani u **Tabeli 13**.

Sadržaj teških metala, odnosno toksičnih elemenata, u svim uzorcima ispitivanog urbanog meda ispunjava zahteve u pogledu MDK definisanih zakonskom regulativom u Srbiji (Tabela 12). Iako rezultati nekih studija ukazuju na povećane količine olova u medu poreklom iz urbanih zagađenih područja, u blizini prometnih puteva i železničkih pruga (**14, 156**), vrednosti olova u ispitanim uzorcima su relativno niske, kreću se od $<0,003$ do $0,085$ mg/kg za 2015. i od $<0,003$ do $0,107$ mg/kg za 2016. godinu. Takođe su koncentracije kadmijuma i arsena u uzorcima iz obe godine vrlo niske; dostižu najviše $0,009$ mg/kg, za oba elementa. Za hrvatski med su, na primer, prijavljene više vrednosti: $0,001 - 0,024$ mg/kg za kadmijum i $0,004 - 0,105$ mg/kg za arsen (**157**). Primećuje se da sadržaj Cu, Zn, Fe, Mn, Ni i Cr varira, čak i u uzorcima uzetim istog meseca. U četiri uzorka koncentracije bakra su nešto iznad MDK ($1,0$ mg/kg). Ovakve vrednosti su najverovatnije posledica raznolikosti biljnih vrsta od kojih med potiče, ali bi se takođe mogle pripisati i tome da je ispitani med neprerađen, pa je u njemu bilo prisutno i nešto čestica polena. Sadržaji mangana i nikla su vrlo slični onima dobijenim u istraživanju rumunskog meda ($0,868 - 2,529$ mg/kg za Mn i $0,122 - 0,325$ mg/kg za Ni), dok je sadržaj hroma znatno viši nego u rumunskom medu ($0,029 - 0,051$ mg/kg) (**67**). Što se tiče sadržaja žive u medu poreklom iz urbanih sredina, nema mnogo raspoloživih publikovanih podataka. Naši rezultati korespondiraju rezultatima za med poreklom iz kontaminiranih područja u Slovačkoj, kod kojih se nivo žive kretao u rasponu $0,050 - 0,212$ mg/kg (**158**). Male količine žive ($0,083 \pm 0,011$ μ g/kg u suvoj materiji) su nađene u uzorcima meda iz pčelinjaka smeštenih u okolini Veterinarskog fakulteta u Košicama, u

Slovačkoj (**159**). Sadržaj žive u grčkom medu, i iz ruralnih i iz industrijskih područja, je niži od 0,05 mg/kg (**160**).

Tabela 13. Koncentracije metala (mg/kg) u uzorcima meda sakupljenim 2015-2016. godine

Metali	Uzorci							
	h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8
Pb	0,004	0,015	<0,003	0,033	0,016	0,042	0,085	<0,003
Cd	<0,002	0,002	<0,002	0,002	0,003	<0,002	<0,002	<0,002
As	<0,001	<0,001	0,004	0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Cu	0,532	<0,015	0,398	0,531	0,497	<0,015	<0,015	<0,015
Zn	1,804	1,319	1,203	1,635	1,301	2,311	0,008	0,290
Fe	3,721	3,534	3,762	5,581	3,730	2,753	1,981	7,339
Hg	0,082	0,078	0,062	0,174	0,102	0,085	0,257	0,036
Mn	0,847	1,241	0,837	1,113	0,792	0,839	0,079	0,186
Ni	0,406	0,071	0,203	0,203	0,157	0,093	<0,010	0,017
Cr	0,149	<0,005	0,137	0,094	<0,005	0,322	0,018	0,367
	h9	h10	h11	h12	h13	h14	h15	h16
Pb	0,011	0,020	0,048	0,033	0,028	0,038	0,015	0,017
Cd	<0,002	<0,002	0,004	0,005	<0,002	0,004	0,008	0,002
As	<0,001	<0,001	0,005	0,009	<0,001	0,006	0,002	0,001
Cu	<0,015	<0,015	0,790	1,362	0,478	1,158	1,425	0,937
Zn	1,022	<0,002	3,456	1,121	<0,002	1,418	1,367	1,042
Fe	3,721	1,420	7,843	5,142	6,225	6,786	6,042	4,423
Hg	0,048	0,096	0,034	0,072	0,019	<0,002	0,013	0,012
Mn	0,380	0,136	0,798	1,590	0,904	0,999	0,904	0,872
Ni	0,029	0,050	0,079	0,261	0,182	0,134	0,344	0,169
Cr	0,090	0,535	0,118	0,173	0,379	0,120	0,065	0,008
	h17	h18	h19	h20	h21	h22	h23	MDK
Pb	0,007	<0,003	<0,003	0,107	0,045	0,032	0,083	0,50
Cd	0,002	0,005	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	0,009	0,03
As	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,50
Cu	<0,015	0,167	<0,015	<0,015	0,644	<0,015	1,781	1,0
Zn	0,427	1,257	<0,002	0,723	4,346	0,574	1,381	10,0
Fe	<0,012	<0,012	1,119	<0,012	5,247	2,810	10,054	20,0
Hg	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	-
Mn	0,787	0,838	0,405	0,817	1,475	0,645	2,428	-
Ni	0,162	0,404	<0,010	0,091	0,263	0,022	0,538	-
Cr	0,755	0,319	0,833	0,439	0,275	0,005	0,342	-

4.2.2.2. Metali u uzorcima polena

Rezultati određivanja sadržaja metala u uzorcima polena su prikazani u **Tabeli 14**.

Tabela 14. Koncentracije metala (mg/kg) u uzorcima polena sakupljenim 2015-2016. godine

Metali	Uzorci							
	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8
Pb	0,164	0,132	0,167	0,051	0,073	0,370	0,058	0,057
Cd	0,162	0,097	0,006	0,040	0,041	0,032	0,008	0,025
As	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003
Cu	2,587	3,106	16,89	5,348	4,527	4,847	4,849	4,171
Zn	24,95	29,52	33,54	27,22	30,74	26,76	26,18	29,56
Fe	113,83	107,98	89,03	68,32	71,43	64,90	65,01	63,46
Hg	0,198	0,155	0,151	0,123	0,118	0,128	0,073	0,093
Mn	17,14	19,34	27,24	20,69	24,12	22,07	23,00	18,50
Ni	0,613	0,326	2,258	0,634	0,217	0,154	0,554	0,565
Cr	5,998	4,898	5,787	3,917	2,474	3,757	2,749	3,395

Metali	Uzorci				
	p9	p10	p11	p12	p13
Pb	0,138	0,151	0,686	0,091	0,079
Cd	0,015	0,024	0,118	0,010	0,127
As	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003
Cu	23,08	30,67	13,482	8,101	4,023
Zn	30,76	33,64	32,53	39,24	23,14
Fe	94,37	102,39	106,86	97,33	91,80
Hg	0,083	0,051	0,519	0,206	0,128
Mn	22,30	26,05	23,67	21,37	15,43
Ni	1,867	2,773	1,770	1,870	0,240
Cr	5,767	4,103	3,335	3,370	3,083

Kako zakonskim regulativama ni Srbije, niti Evropske Unije nisu propisane MDK za metale u polenu, rezultati dobijeni u našem istraživanju su upoređeni sa sličnim studijama sprovedenim poslednjih godina, posebno onim koje su obuhvatile analize polena iz urbanih sredina.

Sadržaj olova u polenu iz 2015. godine je u opsegu 0,051 - 0,370 mg/kg, dok je u polenu iz 2016. nešto viši i iznosi - 0,079 - 0,686 mg/kg. Koncentracije kadmijuma su za obe godine vrlo slične; kreću se od 0,006 do 0,162 mg/kg u 2015. i od 0,010 do 0,127 mg/kg u 2016. godini. U uzorcima poljskog polena iz stacionarnih pčelinjaka postavljenih u

industrijskoj oblasti 2012. godine je izmerena nešto niža koncentracija olova (0,022 - 0,341 mg/kg), dok je količina kadmijuma bila slična našim rezultatima (0,001 - 0,095 mg/kg). Sadržaj arsena u našim uzorcima polena je za obe godine ispod granice kvantifikacije, za razliku od poljskog, gde je prosečna koncentracija bila 0,290 mg/kg **(161)**. U bugarskoj studiji iz 2014. godine, koja je obuhvatila analize sirovog i osušenog polena iz osam regiona, koncentracija olova se kretala u rasponu 0,450 - 0,494 mg/kg, dok je koncentracija kadmijuma bila prilično niska: 0,019 - 0,029 mg/kg **(162)**. Godine 2011. sprovedeno je istraživanje srpskog polena i ono što se uočava je da rezultati za sadržaj kadmijuma u medu poreklom iz regiona Beograda odgovaraju koncentracijama dobijenim u našoj studiji. Količine Cu, Zn, Fe, Mn i Ni dobijene u obe studije su takođe vrlo slične, imajući u vidu raznovrsnost botaničkih vrsta **(163)**. Sadržaj žive u uzorcima iz 2015. godine je u opsegu 0,073 - 0,198 mg/kg, a u uzorcima iz 2016. su vrednosti bile veće: 0,128 - 0,519 mg/kg. Sadržaj žive je bio niži u polenu iz pčelinjaka u Košicama ($0,05134 \pm 0,000038$ mg/kg u suvoj materiji), kao i u polenu sa teritorije Grčke ($<0,06$ mg/kg) **(159, 160)**. Povišene vrednosti žive mogu se pripisati različitim antropogenim aktivnostima, naročito sagorevanju fosilnih goriva koja sadrže toksične metale u tragovima **(158)**, a koja se još uvek koriste u mnogim domaćinstvima u Zemunu i okolini. Pored žive, i sadržaj hroma je prilično visok (2,474 mg/kg do 5,998 mg/kg), što je znatno veća vrednost od one dobijene u istraživanjima srpskog (0,169 - 0,465 mg/kg) i poljskog polena (0,078 - 0,965 mg/kg) **(161, 163)**.

Pošto se pčelinji polen smatra vrlo vrednim apiterapijskim proizvodom, sa velikim medicinskim i nutritivnim potencijalom **(164)**, pitanje njegove bezbednosti je veoma važno. Iz tog razloga potrebno je sprovesti dalja detaljna istraživanja polena iz urbanih područja u vezi sa kontaminacijom toksičnim metalima.

4.2.2.3. Metali u uzorcima nektara

Rezultati određivanja sadržaja metala u uzorcima nektara, sakupljenih u aprilu (dva uzorka) i junu (četiri uzorka) 2016. godine prikazani su u **Tabeli 15**. Cvetni nektar je slatka, vodena tečnost, koja sadrži šećere i aminokiseline, proizvedena u biljnim žlezdama - nektarijama **(165)**.

Kada se uporede rezultati za uzorke nektara i meda iz aprila 2016. godine, može se primetiti da su koncentracije Pb, As, Fe i Hg u nektaru veće od onih u medu, dok su koncentracije cinka u nektaru bile niže nego u medu.

Tabela 15. Koncentracije metala (mg/kg) u uzorcima cvetnog nektara sakupljenim 2016. godine

Metali	Uzorci					
	n1	n2	n3	n4	n5	n6
Pb	0,059	0,062	0,052	0,117	<0,021	0,039
Cd	0,002	0,003	0,003	0,008	0,004	<0,002
As	0,134	0,029	0,004	<0,003	<0,003	<0,003
Cu	<0,150	0,296	1,318	2,227	<0,150	<0,150
Zn	<0,012	<0,012	<0,012	<0,012	<0,012	<0,012
Fe	1,010	0,189	5,769	6,117	2,876	0,569
Hg	0,061	0,098	0,022	0,023	0,025	<0,018
Mn	1,242	0,844	1,489	1,942	0,362	0,540
Ni	0,296	0,094	0,299	1,075	<0,009	<0,009
Cr	0,380	0,585	1,138	0,351	0,450	0,408

Sadržaj kadmijuma je skoro identičan. Što se tiče uzoraka nektara i meda iz juna 2016. godine, situacija je drugačija: sadržaj Pb, Cd, As i Fe bio je skoro identičan. Koncentracija cinka u nektaru je niža nego u medu. Koncentracije žive su više u nektaru nego u uzorcima meda, ali su niže u odnosu na koncentracije iz aprila 2016. Što se tiče ostalih metala (Mn, Ni i Cr), njihove koncentracije u nektaru i medu iz oba perioda variraju, ali su slične. Iako neki autori (166) navode da bi koncentracija metala u medu trebalo da bude povezana sa sadržajem metala u cvetnom nektaru, naši rezultati su to samo delimično potvrdili. Ovo se može objasniti činjenicom da pčele posećuju različite biljke i uzimaju različite biljne eksudate za proizvodnju meda. Pored toga, čak i iz istog pčelinjaka, pčele mogu posetiti lokalitete različitih nivoa kontaminacije (166).

4.2.3. Određivanje sadržaja policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH)

U poslednje dve decenije su sprovedena različita istraživanja na osnovu kojih su dobijene korisne informacije o prisutnosti PAH u pčelinjim proizvodima i mogućim načinima za praćenje zagađenja životne sredine na osnovu sadržaja pomenutih kontaminanata (133-141). U nekim od ovih radova je zabeležen povećan nivo PAH u uzorcima meda poreklom iz industrijskih ili gradskih sredina (136, 138, 139).

Sadržaji PAH u uzorcima meda i polena su određeni primenom HPLC-FLD, nakon pripreme QuEChERS metodom - ekstrakcijom/raspodelom u acetonitrilu i prečišćavanjem disperzivnom ekstrakcijom čvrste faze (dSPE), što je opisano u Eksperimentalnom delu.

4.2.3.1. PAH u uzorcima meda

Rezultati određivanja sadržaja 15 policikličnih aromatičnih ugljovodonika, kao i njihove sume u uzorcima meda su prikazani u **Tabeli 16**. Sume svih 15 analiziranih PAH se kreću u intervalu 2,8 - 18,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za obe godine. U srpskoj i evropskoj zakonskoj regulativi nema ustanovljenih MDK za PAH u medu i ostalim pčelinjim proizvodima, ali uopšteno gledajući, koncentracije ovih jedinjenja u ispitanim uzorcima meda su usaglašene sa propisanim MDK za druge vrste namirnica (130, 167). Sadržaj benzo[a]pirena u našim uzorcima u saglasnosti je sa rezultatima predstavljanim u studijama češkog ($<\text{LOQ} - 0,83 \mu\text{g}/\text{kg}$) i poljskog meda ($<\text{LOQ} - 0,24 \mu\text{g}/\text{kg}$) (135, 141). Zanimljivo je da suma četiri PAH: benzo[a]antracena, krizena, benzo[b]fluorantena i benzo[a]pirena, u francuskom medu poreklom iz ruralnih područja veća nego u našim uzorcima (140). Rezultati za sadržaje krizena ($<0,9 - 1,2 \mu\text{g}/\text{kg}$), fenantrena ($<0,6 - 2,2 \mu\text{g}/\text{kg}$) i antracena ($<0,04 - 0,36 \mu\text{g}/\text{kg}$) su slični kao u italijanskim uzorcima koji potiču iz zagađenih sredina ($<\text{LOD} - 0,93 \mu\text{g}/\text{kg}$, $<\text{LOD} - 1,67 \mu\text{g}/\text{kg}$ i $<\text{LOD} - 0,31 \mu\text{g}/\text{kg}$, respektivno) (139). U našim uzorcima meda, iz obe godine, najviše koncentracije su izmerene za naftalen; kreću se od $<0,8$ do $11,6 \mu\text{g}/\text{kg}$. Dobrinas i saradnici su za med iz urbanog područja zabeležili vrednosti čak i do $665,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ (136). Povećana količina naftalena bi mogla da potiče od vozila i fosilnih goriva, s obzirom da su upravo oni označeni kao glavni izvori zagađenja (168).

Tabela 16. Koncentracije PAH ($\mu\text{g}/\text{kg}$) u uzorcima meda sakupljenim 2015-2016. godine

PAH	Uzorci							
	h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8
Benzo[a]antracen	0,2	0,2	0,2	0,4	0,3	0,3	0,4	0,2
Krizen	<0,9	<0,9	1,2	<0,9	<0,9	<0,9	<0,9	<0,9
Benzo[b]fluoranten	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Benzo[a]piren	0,3	0,2	0,4	0,5	0,2	0,2	0,2	<0,2
Naftalen	4,0	4,0	3,6	3,6	7,6	11,6	3,6	7,6
Acenaften	<0,3	<0,3	<0,3	0,2	0,4	0,4	<0,3	<0,3
Fluoren	0,3	0,3	0,2	0,5	0,3	0,8	<0,2	0,4
Fenantren	0,9	1,2	0,9	1,5	1,0	2,2	0,9	1,3
Antracen	0,28	<0,04	0,32	0,36	0,20	<0,04	0,18	<0,04
Fluoranten	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Piren	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8
Benzo[k]fluoranten	0,16	0,24	0,28	0,32	0,20	0,16	0,13	0,20
Indeno[1,2,3-cd]piren	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Dibenzo[a,h]antracen	1,0	1,0	1,0	1,4	1,4	1,8	1,5	1,2
Benzo[g,h,i]perilen	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
<i>Suma PAH</i>	<i>7,9</i>	<i>7,1</i>	<i>8,1</i>	<i>9,6</i>	<i>11,6</i>	<i>17,5</i>	<i>6,9</i>	<i>10,9</i>
	h9	h10	h11	h12	h13	h14	h15	h16
Benzo[a]antracen	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2
Krizen	1,0	1,0	0,9	1,1	<0,9	<0,9	1,1	1,2
Benzo[b]fluoranten	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Benzo[a]piren	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	0,2	<0,2	<0,2
Naftalen	11,6	7,6	7,6	4,1	5,3	6,4	3,5	3,8
Acenaften	2,2	2,1	0,4	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Fluoren	0,4	0,2	0,4	0,3	0,5	0,5	<0,2	0,2
Fenantren	1,1	1,2	1,2	0,9	1,5	1,4	0,3	0,8
Antracen	0,12	0,04	<0,04	<0,04	0,05	0,11	0,12	0,05
Fluoranten	<0,2	0,3	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Piren	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8
Benzo[k]fluoranten	0,16	0,08	<0,06	<0,06	0,06	0,19	0,16	0,06
Indeno[1,2,3-cd]piren	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Dibenzo[a,h]antracen	1,2	0,8	1,0	1,1	1,3	1,6	1,0	0,9
Benzo[g,h,i]perilen	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
<i>Suma PAH</i>	<i>18,1</i>	<i>13,6</i>	<i>11,7</i>	<i>7,8</i>	<i>9,7</i>	<i>11,4</i>	<i>6,5</i>	<i>7,2</i>

Tabela 16. (nastavak)

PAH	Uzorci							Opseg
	h17	h18	h19	h20	h21	h22	h23	
Benzo[a]antracen	<0,1	0,1	0,2	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1-0,4
Krizen	<0,9	<0,9	<0,9	<0,9	<0,9	<0,9	<0,9	<0,9-1,2
Benzo[b]fluoranten	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Benzo[a]piren	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2-0,5
Naftalen	5,6	3,7	<0,8	4,0	2,4	8,7	7,0	<0,8-11,6
Acenaften	0,8	0,2	0,4	0,4	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3-2,2
Fluoren	0,6	0,2	<0,2	0,2	<0,2	0,3	<0,2	<0,2-0,8
Fenantren	1,6	0,6	0,7	0,6	0,2	0,6	0,6	0,6-2,2
Antracen	0,10	<0,04	<0,04	<0,04	0,12	0,11	0,10	<0,04-0,36
Fluoranten	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	0,3	<0,2	<0,2	<0,2-0,3
Piren	<0,8	1,5	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8-1,5
Benzo[k]fluoranten	0,08	<0,06	0,07	<0,06	0,10	<0,06	<0,06	<0,06-0,32
Indeno[1,2,3-cd]piren	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	0,4	<0,2	<0,2	<0,2
Dibenzo[a,h]antracen	1,1	0,7	1,4	0,8	1,5	1,1	0,8	0,7-1,8
Benzo[g,h,i]perilen	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
<i>Suma PAH</i>	<i>9,9</i>	<i>7,0</i>	<i>2,8</i>	<i>6,1</i>	<i>5,0</i>	<i>10,8</i>	<i>8,5</i>	<i>2,8-18,1</i>

4.2.3.2. PAH u uzorcima polena

Rezultati određivanja sadržaja PAH su prikazani u **Tabeli 17**. Sume 15 analiziranih PAH u svim ispitanim uzorcima polena se kreću u intervalu 6,4 - 163,3 µg/kg. Sadržaj benzo[a]pirena u našim uzorcima korespondira sa rezultatima predstavljenim u studijama češkog (<LOQ - 0,83 µg/kg) i poljskog polena (<LOQ - 0,24 µg/kg) (**135, 141**). Kao i kod meda, suma četiri PAH: benzo[a]antracena, krizena, benzo[b]fluorantena i benzo[a]pirena, u našim uzorcima polena je niža nego u francuskom polenu iz ruralnih područja (0,22 - 129,41 µg/kg) (**140**).

Najveće koncentracije u ispitanim uzorcima polena nađene su za fenantren, naftalen i indeno[1,2,3-cd]piren; kretale su se u intervalima <0,3 - 74,2 µg/kg, <2,0 - 51,0 µg/kg i <0,4 - 41,4 µg/kg, redom. Primećuje se povećan sadržaj naftalena u sva tri uzorka polena iz 2016. godine (39,0 - 51,0 µg/kg), dok je u većini uzoraka iz 2015. godine koncentracija ispod 0,2 µg/kg. Slična situacija je kod fenantrena: u uzorcima iz juna i oktobra 2016. koncentracije su bile 45,7 µg/kg i 74,2 µg/kg, respektivno. Ovakvi rezultati bi se mogli

pripisati aerozagađenju, najverovatnije zbog saobraćaja i sagorevanja fosilnih goriva, ali i odgovarajućim meteorološkim uslovima, koji su imali uticaj na prisustvo i distribuciju kontaminenata (139). PAH uglavnom potiču iz vazduha i zemljišta. Iako se smatraju hidrofobnim jedinjenjima, oni do izvesne mere ipak prelaze iz zagađenog zemljišta i posredstvom korenovog sistema dospevaju do delova biljke izloženih vazduhu i cvetnog nektara, i, na kraju, do meda (138).

Koncentracije PAH u uzorcima polena su značajno veće nego u uzorcima meda, što je i očekivano, s obzirom da je prosečan udeo lipida u polenu, zavisno od biljne vrste, 4 - 8%, u nekim slučajevima čak 22,4%, a PAH su, kao organska jedinjenja sa dva ili više kondenzovanih aromatičnih prstenova, izrazito lipofilni (163, 169, 170). Nasuprot tome, med se uglavnom sastoji od relativno hidrofilnih supstanci - šećera, aminokiselina, organskih kiselina, minerala i sl. (30)

Tabela 17. Koncentracije PAH ($\mu\text{g}/\text{kg}$) u uzorcima polena sakupljenim 2015-2016. godine

PAH	Uzorc							
	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8
Benzo[a]antracen	<0,3	2,0	1,2	<0,3	<0,3	0,6	0,3	<0,3
Krizen	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
Benzo[b]fluoranten	<0,6	12,9	7,3	<0,6	<0,6	<0,6	<0,6	1,4
Benzo[a]piren	<0,4	2,2	1,1	2,8	1,5	1,4	6,8	<0,4
Naftalen	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
Acenaften	5,5	11,4	10,3	1,1	13,8	9,1	9,7	7,3
Fluoren	7,2	2,6	2,9	2,5	3,4	3,0	3,7	2,2
Fenantren	33,0	<0,3	<0,3	<0,3	0,6	0,3	<0,3	<0,3
Antracen	3,2	0,6	<0,1	<0,1	<0,1	0,2	0,7	<0,1
Fluoranten	5,6	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,7	0,7	1,4
Piren	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0
Benzo[k]fluoranten	<0,2	1,8	0,6	<0,2	0,3	3,9	5,0	0,3
Indeno[1,2,3-cd]piren	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	<0,4	31,0	41,4	<0,4
Dibenzo[a,h]antracen	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8
Benzo[g,h,i]perilen	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<i>Suma PAH</i>	<i>54,5</i>	<i>33,5</i>	<i>23,4</i>	<i>6,4</i>	<i>19,6</i>	<i>50,2</i>	<i>68,3</i>	<i>12,6</i>

Tabela 17. (nastavak)

PAH	Uzorci					
	p9	p10	p11	p12	p13	Opseg
Benzo[a]antracen	0,4	<0,3	<0,3	1,9	0,8	<0,3-2,0
Krizen	5,0	3,0	<2,0	8,0	13,0	<2,0-13,0
Benzo[b]fluoranten	<0,6	<0,6	<0,6	0,9	<0,6	<0,6-12,9
Benzo[a]piren	<0,4	1,7	<0,4	2,4	<0,4	<0,4-6,8
Naftalen	<2,0	29,0	51,0	49,0	39,0	<2,0-51,0
Acenaften	7,7	3,8	4,2	5,0	12,0	1,1-13,8
Fluoren	5,2	2,7	8,6	<0,4	7,5	<0,4-8,6
Fenantren	6,3	14,8	0,3	45,7	74,2	<0,3-74,2
Antracen	<0,1	1,9	6,0	11,6	5,4	<0,1-11,6
Fluoranten	<0,5	<0,5	<0,5	7,0	4,9	<0,5-7,0
Piren	6,0	27,0	22,0	<2,0	<2,0	<2,0-27,0
Benzo[k]fluoranten	0,5	<0,2	<0,2	2,1	0,4	<0,2-5,0
Indeno[1,2,3-cd]piren	5,0	3,6	<0,4	5,1	5,1	<0,4-41,4
Dibenzo[a,h]antracen	<0,8	<0,8	<0,8	2,3	1,0	<0,8-2,3
Benzo[g,h,i]perilen	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0	<5,0
<i>Suma PAH</i>	<i>36,1</i>	<i>87,5</i>	<i>92,1</i>	<i>141,0</i>	<i>163,3</i>	<i>6,4-163,3</i>

4.2.4. Određivanje ostataka pesticida

Uzorci meda i polena sakupljeni tokom dve godine (2015. i 2016) su analizirani na prisustvo 123 pesticida primenom GC-MS, a pripremljeni QuEChERS metodom. U **Tabeli 18.** je dat pregled analiziranih jedinjenja, klasifikovanih prema hemijskim grupama kojima pripadaju. Nije detektovan nijedan od ovih pesticida, odnosno, dobijeni rezultati su ispod 0,01 mg/kg, što je granica kvantifikacije (LOQ) primenjene metode. Dakle, sa stanovišta palete analiziranih pesticida, naši uzorci meda i polena se smatraju bezbednim.

Ako izuzmemo sporadične radove, nema mnogo raspoloživih podataka o prisustvu pesticida u medu i pčelinjim proizvodima poreklom iz isključivo gradskih sredina (**171, 172**). Lambert i saradnici su istraživali pčele, med i polen poreklom sa četiri različita područja: onih udaljenih od antropogenih aktivnosti, ruralnih površina (pašnjaka), kultivisanih ruralnih površina (velikih useva) i urbanih sredina. Ispostavilo se da je med češće bio kontaminiran od pčela i polena, ali su u polenu nađene najveće koncentracije

pesticida, što ga čini najpovoljnijim matriksom za procenu prisustva pesticida u područjima pčelinjih paša (173).

Tabela 18. Pregled analiziranih pesticida u uzorcima meda i polena

Hemijska klasa analiziranih pesticida (hemijski naziv)	Broj pesticida
2,6-Dinitroanilini (pendimetalin, trifluralin)	2
Amini (difenilamin)	1
Anilidi (fenheksamid)	1
Benzimidazoli (tiabendazol)	1
Karbamati, N-metil karbamati i tiokarbamati (karbaril, karbofuran, hlorprofam, iprovalikarb, propamokarb, metiokarb, metomil, oksamil, pirimikarb, propoksur, tiobenkarb)	11
Karboksamidi (boskalid)	1
Inhibitori sinteze hitina (buprofezin)	1
Hloroacetanilidi (alahlor, metolahlor)	2
Konazoli (difenokonazol, epoksikonazol, flukvinkonazol, flutriafol, imazalil, miklobutanil, penkonazol, prochloraz, propikonazol, protiokonazol-destio, triadimefon, triadimenol)	12
Ciklodieni (<i>cis</i> -hlordan, <i>trans</i> -hlordane, hlordekon)	3
Dikarboksimidi (procimidon, iprodion, vinklozolin)	3
Imidazoli (fenamidon)	1
Imitatori juvenilnih hormona (piriproksifen) i drugi karbamati/imitatori juvenilnih hormona (fenoksikarb)	2
Keto-enoli (spiromezifen)	1
Metoksiakrilati (azoksistrobin)	1
Morfolini (dimetomorf)	1
Organohlorni (aldrin, p,p`-DDD, p,p`-DDE, p,p`-DDD, dieldrin, endosulfansulfat, alfa-endosulfan, beta-endosulfan, endrin, keto-endrin, alfa-HCH, beta-HCH, delta-HCH, gama-HCH, heptahlor, <i>cis</i> -heptahlorepoksid, <i>trans</i> -heptahlorepoksid, heksahlorobenzen, metoksihlor, oksihloran)	20

Tabela 18. (nastavak)

Hemijska klasa analiziranih pesticida (hemijski naziv)	Broj pesticida
Organofosforni (hlorpirifos, hlorpirifos-metil, kumafos, dihlorvos, dimetoat/ometoat, etoprofos, etrimfos, famfur, fenitrotion, fensulfotion, fention, izokarbofos, malation, metakrifos, mevinfos, paration, paration-metil, fosfamidon, pirimifos-metil)	20
Organotiofosfati (diazinon)	1
Fenoli (ortofenilfenol)	1
Fenillsulfamidi (dihlofluanid)	1
Pirazoli (fipronil, tebufenpirad)	2
Piretroidi (bifentrin, bioaletrin, cuflutrin, lambda-cihalotrin, cipermetrin, deltametrin, fenvalerat/ esfenvalerat, fenpropatrin, permetrin, teflutrin, tetrametrin)	12
Pirimidini (bupirimat, ciprodinil, mepanipirim, pirimetanil)	4
Hinolini (etoksikvin, kvinoksifen)	2
Strobini (krezoksim-metil, trifloksistrobin)	2
Triazini (cianazin, prometon, prometrin, propazin, simazin, terbutilazin)	6
Triazinoni (heksazinon, metribuzin)	2
Uracili (bromacil)	1
Ksililalanini (metalaksil)	1
Neklasifikovani (bifenil, fenazakvin, fenpropidin, propargit)	4

5. ZAKLJUČAK

Rezultati prezentovani u okviru ove disertacije su deo prvog sistematskog proučavanja srpskog monofloralnog meda, sprovedenog kroz nekoliko prethodnih studija (3, 12, 118), kao i jedan od prvih uvida u bezbednost meda iz urbane sredine, sa stanovišta hemijske kontaminacije.

Ova studija je pružila osnovne informacije o sadržaju dvanaest makro i mikroelemenata i elemenata u tragovima u izvornom srpskom medu. Ispitano je ukupno 206 uzoraka meda poreklom od pet botaničkih vrsta (bagrem, lipa, suncokret, uljana repica i bosiljak), sa teritorije cele zemlje. Rezultati dobijeni za minerale prisutne u najvećoj količini (K, Ca, Mg i Na) su upoređeni sa rezultatima za odgovarajuće uzorke meda poreklom iz drugih evropskih zemalja, prvenstveno iz okruženja (Hrvatska, Mađarska, Bugarska, Rumunija i Poljska). Na osnovu ovih poređenja, uglavnom se uočava sličnost u sadržaju minerala, posebno za med od suncokreta i uljane repice sa područja obuhvaćenim Panonskom nizijom (Vojvodina, istočna Hrvatska i Mađarska). Mineralni markeri za deklarisanje autentičnosti tri glavne vrste monofloralnog meda (bagremovog, lipovog i suncokretovog), u smislu njihovog botaničkog i geografskog porekla, su ustanovljeni primenom hemometrijskih tehnika - analize glavnih komponenata (PCA) i metode delimičnih najmanjih kvadrata sa diskriminantnom analizom (PLS-DA). Najvažniji deskriptori za diskriminaciju između uzoraka poreklom od ove tri botaničke vrste su kalijum, kalcijum i magnezijum. Na klasifikaciju lipovog meda najveći pozitivan uticaj ima sadržaj kalijuma, dok model za suncokretov med ukazuje na pozitivne vrednosti regresionih koeficijenata za kalcijum i magnezijum, a negativne vrednosti za kalijum. U skladu sa sastavom zemljišta, model za bagremov med naglašava pozitivan uticaj nikla, kobalta, hroma i kadmijuma, a suprotan uticaj kalijuma, kalcijuma i magnezijuma.

Iako je broj uzoraka meda od bosiljka bio nedovoljan (3 uzorka) za validnu statističku analizu, u okviru ovog rada su predstavljeni rezultati za sadržaj minerala i metala u tragovima, kao i za osnovne fizičko-hemijske parametre. S obzirom na nedostatak

podataka u raspoloživoj literaturi, rezultati prikazani u ovoj disertaciji predstavljaju jedan od prvih uvida u karakteristike ove retke vrste meda.

Procena geografskog porekla na osnovu sadržaja pojedinačnih elemenata je urađena na bagremovom medu, s obzirom na najveći broj prikupljenih uzoraka i to iz svih regiona Srbije. PCA model za bagremov med je pokazao značajno preklapanje podataka, iz čega se može zaključiti da prisustvo minerala i elemenata u tragovima u ovoj vrsti meda uglavnom zavisi od same biljne vrste i njene specifične tendencije za bioakumulaciju, a ne od tipa i sastava zemljišta. Ovom zaključku ide u prilog i činjenica da je sadržaj minerala u bagremovom medu iz susednih zemalja sličan našim rezultatima.

U okviru ove disertacije je, prema do sada dostupnim informacijama, sprovedeno jedno od prvih sistematskih istraživanja u vezi bezbednosti pčelinjih proizvoda iz isključivo urbane sredine, i to u pogledu prisustva toksičnih metala, policikličnih aromatičnih ugljovodonika (PAH) i ostataka pesticida. Analizirano je ukupno 23 uzorka neprerađenog polifloralnog meda, 13 uzoraka polena i 6 uzoraka cvetnog nektara. Uzorci meda su ispunili zahteve zakonskih regulativa Republike Srbije i Evropske Unije, koji se odnose na maksimalno dozvoljene količine analiziranih pesticida i određenih metala (Pb, Cd, As, Cu, Zn i Fe). Rezultati naše studije ukazuju da je proizvodnja bezbednog meda u gradskom okruženju izloženom različitim zagađivačima, moguća, uz poštovanje principa dobre pčelarske prakse. Što se polena tiče, uočava se povećana koncentracija metala, posebno žive i hroma, kao i PAH, što ukazuje na aerozagađenje kojem je polen izložen. Imajući u vidu upotrebu polena u ishrani i u terapijske svrhe, neophodno je sprovesti dalja ispitivanja. Osim uvida u neke od potencijalnih kontaminenata, rezultati ovog istraživanja predstavljaju i doprinos razvoju urbanog pčelarstva, od kojeg je korist višestruka: očuvanje pčelinjih društava, pospešivanje polinacije, obogaćivanje gradske flore, socijalna dobrobit i proizvodnja kvalitetnog meda.

6. LITERATURA

1. Danezis, G. P., Tsagkaris, A. S., Camin, F., Brusic, V., & Georgiou, C. A. (2016). Food authentication: Techniques, trends & emerging approaches. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 85, 123-132.
2. Ruoff, K., & Bogdanov, S. (2004). Authenticity of honey and other bee products. *Apiacta*, 38(38), 317-327.
3. Lazarević, K. B., Andrić, F., Trifković, J., Tešić, Ž., & Milojković-Opsenica, D. (2012). Characterisation of Serbian unifloral honeys according to their physicochemical parameters. *Food chemistry*, 132(4), 2060-2064.
4. Pravilnik o kvalitetu meda i drugih proizvoda pčela (Službeni Gl. RS br. 101/15)
5. Council Directive 2001/110/EC relating to honey (OJ L 10, 12. 01. 2002)
6. Codex Standard for Honey, Codex Stan 12-1981, Revisions 1987 and 2001
7. Ouchemoukh, S., Schweitzer, P., Bey, M. B., Djoudad-Kadji, H., & Louaileche, H. (2010). HPLC sugar profiles of Algerian honeys. *Food chemistry*, 121(2), 561-568.
8. Aazza, S., Lyoussi, B., Antunes, D., & Miguel, M. G. (2013). Physicochemical characterization and antioxidant activity of commercial Portuguese honeys. *Journal of Food Science*, 78(8), C1159-C1165.
9. Zhou, J., Suo, Z., Zhao, P., Cheng, N., Gao, H., Zhao, J., & Cao, W. (2013). Jujube honey from China: physicochemical characteristics and mineral contents. *Journal of Food science*, 78(3), C387-C394.
10. Conti, M. E., Finoia, M. G., Fontana, L., Mele, G., Botrè, F., & Iavicoli, I. (2014). Characterization of Argentine honeys on the basis of their mineral

- content and some typical quality parameters. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 44.
11. Gašić, U., Kečkeš, S., Dabić, D., Trifković, J., Milojković-Opsenica, D., Natić, M., & Tešić, Ž. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity of Serbian polyfloral honeys. *Food Chemistry*, 145, 599-607.
 12. Kečkeš, J., Trifković, J., Andrić, F., Jovetić, M., Tešić, Ž., & Milojković-Opsenica, D. (2013). Amino acids profile of Serbian unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(13), 3368-3376.
 13. Kaškonienė, V., & Venskutonis, P. R. (2010). Floral markers in honey of various botanical and geographic origins: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 620-634.
 14. Bogdanov, S. (2006). Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37(1), 1-18.
 15. Al-Waili, N., Salom, K., Al-Ghamdi, A., & Ansari, M. J. (2012). Antibiotic, pesticide, and microbial contaminants of honey: human health hazards. *The Scientific World Journal*, 2012.
 16. Sitarz-Palczak, E., Kalembkiewicz, J., & Galas, D. (2015). Evaluation of the Content of Selected Heavy Metals in Samples of Polish Honeys. *Journal of Ecological Engineering*, 16(3).
 17. Devillers, J. (2003). The ecological importance of honey bees and their relevance to ecotoxicology. In *Honey Bees* (pp. 15-25). CRC Press.
 18. Ruschioni, S., Riolo, P., Minuz, R. L., Stefano, M., Cannella, M., Porrini, C., & Isidoro, N. (2013). Biomonitoring with honeybees of heavy metals and pesticides in nature reserves of the Marche Region (Italy). *Biological Trace Element Research*, 154(2), 226-233.
 19. Zarić, N. M., Ilijević, K., Stanisavljević, L., & Gržetić, I. (2017). Use of honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators for assessment and source appointment of metal pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(33), 25828-25838.

20. Bargańska Ż, Ślebioda M, & Namieśnik J. (2016). Honey bees and their products: Bioindicators of environmental contamination. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(3), 235-248.
21. European Food Safety Authority (EFSA). Bee-health topic. Dostupno na: <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bee-health>
22. Greenpeace. The global and European situation with bees and other pollinators. Dostupno na: <http://sos-bees.org/situation/>
23. European Food Safety Authority (EFSA). Scientific report submitted to EFSA Bee Mortality and Bee Surveillance in Europe. CFP/EFSA/AMU/2008/02. Publikovano 03. decembra 2009.
24. European Environment Agency (EEA). Article the Environmental Atlas City bees, 2010. Dostupno na: <http://www.eea.europa.eu/atlas/eea/city-bees/story/article>
25. European Environment Agency (EEA). EEA's bees project Making Copenhagen buzz, 2012. Dostupno na: <http://www.eea.europa.eu/about-us/what/eeas-bees-project>
26. Roffet-Salque, M., Regert, M., Evershed, R. P., Outram, A. K., Cramp, L. J., Decavallas, O., ... & Pääkkönen, M. (2015). Widespread exploitation of the honeybee by early Neolithic farmers. *Nature*, 527(7577), 226.
27. Kritsky, G. (2017). Beekeeping from antiquity through the Middle Ages. *Annual Review of Entomology*, 62, 249-264.
28. „The History of Honey from Middle Ages to Single-Flower Honey”. Dostupno na: <http://www.brezzo.com/blog/en/>
29. Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), 677-689.

30. da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.
31. Ajibola, A., Chamunorwa, J. P., & Erlwanger, K. H. (2012). Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutrition & Metabolism*, 9(1), 61.
32. Meo, S. A., Al-Asiri, S. A., Mahesar, A. L., & Ansari, M. J. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975-978.
33. Mijanur Rahman, M., Gan, S. H., & Khalil, M. (2014). Neurological effects of honey: current and future prospects. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
34. Alvarez-Suarez, J. M., Gasparini, M., Forbes-Hernández, T. Y., Mazzoni, L., & Giampieri, F. (2014). The composition and biological activity of honey: a focus on Manuka honey. *Foods*, 3(3), 420-432.
35. Oddo, L. P., Piro, R., Bruneau, É., Guyot-Declerck, C., Ivanov, T., Piskulová, J., ... & Von der Ohe, W. (2004). Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S38-S81.
36. Bogdanov, S., & Gallmann, P. (2008). *Authenticity of honey and other bee products state of the art*. Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, Bern (Switzerland).
37. Ruoff, K., Luginbühl, W., Künzli, R., Iglesias, M. T., Bogdanov, S., Bosset, J. O., ... & Amadò, R. (2006). Authentication of the botanical and geographical origin of honey by mid-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6873-6880.
38. Trends offer opportunities in the European honey market. Dostupno na: <https://www.slideshare.net/yuthar/trends-offer-opportunities-on-the-european-honey-market>

39. Arvanitoyannis, I. S., Chalhoub, C., Gotsiou, P., Lydakis-Simantiris, N., & Kefalas, P. (2005). Novel quality control methods in conjunction with chemometrics (multivariate analysis) for detecting honey authenticity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(3), 193-203.
40. Report on the food crisis, fraud in the food chain and the control thereof (2013/2091 (INI)), European Parliament, Committee on the Environment, Public Health and Food Safety
41. Honey authenticity, Eurofins innovations, December 2013
42. Authenticity of Honey-A major Analytical Challenge-Food Lab International-Special issue for INTERTEK, 3/2015
43. DIN 10760, Honig - Untersuchung der relativen Pollenhäufigkeit
44. International Honey Commission, Harmonized methods of Melissopalynology, *Apidologie*, 35 (2004)
45. Harmonised Methods of International Honey Commission, IHC (2009)
46. Anklam, E. (1996). Evaluation of Methods of Analysis for Authenticity Proof of Honeys:(botanical and Geographical Origin). European Commission Joint Research Centre Environment Institute.
47. Bogdanov, S., & Martin, P. (2002). Honey authenticity. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 93(3), 232-254.
48. Bogdanov, S. (2007). Authenticity of honey and other bee products: state of the art. *Bulletin USAMV-CN*, 63, 64.
49. Consonni, R., & Cagliani, L. R. (2015). Recent developments in honey characterization. *RSC Advances*, 5(73), 59696-59714.
50. Arvanitoyannis, I., & Kotsanopoulos, K. V. (2016). Honey Authenticity. In *Authenticity of Foods of Animal Origin* (pp. 259-286). CRC Press

51. Milojković-Opsenica, D. M., & Tešić, Ž. L. (2017). Assessment of the Authenticity of Honey. *Journal of AOAC International*, 100(4), 825.
52. Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P., & Mafra, I. (2017). A comprehensive review on the main honey authentication issues: Production and origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 1072-1100.
53. Elflein, L., & Raezke, K. P. (2008). Improved detection of honey adulteration by measuring differences between $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ stable carbon isotope ratios of protein and sugar compounds with a combination of elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometry and liquid chromatography-isotope ratio mass spectrometry (^{13}C -EA/LC-IRMS). *Apidologie*, 39(5), 574-587.
54. Dinca, O. R., Ionete, R. E., Popescu, R., Costinel, D., & Radu, G. L. (2015). Geographical and botanical origin discrimination of Romanian honey using complex stable isotope data and chemometrics. *Food Analytical Methods*, 8(2), 401-412.
55. Pohl, P. (2009). Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(1), 117-128.
56. Madejczyk, M., & Baralkiewicz, D. (2008). Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Analytica Chimica Acta*, 617(1-2), 11-17.
57. Bogdanov, S., Haldimann, M., Luginbühl, W., & Gallmann, P. (2007). Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Apicultural Research*, 46(4), 269-275.
58. Stankovska, E., Stafilov, T., & Šajin, R. (2008). Monitoring of trace elements in honey from the Republic of Macedonia by atomic absorption spectrometry. *Environmental Monitoring and Assessment*, 142(1-3), 117-126.

-
59. Rashed, M. N., El-Haty, M. T. A., & Mohamed, S. M. (2009). Bee honey as environmental indicator for pollution with heavy metals. *Toxicological and Environ Chemistry*, 91(3), 389-403.
 60. Berinde, Z. M., & Michnea, A. M. (2013). A comparative study on the evolution of environmental and honey pollution with heavy metals. *Journal of Science and Arts*, 13(2), 173.
 61. Golob, T., Doberšek, U., Kump, P., & Nečemer, M. (2005). Determination of trace and minor elements in Slovenian honey by total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry*, 91(4), 593-600.
 62. Necemer, M., Kosir, I. J., Kump, P., Kropf, U., Jamnik, M., Bertoncelej, J., ... & Golob, T. (2009). Application of total reflection X-ray spectrometry in combination with chemometric methods for determination of the botanical origin of Slovenian honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(10), 4409-4414.
 63. Conti, M. E., Stripeikis, J., Campanella, L., Cucina, D., & Tudino, M. B. (2007). Characterization of Italian honeys (Marche Region) on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. *Chemistry Central Journal*, 1(1), 14.
 64. Fermo, P., Beretta, G., Facino, R., Gelmini, F., & Piazzalunga, A. (2013). Ionic profile of honey as potential indicator of global environmental pollution and of botanical origin. *Environmental Pollution*, 178, 173-181.
 65. Uršić, N., Gačić, M., Đokić, M., Sedak, M., Šipušić, Đ. I., Končurat, A., & Gajger, I. T. (2014). Major and trace elements levels in multifloral and unifloral honeys in Croatia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(2), 132-138.
 66. Czipa, N., Andrási, D., & Kovács, B. (2015). Determination of essential and toxic elements in Hungarian honeys. *Food Chemistry*, 175, 536-542.

67. Oroian, M., Amariei, S., Leahu, A., & Gutt, G. (2015). Multi-element composition of honey as a suitable tool for its authenticity analysis. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 65(2), 93-100.
68. Kropf, U., Korošec, M., Bertoncej, J., Ogrinc, N., Nečemer, M., Kump, P., & Golob, T. (2010). Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chemistry*, 121(3), 839-846.
69. Uršulin-Trstenjak, N., Levanić, D., Primorac, L., Bošnir, J., Vahčić, N., & Šarić, G. (2015). Mineral Profile of Croatian Honey and Differences Due to its Geographical Origin. *Czech Journal of Food Science*, 33(2).
70. Di Bella, G., Turco, V. L., Potorti, A. G., Bua, G. D., Fede, M. R., & Dugo, G. (2015). Geographical discrimination of Italian honey by multi-element analysis with a chemometric approach. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, 25-35.
71. Kolayli, S., Kongur, N., Gundogdu, A., Kemer, B., Duran, C., & Aliyazicioglu, R. (2008). Mineral composition of selected honeys from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 20(3), 2421.
72. Atanassova, J., Yurukova, L., & LAzArovA, M. (2012). Pollen and inorganic characteristics of Bulgarian unifloral honeys. *Czech Journal of Food Science*, 30(6), 520-526.
73. Perna, A., Simonetti, A., Intaglietta, I., Sofo, A., & Gambacorta, E. (2012). Metal content of southern Italy honey of different botanical origins and its correlation with polyphenol content and antioxidant activity. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(9), 1909-1917.
74. Grembecka, M., & Szefer, P. (2013). Evaluation of honeys and bee products quality based on their mineral composition using multivariate techniques. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(5), 4033-4047.
75. Patruica, S., Harmanescu, M., Bura, M., Jivan, A., & Ciobanas, C. (2008). Researches concerning of the mineral content of Acacia honey derived on

- different countries. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 41(2), 325-327.
76. Patruica, S., Harmanescu, M., Jivan, A., Cioaba, C., Simiz, E., & Calamar, C. D. (2009). Researches regarding the mineral trace content of some honey types harvested from Southern Romania during 2007 and 2008. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 42(2), 178-181.
77. Nowak, L., Dziezyc, H., & Piotrowski, M. (2011). Content of bioelements and toxic metals in honey of various botanical origin from Lower Silesia. *Journal of Elementology*, 16(3).
78. Czipa, N., Burján, Z., Andrási, D., & Kovács, B. (2012). Trace Element Content of Hungarian Acacia Honeys. *European Chemical Bulletin*, 1(11), 446-448.
79. Atanassova, J., Lazarova, M., & Yurukova, L. (2016). Significant parameters of Bulgarian honeydew honey. *Journal of Central European Agriculture*, 17(3), 640-651.
80. Stih, C., Chelarescu, E. D., Dului, O. G., & Toma, L. G. (2016). Characterization of Romanian honey using physico-chemical parameters and the elemental content determined by analytical techniques. *Romanian Reports in Physics*, 68(1), 362-369.
81. Rodríguez-Flores, S., Escuredo, O., & Seijo, M. C. (2016). Characterization and antioxidant capacity of sweet chestnut honey produced in North-West Spain. *Journal of Apicultural Science*, 60(1), 19-30.
82. Hernández, O. M., Fraga, J. M. G., Jiménez, A. I., Jimenez, F., & Arias, J. J. (2005). Characterization of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chemistry*, 93(3), 449-458.
83. Terrab, A., Recamales, A. F., Hernanz, D., & Heredia, F. J. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 88(4), 537-542.

-
84. Batista, B. L., Da Silva, L. R. S., Rocha, B. A., Rodrigues, J. L., Berretta-Silva, A. A., Bonates, T. O., ... & Barbosa, F. (2012). Multi-element determination in Brazilian honey samples by inductively coupled plasma mass spectrometry and estimation of geographic origin with data mining techniques. *Food Research International*, 49(1), 209-215.
85. Ribeiro, R. D. O. R., Mársico, E. T., de Jesus, E. F. O., da Silva Carneiro, C., Júnior, C. A. C., de Almeida, E., & Filho, V. F. D. N. (2014). Determination of Trace Elements in Honey from Different Regions in Rio de Janeiro State (Brazil) by Total Reflection X-Ray Fluorescence. *Journal of Food Science*, 79(4), T738-T742.
86. Muñoz, E., & Palmero, S. (2006). Determination of heavy metals in honey by potentiometric stripping analysis and using a continuous flow methodology. *Food Chemistry*, 94(3), 478-483.
87. Sanna, G., Pilo, M. I., Piu, P. C., Tapparo, A., & Seeber, R. (2000). Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrodes. *Analytica Chimica Acta*, 415(1-2), 165-173.
88. Pehlivan, T., & Gül, A. (2015). Determination of heavy metals contents of some monofloral honey produced in Turkey. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(8), 042-045.
89. Alqarni, A. S., Owayss, A. A., Mahmoud, A. A., & Hannan, M. A. (2014). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(5), 618-625.
90. Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63(4), 549-562.
91. Dr Lutz Elflein: New approaches in sugar composition analysis for simultaneous honey quality and authenticity assessment, Eurofins, 2017
92. Mateo, R., & Bosch-Reig, F. (1997). Sugar profiles of Spanish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 60(1), 33-41.

93. Costa, L., Trugo, L. C., Costa, L. S. M., Quinteiro, L. M. C., Barth, O. M., Dutra, V. M. L., & de Maria, C. A. B. (2000). Determination of oligosaccharides in Brazilian honeys of different botanical origin. *Food Chemistry*, 70(1), 93-98.
94. De La Fuente, E., Ruiz-Matute, A. I., Valencia-Barrera, R. M., Sanz, J., & Castro, I. M. (2011). Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 129(4), 1483-1489.
95. Sabatini, A. G., Persano, O., Piazza, M. G., Accorti, M., & Marcazzan, G. (1990). Glucide spectrum in the main Italian unifloral honeys. II. Di- and trisaccharides. *Apicoltura*, (6), 63-70.
96. Goodall, I., Dennis, M. J., Parker, I., & Sharman, M. (1995). Contribution of high-performance liquid chromatographic analysis of carbohydrates to authenticity testing of honey. *Journal of Chromatography A*, 706(1-2), 353-359.
97. Radovic, B. S., Goodacre, R., & Anklam, E. (2001). Contribution of pyrolysis-mass spectrometry (Py-MS) to authenticity testing of honey. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 60(1), 79-87.
98. Kaškonienė, V., Venskutonis, P. R., & Čeksterytė, V. (2010). Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. *LWT-Food Science and Technology*, 43(5), 801-807.
99. Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E. A., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180, 133-141.
100. Lazarević, K. B., Jovetić, M. S., & Tešić, Ž. L. (2017). Physicochemical Parameters as a Tool for the Assessment of Origin of Honey. *Journal of AOAC International*, 100(4), 840-851.
101. Kamal, M. A., & Klein, P. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(1), 17-21.

-
- 102.** Cotte, J. F., Casabianca, H., Chardon, S., Lheritier, J., & Grenier-Loustalot, M. F. (2004). Chromatographic analysis of sugars applied to the characterisation of monofloral honey. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380(4), 698-705.
- 103.** De la Fuente, E., Sanz, M. L., Martínez-Castro, I., Sanz, J., & Ruiz-Matute, A. I. (2007). Volatile and carbohydrate composition of rare unifloral honeys from Spain. *Food Chemistry*, 105(1), 84-93.
- 104.** Batsoulis, A. N., Siatas, N. G., Kimbaris, A. C., Alissandrakis, E. K., Pappas, C. S., Tarantilis, P. A., ... & Polissiou, M. G. (2005). FT-Raman spectroscopic simultaneous determination of fructose and glucose in honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 207-210.
- 105.** Machado De-Melo, A. A., Almeida-Muradian, L. B. D., Sancho, M. T., & Pascual-Maté, A. (2018). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5-37.
- 106.** Janiszewska, K., Aniolowska, M., & Nowakowski, P. (2012). Free amino acids content of honeys from Poland. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 62(2), 85-89.
- 107.** Hermosin, I., Chicon, R. M., & Cabezudo, M. D. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83(2), 263-268.
- 108.** Bogdanov, S., Ruoff, K., & Oddo, L. P. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S4-S17.
- 109.** Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., von der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., ... & Flamini, C. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the international honey commission. *Bee world*, 80(2), 61-69.
- 110.** Bogdanov, S. (2009). Honey composition. *The honey book*.

111. Kivrak, Ş., Kivrak, I., & Karababa, E. (2017). Characterization of Turkish honeys regarding of physicochemical properties, and their adulteration analysis. *Food Science and Technology (Campinas)*, 37(1), 80-89.
112. Cotte, J. F., Casabianca, H., Giroud, B., Albert, M., Lheritier, J., & Grenier-Loustalot, M. F. (2004). Characterization of honey amino acid profiles using high-pressure liquid chromatography to control authenticity. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378(5), 1342-1350.
113. Sun, Z., Zhao, L., Cheng, N., Xue, X., Wu, L., Zheng, J., & Cao, W. (2017). Identification of botanical origin of Chinese unifloral honeys by free amino acid profiles and chemometric methods. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(5), 317-323.
114. Kaškonienė, V., Maruška, A., Kornýšova, O., Charczun, N., Ligor, M., & Buszewski, B. (2009). Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. *Cheminė technologija*, 52(3), 74-80.
115. Gašić, U. M., Milojković-Opsenica, D. M., & Tešić, Ž. L. (2017). Polyphenols as Possible Markers of Botanical Origin of Honey. *Journal of AOAC International*, 100(4).
116. Habib, H. M., Al Meqbali, F. T., Kamal, H., Souka, U. D., & Ibrahim, W. H. (2014). Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of honeys from arid regions. *Food Chemistry*, 153, 28-34.
117. Ferreres, F., & Tomás-Barberán, F. A. (2000). A. Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1498-1502.
118. Kečkeš, S., Gašić, U., Veličković, T. Č., Milojković-Opsenica, D., Natić, M., & Tešić, Ž. (2013). The determination of phenolic profiles of Serbian unifloral honeys using ultra-high-performance liquid chromatography/high resolution accurate mass spectrometry. *Food Chemistry*, 138(1), 32-40.

119. Jasicka-Misiak, I., Gruyaert, S., Poliwoda, A., & Kafarski, P. (2017). Chemical Profiling of Polyfloral Belgian Honey: Ellagic Acid and Pinocembrin as Antioxidants and Chemical Markers. *Journal of Chemistry*, 2017.
120. Opsenica, D. M., Lušić, D., & Tešić, Ž. (2015). Modern analytical techniques in the assessment of the authenticity of Serbian honey/Moderne analitičke tehnike u procjeni izvornosti meda iz Srbije. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 66(4), 233-241.
121. Karačonji, I. B., & Jurica, K. (2017). Development and Validation of a GC-MS Method for the Analysis of Homogentisic Acid in Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Honey. *Journal of AOAC International*, 100(4).
122. Islam, M. N., Khalil, M. I., Islam, M. A., & Gan, S. H. (2014). Toxic compounds in honey. *Journal of Applied Toxicology*, 34(7), 733-742.
123. Sattler, J. A. G., De-Melo, A. A. M., Nascimento, K. S. D., Mancini-Filho, J., Sattler, A., & Almeida-Muradian, L. B. D. (2016). Essential minerals and inorganic contaminants (barium, cadmium, lithium, lead and vanadium) in dried bee pollen produced in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Food Science and Technology*, 36(3), 505-509.
124. do Nascimento, A. S., Marchini, L. C., de Carvalho, C. A. L., Araújo, D. F. D., da Silveira, T. A., & de Olinda, R. A. (2015). Determining the Levels of Trace Elements Cd, Cu, Pb and Zn in Honey of Stingless Bee (Hymenoptera: Apidae) Using Voltammetry. *Food and Nutrition Sciences*, 6(07), 591.
125. Solayman, M., Islam, M. A., Paul, S., Ali, Y., Khalil, M. I., Alam, N., & Gan, S. H. (2016). Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 219-233.
126. Prevent Lead Contamination in Honey, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs Ontario. Dostupno na: <http://omafra.gov.on.ca>

-
127. Sobhanardakani, S., & Kianpour, M. (2016). Heavy metal levels and potential health risk assessment in honey consumed in the west of Iran. *Avicenna Journal of Environmental Health Engineering*, 3(2), e7795.
128. Kılıç Altun, S., Dinç, H., Paksoy, N., Temamoğulları, F. K., & Savrunlu, M. (2017). Analyses of mineral content and heavy metal of honey samples from south and east region of Turkey by using icp-ms. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2017.
129. Commission Regulation (EU) 2015/1005 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of lead in certain foodstuffs (OJ L 161, 26.6.2015)
130. Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i o hrani i hrani za životinje za koju se utvrđuju maksimalno dozvoljene količine ostataka sredstava za zaštitu bilja (Sl. glasnik RS 22/18; Sl. glasnik RS 29/14, sa svim izmenama i dopunama)
131. Air Quality Guidelines, Chapter 5.9- PAHs- Second Edition, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, 2000
132. Tongo, I., Ogbeide, O., & Ezemonye, L. (2017). Human health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in smoked fish species from markets in Southern Nigeria. *Toxicology Reports*, 4, 55-61.
133. Zelinkova, Z., & Wenzl, T. (2015). EU marker polycyclic aromatic hydrocarbons in food supplements: analytical approach and occurrence. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32(11), 1914-1926.
134. Zelinkova, Z., & Wenzl, T. (2015). The occurrence of 16 EPA PAHs in food—a review. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 35(2-4), 248-284.
135. Batelková, P., Borkovcová, I., Čelechovská, O., Vorlová, L., & Bartáková, K. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbons and risk elements in honey from the South Moravian region (Czech Republic). *Acta Veterinaria Brno*, 81(2), 169-174.

136. Horn, U., & Martius, B. (1997). Die Belastung von Honigen mit polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in der Region Altenburg [The loading of honeys with polycyclic aromatic hydrocarbons in Altenburg region]. *Apidologie*, 28, 173-174.
137. Albero, B., Sánchez-Brunete, C., & Tadeo, J. L. (2003). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in honey by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 86(3), 576-582.
138. Dobrinas, S., Birghila, S., & Coatu, V. (2008). Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in honey and propolis produced from various flowering trees and plants in Romania. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(1), 71-77.
139. Perugini, M., Di Serafino, G., Giacomelli, A., Medrzycki, P., Sabatini, A. G., Persano Oddo, L., ... & Amorena, M. (2009). Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in bees (*Apis mellifera*) and honey in urban areas and wildlife reserves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7440-7444.
140. Lambert, O., Veyrand, B., Durand, S., Marchand, P., Le Bizec, B., Piroux, M., ... & Pouliquen, H. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbons: bees, honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants. *Chemosphere*, 86(1), 98-104.
141. Ciemniak, A., Witczak, A., & Mocek, K. (2013). Assessment of honey contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 48(11), 993-998.
142. Naccari, C., Macaluso, A., Giangrosso, G., Naccari, F., & Ferrantelli, V. (2014). Risk assessment of heavy metals and pesticides in honey from Sicily (Italy). *Journal of Food Research*, 3(2), 107.
143. Tette, P. A. S., Guidi, L. R., de Abreu Glória, M. B., & Fernandes, C. (2016). Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*, 149, 124-141.

-
144. Regulation (EC) No 396/2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC (OJ L 70, 16.03.2005)
145. Commission Regulation (EU) No 37/2010 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin (OJ L 15, 20.01.2010)
146. Rajs, B. B., Flanjak, I., Mutić, J., Vukojević, V., Đurđić, S., & Primorac, L. (2017). Characterization of Croatian Rape (*Brassica* sp.) Honey by Pollen Spectrum, Physicochemical Characteristics, and Multielement analysis by ICP-OES. *Journal of AOAC International*, 100(4).
147. Roberts, T. L. (2014). Cadmium and phosphorous fertilizers: the issues and the science. *Procedia Engineering*, 83, 52-59.
148. Protic, N., Martinovic, L., Milicic, B., Stevanovic, D., & Mojasevic, M. (2003). The status of soil surveys in Serbia and Montenegro. *European Soil Bureau-Research Report*, 9, 297-315.
149. Milivojevic, J., Jakovljevic, M., Jelic, M., & Boskovic-Rakocevic, L. (2002). Investigation of methods for Fe, Mn and Zn solubility in the smonitzas of Serbia [Yugoslavia]. *Journal of Agricultural Sciences (Yugoslavia)*.
150. Lazarević, K. B., Trifković, J. Đ., Andrić, F. L., Tešić, Ž. L., Anđelković, I. B., Radović, D. I., ... & Milojković-Opsenica, D. M. (2013). Quality parameters and pattern recognition methods as a tool in tracing regional origin of multifloral honey. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 78(12), 1875-1892.
151. Krgović, R., Trifković, J., Milojković-Opsenica, D., Manojlović, D., Marković, M., & Mutić, J. (2015). Phytoextraction of metals by *Erigeron canadensis* L. from fly ash landfill of power plant "Kolubara". *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14), 10506-10515.

152. Hopfer, H., Nelson, J., Collins, T. S., Heymann, H., & Ebeler, S. E. (2015). The combined impact of vineyard origin and processing winery on the elemental profile of red wines. *Food Chemistry*, 172, 486-496.
153. Jovetić, M., Trifković, J., Stanković, D., Manojlović, D., & Milojković-Opsenica, D. (2017). Mineral Content as a Tool for the Assessment of Honey Authenticity. *Journal of AOAC International*, 100(4), 862-870.
154. Lazarević B. Kristina: Fizičko-hemijska karakterizacija i klasifikacija meda sa teritorije Republike Srbije prema botaničkom i regionalnom poreklu primenom multivarijantne hemometrijske analize, Doktorska disertacija, Beograd, 2016
155. Matović, K., Ćirić, J., Kaljević, V., Nedić, N., Jevtić, G., Vasković, N., & Baltić, M. Ž. (2018). Physicochemical parameters and microbiological status of honey produced in an urban environment in Serbia. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(14), 14148-14157.
156. Bilandžić, N., Sedak, M., Đokić, M., Kolanović, B. S., Varenina, I., Božić, Đ., ... & Brstilo, M. (2012). Lead content in multifloral honey from central Croatia over a three-year period. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(6), 985-989.
157. Bilandžić, N., Đokić, M., Sedak, M., Kolanović, B. S., Varenina, I., Končurat, A., & Rudan, N. (2011). Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions. *Food Chemistry*, 128(4), 1160-1164.
158. Toporcák, J., Legáth, J., & Kul'ková, J. (1992). Levels of mercury in samples of bees and honey from areas with and without industrial contamination. *Veterinarni medicina*, 37(7), 405-412.
159. Toth, T., Kopernická, M., Sabo, R., & Kopernicka, T. (2016). The evaluation of mercury in honey bees and their products from eastern Slovakia. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 49(1), 257-260.
160. Maragou, N. C., Pavlidis, G., Karasali, H., & Hatjina, F. (2016). Cold Vapor Atomic Absorption and Microwave Digestion for the Determination of Mercury

- in Honey, Pollen, Propolis and Bees of Greek Origin. *Global NEST Journal*, 18(4), 690-696.
161. Roman, A., Popiela-Pleban, E., Migdał, P., & Kruszyński, W. (2016). As, Cr, Cd, and Pb in Bee Products from a Polish Industrialized Region. *Open Chemistry*, 14(1), 33-36.
162. Dinkov, D., & Stratev, D. (2016). The content of two toxic heavy metals in Bulgarian bee pollen. *International Food Research Journal*, 23(3), 1343.
163. Kostić, A. Ž., Pešić, M. B., Mosić, M. D., Dojčinović, B. P., Natić, M. M., & Trifković, J. Đ. (2015). Mineral content of bee pollen from Serbia/Sadržaj minerala u uzorcima pčelinjega peluda iz Srbije. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 66(4), 251-258.
164. Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., & Olczyk, K. (2015). Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
165. Jacquemyn, H., Lenaerts, M., Brys, R., Willems, K., Honnay, O., & Lievens, B. (2013). Among-population variation in microbial community structure in the floral nectar of the bee-pollinated forest herb *Pulmonaria officinalis* L. *PLoS One*, 8(3), e56917.
166. Formicki, G., Greń, A., Stawarz, R., Zyśk, B., & Gał, A. (2013). Metal Content in Honey, Propolis, Wax, and Bee Pollen and Implications for Metal Pollution Monitoring. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(1).
167. Commission Regulation (EU) No 835/2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs (OJ L 215, 20.08.2011)
168. Jia, C., & Batterman, S. (2010). A critical review of naphthalene sources and exposures relevant to indoor and outdoor air. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(7), 2903-2939.

169. Szczêsna, T. (2006). Long-chain fatty acids composition of honeybee-collected pollen. *Journal of Apicultural Science*, 50(2), 65-79.
170. World Health Organization (WHO). Chapter 5.9- Polycyclic aromatic hydrocarbons in Air Quality Guidelines 2nded 2000. WHO Regional Publications European Series No. 91 p. 92-97
171. Chauzat, M. P., Faucon, J. P., Martel, A. C., Lachaize, J., Cougoule, N., & Aubert, M. (2006). A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France. *Journal of Economic Entomology*, 99(2), 253-262.
172. Mullin, C. A., Frazier, M., Frazier, J. L., Ashcraft, S., Simonds, R., & Pettis, J. S. (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PloS one*, 5(3), e9754.
173. Lambert, O., Piroux, M., Puyo, S., Thorin, C., L'Hostis, M., Wiest, L., ... & Pouliquen, H. (2013). Widespread occurrence of chemical residues in beehive matrices from apiaries located in different landscapes of Western France. *PloS one*, 8(6), e67007.

7. PRILOG

Prilog 1. Rezultati sadržaja minerala, mikroelemenata i elemenata u tragovima u medu od bagrema

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
1	Bagrem	Zapadna Srbija	272	28,5	7,8	26,0	0,8	2,20	0,15	0,44	0,11	45	63	4,5
2	Bagrem	Zapadna Srbija	273	31,9	10,0	35,0	3,1	10,00	0,65	3,32	1,40	478	247	67,6
3	Bagrem	Zapadna Srbija	193	31,5	6,2	34,6	0,7	1,12	0,17	0,19	0,02	37	55	0,2
4	Bagrem	Južna Srbija	139	20,8	3,9	12,3	0,3	1,82	0,18	0,16	0,01	26	36	0,2
5	Bagrem	Južna Srbija	248	28,0	8,4	39,7	2,0	6,97	0,54	0,98	0,91	348	169	40,2
6	Bagrem	Istočna Srbija	148	25,0	4,8	24,6	0,7	1,56	0,23	0,27	0,05	52	42	0,6
7	Bagrem	Zapadna Srbija	315	37,7	8,4	23,9	0,5	1,50	0,15	0,26	0,03	43	54	1,6
8	Bagrem	Zapadna Srbija	209	20,6	5,7	34,1	0,5	0,74	0,18	1,25	0,04	32	63	1,4
9	Bagrem	Zapadna Srbija	257	33,8	6,2	26,9	0,4	2,08	0,22	0,47	0,08	78	66	8,3
10	Bagrem	Istočna Srbija	422	22,2	15,5	18,0	0,6	3,84	0,32	0,64	0,13	159	163	9,0
11	Bagrem	Zapadna Srbija	282	28,4	9,2	15,9	0,3	1,11	0,18	0,46	0,03	34	62	2,0
12	Bagrem	Centralna Srbija	162	12,9	4,9	32,5	0,5	1,25	0,17	0,19	0,04	39	82	0,2
13	Bagrem	Centralna Srbija	91	15,4	3,3	3,8	1,2	0,92	0,27	0,11	0,17	94	37	5,3
14	Bagrem	Centralna Srbija	152	12,2	3,8	25,6	0,2	0,57	0,11	0,07	0,02	24	45	0,2
15	Bagrem	Zapadna Srbija	268	32,0	6,0	27,3	0,3	0,93	0,15	0,30	0,01	28	46	0,2

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
16	Bagrem	Centralna Srbija	169	31,9	4,4	22,5	0,4	1,72	0,32	0,23	0,08	99	62	2,4
17	Bagrem	Beogradski region	199	16,3	5,7	27,0	0,2	0,48	0,45	1,61	0,01	33	67	1,8
18	Bagrem	Zapadna Srbija	197	21,6	6,7	39,6	0,8	0,90	0,66	7,57	0,03	47	56	1,3
19	Bagrem	Zapadna Srbija	170	23,1	6,1	37,8	0,6	3,47	0,29	0,77	0,02	64	97	2,6
20	Bagrem	Centralna Srbija	309	38,0	6,9	39,7	1,0	1,75	0,22	0,33	0,01	83	88	0,2
21	Bagrem	Centralna Srbija	257	25,6	7,8	25,5	0,3	1,00	0,34	2,31	0,01	46	62	0,2
22	Bagrem	Zapadna Srbija	423	68,0	15,8	25,6	1,9	1,18	0,20	1,58	0,06	41	36	5,1
23	Bagrem	Zapadna Srbija	200	37,1	7,5	5,8	1,0	1,36	0,20	0,18	0,02	14	49	0,2
24	Bagrem	Centralna Srbija	208	38,1	10,4	15,9	1,3	4,01	0,35	0,31	0,36	242	97	11,8
25	Bagrem	Centralna Srbija	172	32,3	5,7	3,4	1,2	13,73	0,14	0,12	0,04	4	4	0,2
26	Bagrem	Centralna Srbija	176	68,0	7,5	15,8	2,0	1,43	0,12	0,04	0,03	4	4	0,2
27	Bagrem	Centralna Srbija	158	22,3	4,8	3,4	0,8	0,82	0,07	0,02	0,02	4	4	0,2
28	Bagrem	Centralna Srbija	184	41,9	9,1	3,7	0,8	0,93	0,08	0,04	0,02	4	4	1,2
29	Bagrem	Centralna Srbija	147	29,7	6,9	15,4	1,6	1,94	0,17	0,44	0,82	193	124	29,9
30	Bagrem	Centralna Srbija	164	26,3	6,2	8,9	1,3	1,28	0,16	0,10	0,07	55	51	0,9
31	Bagrem	Centralna Srbija	171	38,5	5,8	4,1	1,2	1,00	0,14	0,04	0,04	4	4	0,6
32	Bagrem	Centralna Srbija	157	22,6	4,5	4,1	0,6	1,17	0,07	0,02	0,02	4	4	0,2

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka.	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
33	Bagrem	Centralna Srbija	91	39,0	7,2	20,1	5,4	1,44	0,34	0,14	0,07	60	109	4,1
34	Bagrem	Centralna Srbija	167	30,1	5,6	3,4	1,4	1,10	0,11	0,03	0,02	4	4	0,2
35	Bagrem	Centralna Srbija	175	33,9	6,5	4,1	1,1	1,18	0,06	0,04	0,03	4	4	0,2
36	Bagrem	Centralna Srbija	246	38,6	7,8	4,2	1,6	1,03	0,10	0,09	0,02	4	4	0,2
37	Bagrem	Centralna Srbija	282	32,9	7,5	3,4	0,9	1,14	0,08	0,07	0,02	4	4	0,2
38	Bagrem	Centralna Srbija	157	18,9	4,7	15,6	0,7	0,65	0,06	0,07	0,04	4	4	0,2
39	Bagrem	Istočna Srbija	166	16,2	3,9	4,3	0,8	1,05	0,10	0,07	0,03	4	4	0,2
40	Bagrem	Južna Srbija	220	16,6	7,1	4,1	0,8	1,15	0,10	0,23	0,01	4	4	0,2
41	Bagrem	Vojvodina	302	45,4	15,9	13,3	2,0	1,49	0,14	0,07	0,02	4	4	1,1
42	Bagrem	Vojvodina	166	30,1	7,8	7,5	1,4	1,73	0,08	0,04	0,02	4	4	0,2
43	Bagrem	Vojvodina	238	52,8	16,0	16,2	0,7	1,49	0,09	0,08	0,02	4	4	0,2
44	Bagrem	Vojvodina	192	49,0	10,8	12,2	2,2	0,93	0,21	0,13	0,04	19	46	0,2
45	Bagrem	Vojvodina	149	52,7	7,6	14,2	2,7	2,05	0,26	0,15	0,06	119	105	5,0
46	Bagrem	Vojvodina	131	54,4	7,5	18,8	3,6	1,84	0,34	0,25	0,19	164	77	12,9
47	Bagrem	Centralna Srbija	159	37,9	8,2	3,5	1,2	0,93	0,16	3,38	0,10	66	30	0,2
48	Bagrem	Centralna Srbija	148	26,3	5,5	15,0	1,7	1,70	0,16	0,19	0,04	32	66	0,4
49	Bagrem	Centralna Srbija	146	25,3	4,0	4,2	0,8	1,36	0,18	0,19	0,05	4	4	0,2

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
50	Bagrem	Centralna Srbija	142	29,2	4,0	8,1	1,4	1,81	0,28	0,24	0,10	4	4	0,2
51	Bagrem	Centralna Srbija	149	18,2	3,8	3,8	1,3	1,46	0,13	0,14	0,04	4	4	0,2
52	Bagrem	Centralna Srbija	188	22,0	5,3	3,9	0,8	2,04	0,13	2,32	0,03	187	213	2,0
53	Bagrem	Južna Srbija	145	24,9	3,7	5,3	0,6	0,74	0,14	0,17	0,02	4	4	0,2
54	Bagrem	Južna Srbija	169	39,3	4,6	3,7	1,1	2,05	0,19	0,32	0,07	41	47	0,2
55	Bagrem	Centralna Srbija	156	35,3	3,7	4,0	1,3	1,39	0,24	0,22	0,06	99	43	1,5
56	Bagrem	Centralna Srbija	167	18,4	3,9	4,9	0,6	0,79	0,14	0,42	0,03	56	52	0,2
57	Bagrem	Centralna Srbija	154	24,4	4,1	8,2	0,7	2,06	0,13	0,59	0,03	35	54	0,2
58	Bagrem	Centralna Srbija	190	22,1	5,4	21,9	0,6	0,87	0,16	0,25	0,05	35	56	0,2
59	Bagrem	Centralna Srbija	142	26,4	4,2	4,1	1,0	1,38	0,18	2,79	0,08	149	221	0,2
60	Bagrem	Centralna Srbija	158	27,4	4,0	3,4	1,4	1,52	0,28	1,78	0,32	143	73	2,2
61	Bagrem	Centralna Srbija	200	22,4	5,1	3,7	1,5	0,61	0,18	1,79	0,06	57	86	0,2
62	Bagrem	Centralna Srbija	159	22,5	5,2	3,6	1,0	1,34	0,18	3,50	0,13	190	184	0,9
63	Bagrem	Centralna Srbija	159	35,6	6,1	4,8	121,2	1,57	0,22	1,15	0,03	127	158	0,2
64	Bagrem	Centralna Srbija	147	20,3	3,5	3,4	0,7	0,81	0,18	0,22	0,01	34	69	0,2
65	Bagrem	Centralna Srbija	211	25,1	7,0	3,6	1,7	1,87	0,24	5,50	0,92	262	152	6,0
66	Bagrem	Centralna Srbija	325	27,0	8,4	3,9	2,2	0,85	0,21	1,92	0,09	42	83	0,4

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
67	Bagrem	Zapadna Srbija	181	26,0	7,0	4,2	1,3	1,07	0,15	1,55	0,06	33	348	0,2
68	Bagrem	Zapadna Srbija	226	22,2	6,7	3,9	1,3	1,83	0,19	2,80	0,06	61	70	0,2
69	Bagrem	Zapadna Srbija	267	26,3	6,6	4,6	1,8	0,85	0,21	2,46	0,12	89	83	0,3
70	Bagrem	Zapadna Srbija	235	24,8	5,6	4,8	2,3	0,66	0,26	2,09	0,03	38	54	0,2
71	Bagrem	Zapadna Srbija	196	28,0	10,6	5,2	73,8	1,14	0,14	0,89	0,12	35	49	0,2
72	Bagrem	Zapadna Srbija	285	51,4	10,8	3,4	2,5	1,03	0,16	1,26	0,01	23	51	0,2
73	Bagrem	Centralna Srbija	183	26,8	5,0	9,1	1,3	1,07	0,18	0,22	0,03	32	70	0,2
74	Bagrem	Centralna Srbija	185	43,9	6,6	10,1	2,3	2,47	0,15	0,25	0,04	36	62	0,2
75	Bagrem	Centralna Srbija	169	20,3	4,5	8,2	1,2	1,07	0,16	0,18	0,05	35	75	0,1
76	Bagrem	Centralna Srbija	154	27,3	5,0	5,0	0,9	0,60	0,18	0,22	0,04	60	104	0,9
77	Bagrem	Vojvodina	349	43,7	11,7	39,7	2,9	2,26	0,26	0,27	0,01	39	34	0,2
78	Bagrem	Zapadna Srbija	293	23,5	7,1	21,9	0,9	1,09	0,18	0,59	0,03	101	121	1,0
79	Bagrem	Zapadna Srbija	320	29,3	7,1	34,0	1,1	1,91	0,37	0,41	0,06	155	189	6,0
80	Bagrem	Zapadna Srbija	264	29,5	6,9	23,6	1,3	1,62	0,32	0,32	0,04	90	121	2,2
81	Bagrem	Istočna Srbija	146	26,3	4,3	7,9	0,9	1,14	0,14	0,14	0,03	4	4	0,2
82	Bagrem	Istočna Srbija	147	32,6	4,2	6,1	1,9	0,40	0,16	0,14	0,02	20	35	0,2
83	Bagrem	Istočna Srbija	139	12,4	2,9	29,7	0,8	1,38	0,15	0,14	0,03	98	115	0,3

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
84	Bagrem	Istočna Srbija	235	34,3	7,1	19,9	1,4	1,73	0,24	0,32	0,02	61	86	0,4
85	Bagrem	Istočna Srbija	238	52,0	8,1	14,3	0,9	0,92	0,17	0,21	0,03	41	63	0,5
86	Bagrem	Istočna Srbija	161	20,5	5,0	13,6	0,9	1,17	0,22	0,23	0,21	291	124	7,3
87	Bagrem	Istočna Srbija	157	21,9	4,4	10,7	1,0	0,83	0,22	0,17	0,04	29	58	2,2
88	Bagrem	Istočna Srbija	131	35,8	4,7	9,8	1,1	1,11	0,32	0,14	0,05	36	82	6,7
89	Bagrem	Istočna Srbija	178	21,7	5,2	10,2	0,8	1,01	0,21	0,17	0,04	32	77	3,8
90	Bagrem	Istočna Srbija	157	54,7	4,9	10,3	0,8	0,73	0,17	0,14	0,05	40	64	0,2
91	Bagrem	Centralna Srbija	159	34,8	5,4	11,4	0,7	0,62	0,20	0,15	0,02	32	84	0,7
92	Bagrem	Beogradski region	260	43,4	9,1	15,1	0,8	0,81	0,35	0,75	0,07	31	340	0,3
93	Bagrem	Centralna Srbija	173	24,7	4,8	11,1	0,8	0,60	0,36	0,23	0,03	29	109	0,1
94	Bagrem	Istočna Srbija	423	66,7	16,0	19,6	2,3	0,95	0,32	1,09	0,04	28	95	0,8
95	Bagrem	Istočna Srbija	212	18,5	7,3	12,5	0,6	0,66	0,21	0,50	0,04	32	90	0,3
96	Bagrem	Južna Srbija	148	14,3	4,1	11,3	0,9	1,18	0,15	0,14	0,04	21	61	0,2
97	Bagrem	Južna Srbija	174	16,4	4,9	9,9	0,6	0,85	0,11	0,18	0,02	20	57	0,2
98	Bagrem	Južna Srbija	242	26,2	7,3	18,9	1,0	2,43	0,20	0,34	0,01	25	94	1,3
99	Bagrem	Vojvodina	170	25,1	6,6	13,0	0,6	0,50	0,16	0,97	0,04	29	18	0,2
100	Bagrem	Vojvodina	149	28,7	5,6	4,1	1,7	1,10	0,23	0,19	0,02	26	48	0,2

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
101	Bagrem	Centralna Srbija	230	25,1	7,3	10,6	1,1	0,70	0,15	1,27	0,05	27	68	0,2
102	Bagrem	Južna Srbija	206	21,8	5,5	11,2	1,0	2,43	0,11	0,19	0,03	28	29	0,2
103	Bagrem	Istočna Srbija	157	29,9	5,2	14,0	3,4	4,30	0,68	0,54	0,36	170	134	29,9
104	Bagrem	Centralna Srbija	213	27,1	6,4	5,8	17,9	5,41	0,20	1,40	0,02	27	51	4,3
105	Bagrem	Istočna Srbija	127	22,2	3,4	3,9	2,8	0,94	0,21	1,10	0,07	76	71	0,2
106	Bagrem	Istočna Srbija	159	21,2	4,8	10,2	2,3	0,46	0,17	0,12	0,05	28	56	0,2
107	Bagrem	Istočna Srbija	133	17,4	4,0	4,4	1,4	0,88	0,19	1,37	0,07	47	46	17,7
108	Bagrem	Centralna Srbija	418	40,5	13,3	18,4	31,8	8,83	0,18	1,41	0,03	42	40	9,9
109	Bagrem	Istočna Srbija	135	29,0	4,9	6,7	1,6	0,77	0,24	0,17	0,02	27	46	0,2
110	Bagrem	Istočna Srbija	385	39,6	11,7	4,7	2,1	3,30	0,61	0,54	0,07	292	263	5,1
111	Bagrem	Istočna Srbija	176	27,8	5,8	5,6	1,8	0,95	0,27	0,20	0,06	40	45	0,2
112	Bagrem	Istočna Srbija	129	11,1	3,1	6,1	0,6	0,33	0,15	0,07	0,01	20	28	0,2
113	Bagrem	Istočna Srbija	148	26,4	4,9	8,5	2,1	3,50	0,73	0,45	0,12	295	79	10,4
114	Bagrem	Istočna Srbija	303	26,8	10,7	7,7	1,8	0,98	0,25	0,45	0,03	37	26	0,2
115	Bagrem	Istočna Srbija	233	24,6	7,2	4,0	11,4	0,85	0,31	0,26	0,02	47	22	0,2
116	Bagrem	Istočna Srbija	303	32,9	12,2	3,7	0,8	1,62	0,25	0,41	0,02	34	15	0,2
117	Bagrem	Istočna Srbija	369	21,4	10,9	4,4	1,1	0,72	0,51	0,50	0,06	98	28	1,5

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
118	Bagrem	Istočna Srbija	375	33,0	11,4	6,7	1,3	1,04	0,42	0,95	0,05	114	37	1,3
119	Bagrem	Istočna Srbija	336	20,1	8,0	3,6	1,5	0,93	0,33	0,39	0,04	77	28	0,2
120	Bagrem	Istočna Srbija	158	20,2	4,8	5,1	1,7	1,30	0,24	0,17	0,01	21	27	0,2
121	Bagrem	Istočna Srbija	134	15,3	3,7	4,6	0,8	0,60	0,14	0,10	0,04	23	17	0,2
122	Bagrem	Centralna Srbija	164	16,4	5,2	6,7	1,4	1,80	0,31	0,25	0,25	205	97	7,6
123	Bagrem	Centralna Srbija	299	30,6	7,5	8,0	1,9	1,56	0,29	0,35	0,07	56	81	3,7
124	Bagrem	Centralna Srbija	164	18,5	5,2	9,5	1,2	1,34	0,45	0,11	0,01	47	50	0,2
125	Bagrem	Zapadna Srbija	234	31,4	8,9	13,4	1,3	2,92	0,33	0,40	0,52	339	86	11,3
126	Bagrem	Južna Srbija	152	29,5	6,4	11,2	1,5	2,88	0,38	24,52	3,34	455	101	15,0
127	Bagrem	Južna Srbija	194	68,0	6,4	5,1	1,1	0,90	0,23	4,78	0,14	77	55	0,2
128	Bagrem	Južna Srbija	212	29,9	9,2	9,1	1,7	0,83	0,15	1,26	0,01	24	71	0,2
129	Bagrem	Južna Srbija	305	20,5	11,1	6,5	1,2	1,11	0,32	70,12	0,14	54	67	0,2
130	Bagrem	Centralna Srbija	289	30,1	7,7	6,1	2,4	1,59	0,27	1,85	0,13	135	60	4,1
131	Bagrem	Zapadna Srbija	180	17,8	5,6	20,1	0,6	1,24	0,17	16,10	0,27	110	55	2,8
132	Bagrem	Zapadna Srbija	163	17,3	5,1	20,1	0,7	1,28	0,18	1,74	0,14	64	38	0,3
133	Bagrem	Zapadna Srbija	282	17,6	9,9	5,1	1,2	0,96	0,18	0,26	0,04	34	86	0,2
134	Bagrem	Južna Srbija	265	27,3	9,1	15,3	2,1	1,94	0,69	7,80	0,39	573	107	11,8

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
135	Bagrem	Istočna Srbija	364	36,9	9,6	5,0	1,9	0,82	0,22	1,67	0,02	19	42	0,2
136	Bagrem	Centralna Srbija	171	21,4	5,5	4,0	1,4	2,01	0,23	1,56	0,03	30	50	0,2
137	Bagrem	Južna Srbija	176	20,4	3,7	11,3	0,7	1,03	0,22	7,24	0,01	90	99	0,2
138	Bagrem	Zapadna Srbija	160	39,6	4,5	3,4	0,8	0,86	0,25	5,15	0,02	77	92	0,2
139	Bagrem	Zapadna Srbija	212	24,9	6,0	3,8	0,9	2,00	0,19	1,16	0,07	53	55	0,6
140	Bagrem	Zapadna Srbija	91	15,1	4,1	5,1	0,8	0,68	0,09	1,44	0,03	22	35	0,2
141	Bagrem	Zapadna Srbija	312	16,9	9,1	9,7	1,0	0,66	0,23	1,94	0,03	40	84	0,6
142	Bagrem	Zapadna Srbija	142	27,6	5,5	21,9	1,6	1,85	0,20	0,23	0,09	52	66	2,3
143	Bagrem	Zapadna Srbija	202	49,1	10,7	11,9	3,0	1,61	0,24	0,79	0,08	82	89	1,6
144	Bagrem	Zapadna Srbija	192	19,6	6,5	10,5	5,4	1,01	0,26	1,87	0,05	50	56	2,3
145	Bagrem	Južna Srbija	133	32,8	4,5	10,2	2,7	1,22	0,18	0,20	0,15	57	86	0,4
146	Bagrem	Južna Srbija	153	27,2	5,5	11,9	1,2	3,19	0,16	0,22	0,04	59	85	0,6
147	Bagrem	Južna Srbija	178	32,2	5,7	25,8	4,4	1,63	0,25	0,14	0,11	118	72	7,3
148	Bagrem	Južna Srbija	143	13,2	3,9	16,1	0,5	0,30	0,11	0,07	0,03	32	17	0,2
149	Bagrem	Južna Srbija	162	12,5	4,1	11,6	0,6	0,70	0,11	0,11	0,03	32	39	0,2
150	Bagrem	Južna Srbija	423	22,0	10,0	18,0	1,0	1,24	0,16	0,34	0,02	38	46	0,2
151	Bagrem	Istočna Srbija	187	18,7	5,8	14,2	0,9	1,04	0,21	0,14	0,04	43	63	2,6

Prilog 1. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
152	Bagrem	Centralna Srbija	168	16,9	4,8	11,5	0,4	0,84	0,17	0,22	0,02	32	52	0,2
153	Bagrem	Centralna Srbija	143	17,7	4,5	13,7	1,2	1,80	0,23	1,72	0,02	34	62	0,2
154	Bagrem	Centralna Srbija	154	18,9	6,1	12,9	0,4	0,90	0,13	0,67	0,02	33	54	0,2
155	Bagrem	Centralna Srbija	164	20,2	6,4	16,8	0,4	0,57	0,15	1,43	0,03	36	69	4,7
156	Bagrem	Centralna Srbija	164	16,9	5,5	14,2	0,5	0,55	0,31	4,63	0,03	44	74	0,0
157	Bagrem	Centralna Srbija	143	17,1	5,0	20,0	0,4	0,55	0,14	0,83	0,03	43	71	0,9
158	Bagrem	Centralna Srbija	157	15,2	4,5	13,0	0,7	0,62	0,25	1,31	0,03	33	69	0,2
159	Bagrem	Centralna Srbija	149	15,2	5,0	12,0	0,9	1,23	0,15	0,29	0,03	35	59	0,2
160	Bagrem	Južna Srbija	192	16,7	5,4	6,3	0,6	1,84	0,10	0,10	0,01	4	4	0,2
161	Bagrem	Južna Srbija	192	30,2	8,2	21,2	0,3	1,55	0,11	0,09	0,69	4	4	0,2
162	Bagrem	Južna Srbija	177	16,0	4,9	14,3	0,7	1,98	0,23	0,07	0,02	4	4	0,2

Prilog 2. Rezultati sadržaja minerala, mikroelemenata i elemenata u tragovima u medu od lipa

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
1	Lipa	Vojvodina	1457	58,0	16,4	9,0	1,1	1,49	0,16	0,29	0,02	4	4	0,2
2	Lipa	Vojvodina	1788	114,2	24,3	15,2	0,4	0,67	0,22	3,32	0,01	35	13	0,2
3	Lipa	Vojvodina	1370	70,8	15,1	17,3	1,0	0,71	0,23	1,15	0,02	29	42	1,9
4	Lipa	Istočna Srbija	1372	78,6	16,9	14,9	1,0	0,83	0,23	1,41	0,05	28	58	0,7
5	Lipa	Istočna Srbija	1740	102,5	20,5	14,2	1,3	0,60	0,36	1,72	0,06	45	20	0,2
6	Lipa	Istočna Srbija	1557	94,4	18,0	14,6	1,8	1,09	0,24	1,65	0,02	39	14	0,2
7	Lipa	Istočna Srbija	1347	90,0	16,7	8,1	4,1	2,40	0,23	1,41	0,03	54	23	0,2
8	Lipa	Istočna Srbija	1772	57,1	24,0	9,8	1,5	2,89	0,19	1,13	0,03	36	7	0,2
9	Lipa	Vojvodina	1293	105,2	22,3	28,7	1,5	3,48	0,30	2,32	0,50	230	83	11,3
10	Lipa	Vojvodina	1738	57,8	17,0	7,2	1,1	0,99	0,40	0,34	0,03	26	0,4	0,2
11	Lipa	Istočna Srbija	1540	96,9	24,0	6,3	0,6	0,70	0,16	2,39	0,02	31	7	0,2

Prilog 3. Rezultati sadržaja minerala, mikroelemenata i elemenata u tragovima u medu od suncokreta

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	(mg/kg)									(µg/kg)		
			K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
1	Suncokret	Vojvodina	631	62,7	19,0	17,2	0,6	0,74	0,18	0,59	0,02	38	18	0,2
2	Suncokret	Vojvodina	227	21,3	8,8	8,8	0,9	1,06	0,20	4,53	0,06	4	4	0,3
3	Suncokret	Vojvodina	488	118,7	32,6	23,6	2,1	1,70	0,31	4,19	0,05	37	16	0,4
4	Suncokret	Vojvodina	367	110,4	26,4	13,3	1,1	3,69	0,32	1,48	0,01	40	91	2,2
5	Suncokret	Vojvodina	510	77,3	20,1	22,9	4,8	1,30	0,21	0,38	0,03	68	61	0,05
6	Suncokret	Vojvodina	595	94,3	23,1	14,8	1,4	2,28	0,28	0,34	0,13	55	61	1,4
7	Suncokret	Vojvodina	174	49,4	14,4	41,8	2,9	2,24	0,11	0,06	0,03	4	4	1,0
8	Suncokret	Vojvodina	286	85,5	20,4	6,0	0,9	1,03	0,10	0,11	0,02	4	4	0,2
9	Suncokret	Vojvodina	434	93,6	30,6	28,0	1,8	1,17	0,25	0,25	0,06	71	37	37,8
10	Suncokret	Vojvodina	512	113,4	36,5	12,7	1,5	1,08	0,20	0,23	0,03	22	70	0,2
11	Suncokret	Vojvodina	382	60,1	20,2	19,7	0,8	1,63	0,25	0,25	0,10	107	32	3,9
12	Suncokret	Vojvodina	180	71,9	22,0	19,8	3,0	1,61	0,39	0,30	0,05	54	45	3,4
13	Suncokret	Vojvodina	385	98,9	27,9	21,5	2,4	1,54	0,35	0,28	0,22	61	43	3,7
14	Suncokret	Vojvodina	414	145,2	28,9	14,9	2,1	1,52	0,31	0,49	0,29	77	106	45,8
15	Suncokret	Vojvodina	496	109,9	23,9	13,9	36,5	3,89	0,25	0,25	0,04	44	37	3,2

Prilog 3. (nastavak)

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
16	Suncokret	Vojvodina	347	83,3	17,5	52,3	1,7	2,55	0,29	0,35	0,14	200	50	4,2
17	Suncokret	Vojvodina	347	81,8	17,3	52,1	1,6	1,82	0,22	0,29	0,03	72	55	3,5
18	Suncokret	Vojvodina	300	66,7	15,2	31,2	1,4	1,12	0,22	0,25	0,02	68	82	0,2
19	Suncokret	Vojvodina	397	111,5	22,7	19,1	1,4	2,67	0,27	0,52	0,04	31	67	0,1
20	Suncokret	Vojvodina	406	120,9	33,1	16,2	2,3	1,28	0,31	0,29	0,05	67	28	1,7
21	Suncokret	Vojvodina	248	32,0	10,2	6,2	0,9	0,64	0,20	0,14	0,03	29	6	0,2
22	Suncokret	Vojvodina	529	113,3	26,6	10,8	1,7	2,97	0,23	0,94	0,02	30	25	0,2
23	Suncokret	Vojvodina	292	78,7	18,7	19,0	0,8	0,66	0,55	0,87	0,03	31	26	0,2

Prilog 4. Rezultati sadržaja minerala, mikroelemenata i elemenata u tragovima u medu od uljane repice

Broj uzorka	Botaničko poreklo	Region	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe	Cu	Mn	Co	Cr	Ni	Cd
			(mg/kg)									(µg/kg)		
1	Uljana repica	Vojvodina	193	46,1	10,2	14,2	1,12	0,84	0,21	0,19	0,03	29	38	0,1
2	Uljana repica	Vojvodina	535	52,1	14,6	8,2	1,13	2,39	0,19	0,53	0,08	46	24	0,2
3	Uljana repica	Vojvodina	256	29,3	9,4	34,9	1,18	2,23	0,24	0,28	0,14	580	116	1,7
4	Uljana repica	Vojvodina	280	30,7	9,5	37,6	1,01	1,51	0,23	0,23	0,03	149	142	0,2
5	Uljana repica	Vojvodina	254	42,0	8,8	12,6	0,88	0,70	0,14	0,26	0,02	18	23	0,2
6	Uljana repica	Vojvodina	677	76,0	22,2	16,7	1,64	7,23	0,34	1,89	0,13	302	57	6,0
7	Uljana repica	Vojvodina	410	68,6	19,6	10,5	0,67	1,57	0,27	0,63	0,04	4	4	2,8

8. BIOGRAFIJA

Milica Jovetić (rođena Poznanić) rođena je 03.01.1974. godine u Beogradu. Osnovnu i srednju školu završila je u Beogradu. Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 1992/93. godine, a diplomirala 1998. godine, sa prosečnom ocenom 8,48. Poslediplomske specijalističke studije pri Katedri za bromatologiju Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu upisala je školske 1999/2000. godine. Specijalistički rad pod nazivom „Određivanje kortikosteroida i β -agonista u mesu i proizvodima od mesa primenom ELISA tehnike” odbranila je 2003. godine i stekla zvanje *specijalista sanitarne hemije*. Doktorske studije upisala je 2008/09. godine, na Katedri za analitičku hemiju Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Od 1998. do danas je zaposlena u Centru za ispitivanje namirnica d.o.o, u Beogradu, laboratoriji akreditovanoj za ispitivanje bezbednosti i kvaliteta hrane i predmeta opšte upotrebe. Od 1998. do 2002. godine je radila kao analitičar u Hemijskom odeljenju, a od 2002. godine do danas, najpre kao analitičar, a zatim kao analitičar specijalista u Odeljenju instrumentalne hemije Centra za ispitivanje namirnica.

U toku svoje profesionalne prakse obavila je veći broj stručnih obuka („Laboratory management and accreditation according to ISO 17025“ - Reform of the Food Chain Laboratories (RFL) Project, GTZ (novembar 2003), „Internal Auditor qualification course on EN ISO/IEC 17025“ - Reform of the Food Chain Laboratories (RFL) Project, GTZ (februar 2004), „Statistics for the validation of analytical methods and results “ - Reform of the Food Chain Laboratories (RFL) Project, GTZ (februar 2004), „Principles and Applications of Metrology in Chemistry“, EC-JRC IRMM i Direkcija za mere i dragocene metale (maj 2007. i novembar 2014), „Određivanje teških metala metodama AAS i ICP-MS u sistemu sediment-voda i procena rizika“, CECRA i Laboratorija za zaštitu životne sredine PMF Novi Sad (januar 2008), „Određivanje organskih polutanata u sistemu sediment-voda i procena rizika“, CECRA i Laboratorija za zaštitu životne sredine PMF Novi Sad (jun 2008), „Upoznavanje sa izmenama standarda za sistem menadžmenta kvalitetom na osnovu ISO FDIS 9001:2015 (maj 2015),

„Testing/Interpretation of lab results- Residues of pesticides in organic products“, GIZ, PTB i Nacionalna asocijacija za organsku proizvodnju - Serbia Organica (mart 2016).

Član je stručnih komisija za izradu tehničkih propisa i standarda iz oblasti ispitivanja hrane (od 2007. član komisije Instituta za standardizaciju Srbije KS E034-10 za izradu tehničkih standarda iz oblasti ispitivanja hrane za životinje; od 2008. član komisije Instituta za standardizaciju Srbije KS E275 za standardizaciju horizontalnih metoda za analizu hrane (metoda za detekciju i/ili određivanje aditiva, ostataka pesticida i kontaminanata, hrane tretirane zračenjem, genetički modifikovane hrane, alergena, vitamina i minerala)). Od 2017. godine je član Odbora Grupacije laboratorija za ispitivanje hrane pri Privrednoj komori Srbije.

Milica Jovetić je koautor devet naučnih radova publikovanih u međunarodnim časopisima. Koautor je četiri naučna saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima.

Objavljeni radovi i saopštenja koji čine deo disertacije:

M 22 – Radovi objavljeni u istaknutim međunarodnim časopisima

Milica Jovetić, Azra Redžepović, Nebojša Nedić, Denis Vojt, Slađana Đurđić, Ilija Brčeski, Dušanka M. Milojković-Opsenica: **Urban honey - the aspects of its safety**, *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology (Arhiv za higijenu rada i toksikologiju)*, 2018, U štampi, DOI: 10.2478/aiht-2018-69-3126

M 23 - Radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja

Jovetić Milica, Trifković Jelena, Stanković Dalibor, Manojlović Dragan, Milojković-Opsenica Dušanka: **Mineral Content as a Tool for the Assessment of Honey Authenticity**; *Journal of AOAC International*, 2017, Vol. 100, No. 4, str. 862-870

Lazarević Kristina B, **Jovetić Milica S.**, Tešić Živoslav Lj: **Physicochemical Parameters as a Tool for the Assessment of Origin of Honey**, *Journal of AOAC International*, 2017, Vol. 100, No. 4, 840-851

M 34 - Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu:

Kristina Lazarević, **Jovetić S. Milica**, Anđelković Ivan, Milojković-Opsenica Dušanka “Characterization of Serbian Monofloral Honey according to their Mineral Content Using ICP-OES“ . 4th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, Prague, Czech Republic, November 4st-6th, 2009, Book of Abstracts p.468, **ISBN 978-80-7080-726-2**

K. Lazarević, **M. Jovetić**, D. Milojković-Opsenica, F. Andrić, Ž. Tešić “Characterisation and Classification of Serbian Honey by Physicochemical Parameters”, the 2nd MoniQA International Conference Krakow June 8-10, 2010

Kristina Lazarević, **Milica Jovetić**, Nebojša Nedić, Branko Šikoparija, “Characterisation of Lime tree honey from Serbia”, International Symposium on Bee Products, 3rd Edition Annual meeting of the International Honey Commission (IHC) Opatija, 2014, September 28 – October 1, 2014, Book of abstract. p.78. ISBN 978-953-7957-26-1

Milica Jovetić, Kristina Lazarević, Filip Andrić, Živoslav Tešić, Dušanka Milojković-Opsenica “Heavy metals in honey – the role of good beekeeping practice“, 5th Croatian congress of Toxicology with International Participation, Poreč, Croatia, Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 67 (Suppl. 1), 2016, P 29.

Ostali objavljeni radovi:

M 21 – Radovi objavljeni u vrhunskim časopisima međunarodnog značaja

Kečkeš Jelena, Trifković Jelena Đ, Andrić Filip Lj, **Jovetić Milica**, Tešić Živoslav Lj, Milojković-Opsenica Dušanka M: **Amino acids profile of Serbian unifloral honeys**, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, Vol. 93, No. 13, 3368-3376

Tomašević Igor B, Petrović Jelena, **Jovetić Milica**, Raičević Smiljana, Milojević Milica, Miočinović Jelena B: **Two year survey on the occurrence and seasonal variation of aflatoxin M1 in milk and milk products in Serbia**, *Food control*, 2015, Vol. 56, No., 64-70

M 22 – Radovi objavljeni u istaknutim časopisima međunarodnog značaja

Cerović Aleksandra M, Miletić Ivanka D, Blagojević Duško P, Šobajić Slađana S, Vasiljevska Milijana M, **Poznanić Milica**, Radusinović Miodrag, **Effects of low, adequate and high dietary zinc intake on metabolic interactions between zinc, copper and iron in different mongolian gerbil tissues**, *Acta Veterinaria Brno*, 2008, Vol. 77, No. 1, 17-23

Milanov Raša D, Krstić Milena P, Marković Radmila V, Jovanović Dragoljub A, Baltić Branislav M, Ivanović Jelena S, **Jovetić Milica**, Baltić Milan Ž: **Analysis of Heavy Metals Concentration in Tissues of Three Different Fish Species Included in Human Diet from Danube River, in the Belgrade Region, Serbia**, *Acta Veterinaria - Beograd*, 2016, Vol. 66, No. 1, 89-102

M 23 - Radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja

Cerović Aleksandra M, Miletić Ivanka D, Šobajić Slađana S, Blagojević Duško P, Jones David R, **Poznanić Milica**, Radusinović Miodrag, **Effect of dietary zinc on the levels and distribution of fatty acids and vitamin A in blood plasma chylomicrons**, *Biological Trace Element Research*, 2006, Vol. 112, No. 2, Suppl., 145 -158

Vasilev Dragan, **Jovetić Milica**, Vranić Danijela V, Tomović Vladimir M, Jokanović Marija R, Dimitrijević Mirjana Đ, Karabasil Neđeljko R, Vasiljević Nađa D: **Quality and microflora of functional fermented sausages enriched with probiotic L.casei LC01 and prebiotic with KCl and CaCl₂ as NaCl substitutes**, *Fleischwirtschaft*, 2016, Vol. 96, No. 2, 96-103

Образац 5.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Милица С. Јоветић

Број индекса ДХ 19/2008

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

Садржај елемената као показатељ аутентичности меда

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

У Београду, 08. 08. 2018.

Потпис аутора



Образац 6.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**

Име и презиме аутора Милица С. Јоветић

Број индекса ДХ 19/2008

Студијски програм Доктор хемијских наука

Наслов рада „Садржај елемената као показатељ аутентичности меда”

Ментор др Душанка Милојковић-Опсеница, редовни професор

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, 08. 08. 2018.

Потпис аутора



Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Садржај елемената као показатељ аутентичности меда”

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, 08. 08. 2018.

Потпис аутора



1. **Ауторство.** Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.