



UNIVERZITET U NOVOM SADU

TEHNOLOŠKI FAKULTET



**OPTIMIZACIJA PROCESA
PROIZVODNJE MEDOVINE UZ
DODATAK VOĆNOG SOKA OD
ARONIJE KAO PROIZVODA
POBOLJŠANIH FUNKCIONALNIH
SVOJSTAVA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

Prof. Dr Dragoljub Cvetković

Kandidat:

Maja Stojković, mast. preh. inž.

Novi Sad, 2022. godine

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Маја Стојковић
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	Др Драгољуб Д. Цветковић, редовни професор, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду
Наслов рада:	Оптимизација процеса производње медовине уз додатак воћног сока од ароније као производа побољшаних функционалних својстава
Језик публикације (писмо):	Српски (латиница)
Физички опис рада:	Унети број: Страница 201 Поглавља 7 Референци 274 Табела 121 Слика 70 Прилога 40
Научна област:	Технолошко инжењерство
Ужа научна област (научна дисциплина):	Прехрамбена биотехнологија
Кључне речи / предметна одредница:	Медовина, мед, аронија, квасци, ферментација, оптимизација
Резиме на језику рада:	Медовина представља традиционално алкохолно пиће које садржи од 8-18 vol. %, а добија се ферментацијом разблаженог меда и воде дјеловањем ћелија квасаца. Обогаћивање медовине се може постићи додатком воћа, воћних сокова, чајева и зачина. Основни циљ рада је био добијање новог функционалног напитка, односно добијање медовине са додатком хладно цијеђеног сока од ароније уз оптимизацију процеса производње, чиме би се могао побољшати квалитет производа уз поједностављење технолошког процеса производње. Из тог разлога, анализирани су сировине за добијање медовине (мед и хладно цијеђени сок од ароније). Од три анализирани врсте меда одабран је медљиковац, који је третиран са 3 температурна третмана, 3 третмана УВ зрачењем и 9 ултразвучних третмана, са циљем побољшања функционалних својстава меда као полазне сировине. Резултати анализе овако третираног медљиковца су кориштени за одабир по једног третмана унутар три наведене групе третмана примјеном RSM анализе. Након одабира третмана извршена је припрема полазних раствора за ферментацију у којима је извршена варијација три количине доданог сока од ароније (5, 10 и 20 %), три врсте

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штампане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штампаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

	<p>комерцијално доступних квасаца (Fermol Associes, Spirifer i Fermol Lager) и три количине доданог квасца (150, 300 и 600 mg/L). Након анализе овако припремљених раствора за ферментацију, процес ферментације је праћен 21 дан на температури 25 °C уз праћење промјене масе боца. Оптимизација процеса ферментације је извршена израдом кинетичког модела настанка етанола, на основу фитовања експерименталних података у модификовани Gompertz-ов модел, уз примјену нелинеарне регресионе анализе и оцјеном регресионих коефицијената методом најмањих квадрата. Резултати оптимизације су послужили за одабир врсте квасца најпогодније за производњу медовине са додатком сока од ароније, након чега је добијена медовина анализирана.</p>
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	25.02.2021.
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	
Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	<p>Председник: др Владимир Пушкаш, редовни професор, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду</p> <p>Ментор: др Драгољуб Д. Цветковић, редовни професор, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду</p> <p>Члан: др Јелена Вулић, доцент, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду</p> <p>Члан: др Драгиша Савић, редовни професор, Технолошки факултет Лесковац, Универзитет у Нишу</p> <p>Члан: др Александар Савић, ванредни професор, Технолошки факултет Бања Лука, Универзитет у Бањој Луци</p>
Напомена:	

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Maja Stojković
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	PhD Dragoljub D. Cvetković, full professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad
Thesis title:	Optimization of the process of producing mead with the addition of chokeberry juice as a product with improved functional characteristics
Language of text (script):	Serbian language (latin script)
Physical description:	Number of: Pages 201 Chapters 7 References 274 Tables 121 Illustrations 70 Appendices 40
Scientific field:	Technological engineering
Scientific subfield (scientific discipline):	Good biotechnology
Subject, Key words:	Mead, honey, aronia, yeasts, fermentation, optimization
Abstract in English language:	Mead is a traditional alcoholic beverage that contains 8-18 vol. %, obtained from the alcoholic fermentation of diluted honey and water by the action of yeast cells. The quality of mead can be improved by adding fruit, fruit juices, teas, and spices. The basic aim of this paper was to obtain a new functional beverage, i.e. to obtain mead with the addition of cold-pressed chokeberry juice with the optimization of the production process, which could improve the quality of the product along with simplifying the technological process of production. For that reason, raw materials for obtaining mead were analyzed (honey and cold-pressed chokeberry juice). Out of the three analyzed types of honey, honeydew honey was selected, which had been treated with three temperature treatments, three UV radiation treatments, and nine ultrasound treatments, to improve the functional properties of honey as the starting raw material. The results of the analysis of honeydew honey treated in this manner were used to select one treatment from each of the three mentioned groups of treatments by using the RSM analysis. After choosing the treatments, fermentation starters were prepared, in which variations of three amounts of chokeberry juice (5, 10 and 20%), three types of commercial yeast ((Fermol Associes, Spiriferm and Fermol Lager), and three amounts of yeast (150, 300

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

5б – Statement on the authority,

5в – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5г – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at he faculty and are not included into the printed thesis.

	and 600 mg/L) were added. After analyzing the fermentation starters prepared in this way, the fermentation process was observed for 21 days at a temperature of 25 °C while monitoring the change in the mass of the bottles. The optimization of the fermentation process was carried out by creating a kinetic model of ethanol formation, based on fitting experimental data in the modified Gompertz model, by applying nonlinear regression analysis and estimation of regression coefficients by the least squares method. The optimization results were used to select the type of yeast most suitable for the production of mead with the addition of chokeberry juice, after which the obtained mead was analyzed.
Accepted on Scientific Board on:	25.02.2021.
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	<p>President: PhD Vladimir Puškaš, full professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad</p> <p>Supervisor: PhD Dragoljub D. Cvetković, full professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad</p> <p>Member: PhD Jelena Vulić, Assistant professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad</p> <p>Member: PhD Dragiša Savić, full professor, Faculty of Technology Leskovac, University of Niš</p> <p>Member: PhD Aleksandar Savić, Associate professor, Faculty of Technology Banja Luka, University of Banja Luka</p>
Note:	

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	4
2.1. Med.....	4
2.1.1. Fizičko-hemijska svojstva meda	5
2.1.2. Antioksidativna, antimikrobna i senzorna svojstva meda.....	8
2.1.3. Tretman meda radi poboljšanja funkcionalnih svojstava proizvoda.....	10
2.2. Medovina.....	15
2.2.1. Vrste medovine	16
2.2.2. Proces proizvodnje medovine	17
2.2.3. Fizičko-hemijska svojstva medovine	22
2.2.4. Antioksidativna, antimikrobna i senzorna svojstva medovine.....	23
2.3. Aronija.....	26
2.4. Optimizacija procesa proizvodnje medovine	28
3. MATERIJAL I METODE RADA	33
3.1. Materijal	34
3.1.1. Med.....	34
3.1.2. Hladno cijedeni sok od aronije.....	34
3.1.3. Kvasci za inokulaciju	34
3.2. Postupak eksperimentalnih oglada.....	34
3.2.1. Analiza materijala	34
3.2.2. Tretman meda.....	35
3.2.3. Analiza tretiranih uzoraka meda	35
3.2.4. Priprema rastvora za fermentaciju.....	36
3.2.5. Inokulacija i fermentacija.....	36
3.3. Metode.....	38
3.3.1. Metode fizičko-hemijskih, antioksidativnih, antimikrobnih i senzornih analiza.....	38
3.3.2. Proces optimizacije procesa fermentacije i izrada kinetičkog modela.....	40
4. REZULTATI I DISKUSIJA	42
4.1. Rezultati analiza polaznih sirovina	42
4.1.1. Rezultati analiza hladno cijedenog soka od aronije	42
4.1.1.1. Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstava hladno cijedenog soka od aronije.....	43
4.1.1.2. Rezultati analiza antioksidativnih svojstava hladno cijedenog soka od aronije.....	44
4.1.1.3. Rezultati antimikrobne analize hladno cijedenog soka od aronije.....	45
4.1.2. Rezultati analiza tri vrste meda	46
4.1.2.1. Rezultati fizičko-hemijskih svojstava tri vrste meda	46
4.1.2.2. Rezultati kvalitativnih testova tri vrste meda.....	50
4.1.2.3. Rezultati analize antioksidativnih svojstava tri vrste meda	51
4.1.2.4. Rezultati analiza mikrobiološkog statusa tri vrste meda.....	54
4.1.2.5. Rezultati antimikrobnih analiza tri vrste meda	54
4.1.2.6. Rezultati analiza sadržaja mineralnih materija u tri vrste meda.....	56
4.1.2.7. Odabir vrste meda za nastavak eksperimenta	59
4.2. Rezultati analiza nakon tretmana odabrane vrste meda	60

4.2.1.	Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstava tretiranog medljikovca.....	61
4.2.2.	Rezultati analiza antioksidativnih svojstava tretiranog medljikovca	67
4.2.3.	Rezultati HPLC analize tretiranog medljikovca.....	70
4.2.4.	Rezultati antimikrobnih analiza tretiranog medljikovca	72
4.2.5.	Rezultati analiza senzornih svojstava tretiranog medljikovca	75
4.2.6.	Primjena RSM-a u cilju optimizacije tretmana medljikovca i odabira tretmana.....	78
4.3.	Analiza polaznih rastvora za fermentaciju	90
4.3.1.	Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju.....	90
4.3.2.	Rezultati analiza antioksidativnih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju.....	92
4.3.3.	Rezultati antimikrobne analize polaznih rastvora za fermentaciju	93
4.4.	Analiza medovine.....	94
4.4.1.	Izrada matematičkog modela u cilju optimizacije procesa proizvodnje medovine	94
4.4.2.	Rezultati analiza medovine	136
4.4.2.1.	Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstava medovine	137
4.4.2.2.	Rezultati analiza antioksidativnih svojstava medovine.....	141
4.4.2.3.	Rezultati antimikrobne analize medovine	145
4.4.2.4.	Rezultati analiza senzornih svojstava medovine	152
5.	ZAKLJUČAK	158
6.	LITERATURA.....	161
7.	PRILOG	180

Svojoj porodici.

1. UVOD

Med predstavlja proizvod medonosnih pčela dobijen od nektara cvjetova ili sekreta živih dijelova biljaka, koji pčele transformišu i obogate vlastitim specifičnim materijama, čuvajući ga i ostavljajući da sazri u odvojenim saćima. Analizom hemijskog sastava meda utvrđeno je da on predstavlja nutritivno visoko vrijedan proizvod koji sadrži više od 600 različitih jedinjenja od kojih su najviše zastupljeni ugljeni hidrati, prvenstveno glukoza i fruktoza. Zbog svog hemijskog sastava med ima dobra antioksidativna, antimikrobna, antiinflamatorna i antikancerogena svojstva, te samim tim predstavlja namirnicu koja se konzumira u svim dijelovima svijeta. Na kvalitet meda mogu uticati različiti postupci prerade koji mogu da dovedu do rastvaranja kristala šećera radi usporavanja granulacije, homogenizacije boje meda, uništavanja osmofilnih kvasaca tolerantnih na šećer čime se produžava održivost meda, ali i da dovede do poboljšanja antimikrobnih i antioksidativnih svojstava meda. Danas je najčešće u upotrebi primjena tretmana visokim temperaturama, a intenzivno se radi na ispitivanju drugih metoda kao što su primjena ultrazvuka, tretman UV zracima i primjena niskih temperatura.

Statistički podaci ukazuju da se najveća količina proizvedenog meda konzumira u svježem, tj. neprerađenom obliku. Prerada meda, tj. korištenje meda kao sirovine za tehnološke procese proizvodnje različitih prehrambenih proizvoda bi mogla uticati na povećanje potražnje meda na tržištu. Jedan od proizvoda u kom se kao glavna sirovina koristi med je vino od meda ili medovina. Medovina predstavlja alkoholno piće koje u svom sastavu sadrži do 18 vol. % alkohola, a nastaje fermentacijom razblaženog meda djelovanjem ćelija kvasaca. Proizvodnja medovine je poznata od davnina, u drevnoj istoriji Evrope, Afrike i Azije, što medovinu svrstava u red najstarijeg fermentisanog pića. Razvoj civilizacije i poljoprivredni resursi su pokrenuli zamjenu medovine sa drugim alkoholnim pićima, najviše pivom i vinom. Danas se medovina najvećim dijelom konzumira u Engleskoj, Istočnoj Evropi i Južnoj Africi. Na području Republike Srpske i Srbije nema registrovanih proizvođača medovine, iako se godišnja proizvodnja meda u Srbiji kreće u granicama od 6 do 12 hiljada tona.

Podaci dostupni u literaturi ukazuju da proizvodnja medovine može da se unaprijedi dodatkom različitih dodataka kao što su voćni sokovi, biljke i začini kako bi se poboljšala funkcionalna svojstva medovine. Pored poboljšanja kvalitativnih karakteristika medovine, dodatak različitih komponenti može da utiče i na proizvodni proces, odnosno može da dođe do ubrzavanja toka fermentacije, nastanka veće količine etanola i povećanja aromatičnih komponenti u medovini. Na osnovu navedenih podataka, postoji opravdana mogućnost upotrebe soka od aronije, jer su plodovi aronije posebno bogati polifenolnim jedinjenjima. Antioksidativno djelovanje aronije obuhvata uklanjanje radikala, suzbijanje stvaranja reaktivnog kiseonika i azota, obnavljanje antioksidanasa i inhibiciju prooksidativnih enzima. Dodatni razlog za dodatak soka od aronije tokom proizvodnje medovine bi mogao biti i njen uticaj na zdravstvene efekte, kao što su gastroprotektivni, hepatoprotektivni i antikancerogeni.

Proučavajući dostupnu literaturu, a uzimajući u obzir sva svojstva meda i mogućnosti dobijanja fermentisanih proizvoda na bazi meda kao sirovine, primjetno je da nema mnogo objavljenih podataka o procesu proizvodnje medovine. Iz tog razloga, osnovni cilj ove doktorske disertacije je dobijanje novog funkcionalnog napitka, odnosno dobijanje medovine

sa dodatkom soka od aronije uz optimizaciju procesa proizvodnje, čime bi se mogao poboljšati kvalitet proizvoda uz pojednostavljenje tehnološkog procesa proizvodnje.

Prvi dio eksperimentalnog dijela je podrazumijevao analizu tri vrste meda, kako bi se ocijenila mogućnost upotrebe ovih vrsta meda kao sirovine za proizvodnju medovine. S tim ciljem, određena su fizičko-hemijska, antioksidativna i antimikrobna svojstva, kao i mikrobiološki status meda. Sa ciljem poboljšanja ovih svojstava u polaznoj sirovini, izvršeni su tretmani odabranog meda, te izvršena optimizacija na osnovu rezultata dobijenih analiza. Optimizacija u ovom dijelu eksperimenta ima za cilj odabir jednog tretmana unutar temperaturnih, jednog tretmana unutar ultrazvučnih tretmana i jednog tretmana unutar tretmana UV zračenjem.

Drugi dio eksperimentalnog dijela je podrazumijevao pripremu rastvora za fermentaciju sa dodatkom hladno cijeđenog soka od aronije, čime se težilo poboljšanju antioksidativnih, antimikrobnih i senzornih svojstava medovine kao finalnog proizvoda. Hladno cijeđeni sok od aronije, čija su antioksidativna i antimikrobna svojstva pokazana u velikom broju naučnih radova, može da predstavlja dobru polaznu komponentu za proizvodnju nove vrste medovine. Dodatak soka od aronije može da ima višestruku ulogu: povećanje unosa dodatnih hranljivih materija potrebnih kvascu za proces fermentacije što vodi ka ubrzanju procesa, što je bitno sa aspekta smanjenja troškova i povećanja produktivnosti. Dodatak različitih količina soka korišten je da bi se procijenio njegov uticaj na parametre procesa proizvodnje i kvaliteta vina, ali i na tok fermentacije. Takođe, dodatak hladno cijeđenog soka od aronije je usmjeren na ispitivanje mogućnosti poboljšanja antioksidativnih i antimikrobnih svojstava medovine.

Kako je u procesu proizvodnje medovine jedna od najvažnijih faza proces fermentacije koji se odvija djelovanjem kvasaca, potrebno je ispitati uticaj različitih kvasaca na brzinu procesa fermentacije i količine dodanih selekcionisanih kvasaca u rastvore za fermentaciju. Svaki od njih odlikuje različita brzina procesa fermentacije, brzina rasta, prinos etanola i sl. Iz tih razloga, u ovoj disertaciji korištena su tri komercijalno dostupna kvasca. Optimizacija u ovom dijelu eksperimenta ima za cilj odabir jedne od tri vrste korištenih komercijalnih kvasca, kako bi se ubrao proces nastanka etanola tokom alkoholne fermentacije. Optimizacija bi mogla da pomogne pri pokretanju proizvodnje novih funkcionalnih proizvoda na bazi meda, koji su dodatno nutritivno obogaćeni.

Pored dobrih svojstava meda i hladno cijeđenog soka od aronije kao sirovina, važno je ispitati sastav gotovog proizvoda, s ciljem određivanja jedinjenja koja nastaju u toku procesa fermentacije, koliko suve materije ostane nakon procesa fermentacije, koliko etanola nastane i sl. Karakterizacija proizvedene medovine podrazumijevala je određivanje sadržaja etanola i metanola, sadržaj ispraljivih kiselina, pH vrijednost i sadržaj suve materije. Pored tog, ispitane su i funkcionalne karakteristike ovog proizvoda (antimikrobna i antioksidativna svojstva), a izvršena je i senzorna analiza medovine. Svi rezultati su upoređeni sa rezultatima polaznih rastvora. Praćen je tok fermentacije, mjerenjem promjene mase boca, kako bi se ispratila brzina i tok fermentacije. Na osnovu dobijenih rezultata izrađen je Gompertz-ov model koji je dobijen fitovanjem eksperimentalnih podataka, te primjenom nelinearne regresione analize i ocjenom regresionih koeficijenata metodom najmanjih kvadrata. Dobijeni matematički modeli opisuju nastanak etanola tokom procesa fermentacije uz predviđanje maksimalne brzine fermentacije i maksimalne koncentracije etanola, kao i lag vrijeme produkcije etanola.

Navedeno istraživanje predstavlja osnov za dalja istraživanja u ovoj oblasti, ali i za pokretanje komercijalne proizvodnje ovog napitka.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Med

Prema Pravilniku o kvalitetu meda i drugih proizvoda pčela (Službeni glasnik Republike Srbije br. 101/15) „med predstavlja prirodnu slatku supstancu proizvedenu radom medonosnih pčela iz biljnog nektara ili sekreta živih dijelova biljaka ili sakupljanjem ekskreta insekata koji se hrane sišući sokove sa živih dijelova biljaka, koje pčele sakupljaju, prerađuju i dodaju sopstvene specifične supstance, dehidriraju i odlažu u ćelije saća do sazrijevanja“. Ovakva definicija meda navodi se i u Codex Alimentarius (12-1981, rev.1(1987), rev.2 (2001)) i u evropskoj regulativi (Council Directive 2001/110/EC).

Med se, kao slatki i aromatični proizvod, konzumira zbog visoke nutritivne vrijednosti, ali i zbog efekta na ljudsko zdravlje, odnosno zbog dokazanih antioksidativnih, antiinflamatornih, antimikrobnih (Alvarez-Suarez i sar., 2014), terapijskih (Sereia i sar., 2017), antihipertenzivnih, hepatoprotektivnih i hipoglikemijskih svojstava (Erejuwa i sar., 2012).

Prema prethodno navedenim zakonskim regulativama, med se prema porijeklu dijeli na cvjetni ili nektarski med i medljikovac (Lazarević, 2016). Pored podjele prema botaničkom porijeklu, med se može podijeliti prema načinu dobijanja i obrade, gdje se razlikuju med iz saća i centrifugirani med (Jojriš, 1974).

Nektarski med se dobija iz nektara biljaka (Lazarević, 2016), a razlikuje se monoflorni nektarski med, gdje se pčele hrane samo jednom vrstom cvijeta i poliflorni nektarski med, gdje se pčele hrane sa više botaničkih izvora od kojih nijedan nije dominantan (Alvarez-Suarez i sar., 2014). Nektarski med nikada nije u potpunosti dobijen od samo jedne vrste nektara. Za monoflorni med, pored dominantne vrste nektara uvijek se može naći i određena količina nektara drugih biljnih vrsta (Lazarević, 2016). Razlikuje se više vrsta nektarskog meda: bagremov, lipov, suncokretov, heljdin, lavandin, kestenov i dr. Navedene vrste meda se međusobno razlikuju po boji, ukusu i drugim osobinama (Jovanović, 2015). Livadski ili mješoviti med, kao najviše zastupljena vrsta poliflornog meda, ima zlatnožutu, a ponekad mrkožutu boju, u zavisnosti od cvjetova koji preovladavaju i pčele ga proizvode od nektara različitih livadskih cvjetova (Jojriš, 1974).

Medljikovac nastaje sakupljanjem „medene rose“ od ekskreta insekata riličara (*Hemiptera*), koji se hrane sokovima biljaka i čiji je usni aparat adaptiran na bušenje biljnog tkiva i usisavanje floemskog soka bogatog hranljivim sastojcima (Lazarević, 2016). Medljikovac se pretežno dobija iz ekskremenata travnih ili biljnih vaši, crvića, lisnih buva i drugih insekata. Ovi insekti se hrane sokovima biljaka, a njihovi ekskrementi padaju niz listove u vidu slatkih kapljica. Medljikovac je obično tamne boje (Jojriš, 1974) i ima specifična fizičko-hemijska, organoleptička i mikroskopska svojstva, uz posebno visoke vrijednosti pH i električne provodljivosti (Oddo i Piro, 2004). Prema mikroskopskoj analizi, medljikovac ima mali sadržaj polena i elemenata medljike kao što su spore, gljivice i alge (Lazarević, 2016). Posebno svojstvo ove vrste meda je visoka antioksidativna aktivnost (Wilczyńska, 2010), kao i antimikrobno dejstvo (Kačanićová i sar., 2011; Bucekova i sar., 2018). U odnosu na cvjetni

med, medljikovac pokazuje velike razlike u hemijskom sastavu, pogotovo u sadržaju isparljivih komponenti i u antioksidativnoj aktivnosti (Jerković i Marijanović, 2010).

Vrste meda, kao i pojedinačni uzorci meda unutar iste vrste, razlikuju se po svom sastavu zbog cvjetnog i geografskog porijekla, klimatskih uslova, vrste pčela koje sakupljaju med i uslova prerade i skladištenja (Prica i sar., 2014). Iz tog razloga karakteristike meda od istog cvjetnog izvora, a različitog geografskog porijekla, mogu da variraju kao posljedica klimatskih uslova i vegetacije (Lazarević i sar., 2017). Danas je dokumentovano oko 300 vrsta cvjetnog meda, a različitost uzoraka je povezana sa raznolikošću nektara koji pčele sakupljaju (Masalha i sar., 2018).

2.1.1. Fizičko-hemijska svojstva meda

U medu je potvrđeno prisustvo više od 600 jedinjenja koja ujedno mogu da doprinesu ljudskom zdravlju (Masalha i sar., 2018). Hemijski sastav meda je najlakše objasniti njegovom raznolikošću jer je skoro nemoguće pronaći dva identična uzorka meda (Prica i sar., 2014). Sastav meda je promjenljiv i najviše zavisi od cvjetnog izvora, sezonskih i ekoloških faktora koji mogu uticati na sastav i biološki efekat (Alvarez-Suarez i sar., 2014), zatim od pčelinje vrste, klime, poljoprivrednih uslova i tretmana meda tokom ekstrakcije i skladištenja (Almeida-Muradian i sar., 2013).

Med je ljepljiv i viskoznan rastvor pretežno sastavljen od kompleksa ugljenih hidrata (80-85 %), vode (15-17 %), proteina (0,1-0,4 %) i mineralnih materija (0,2 %) (Buba i sar., 2013). U medu se mogu pronaći i druge manje zastupljene supstance, kao što su: organske kiseline, aminokiseline, minerali, vitamini, lipidi, aromatične komponente, flavonoidi, pigmenti, vosak, čestice polena, enzimi i druge fitohemikalije (Almeida-Muradian i sar., 2013). Prica i sar. (2014) navode da prosječni sastav meda podrazumijeva oko 17 % vode, 38,19 % fruktoze, 31,28 % glukoze, 1,31 % saharoze, 7,31 % maltoze, 7,11 % laktoze, 0,04 % azota i oko 0,169 % mineralnih materija. Frakcije isparljivih komponenti u medu su niske, ali sadrže aldehide, ketone, alkohole, kiseline, estere, ugljovodonike, derivate benzena, derivate terpena i ciklične komponente (Masalha i sar., 2018).

Šećeri predstavljaju 95-99 % suve materije meda, od čega najveći dio šećera (85-95 %) čine prosti šećeri fruktoza i glukoza, pri čemu je fruktoza zastupljenija od glukoze (Kukurová i sar., 2008). Fruktoza je najslađa od svih dostupnih zaslađivača i šećera, čiji glikemijski indeks iznosi 19, dok je za glukozu oko 100 (Erejuwa i sar., 2012). Pored glukoze i fruktoze, prisutne su i manje količine disaharida, najviše saharoze, maltoze, izomaltoze (Kukurová i sar., 2008; Ngoi, 2016) i turanoze, trisaharida poput melezitose i rafinoze (Ngoi, 2016), kao i oligosaharida. Iako su ovi ugljeni hidrati kvantitativno manje značajni, oni mogu dati informacije o botaničkom porijeklu i ukazati na potencijalno falsifikovanje meda (Kukurová i sar., 2008). Skladištenje meda ima važan uticaj na porast sadržaja invertnog šećera (Sahinler i Gul, 2005).

Med predstavlja visoko higroskopnu materiju, a sadržaj vode može da varira u zavisnosti od vlažnosti vazduha tokom skladištenja meda. Veći sadržaj vode u medu povećava mogućnost početka fermentacije djelovanjem kvasaca, što direktno utiče na promjenu ukusa meda, a dovodi i do nastanka alkohola. Smatra se da sadržaj vode manji od 18 % onemogućava

pojavu fermentacije. Međutim, mogućnost fermentacije se ne može u potpunosti isključiti ni pri sadržaju vode od 17,1 %, zbog prisutnih kvasaca u medu, jer pokretanje fermentacije zavisi i od temperature čuvanja, kao i od sadržaja dostupne vode nakon kristalizacije meda (Prica i sar., 2014).

Sadržaj vode bitno utiče na fizička svojstva meda, prvenstveno kristalizaciju, viskoznost i specifičnu težinu. Na sadržaj vode utiču klimatski uslovi, vrsta pčela, snaga pčelinjeg društva, vlažnost i temperatura vazduha u košnici, uslovi prerade i skladištenja, vrsta medonosne biljke (Prica i sar., 2014), ventilacija pčelinjaka i obilje nektara (Lazarević i sar., 2017). Sadržaj vode između pojedinih vrsta meda se ne razlikuje mnogo (Prica i sar., 2014).

Aktivitet vode (a_w) predstavlja sadržaj slobodne vode, a važan je parametar kvaliteta hrane, uključujući i med. Od njega zavisi rast mikroorganizama, ali takođe ima veze i sa hemijskom i fizičkom stabilnošću meda. Prisustvo većeg sadržaja slobodne vode smanjuje rok trajanja meda jer se stvara pogodna sredina za rast mikroorganizama. Na sadržaj slobodne vode u medu može uticati proces pakovanja i skladištenja (Ngoi, 2016).

pH vrijednost meda je izuzetno niska i kreće se između 3 i 4,5 što ukazuje na visoku kiselost proizvoda. Ovako niska pH vrijednost inhibira rast bakterija i drugih mikroorganizama koji mogu da dovedu do kvarenja proizvoda (Prica i sar., 2014). pH vrijednost ima uticaj na teksturu meda, stabilnost, kao i na rok trajanja (Rahman i sar., 2018).

U svom sastavu med sadrži dosta različitih kiselina: mravlju, oksalnu, buternu, limunsku, 2,3-dihidroksibutandionsku, jabučnu, piroglutaminsku, mliječnu, benzoevu, maleinsku, glukonsku, izobuternu, jantarnu, pirogroždanu, α -ketoglutaru i glikolnu kiselinu. Većina organskih kiselina u medu se nalazi u formi estera, čime se stvara karakterističan ukus i aroma. Jedan dio kiselina u med dopijeva iz nektara biljaka, tako da sadržaj kiselina zavisi od vrste meda. Dio kiselina može da nastane tokom skladištenja i prerade meda ili djelovanjem povišene temperature. Kiselost meda može da iznosi od 8,7 do 59,5 mmeq/kg meda izražena kao mravlja kiselina. Povećanje kiselosti meda ukazuje na fermentaciju meda i transformaciju alkohola u organske kiseline (Prica i sar., 2014).

Sadržaj mineralnih materija u medu prirodno zavisi od mogućnosti apsorpcije minerala iz biljaka ili zemljišta u toku sakupljanja nektara (Dhahir i Hemed, 2015). Sadržaj mineralnih materija je od 0,1 do 0,2 % u cvjetnom medu koji je svjetliji, dok je u medljikovcu, kao tamnijoj vrsti meda, sadržaj mineralnih materija iznad 1 % (Bogdanov i sar., 2007; Lazarević i sar., 2017). Pored medljikovca visok sadržaj mineralnih materija imaju i med od kestena i med od vrijeska (Bogdanov i sar., 2007). Sadržaj ovih komponenti utiče na boju i ukus meda, pri čemu veći sadržaj minerala u medu dovodi do pojave tamnije boje i intenzivnijeg ukusa (Kukurová i sar., 2008).

Od mineralnih materija u medu najzastupljeniji je kalijum (45 do 85 % od ukupnog sadržaja mineralnih materija) (Bogdanov i sar., 2007; Lazarević i sar., 2017). Poslije kalijuma najviše ima natrijuma, kalcijuma i magnezijuma, a nešto manje su zastupljeni bakar, željezo, cink i mangan. Med sadrži i metale u tragovima koji su zastupljeni u količinama manjim od 1 $\mu\text{g/g}$ meda (Lazarević i sar., 2017). Za čovjekov organizam su esencijalni elementi poput selena, bakra, mangana, gvožđa, nikla i cinka, a prisustvo ovih elemenata u količinama većim od potrebnih može nepovoljno uticati na ljudski organizam. Takođe, olovo, kadmijum i aluminijum, koji mogu da se nađu u medu, su toksični i mogu narušiti metabolizam čovjeka (Altun i sar., 2017). Pored navedenih, moguće je prisustvo i molibdena, kobalta, žive i

antimona. Elementi u tragovima mogu da igraju važnu ulogu u metabolizmu, zdravlju i liječenju nekih bolesti kod čovjeka (Dhahir i Hemed, 2015). Međutim, prisustvo kadmijuma, olova, nikla i hroma je neprihvatljivo zbog njihovih kancerogenih i citotoksičnih efekata. Sadržaj minerala u medu može da se koristi kao indikator kvaliteta meda (Altun i sar., 2017).

Glavne količine metala koji mogu da se pronađu u medu potiču iz zemljišta na kom su uzgajane biljke korištene za proizvodnju meda. Pored toga, metali u medu mogu biti i rezultat različite antropogene aktivnosti, kao što su blizina industrijskih zona, deponija otpada ili poljoprivrednih obradivih površina (Lazarević i sar., 2017). Pčele svoju hranu mogu da sakupljaju nekoliko kilometara od košnice, čime dolazi do pojave kontaminacije u medu, zbog čega je potrebno obratiti pažnju na mjesta sa velikom industrijskom i poljoprivrednom aktivnošću (Formicki i sar., 2013). Zbog specifičnog taloženja medene rose na površini lista biljke, medljikovac je izložen većem stepenu zagađenja iz okoline u odnosu na nektarski med, posebno u slučajevima kada zagađenje potiče iz vazduha. Mnogi autori pronalaze veće zagađenje teškim metalima kod medljikovca u odnosu na nektarski med, čak i u situacijama kada su uslovi okoline identični (Marinova i sar., 2015).

Teški metali mogu biti štetni za čovjeka zbog tri razloga. Prvi od njih je da se metali u hrani ne razlažu, nego se njihova koncentracija u njoj povećava. Drugi razlog je mogućnost da se akumuliraju u čovjekovom organizmu, čime usporavaju ili čak onemogućavaju unutarćelijske biohemijske procese. Treći razlog je činjenica da je većina teških metala kancerogena ili čak mutagena. Jednom kada se nađu u čovjekovom organizmu, njihovo uklanjanje se odvija jako teško (Dhahir i Hemed, 2015).

Pored kontaminacije iz okoline, male količine metala u medu mogu da se jave zbog kontaminacije u toku proizvodnje ili čuvanja meda (Dhahir i Hemed, 2015). Iz tog razloga je, prilikom proučavanja mineralnog sastava meda, neophodno uzeti u obzir ekološke, geografske i botaničke faktore, pogotovo kod određivanja sadržaja minerala u tragovima (Bogdanov i sar., 2007).

Proteini, aminokiseline i vitamini rastvorljivi u vodi su rezultat prisustva polena i sekreta medonosnih pčela u medu. Najzastupljeniji protein je protein matične mliječi (eng. *Royal Jelly*), koji može da se koristi kao dokaz o potencijalnom falsifikovanju meda. Proteini iz biljke (polen i nektar) i sastav aminokiselina mogu da posluže za određivanje botaničkog porijekla meda, ali i za određivanje vrste meda, tačnije da li se radi o cvjetnom medu ili medljikovcu (Kukurová i sar., 2008).

Električna provodljivost meda je rezultat sadržaja minerala ili ukupnog pepela, organskih kiselina i proteina koji su prisutni u medu. Viši sadržaj ovih komponenti rezultuje većom provodljivošću. Električna provodljivost može da se koristi za karakterizaciju botaničkog porijekla meda zbog korelacije sa sadržajem mineralnih materija, odnosno sadržajem pepela. Medljikovac je bogat izvor minerala, te zbog toga ova vrsta meda ima najviši nivo električne provodljivosti (Lazarević i sar., 2017). Električna provodljivost se razlikuje od sadržaja pepela jer se mjerenjem sadržaja pepela određuju jedino neorganski ostaci zaostali nakon spaljivanja meda, dok električna provodljivost obuhvata sve jonizujuće organske i neorganske komponente u medu. Bez obzira na to, sadržaj pepela pokazuje pozitivnu korelaciju sa električnom provodljivošću. Osim toga, visok sadržaj pepela u medu i sadržaj kiselina utiču na visok nivo električne provodljivosti (Ngoi, 2016).

U medu su prisutni različiti enzimi, kao što su invertaza, dijastaza, glukoza oksidaza, katalaza, kiselinska fosfataza i dr. Invertaza, glukoza oksidaza i katalaza su najčešće pčelinjeg porijekla, čija aktivnost zavisi od vrste nektara i količine obrađenog nektara od strane medonosnih pčela (Moliné i sar., 2015). Enzimi, kao biohemijske komponente, su povezani sa nutritivnim sadržajem i svježinom meda, a utiču i na sadržaj proteina i slobodnih aminokiselina, kao i na kiselost meda. Uloga enzima je da razlažu složene komplekse šećera do jednostavnijih šećera, prvenstveno glukoze i fruktoze. Ovako razloženi šećeri pri odgovarajućoj temperaturi mogu biti katalizovani do alkohola i sirćetne kiseline u procesu fermentacije (Chua i Adnan, 2014).

Enzim α -glukozidaza (saharaza, invertaza) je glukoprotein koji potiče od hipofaringealnih žlijezda pčela, koji ima ulogu da koncentruje saharozu do saharid-glukoze i fruktoze u procesu sazrijevanja meda. Invertaza hidrolizuje i saharozu i maltozu, a ima i transglukozidazni efekat. Invertaza je osjetljiva na dejstvo visokih temperatura, što dovodi do njenog uništavanja (Vorlová i Přidal, 2002). Enzimska aktivnost utiče na pH vrijednost, ali može uticati i na promjenu ukusa i aromu meda nakon fermentacije (Chua i Adnan, 2014). Enzim dijastaza je prirodno prisutan u medu, a sadržaj ovog enzima opada tokom skladištenja i zagrijavanja (Fallico i sar., 2008).

Uloga glukoza oksidaze u medu je da katalizuje oksidaciju glukoze do glukonske kiseline, pri čemu dolazi do nastanka vodonik peroksida. Katalaza dalje vodonik peroksid razgrađuje na vodu i kiseonik (Lazarević, 2016). Prisustvo katalaze u medu je u direktnoj vezi sa količinom polena u medu, kao osnovnog izvora ovog enzima. Vodonik peroksid je u vezi sa antibakterijskim svojstvima meda, a ujedno predstavlja i vezu sa glukoza oksidazom i katalazom. Odnos koncentracije ova dva enzima utiče na količinu vodonik peroksida. Ukoliko je koncentracija katalaze visoka, količina vodonik peroksida je niska, dok visoka koncentracija glukoza oksidaze utiče na visok nivo vodonik peroksida (Jovanović, 2015).

Hidroksimetilfurfural (HMF) je ciklični aldehid koji se formira u toku kiselinski katalizovane dehidratacije heksoza (Zappalá i sar., 2005; Flanjak i sar., 2016) i povezan je sa hemijskim svojstvima meda, prvenstveno pH vrijednošću, ukupnom kiselošću i sadržajem mineralnih materija (Zappalá i sar., 2005). Fallico i sar. (2008) navode da HMF predstavlja najvažniji međuproizvod dvije reakcije: kiselinski katalizovane razgradnje heksoze i razgradnje 3-deoksiozona u Maillard-ovoj reakciji.

Codex Alimentarius Commission (12-1981, rev. 2, (2001)) navodi da je maksimalno dozvoljena količina HMF 40 mg/kg meda, sa izuzetkom tropskog meda gdje je dozvoljen sadržaj do 80 mg/kg meda. HMF je pokazatelj pregrijavanja i starosti meda, a zavisi od hemijskih karakteristika, botaničkog porijekla meda, temperature, vremena zagrijavanja i uslova skladištenja. Kinetika nastajanja HMF je u korelaciji sa pH vrijednošću i sadržajem ukupnih i slobodnih kiselina (Fallico i sar., 2008).

2.1.2. Antioksidativna, antimikrobna i senzorna svojstva meda

Antioksidativna aktivnost meda zavisi od botaničkog porijekla (Alvarez-Suarez i sar., 2010; Jerković i Marijanović, 2010), uslova proizvodnje i skladištenja (Jerković i Marijanović, 2010). Sadržaj aktivnih komponenti u biljkama prvenstveno zavisi od hemotipskih i klimatskih

uslova (Alvarez-Suarez i sar., 2010). Antioksidativna svojstva meda ukazuju na mogućnost prevencije nekih hroničnih oboljenja kao što su koronarne bolesti srca, hronična respiratorna oboljenja ili čak kancer (Ngoi, 2016).

Antioksidativna aktivnost meda je najviše povezana sa sadržajem polifenolnih materija (Parker i sar., 2016) i drugih jedinjenja, kao što su askorbinska kiselina, glukoza oksidaza, katalaza, peroksidaza, proteini i karotenoidi (Jerković i Marijanović, 2010; Alvarez-Suarez i sar., 2010). Polifenolne materije su važna bioaktivna grupa jedinjenja sastavljena od galne kiseline, kafene kiseline, ferulinske kiseline, cimetne kiseline, hlorogene kiseline, kumarinske kiseline, benzoeve kiseline, galangina, miricetina, apigenina, kvercetina, naringenina, katehina, luteolina i dr. Neka bioaktivna jedinjenja, kao što su kvercetin, luteolin, galangin, izoramnetin i kampferol zastupljena su u skoro svim vrstama meda (Masalha i sar., 2018). Dodatnim istraživanjima pojedinačnih fenola i drugih komponenti utvrđeno je da su antioksidativna svojstva meda posljedica kombinacije širokog spektra aktivnih jedinjenja u medu (Jerković i Marijanović, 2010). U medu su identifikovana 33 flavonoida, od kojih je 9 pronađeno u pčelinjem polenu, 11 u cvjetnom nektaru i 25 u propolisu (Akalin i sar., 2017). Pored toga, fenolne kiseline i flavonoidi mogu poslužiti kao indikator botaničkog i geografskog porijekla meda (Kukurová i sar., 2008).

Halouzka i sar. (2016) navode da uzorci medljikovca imaju najnižu pH vrijednost koja je u korelaciji sa visokim sadržajem fenolnih kiselina. Oni zaključuju da najveću antioksidativnu aktivnost pokazuje medljikovac, zatim poliflorni, a najnižu monoflorni med. Do sličnog zaključka su došli i Hussein i sar. (2011), koji su utvrdili visoku korelaciju između antioksidativne aktivnosti meda i njegovog sadržaja ukupnih fenola. Fenolna kiselina ima uticaj na ukus i boju meda čime se ukazuje na korelaciju između boje i antioksidativnog kapaciteta, pri čemu tamniji med obezbjeđuje viši nivo antioksidanasa (Ngoi 2016).

Kvalitet meda je pored senzornih, hemijskih i fizičkih svojstava, određen i mikrobiološkim svojstvima. U medu se razlikuje nekoliko izvora mikrobiološke kontaminacije. Primarni izvori, koje je teško eliminisati, uključuju prisustvo polena, digestivni trakt medonosnih pčela, prašinu, vazduh i nektar, a sekundarni izvori kontaminacije potiču od rukovanja medom u toku proizvodnje. Najčešći mikroorganizmi koji se mogu naći u medu su plijesni, kvasci i spore *Bacillus* spp. i *Clostridium* spp. (Gomes i sar., 2009). Za ljude može biti opasna bakterija *Clostridium botulinum* zbog mogućnosti stvaranja spora koje mogu da luče toksične materije (Ngoi, 2016).

Visoka osmolarnost u medu može da inhibira rast i razvoj mikroorganizama. Većina bakterija raste kada je aktivitet vode u granicama od 0,94 do 0,99, a literaturni podaci za aktivitet vode u medu navode da on najčešće iznosi od 0,56 do 0,62 (Gobin i sar., 2014). Pored osmolarnosti, visok sadržaj šećera u medu utiče i na povlačenje vode iz bakterija procesom osmoze (Ngoi, 2016). Neperoksidne komponente, kao što su lizozomi, fenolne kiseline i flavonoidi takođe imaju uticaj na antimikrobna svojstva meda (Snowdon i Cliver, 1996). Antibakterijsko djelovanje meda se uglavnom ispoljava na G (+) bakterije (Molan, 1992; Bogdanov, 1997).

Veliki broj autora navodi da antimikrobna aktivnost meda većinom zavisi od aktivnosti enzima glukoza oksidaza koji je sastavni dio meda. Ovaj enzim ima zadatak da katalizuje oksidaciju glukoze do vodonik peroksida koji ima ulogu bakteriostatskog agensa. Enzim je praktično neaktivan u apsolutnom medu, tj. postoji mogućnost proizvodnje vodonik peroksida

samo kada je med razblažen. Aktivnost ovog enzima može da se naruši primjenom intenzivnog termičkog tretmana (Kabbani i sar., 2011).

Pored navedenih faktora, smatra se da na antimikrobnu aktivnost utiču i fenolna jedinjenja koja potiču iz biljnog nektara. Sadržaj pojedinačnih fenolnih jedinjenja koji su izolovani iz meda je dosta niska, te se mehanizam antimikrobnog djelovanja fenolnih jedinjenja ispituje. Gobin i sar. (2014) navode da je u medu identifikovano nekoliko antimikrobnih fenolnih jedinjenja, što ukazuje na povezanost antimikrobnih i antioksidativnih svojstava u medu.

Senzorna analiza predstavlja ispitivanje karakteristika proizvoda sa pet čulnih organa, odnosno ispitivanje boje, mirisa, ukusa, dodira i teksture. Prva senzorna analiza meda je izvedena u Francuskoj sa tradicionalnim metodama, uz Gonnet-ov tim. Senzorna analiza omogućava da se uoče razlike u botaničkom porijeklu meda i da se identifikuju i kvantifikuju mogući nedostaci u medu, kao što su prisustvo nečistoća, neprijatnih mirisa i ukusa, početak fermentacije i sl. Neke od karakteristika koje se utvrde putem senzorne analize, mogu da se dokažu i eksperimentalno analizom u laboratoriji (Piana i sar., 2004).

U skladu sa United States Department of Agriculture (USDA) standardima za boju, boja predstavlja prvo svojstvo na osnovu kog se može pretpostaviti botaničko porijeklo meda. Boja može da varira od svijetlo žute, boje ćilibara, tamnog ćilibara ili čak crne (Ngoi, 2016), a najviše zavisi od cvjetnog porijekla i od sadržaja mineralnih materija u medu. Veći sadržaj mineralnih materija rezultuje tamnijom bojom meda (Basmaci, 2010).

2.1.3. Tretman meda radi poboljšanja funkcionalnih svojstava proizvoda

Med predstavlja hranu koja prolazi kroz mnoge promjene u svom sastavu tokom skladištenja (da Silva i sar., 2016). Proces starenja meda započinje na terenu kada pčelari prebacuju med iz košnica u bačve, a nastavlja se transportom i skladištenjem prije industrijskog tretmana, zatim u toku industrijskog procesa, kao i nakon njega (Escriche i sar., 2008).

Promjene koje nastaju u toku čuvanja meda su očekivane zbog odvijanja različitih hemijskih reakcija, uključujući fermentaciju, oksidaciju i termičke procese, čime se modifikuju sastojci meda. Primjer ovakve promjene je HMF koji nastaje kao proizvod Maillard-ove reakcije, a razlog nastanka je termički tretman ili duže vrijeme skladištenja. HMF može nastati i kao rezultat dehidratacije šećera u kiseloj sredini kakva je med (da Silva i sar., 2016).

U toku čuvanja u pčelinjim saćima, med je najčešće u tečnom obliku, a nakon izdvajanja iz košnice pojedine vrste meda kristališu nakon nekoliko dana ili sedmica. Kristalizacija meda je specifičan fenomen (Conforti i sar., 2006), iako predstavlja prirodni proces koji ne narušava kvalitet proizvoda (Kędzińska-Matysek i sar., 2016). Kada se kristalizacija nekontrolisano desi tokom skladištenja, med postaje zamućen a samim tim i manje prihvatljiv za potrošača. Iako se kristalizacija najčešće odvija u nekontrolisanim uslovima, moguće je dobiti kremasti med koji nastaje kontrolisanom kristalizacijom, kada dolazi do stvaranja velikog broja sitnih kristala koje nepce i ne osjeti tokom konzumiranja (Conforti i sar., 2006).

Kristalizacijom meda dolazi do razdvajanja tečne i čvrste faze, čime raste aktivitet vode, a samim tim dolazi do smanjenja sadržaja ugljenih hidrata u tečnoj fazi. Ovako nastaju

optimalni uslovi za rast i razvoj mikroorganizama, prvenstveno kvasaca i plijesni, čime se utiče na kvalitet i senzorna svojstva meda (Kowalski i sar., 2012).

Kristalizacija nastaje smanjenjem rastvorljivosti meda kao posljedica opadanja temperature, čime dolazi do favorizovanja granulacije, ali i do povećanja viskoznosti. Takođe, dolazi i do usporavanja kretanja molekula što rezultuje nižom stopom granulacije (Conforti i sar., 2006) koja se sastoji iz dva procesa koji podrazumijevaju formiranje kristala i njihov rast. Ova dva procesa zavise najviše od sastava meda i temperature čuvanja (Kędzińska-Matysek i sar., 2016).

Kristalizacija meda i veličina formiranih kristala je u funkciji sadržaja vode, odnosa glukoze i fruktoze i termičkih procesa (Tosi i sar., 2002). Ujedno, kristalizacija zavisi i od sadržaja dekstrina, aktiviteta vode, prisustva mikrokristala, starosti i temperature čuvanja. Med teži bržoj kristalizaciji ako je sadržaj glukoze veći od 280-300 g/kg, kada je odnos glukoze i vode 2,1:1 ili veći ili kada je odnos fruktoze i glukoze manji od 1,4:1. Kristalizovan med je obično neproziran i u formi voska (Tosi i sar., 2004), pa je zbog neželjene pojave kristalizacije poželjno izvršiti tretman meda, čime se teži očuvati visok nivo kvaliteta meda.

Tretman visokim temperaturama

Zagrijavanje meda je važan korak u proizvodnji meda, jer visoke temperature imaju uticaj na kvalitet proizvoda (Chua i sar., 2014). Istraživanja pokazuju da tretiranje meda, optimalnog kvaliteta, primjenom visoke temperature u kratkom vremenskom periodu, ne utiče značajno na njegov kvalitet (Escriche i sar., 2008). Zagrijavanjem se olakšava proces pakovanja meda u posude, smanjenjem viskoznosti meda, a ujedno se smanjuje i sadržaj vode u medu što je važno zbog onemogućenja pojave fermentacije (Chua i sar., 2014; Önr i sar., 2018), s obzirom da dolazi do porasta aktiviteta vode tokom kristalizacije meda prije tretmana (Eshete i Eshete, 2019).

Tradicionalni način topljenja meda podrazumijeva primjenu zagrijavanja na temperaturama iznad 50 °C (Eshete i Eshete, 2019), dok se industrijski procesi uglavnom sastoje iz dvije faze. Prva je prevođenje u tečno stanje (na približno 55 °C) kako bi se osiguralo lakše rukovanje medom, a druga faza je proces pasterizacije kojim se razaraju centri kristalizacije koji uzrokuju očvršćavanje meda, te se ovako omogućava da med duže ostane u tečnom stanju (Escriche i sar., 2008). Kratkotrajno zagrijavanje meda iznad 70 °C ili čak iznad 77 °C, u toku 5 min, predstavlja komercijalnu proizvodnu praksu (Kabbani i sar., 2011). Kowalski i sar. (2012) navode da se konvencionalni metod zagrijavanja sastoji iz faze predgrijavanja (oko 40 °C), cijedenja meda u cilju filtracije i direktnog zagrijavanja na temperaturi 60-68 °C u trajanju od 25-30 min.

Bez obzira na važnost zagrijavanja u procesu proizvodnje meda, još uvijek nisu tačno definisani temperatura i vrijeme tretmana koji su odgovarajući za određenu vrstu meda. Smatra se da su optimalni uslovi zagrijavanja različiti za medove različitog geografskog i botaničkog porijekla, najčešće u rasponu od 30 do 140 °C u trajanju od nekoliko sekundi do nekoliko sati (Chua i sar., 2014; Blidi i sar., 2017). Blidi i sar. (2017) navode da je za med predložena pasterizacija na 78 °C u trajanju 6-7 min, jer ovakav proces ne utiče na kvalitet meda.

U industrijskim postrojenjima zagrijavanje se vrši u posebnim velikim površinskim sistemima za razmjenu toplote. Nekonrolisana termička obrada može da dovede do pogoršanja

kvaliteta proizvoda, čak i do karamelizacije zbog značajnih gubitaka koji mogu nastati zbog promjene boje, teksture, ukusa, enzimske aktivnosti i hranljive vrijednosti (Blidi i sar., 2017).

Pored smanjenja mogućnosti fermentacije, visoka temperatura uništava osmofilne kvasce koji su tolerantni na šećer, čime se produžuje rok trajanja meda (Chua i sar., 2014), tačnije pasterizacija ima ulogu prevencije kontaminacije bakterijama i kvascima koji bi mogli izazvati spontanu i neželjenu fermentaciju meda (Escriche i sar., 2008). Zagrijavanje meda na temperaturama od 60 do 70 °C u trajanju od 10 min može da dovede do uništavanja kvasca u potpunosti. Rezultati ove metode imaju isti učinak kao i konvencionalne metode zagrijavanja od 60 do 65 °C u trajanju od 25 do 30 min. Kvasci mogu da rastu iako med ima antimikrobna svojstva, kao i nizak sadržaj vode i visok sadržaj šećera. *Saccharomyces cerevisiae* je dominantni kvasac koji izaziva fermentaciju meda i tolerantan je na visok sadržaj šećera (Fauzi, 2014).

Temperaturnim tretmanom se postiže i homogenizacija boje meda (Chua i sar., 2014), iako nekontrolisano povećanje temperature može da dovede do formiranja smeđeg pigmenta koji utiče na tamnjenje meda (Basmaci, 2010; Ngoi, 2016). Stvaranje ovog smeđeg pigmenta povezano je sa gubitkom kvaliteta meda, a utiče i na prihvatljivost od strane potrošača (Rahman i sar., 2018).

Zagrijavanje meda utiče na parametre kvaliteta meda, kao što su sadržaj HMF i aktivnost dijastaze koja predstavlja stepen inaktiviranosti najstabilnijeg enzima u medu. Primjetno je odsustvo HMF u svježem i netretiranom uzorku meda, ali njegov sadržaj raste sa primjenom tretmana zagrijavanja, tokom dužeg skladištenja, tokom ekstrakcije i pakovanja. Iz tog razloga, HMF se smatra parametrom svježine i kvaliteta meda (Ciric i sar., 2018). Nastanak HMF je u korelaciji sa nekim hemijskim parametrima u medu, uključujući ukupnu kiselost, sadržaj mineralnih materija, pH vrijednost i sadržaj laktona. HMF najčešće nastaje kada je pH vrijednost 5 ili niža (Adriana i Cornelia, 2011).

Tosi i sar. (2002; 2004) su modelovali promjenu sadržaja HMF mijenjajući različite temperature koje su se kretale između 80 i 140 °C, a više su od temperatura koje se koriste u industrijskim uslovima i ustanovili su da ne dolazi do značajnih promjena u sadržaju HMF i vrijednosti aktivnosti dijastaze. Takođe, oni su naveli, s obzirom na dozvoljeno smanjenje vrijednosti aktivnosti dijastaze i maksimalne temperature, da bi i vrijeme zagrijavanja moglo biti veće od predloženog. Fallico i sar. (2004) su proučavali kinetiku formiranja HMF pri zagrijavanju meda na 50, 70 i 100 °C i ustanovili su da pri zagrijavanju meda na temperaturama nižim od 50 °C, sadržaj HMF zavisi od pH vrijednosti i kiselosti u medu, te da pri zagrijavanju meda na višim temperaturama sadržaj HMF raste u zavisnosti od vrste meda.

Pored sadržaja HMF, enzimska aktivnost takođe predstavlja parametar svježine meda, te se ova dva parametra često prate prije i nakon primjene termičkog tretmana. Sadržaj HMF raste, dok vrijednost enzimske aktivnosti opada za med koji je zagrijavan, dugo stoji ili se nepravilno skladišti (Chua i sar., 2014). Prema standardnim propisima, minimalna dozvoljena vrijednost aktivnosti dijastaze je 8, koja se izražava kao DN, odnosno broj dijastaze u Schade skali. Ovaj broj odgovara Gothe-ovoj skali, gdje je definisan kao g skroba hidrolizovanog u roku 1 h na temperaturi od 40 °C na 100 g meda. Gonnet i sar. (1964) navode da je najbolji režim pasterizacije pri 78 °C u trajanju od 6-7 min, pri čemu ne dolazi do velikog narušavanja kvaliteta meda (Tosi i sar., 2008). S druge strane, zagrijavanje na višim temperaturama može da uzrokuje inaktivaciju enzima. U zavisnosti od vrste meda, u njemu se nalaze različiti enzimi

koji imaju višestruku ulogu. Jedan od najvažnijih enzima u medu je dijastaza koja ima ulogu razdvajanja glikozidnih veza u oligosaharidima i polisaharidima. Aktivnost ovog enzima opada više sa dužim vremenom zagrijavanja i čuvanja (Kowalski i sar., 2012; Moliné i sar., 2015). Aktivnost dijastaze je povezana sa njenom strukturom, koja može da se mijenja denaturacijom i zagrijavanjem (Ciric i sar., 2018).

Zagrijavanje meda utiče i na gubitak termolabilnih aromatičnih komponenti, koji su proporcionalni vremenu zagrijavanja i temperaturi (Tosi i sar., 2008). Zagrijavanje meda na temperaturama iznad 40 °C, pored inaktivacije pojedinih enzima, dovodi i do denaturacije proteina važnih za funkcionalne osobine meda kao proizvoda (Janghu i sar., 2017). Neka istraživanja ukazuju da primjena temperature dovodi do povećanja antioksidativnog potencijala u hrani (Ngoi, 2016). Antioksidansi koji se nalaze prirodno prisutni u medu gube se termičkim tretmanom, dok istovremeno dolazi do formiranja antioksidanasa u toku Maillard-ove reakcije (Turkmen i sar., 2005; Šarić i sar., 2013). Uticaj termičkog tretmana na antioksidativna svojstva, kao i na sadržaj fenola poprilično zavisi od vrste meda, odnosno izvora od kog je med dobijen (Quintero-Lira i sar., 2016).

Tretman niskim temperaturama

Zamrzavanje hrane usporava, ali ne zaustavlja fizičko-hemijske i biohemijske reakcije koje dovode do kvarenja namirnica (Rahman i Velez-Ruiz, 1999). Hermetički zatvoren med može da se čuva na temperaturama zamrzavanja, jer se smatra da se na ovaj način med može očuvati duži vremenski period, ali i da se ovako najmanje utiče na fizičko-hemijska, antioksidativna i antimikrobna svojstva (Kędzińska-Matysek i sar., 2016).

Gubitak kvaliteta zamrznute hrane zavisi prvenstveno od temperature skladištenja, dužine trajanja skladištenja i načina odmrzavanja. Na temperaturama ispod -18 °C u potpunosti je zaustavljen mikrobiološki rast, a enzimske i neenzimske promjene se nastavljaju, ali usporeno (Rahman i Velez-Ruiz, 1999). Takođe, sa nižom temperaturom dolazi do usporavanja hemijskih reakcija u medu, što je posebno primjetno na temperaturama ispod 0 °C (Kędzińska-Matysek i sar., 2016). Pored zaustavljanja mikrobiološkog rasta, pri temperaturama zamrzavanja teži se očuvanju svih nutrijenata koje namirnica sadrži u svom sastavu (James i James, 2014). Međutim, zamrznuta hrana trpi promjene u fizičko-hemijskim svojstvima, a najviše se ispoljava na pH vrijednost, viskoznost, aktivitet vode i oksidaciono-redukциони potencijal (Rahman i Velez-Ruiz, 1999).

Niske temperature usporavaju ili potpuno zaustavljaju proces kristalizacije u medu, redukuju viskozitet i onemogućavaju početak procesa fermentacije (Kędzińska-Matysek i sar., 2016). Većina meda u svom sastavu sadrži veću količinu glukoze u odnosu na fruktozu, što može da dovede do spontane kristalizacije na sobnoj temperaturi, pri čemu se stvara glukoza monohidrat. Pored odnosa glukoze i fruktoze, na kristalizaciju meda utiče i sadržaj vode. Conforti i sar. (2006) su ustanovili da su vrste meda sa većim sadržajem vode pri temperaturi od -20 °C više kristalisale, što je obrnuto sa rezultatima dobijenim na sobnoj temperaturi.

Ribeiro i sar. (2017) navode da zamrzavanje smanjuje sadržaj vode i viskoznost uzorka. Zamrzavanje brzim snižavanjem temperature smanjuje mogućnost gubitka kvaliteta meda, a može da utiče na zadržavanje vode stvaranjem kristala leda. Međutim, oni su zaključili da uprkos smanjenju vode (bez promjene aktiviteta vode), dolazi do smanjenja viskoznosti.

Tretman ultrazvukom

Ultrazvučni talasi su zvučni talasi koji imaju frekvenciju višu od one koju može da osjeti ljudsko čulo sluha (iznad 20 000 Hz), a mogu da se prenose kroz vodu bez umanjavanja njihove snage. Uzrokuju mehaničke i termičke promjene u materijalima kroz koje prolaze, kao i promjene u jednoćelijskim organizmima (Thrasylvoulou i sar., 1994). Ultrazvuk se generiše primjenom vibracione sile na površinu materijala. Upotreba ovog tretmana danas najčešće predstavlja primjenu ultrazvuka sa snagom većom od 5 W/cm^2 i nižom frekvencijom (otprilike 40 kHz). Kada se primjeni na određeni materijal, vibraciona sila se prenosi kroz veze unutar molekula (Fauzi, 2014).

Ultrazvučna tehnologija se koristi kao alternativa konvencionalnom termičkom tretmanu. Efekat ultrazvuka se ogleda u fenomenu kavitacije koji može dovesti do izmjene strukture (Quintero-Lira i sar., 2016). Ultrazvuk dovodi do efikasnog miješanja, bržeg prenosa mase i energije, redukcije temperature, selektivne ekstrakcije i manje proizvodnje otpada (Janghu i sar., 2017). Ultrazvučni postupak je postao alternativa mnogim uobičajnim postupcima prerade hrane, poput homogenizacije, mljevenja, miješanja, pasterizacije i odvajanja čvrstih dijelova od tečnih. Takođe, pokazalo se da se poboljšava i efikasnost procesa kao što su filtracija, ekstrakcija i fermentacija (Kabbani i sar., 2011). U prehrambenoj industriji ultrazvuk nalazi primjenu i u rješavanju problema kristalizacije masti ili šećera, za inhibiciju enzimske aktivnosti i za produženje roka trajanja proizvoda (Fauzi, 2014). Primjena ultrazvuka može dovesti do eliminisanja kristala u medu, što se objašnjava ultrazvučnim tretmanom meda pri frekvenciji od 40 kHz uz temperaturu od 40-60 °C, nakon čega med sadrži samo male količine sitnih kristala (Quintero-Lira i sar., 2016). Kalogereas (1955) navodi da ultrazvučni talasi visoke frekvencije, pored eliminisanja kristala, takođe onemogućavaju dalji tok kristalizacije. Tehnologija utečnjavanja meda upotrebom zvuka visoke frekvencije je na početku svoje primjene bila prilično skupa jer je vrijeme za utečnjavanje bilo oko 30 min. Kasnije je Liebl (1977) smanjio ovaj proces na 30 s korištenjem ultrazvučnih talasa više frekvencije (18 kHz) (Thrasylvoulou i sar., 1994). Quintero-Lira i sar. (2016) takođe navode da ultrazvuk predstavlja pogodnu opciju kako za smanjenje veličine kristala, tako i za utečnjavanje meda.

Tretman ultrazvukom može se efikasno koristiti za termičku obradu meda, bez narušavanja njegovih glavnih parametara kvaliteta, ali uz tačno definisane parametre procesa (Kabbani i sar., 2011). Uticaj ultrazvuka na kvalitet meda zavisi od vremena tretiranja, amplitude, zapremine uzorka i istovremenog korištenja termičkog tretmana (Scripcă i Amariei, 2021).

Primjena ultrazvuka u kombinaciji sa pojačanom temperaturom može da ima uticaj na inaktivaciju mikroorganizama (Fauzi, 2014). Neke studije ukazuju da primjena ultrazvuka ima destruktivne efekte na mikroorganizme, posebno aerobne bakterije. Takođe, navodi se i da primjenom ultrazvuka dolazi do uništavanja većine kvasaca. D' Arcy (2007) smatra da inaktivacija mikroorganizama nastaje usljed pojave kavitacije, lokalizovanog zagrijavanja i stvaranja slobodnih radikala (Fauzi, 2014; Scripcă i Amariei, 2021).

Primjena ultrazvuka pri frekvenciji od 23 kHz nije imala značajnog uticaja na sadržaj vode, električnu provodljivost i pH vrijednost meda (Fauzi, 2014). Scripcă i Amariei (2021) navode da tretiranjem meda na temperaturi od 20 °C i frekvenciji od 42 kHz, u trajanju od 1 h,

dolazi do primjetnih promjena u pH vrijednosti meda i aktivnosti dijastaze. Takođe, uzorci meda tretiranih ultrazvukom su pokazali povećan sadržaj ukupnih polifenola, ukupnih flavonoida i ukupni antioksidativni kapacitet, zbog čega ultrazvučni tretman predstavlja alternativni način očuvanja meda i održavanja njegovog kvaliteta (Scripcă i Amariei, 2021).

Tretman ultraljubičastim zračenjem

Ultraljubičasto (UV) zračenje predstavlja oblik energije nejonizujućeg zračenja pri talasnim dužinama od 100 do 400 nm (Shubham i Kumar, 2018). UV zraci mogu da prodru u prehrambene namirnice nekoliko mm u zavisnosti od optičkih svojstava hrane. Zbog slabije prodornosti u neprozirnim namirnicama, a posebno u namirnicama koje sadrže obojena jedinjenja, neophodno je tretiranje namirnice UV zrakama u tankom sloju. Mogućnost prodiranja UV zraka se smanjuje sa povećanjem koeficijenta apsorpcije (Koutchma, 2008; Choudhary i Bandla, 2012). Za efikasnost UV zračenja važni su podaci o kinetičkoj inaktivaciji patogenih mikroorganizama i interakciji između mikroorganizama i površinskih materijala (Koutchma, 2008). U proizvodnji hrane UV zračenje se koristi kao metoda za povećanje roka trajanja namirnica smanjenjem broja patogenih mikroorganizama (Csapó i sar., 2019). U industriji meda upotreba UV zračenja se još uvijek unapređuje i smatra se jednom od alternativnih tehnika obrade meda (Fauzi, 2014).

Netermičke tehnologije danas se često koriste za inaktivaciju mikroorganizama (Cristina i sar., 2014). Smatra se da je UV zračenje mikrobiološki efikasno pri talasnim dužinama od 200 do 280 nm (Shubham i Kumar, 2018), dok Cristina i sar. (2014) navode talasnu dužinu od 254 nm koja pored inaktivacije velikog broja bakterija, može da inaktivira i pojedine viruse. Fauzi (2014) UV zračenje predstavlja kao tretman pogodan za inaktivaciju patogenih mikroorganizama. Izloženost mikroorganizama UV zračenju narušava njihov DNK što dovodi do njihove smrti. Različite doze UV zračenja mogu da se koriste za pasterizaciju tečnih namirnica ili za dezinfekciju čvrstih namirnica (Cristina i sar., 2014). Izlaganjem UV zračenju, mikroba inaktivacija se može postići za nekoliko sekundi ili minuta, u zavisnosti od vrste prehrambenih proizvoda i vrste mikroorganizama koji se želi inaktivirati (Choudhary i Bandla, 2012).

UV zračenje predstavlja efikasnu metodu za dezinfekciju vode i dekontaminaciju površina i ambalaže u prehrambenim industrijama (Bintsis i sar., 2000; Koutchma, 2008). Mnoga istraživanja ukazuju na obećavajuće rezultate upotrebe UV zračenja kao netermičke tehnike čuvanja hrane (López-Rubira i sar., 2005). Prema Mercier (1997) UV zračenje indukuje i biološki stres i odbrambene mehanizme biljnih tkiva. Ovi inducibilni efekti uključuju akumulaciju antimikrobnih jedinjenja (fitoaleksina), modifikaciju ćelijskog zida, povećanje aktivnosti enzima i povećanu antioksidativnu aktivnost (Choudhary i Bandla, 2012).

2.2. Medovina

Medovina predstavlja tradicionalno alkoholno piće koje sadrži između 8 i 18 vol.% alkohola nastalog alkoholnom fermentacijom razblaženog meda, pod uticajem ćelija kvasca (Šmorgovičová i sar., 2012). Neki je nazivaju medovinom, neki vinom od meda, a pojavljuje

se i izraz piće bogova (Schramm, 2003). Duga istorija proizvodnje, pored arome i ukusa koju medovina ima, dovela je do povećane potrebe za konzumiranjem od strane potrošača, a veće interesovanje za medovinu postignuto je zbog nutritivnih i terapijskih svojstava (Hernández i sar., 2015). Medovina ima pozitivan uticaj na metabolizam čovjeka, posebno na proces varenja (Gupta i Sharma, 2009; Dezmirean i sar., 2012) a ujedno smanjuje i rizik od hroničnih bolesti (Dezmirean i sar., 2012).

Medovina se, kao autohtoni fermentisani napitak, proizvodi hiljadama godina (Teramoto i sar., 2005). Podaci o medovini su pronađeni u drevnoj istoriji Evrope, Afrike i Azije, tako da se medovina može smatrati pretkom svih fermentisanih napitaka (Šmorgovičová i sar., 2012). Ovo piće su konzumirali Egipćani, Grci, Kelti, Saksonci i Varvari. U Americi je ovo piće prvenstveno proizvodila drevna civilizacija Maja, koji su med dobijen od pčela vrste *Melipona* rastvarali u vodi, macerirali komadima kore drveta i fermentisali piće, a zatim ga konzumirali pri svojim svečanostima (Cuenca i sar., 2016). Proizvodnja medovine je više poznata kao empirijska metoda, dosta slična procesu proizvodnje vina (Martínez i sar., 2016). Ovo piće je danas popularno u Istočnoj Evropi, Poljskoj i Sloveniji, kao i u Baltičkim zemljama. U posljednje vrijeme se sve više upotrebljava u Engleskoj, Njemačkoj, Južnoj Africi i Etiopiji. U Portugalu se medovina još uvijek proizvodi na tradicionalan način, najčešće u kućnim uslovima (Pereira, 2015).

Smatra se da je prva medovina proizvedena u trenutku kada je kiša napadala u otvorenu posudu sa medom. Na taj način u med je dospio divlji kvasac (Pereira, 2015). Iako je u prošlosti upotreba medovine bila široko rasprostranjena, razvoj civilizacije i proizvodnja poljoprivrednih resursa dovela je do smanjene proizvodnje medovine, a veće proizvodnje drugih alkoholnih pića, najviše piva i vina (Pereira, 2015; Martínez i sar., 2016).

2.2.1. Vrste medovine

Tradicionalna medovina predstavlja proizvod dobijen samo na bazi meda, čiji se šećer jedini koristi za fermentaciju i koji je odgovoran za aromu proizvoda (Vargas i Gulling, 1999; Schramm, 2003). Pored tradicionalne medovine postoje i druge vrste medovine kao što su: melomel, methelgin, hidromel, aguamel, medovukha i dr., koji se proizvode u različitim dijelovima Evrope (Teramoto i sar., 2005).

Melomel je medovina dobijena uz dodatak voćne komponente (Vargas i Gulling, 1999; Schramm, 2003). Veliki broj studija se bavi proučavanjem proizvodnje medovine sa dodatkom voćnog soka ili voća, najčešće jabuke, banane, bobičastog voća, grožđa ali i soka od kokosa (Balogu i Towobola, 2017). Dodatkom sokova ili voća može da se ubrza proces fermentacije, uz poboljšanje toka fermentacije, prinosa alkohola ili poboljšanje karakteristika finalnog proizvoda (Iglesias i sar., 2014).

Postoji i podvrsta melomela kao što je Cyser koji se dobija dodatkom jabuke, soka od jabuke ili vina od jabuke (Vargas i Gulling, 1999; Schramm, 2003) i dosta je sličan cideru. Morat je melomel u koji je dodan dud (Vargas i Gulling, 1999), a Pymment je melomel proizveden sa dodatkom grožđa ili soka od grožđa i zapravo je sličan vinu od grožđa u koje je dodan med. Podvrsta Pymmenta je Hippocras u koji su još dodani i začini (Schramm, 2003) ili laticice ruže (Vargas i Gulling, 1999). Methelgin je medovina koja fermentiše uz dodatak biljaka

i začina. Braggot, bragot ili bracket je medovina proizvedena sa sladnim zrnom, najčešće sladnim ječmom (Schramm, 2003). Sack mead ili jednostavnije Sack predstavlja jaku, slatku medovinu (Vargas i Gulling, 1999; Schramm, 2003). Pored navedenih, postoji i medovina obogaćena rakijom ili votkom što dovodi do povećanja alkohola u proizvodu (Vargas i Gulling, 1999).

2.2.2. Proces proizvodnje medovine

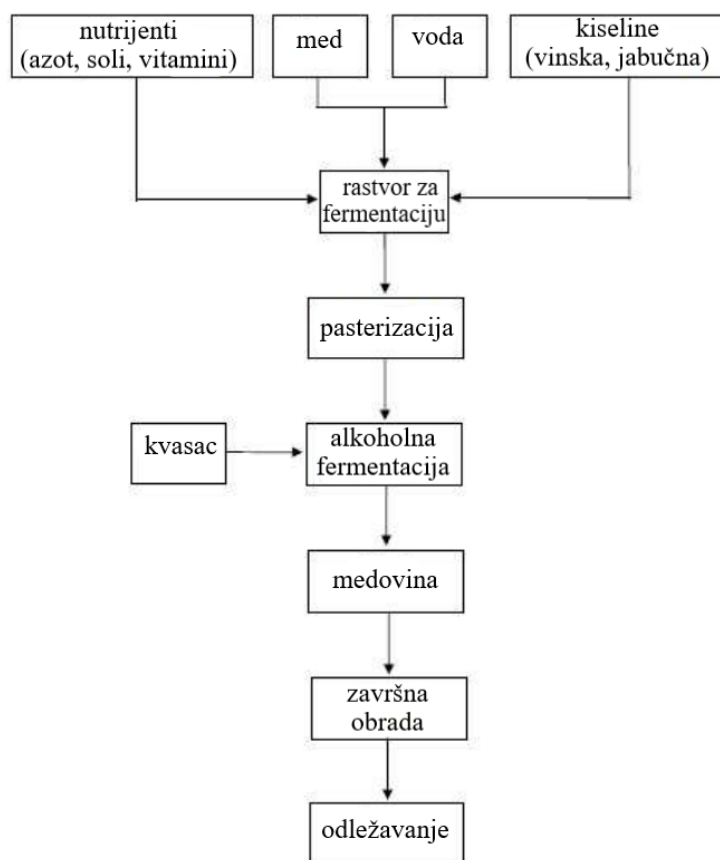
Šematski prikaz proizvodnje medovine je prikazan na Slici 2.1, gdje se može vidjeti da prvi korak predstavlja pripremu polaznog rastvora za fermentaciju (Ramalhosa i sar., 2011), koja podrazumijeva rastvaranje meda sa vodom, tako da sadržaj šećera bude od 12 do 18 % (Adams, 1963), tačnije da je odnos meda i vode 1:0,5, 1:1, 1:2, 1:3 (Sroka i Tuszyński, 2007; Pereira, 2015). Rastvori koji sadrže veću količinu šećera (odnos 1:0,5 i 1:1) proizvode se tako da se med dodaje postepeno u toku fermentacije kako fermentacija ne bi bila zaustavljena zbog previsokog osmotskog pritiska u polaznom rastvoru (Sroka i Tuszyński, 2007).

Najranija proizvodnja je podrazumijevala upotrebu kišnice kao vode za proizvodnju medovine. Danas se upotreba kišnice i izvorske vode izbjegava zbog većeg sadržaja natrijuma u svom sastavu. Za proizvodnju medovine se preporučuje upotreba destilovane vode ili prokuvane vode za piće, pod uslovom da ne sadrži veće količine željeza, kalcijuma i drugih minerala (Vargas i Gulling, 1999). Rastvaranje meda može da se vrši i sa voćnim sokom što može uticati na poboljšanje funkcionalnih svojstava medovine (Pereira, 2015).

Med je odličan izvor ugljenih hidrata neophodnih za proces fermentacije, ali sa niskom koncentracijom azota (Kempka i sar., 2015), koji je neophodan za rast kvasca kao i za izgradnju ćelijskih proteina, zbog čega se nakon rastvaranja meda u vodi vrši dodatak različitih nutrijenata (Pereira, 2015). Dodatak azotnih materija ima za cilj ubrzavanje fermentacije, povećanje prinosa etanola i poboljšanje kvaliteta gotovog proizvoda (Mendes-Ferreira i sar., 2010). Najčešće se vrši dodatak amonijum sulfata, amonijum fosfata, kalijum fosfata, magnezijum hlorida, magnezijum sulfata, natrijum citrata, kalijum tartarata, vitamina (biotin, piridoksin, tiamin) ili komercijalne hrane za kvasac (Ramalhosa i sar., 2011).

Rastvor meda i vode karakteriše niska pH vrijednost i prisutnost različitih kiselina koje potiču od meda. Zbog visokog sadržaja šećera, tok fermentacije je spor i zahtijeva odgovarajuću pH vrijednost, temperaturu i vrstu kvasca (Sroka i Tuszyński, 2007). U toku pripreme rastvora za fermentaciju neophodno je obezbijediti da pH vrijednost rastvora meda bude između 3,7 i 4,0, što se može postići dodatkom kalcijum karbonata, kalijum karbonata, kalijum bikarbonata i vinske, limunske ili mliječne kiseline (Iglesias i sar., 2014). Takođe, tokom fermentacije dolazi do nastanka organskih kiselina, zbog čega je na samom početku fermentacije primjetno naglo povećanje kiselosti, koja u kombinaciji sa niskim puferskim kapacitetom medovine može da uzrokuje brzi pad pH vrijednosti i da zaustavi fermentaciju. Ovo se dešava najviše zbog nastanka jantarne kiseline, što zavisi od soja kvasca i prisustva azotnih jedinjenja (Sroka i Tuszyński, 2007). Pored jantarne, vrši se i sinteza sirćetne kiseline, koje zajedno utiču na pad pH vrijednosti koja može da predstavlja donju granicu za opstanak kvasca u rastvoru. Brzi pad pH vrijednosti dovodi do inhibiranja rasta nepoželjnih mikroorganizama, ali i do smanjenja disocijacije masnih kiselina u rastvoru, potencijalno usporavajući metaboličko djelovanje

kvasaca. Iz ovog razloga je poželjno dodavanje pufera radi održavanja pH vrijednosti između navedenih 3,7 i 4,0 (Ramalhosa i sar., 2011).



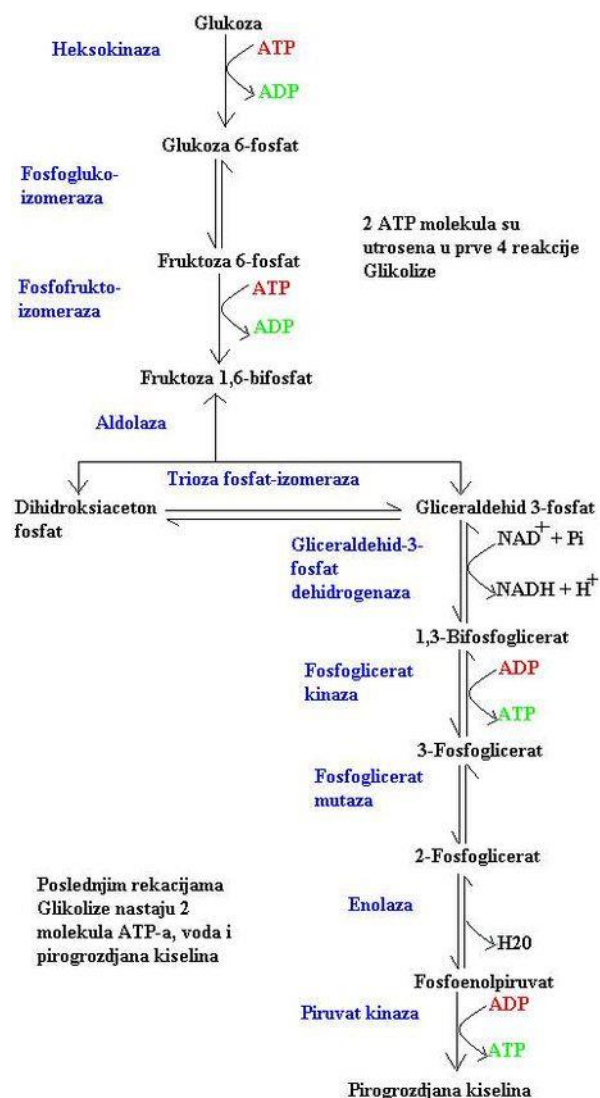
Slika 2.1. Šematski prikaz procesa proizvodnje medovine (Pereira, 2015)

Drugi korak u proizvodnji medovine (Slika 2.1) je termička obrada rastvora kako bi se onemogućilo ometanje fermentacije i izvršila redukcija broja mikroorganizama prisutnih u rastvoru (Iglesias i sar., 2014). Međutim, primjetno je da se tretiranjem visokom temperaturom može uticati na promjenu fenolnog profila rastvora, tačnije da dođe do smanjenja antioksidativnih svojstava proizvoda (Ramalhosa i sar., 2011; Iglesias i sar., 2014). Zagrijavanje meda tokom pripreme rastvora za fermentaciju može imati uticaj na aromu i ukus medovine. Nakon hlađenja rastvor je spreman za fermentaciju (Gupta i Sharma, 2009), koja se inicira dodatkom kvasca (Ramalhosa i sar., 2011). Neke studije prikazuju i druge metode za redukciju broja mikroorganizama, uključujući dodatak metabisulfita, natrijumovih ili kalijumovih soli koje oslobađaju sumpor dioksid i tako eliminišu broj mikroorganizama. Takođe, primjetna je i upotreba sumpor dioksida i ultrafiltracije (Iglesias i sar., 2014).

Treći korak u proizvodnji medovine je inokulacija radnim mikroorganizmom kako bi se pokrenuo proces fermentacije. Divlji kvasci iz vazduha nisu pogodni za proizvodnju kvalitetnih vina ili medovina jer mogu izazvati nastanak nepoželjnog ukusa. Pored toga, etanol koji nastaje tokom fermentacije vrši inhibiciju rasta divljih kvasaca koji su osjetljivi i na niske koncentracije ugljen dioksida koji se oslobađa u toku procesa fermentacije (Absec i Basić, 2003). Iz tog razloga proizvodnja medovine je inicirana radom selekcionisanih kvasaca, najčešće *Saccharomyces cerevisiae* (Navrátil i sar., 2001), čime se omogućava provođenje kontrolisanog

procesa (Šmorgovičová i sar., 2012). Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* je okarakterisan kao vrsta koja dobro podnosi sumpor dioksid, etanol i viši osmotski pritisak, a koristi se i za proizvodnju vina, piva ili pjenušavih vina. Pored navedenog, kvasac *Hansenula anomala*, takođe može dati dobre rezultate (Ramalhosa i sar., 2011). Čelije kvasaca mogu da budu okruglog, ovalnog ili cilindričnog oblika, a karakteriše ih stvaranje taloga u tečnom medijumu u toku fermentacije. Vinski kvasci fermentišu samo u kiseloj sredini, fermentišući brže glukozu od fruktoze, dok od disaharida mogu da koriste saharozu, maltozu i rafinozu (Absec i Basić, 2003).

Fermentacija je proces u kome kvasci pretvaraju proste šećere u alkohol i ugljen dioksid kao osnovne proizvode (Strong i sar., 2016). Pored etanola i ugljen dioksida, nastaje i mnogo nusproizvoda koji imaju uticaj na miris i ukus alkoholnog pića (Barbosa i sar., 2009), kao i na stabilnost i fizički izgled (Absec i Basić, 2003).



Slika 2.2. Šematski prikaz glikolize (Lakićević, 2019)

Mehanizam fermentacije je prikazan na Slici 2.2, a može da se objasni tako što kvasac *Saccharomyces cerevisiae* vrši metabolizam glukoze i fruktoze stvaranjem 2 mola piruvata po

molu heksoze, putem Embden-Meierhoff reakcije u reakciji glikolize. Piruvat se dekarboksiluje piruvat dekarboksilazom do acetaldehida. Acetaldehid se redukuje u etanol uz istovremenu reakciju oksidacije NADH koenzima koji nastaje oksidacijom gliceraldehid-3-fosfata do 1,3-difosfoglikerne kiseline. Pored etanola, nastaje i manja količina glicerola, viših alkohola, diacetila, acetoina, 2,3-butandiola, jantarne kiseline i u znatno manjim količinama sirćetna i mliječna kiselina i acetaldehid (Pereira, 2015).

Glikoliza je metabolički put glukoze koja se razgrađuje do piruvata, a može da se objasni kroz 10 koraka, koji su prikazani na Slici 2.2. U prvom koraku dolazi do fosforilacije glukoze djelovanjem enzima heksokinaze pri čemu nastaje glukoza-6-fosfat uz utrošak jednog molekula ATP-a. Nakon toga, enzim fosfoglukozoizomeraza izomerizuje glukoza-6-fosfat u fruktozu-6-fosfat. U trećem koraku enzim fosfofruktokinaza uz utrošak jednog molekula ATP-a fosfatnu grupu prenosi na fruktozu-6-fosfat pri čemu dolazi do nastanka fruktoza-1,6-bisfosfata. Nastali fruktoza-1,6-bisfosfat enzim aldolaza dijeli na 2 dijela: dihidroksiaceton fosfat i gliceraldehid fosfat. U petom koraku se dihidroksiaceton fosfat prevodi do gliceraldehid-3-fosfata djelovanjem enzima trioza fosfat izomeraza. Reakcijom dehidrogenacije uz NAD⁺, gliceraldehid-3-fosfat prelazi u 3-fosfoglicerinski kiselinu reakcijom fosforilacije, uz nastanak jednog molekula ATP-a. Sedmi korak podrazumijeva prenos fosfata sa 1,3-bisfosfoglicerata na molekulu ADP-a, da bi nastala molekula ATP-a djelovanjem enzima fosfoglicerat-kinaze. Kako se ovaj proces odvija za svaku molekulu 1,3-bisfosfoglicerata, dolazi do nastanka 2 molekule ATP-a. Osmi korak podrazumijeva promjenu unutar molekula djelovanjem enzima fosfoglicerat-mutaze čime se položaj u 3-fosfogliceratu mijenja u 2-fosfoglicerat, čijom dehidratacijom u devetom koraku nastaje enol, ali i fosfoenolpiruvat djelovanjem enzima enolaza. Poslednji, deseti korak, podrazumijeva nastanak piruvata i molekula ATP-a, tačnije piruvat kinaza katalizuje prenos fosforilne grupe sa fosfoenolpiruvata na ADP. Na dva mola ADP-a, nastaju 2 mola ATP-a (Čunović, 2017).

Fermentacija rastvora meda može da se provodi pri različitim temperaturama. Kao pogodne temperature za fermentaciju navode se 22, 26 i 27 °C (Ramalhosa i sar., 2011). Šmorgovičová i sar. (2012) kao najčešće temperature fermentacije navode između 15 i 22 °C. Prema njima, niska temperatura pomaže postizanju stabilne fermentacije i boljoj transformaciji aromatičnih komponenti u proizvodu, a fermentacija na ovoj temperaturi traje između 2 i 3 mjeseca. Gupta i Sharma (2009) navode da fermentacija traje 21 dan na temperaturi od 25 do 26 °C.

Temperatura od 25 °C u kombinaciji sa visokim sadržajem šećera (glukoze i fruktoze), i uz druge nutrijente, dovodi do bolje iskorištenosti šećera. Sa druge strane, temperature niže od 25 °C pri nižem sadržaju mineralnih materija i količinom glukoze i fruktoze u granicama od 3,5 do 10 g/l, može da dovede do ponovnog pokretanja fermentacije. Suprotno tome, neki autori navode da niska temperatura može da utiče na stabilizaciju fermentacije i bolju transformaciju aromatičnih komponenti. Optimalna temperatura za efikasnu fermentaciju djelovanjem kvasca *Saccharomyces cerevisiae* je između 20 i 30 °C. Temperature niže od 15 °C i više od 30 °C dovode do usporene fermentacije čime se produžava trajanje procesa (Iglesias i sar., 2014).

Fermentacija medovine može da traje i nekoliko mjeseci, u zavisnosti od vrste kvasaca i sastava rastvora za fermentaciju (Pereira i sar., 2013). Brzina fermentacije je povezana i sa vrstom meda jer tamnije vrste meda imaju veći sadržaj mineralnih materija od svjetlijih vrsta, te su samim tim tamnije vrste pogodnije za fermentaciju (Iglesias i sar., 2014).

Gangl i sar. (2018) navode da postoji razlika u fermentaciji i aromatskom profilu proizvoda u zavisnosti od vrste kvasca koji se koristi. Rod *Saccharomyces* pokazuje najveću efikasnost u metaboličkom procesu, gdje se izdvajaju *Saccharomyces uvarum* i *Saccharomyces eubaianus*, dok je *Saccharomyces cerevisiae* inhibiran u slučajevima niskog sadržaja usvojivog azota. Pereira (2015) navodi da mineralne materije, posebno magnezijum, kalcijum i cink utiču na brzinu konverzije šećera, dok su nedostatak vitamina, posebno tiamina i biotina odgovorni za usporen rast kvasca. Sroka i sar. (2013) navode da na brzinu fermentacije može da utiče smrznuto grožđe koje je dodano u polazni rastvor, ubrzavajući tok fermentacije, što govori o uticaju sastava polaznog rastvora na brzinu fermentacije. Takođe, navodi da se na ovaj način smanjuje sinteza sirćetne kiseline i smanjuje se količina isparljivih kiselina u medovini.

Kada se fermentacija završi, procesi odležavanja i starenja su neophodni, bez obzira što dovode do povećanja troškova proizvodnje (Iglesias i sar., 2014). Ovaj korak predstavlja poslednji korak u procesu proizvodnje medovine (Slika 2.1.) koji podrazumijeva procese bistrenja i filtriranja (Ramalhosa i sar., 2011). Za bistrenje se najviše koriste želatin, bentonit (Ramalhosa i sar., 2011; Iglesias i sar., 2014; Pereira, 2015) bjelance jajeta i kazein, uz filtraciju prije flaširanja (Pereira, 2015). Filtriranje se može obavljati membranskom filtracijom, ultrafiltracijom i mikrofiltracijom. Filtracija je posebno važna jer se na ovaj način uklanjaju kvasci zaostali nakon procesa fermentacije (Catania i sar., 2010).

Nakon završene filtracije, medovina se flašira u staklene boce i odležava najmanje dvije sedmice (Senn, 2020), kako bi došlo do razvoja aromatičnih komponenti (Ramalhosa i sar., 2011). Starenjem, medovina sa prvobitno kiselom i neprijatnom aromom, postaje piće sa nježnom i mekom aromom, lijepim bukeom i mirisom (Pereira, 2015). Šmorgovičová i sar. (2012) navode da sazrijevanje traje od 9 mjeseci do 2 godine. Iglesias i sar. (2014) navode da sazrijevanje traje od nekoliko sedmica do nekoliko mjeseci, dok Ramalhosa i sar. (2011) navode period sazrijevanja od 1 do 10 godina.

U toku proizvodnje medovine može se pojaviti nekoliko problema koji najčešće dovode do ometanja procesa fermentacije. Veoma često se dešava da se željeni sadržaj etanola ne proizvede u određenom vremenskom periodu. Tokom proizvodnje količina vode koja je dodana u med pri proizvodnji polaznog rastvora za fermentaciju, može da dovede do razlika između dobijenih proizvoda. Zaustavljena fermentacija može da se desi i zbog niskog sadržaja azota i mineralnih materija. Neodgovarajuća količina azotnih jedinjenja može da dovede do slabijeg rasta kvasca, produžene fermentacije, smanjene brzine rasta kvasca i smanjene koncentracije etanola (Iglesias i sar., 2014). Pored nedostatka esencijalnih hranljivih materija, razlog zaustavljene fermentacije može da bude i upotreba neodgovarajućih sojeva kvasaca za ovu vrstu sirovine ili visok osmotski pritisak, niska pH vrijednost i nizak puferski kapacitet (Mendes-Ferreira i sar., 2010; Cuenca i sar., 2016).

Česta je i pojava naknadne fermentacije kvascima ili sekundarna fermentacija bakterijama mliječne ili sirćetne kiseline. Nastanak mliječne i sirćetne kiseline može nepoželjno uticati na proizvod zbog povećanja kiselosti i nastanka isparljivih estera (Ramalhosa i sar., 2011; Iglesias i sar., 2014; Hernández i sar., 2015). Istraživanja ukazuju da neželjenu aromu stvaraju najčešće etil acetat, oktanska i heksanska kiselina. Kombinacija ovih jedinjenja mijenja senzorni kvalitet medovine, tačnije nastaju nepoželjne arome i ukusi (Iglesias i sar., 2014).

Duže vrijeme fermentacije može da dovede do kontaminacije rastvora sa drugim kvascima i bakterijama (Cuenca i sar., 2016). Ukoliko dođe do kontaminacije medovine kvascima i bakterijama, ona postaje neupotrebljiva za konzumiranje. Iz tog razloga danas se koriste sojevi odgovarajućih kvasaca pogodnih za fermentaciju, čime se smanjuje rizik od kontaminacije (Mendes-Ferreira i sar., 2010). Fermentacija, ali i sazrijevanje traju od nekoliko mjeseci do nekoliko godina. Relativno dug period proizvodnje, uz poteškoće koje mogu da se jave, su razlog zašto se provode istraživanja radi optimizacije procesa proizvodnje ovog pića (Sroka i Tuszyński, 2007).

Nakon proizvodnje medovine potrebno je uravnotežiti i uskladiti veliki broj različitih jedinjenja, kako bi medovina bila prihvatljiva (Strong i sar., 2016). Ranija proizvodnja medovine je podrazumijevala proizvodnju pića nepoželjnog ukusa, bez obzira na slast u medovini koja je postojana zbog nefermentabilnih šećera prisutnih u medu. Na loš ukus može da utiče nedostatak odgovarajućih vrsta i količina hranljivih komponenti za kvasac, te nemogućnost efikasnog provođenja procesa fermentacije. Kao rezultat toga, proces fermentacije traje jako dugo, pri čemu se dešava da velika količina kvasca uginu, što utiče na nastanak nepoželjnih aroma u ovom alkoholnom piću. Nepoželjne arome potiču i od autolize kvasaca, a dijelom su odgovorne i bakterije koje se javljaju nakon autolize (Adams, 1963). Proizvodnja etanola i glicerola, ali i organskih kiselina i estera karakterističnih za aromu medovine mogu biti posljedica nepogodnih uslova za rast kvasaca u toku proizvodnje (Cuenca i sar., 2016).

2.2.3. Fizičko-hemijska svojstva medovine

Švecová i sar. (2015) navode da medovina treba da sadrži najmanje 7 vol. % etanola, Teramoto i sar. (2005) navode 6 do 17 vol. % etanola, a Cuenca i sar. (2016) kao sadržaj etanola u medovini navode 8 do 12 vol. % etanola. Balogu i Towobola (2017) navode da se, u cilju dobijanja određenog sadržaja etanola u medovini, koriste različite dužine trajanja fermentacije, a da najčešće korišten proces traje najmanje 21 dan kako bi se dostigla količina etanola od 7,6 do 22 %. Na kraju fermentacije, sadržaj alkohola u medovini zavisi od količine meda u polaznom rastvoru i od njegovog razrjeđenja (Akalin i sar., 2017).

Tokom alkoholne fermentacije nastaje veća količina alkohola, od kojih je najzastupljeniji etanol. Pored etanola, tokom fermentacije nastaju i viši alkoholi: izobutanol, 2-metil-1-butanol, izoamil, 2-feniletanol i drugi. Koncentracija viših alkohola u medovini je oko 300 mg/l, iako koncentracija može biti i do 400 mg/l (Pereira, 2015).

Pored alkohola zastupljeni su i esteri, koji nastaju u reakciji sirćetne kiseline i etanola, isparljivih masnih kiselina i etanola, ili između sirćetne kiseline i viših alkohola. Kvantitativno najčešće zastupljen ester je etilacetat, a zatim i izoamil acetat, 2-feniletil acetat, etil butirat, etil heksanoat i etil oktanoat. Količina estera koja nastane djelovanjem kvasca zavisi od količine usvojivog azota (Pereira, 2015).

Osim alkohola i estera, u medovini se nalazi i veliki broj drugih komponenti kao što su šećeri, kiseline, vitamini, antioksidansi, minerali i druga jedinjenja. Glukoza i fruktoza su dominantni monosaharidi u medu, tako da su zastupljeni i u medovini (Švecová i sar., 2015).

Organske kiseline su važne komponente, kako u medu, tako i u medovini, jer utiču na aromu, ukus, stabilnost i druge važne karakteristike (Švecová i sar., 2015). Glavni izvor organskih kiselina u medovini je pčelinji med koji sadrži glukonsku kiselinu, voćni sokovi ukoliko su dodani i organske kiseline koje se dodaju radi osiguranja odgovarajuće kiselosti u procesu proizvodnje medovine (Dobrowolska-Iwanek, 2015).

Isparljive kiseline, koje su uglavnom nepoželjne u medovini, većinom potiču od sirćetne kiseline koja nastaje tokom fermentacije. Proizvodnju ove kiseline vrše kvasci, u količinama od 0,3 do 0,8 g/l. Pored sirćetne kiseline, nastaje i jantarna, a obe su odgovorne za pad pH vrijednosti u toku fermentacije. Smanjenje pH vrijednosti tokom fermentacije može da se desi zbog niske pH vrijednosti meda i slabog puferskog kapaciteta. Pad pH vrijednosti može da utiče i na rad kvasaca. Bez obzira na vrste kvasaca i dodatak nutrijenata u rastvor za fermentaciju, pH vrijednost tokom fermentacije opada (Pereira, 2015). Demewez i sar. (2012) kao razlog povišene kiselosti u medovini navode proizvodnju u nekontrolisanim uslovima, najčešće ukoliko med prethodno nije obrađen. Isti autori kao razloge smanjene kiselosti navode i efekat odležavanja medovine u nekontrolisanim uslovima čime se onemogućava rast kiselosti.

U toku alkoholne fermentacije dolazi do proizvodnje jedinjenja od strane kvasaca koji imaju uticaj na senzorne karakteristike gotovog proizvoda. Većina isparljivih jedinjenja u vinima potiče od metaboličke aktivnosti kvasaca. Na ova isparljiva jedinjenja uticaj imaju sojevi kvasaca, stanje ćelija kvasaca, odnosno da li su slobodne ili imobilizovane, količina inokuluma i uslovi fermentacije (Pereira, 2015). Isparljiva jedinjenja koja nastaju djelovanjem kvasaca osim alkohola, organskih kiselina i estera su i isparljive masne kiseline, karbonilna jedinjenja i isparljivi fenoli. Isparljiva aromatična jedinjenja imaju veoma važnu ulogu u kvalitetu vina jer doprinose aromi i imaju uticaj na senzorne karakteristike proizvoda (Pereira, 2015; Senn, 2020). Isparljive masne kiseline su rezultat β -oksidacije masnih kiselina (Pereira, 2015). Od neisparljivih jedinjenja najčešće su prisutne organske kiseline, šećeri, tanini i glicerol (Senn, 2020).

Hemijska svojstva medovine najviše zavise od hemijskih svojstava meda od kojih je medovina dobijena, ali i od dodanih komponenti (Švecová i sar., 2015). Tačnije, bitan je cvjetni izvor meda, kao i geografski i ekološki faktori. Pored meda, na hemijski sastav medovine utiče i dodani mikroorganizam, proces vinifikacije, dodatak organskih kiselina i drugih nutrijenata, ali i odležavanje (Dobrowolska-Iwanek, 2015). Hemijske komponente kao što su šećeri, kiseline, antioksidativna jedinjenja, minerali i vitamini su podložni promjenama u toku tehnološkog procesa proizvodnje, posebno u toku fermentacije, temperaturnog tretmana i skladištenja (Švecová i sar., 2015).

2.2.4. Antioksidativna, antimikrobna i senzorna svojstva medovine

Antioksidansi su jedinjenja koja mogu da odlože ili uspore oksidaciju lipida ili drugih molekula inhibicijom lančane oksidativne reakcije. Jedinjenja koja pokazuju antioksidativnu aktivnost su vitamini, karotenoidi, fenolna jedinjenja i dr. Sposobnost fenolnih jedinjenja da djeluju kao antioksidansi zavisi od redoks svojstava njihove hidroksilne grupe (Chanwitheesuk i sar., 2005). Chanwitheesuk i sar. (2005) navode da izraženu antioksidativnu aktivnost imaju vitamin C, vitamin E, karotenoidi, ksantofili, tanini i fenoli.

Fenolne komponente se definišu kao sekundarni produkti metabolizma biljaka (Akalin i sar., 2017), a predstavljaju grupu jedinjenja prisutnih u biljkama i njihovim derivatima. Neka od tih jedinjenja se sa biljaka prenose u med radom medonosnih pčela (Kahoun i sar., 2008). Neka istraživanja ukazuju da se napici smatraju glavnim dijetalnim izvorima polifenola, te da su pristupačni organizmu jer direktno prelaze u crijevne tečnosti (Socha i sar., 2015). Antioksidativna aktivnost medovine zavisi od cvjetnog izvora nektara, sezonskih i ekoloških uslova dobijanja meda, prerade meda, kao i od dodanih komponenti u toku procesa dobijanja medovine (Akalin i sar., 2017). Međutim, sadržaj fenola može da se promijeni tokom tehnološkog procesa proizvodnje, posebno tokom primjene temperaturnog tretmana, kao i u toku fermentacije i skladištenja (Kahoun i sar., 2008; Akalin i sar., 2017).

Sadržaj fenolnih jedinjenja zavisi i od vrste medovine, što se posebno uočava kod medovine koja je proizvedena samo od meda i vode jer ima mali sadržaj elektroaktivnih jedinjenja, dok su medovine sa dodatkom soka ili biljnih dodataka bogate ovim jedinjenjima (Švecová i sar., 2015). Dodatak voćnih sokova ili biljaka ima uticaj na profil fenolnih jedinjenja u medovini (Kahoun i sar., 2008). Švecová i sar. (2015) navode da medovina sa dodatkom crne ribizle ima veliki sadržaj biološki aktivnih jedinjenja.

Fenolna jedinjenja utiču na ukus medovine jer mu daju gorčinu, značajni su za sazrijevanje pića i djeluju kao prirodni konzervansi. Pored navedenog, fenoli imaju i druge biološke aktivnosti, tačnije antiinflamatorna, antibakterijska i antikancerogena svojstva (Kahoun i sar., 2008).

Akalin i sar. (2017) su u medovini pronašli pet fenolnih kiselina (galnu kiselinu, protokatehinsku kiselinu, siringinsku kiselinu, p-kumarinsku kiselinu i ferulinsku kiselinu) i dva flavonoida (katehin i kvercetin). Kahoun i sar. (2008) su fenolna jedinjenja podijelili na hidrosiderivate benzoeve kiseline, hidrosiderivate cinaminske kiseline, hidrosiderivate fenilsirćetne kiseline i druga fenolna jedinjenja. U istom radu ovi autori su u najvećem broju medovina pronašli najveće količine hidrosiderivata benzoeve kiseline. Od fenolnih kiselina najčešće se pojavljuju protokatehinska i vanilinska kiselina. Pored njih, veoma važna jedinjenja su vanillin i etilvanilin, koja utiču na miris proizvoda, te se često dodaju u medovinu zbog umanjavanja neželjene arome medovine. Iako vanilin potiče iz meda ili propolisa, ovo jedinjenje je u medovini zastupljeno samo u tragovima, tako da veće količine ovog jedinjenja ukazuju na naknadno dodavanje vanilina u medovinu (Kahoun i sar., 2008). Isparljivi fenoli koji mogu da nastanu u toku alkoholne fermentacije imaju relativno nizak prag detekcije. Neki od najčešće pronađenih isparljivih fenola su etilfenol, 4-etilfenol, vinilfenol, 4-vinilfenol i dr. (Pereira, 2015).

Med predstavlja namirnicu bogatu aktivnim jedinjenjima koja su efikasna protiv bakterijskih infekcija i upalnih procesa. Antimikrobna svojstva meda, kao osnovnog sastojka za dobijanje medovine, najviše su povezana sa visokom viskoznošću koja je najčešće posljedica visokog sadržaja šećera i niskog sadržaja vode. Takođe, na antimikrobnu aktivnost imaju uticaj i blaga kiselost u kombinaciji sa vodonik peroksidom. Glukonska kiselina u medu je efikasna pri inhibiciji rasta mikroorganizama u ovakvoj sredini (Albaridi, 2019).

Na antimikrobnu aktivnost meda utiče i prisustvo enzima u njemu. Glukoza oksidaza je neaktivna u nerazrjeđenom medu, a aktivira se kada se med razblaži, što omogućava da djeluje na nastanak vodonik peroksida. Pored enzima, u medu su prisutna i neenzimska jedinjenja, kao

što su fenolna jedinjenja za koje se smatra da doprinose antimikrobnom djelovanju (Albaridi, 2019).

U toku fermentacije dolazi do biohemijskih promjena u medu što podrazumijeva proizvodnju organskih kiselina (sirćetne i mravlje) koje dovode do snižavanja pH vrijednosti. Niska pH vrijednost ima inhibitorni efekat na mikroorganizme, a ujedno niska pH vrijednost je povezana sa antimikrobnim svojstvima medovine (Corona i sar., 2001).

Važan biološki efekat vina je snažna antimikrobna aktivnost koja se pokazala u različitim radovima. Antimikrobnoj aktivnosti doprinose različite komponente u vinima, koje su podijeljene na fenolne i nefenolne. U pojedinim radovima autori navode da na antimikrobnu aktivnost utiču organske kiseline vina, dok drugi autori tvrde da organske kiseline vina djeluju antimikrobno samo uz prisustvo etanola. Pored ove dvije komponente, antimikrobna aktivnost zavisi i od niske pH vrijednosti (Boban i sar., 2010). Corona i sar. (2001) su u svom eksperimentu analizirali crveno i bijelo vino, gdje su uzorci pokazali antimikrobno dejstvo, posebno na G (-) bakterije, što se povezuje sa prisustvom etanola u uzorcima.

Senzornom analizom se želi razviti objektivna metodologija za određivanje organoleptičkih parametara u hrani (Cuenca i sar., 2016). Fizičko-hemijski parametri su važni pokazatelji kvaliteta proizvoda, kao i senzorna analiza koja omogućava uviđanje specifičnih karakteristika u medovini. Osim toga, senzorna analiza ima za cilj da uoči prisustvo neugodnih mirisa i ukusa koji utiču na prihvatljivost proizvoda od strane potrošača (Hernández i sar., 2015).

Nakon fermentacije, sve medovine su svjetlije u odnosu na početni rastvor, zbog taloženja različitih jedinjenja i kvasca (Gupta i Sharma, 2009). Demewez i sar. (2012) navode da na boju, kao senzornu karakteristiku, mogu uticati završne faze proizvodnje poput bistrenja, filtriranja i odležavanja.

Ukoliko je proizvedena na odgovarajući način, medovina ima dobar ukus i odličnu aromu (Vargas i Gulling, 1999) i može da se okarakterise kao sladak i pjenušav proizvod (Gomes i sar., 2013). Na aromu medovine utiče med, inokulirani kvasac i tehnološki proces proizvodnje (Pereira, 2015). Med može da utiče na medovinu sa nekoliko svojstava arome kao što su cvjetna, voćna, slatka, voštana, smolasta, drvena, kisela, začinjena, balzamična, karamelasta i dr. (Pereira, 2015). Konvencionalna metoda proizvodnje medovine sa dugim vremenom pasterizacije meda dovodi do stvaranja jedinjenja smolastog ukusa i ukusa na gumu. Na loš ukus proizvoda utiču i kvasci zaostali nakon procesa fermentacije, koji stvaraju arome esternih, kiselih i fenolnih jedinjenja, ali i aromu vodonik sulfida koji ima miris pokvarenog jajeta (Iglesias i sar., 2014). Gorko slani ukus može da potiče od kalcijum karbonata, kalijum karbonata, kalijum bikarbonata i vinske kiseline koji se dodaju prije fermentacije kako bi se regulisala pH vrijednost rastvora meda (Ramalhosa i sar., 2011).

Senzorna svojstva medovine nastaju kombinacijom isparljivih i neisparljivih jedinjenja. Neisparljive komponente doprinose kiselosti, slasti i osjećaju u ustima, a čine ih organske kiseline, šećeri, tanini i glicerol (Senn, 2020). Isparljive komponente u medovini utiču na aromu proizvoda (Pereira, 2015).

Količina slasti u medovini može da zavisi od vrste meda koja se koristi, tačnije od količine rezidualnog šećera koji se nalazi u medovini nakon fermentacije. Ukoliko je sadržaj rezidualnog šećera veći, medovina će imati slatkast ukus koji može da bude nepoželjan za proizvod (Demewez i sar., 2012).

Na senzorna svojstva medovine utiču jedinjenja koja nastaju u toku alkoholne fermentacije. Alkoholi, kao jedna od komponenti koje nastaju utiču na aromu i ukus (Pereira, 2015), dok Gomes i sar. (2015) navode da sadržaj alkohola nema uticaja na senzorna svojstva medovine kao što su aroma, ukus i ukupni utisak. Takođe, navode da sadržaj šećera u medovini ima uticaj na senzornu prihvatljivost, gdje su senzornom analizom najviše ocjene dobili uzorci sa najvećom količinom šećera zaostalog nakon fermentacije. Šmorgovičová i sar. (2012) navode da proizvodnjom medovine može da se utiče na dobijanje proizvoda sa različitim sadržajem šećera zaostalog nakon fermentacije.

U vinima, pojedine karakteristične komponente potiču iz polazne sirovine sa malo ili bez modifikacija, a jedan dio potiče od metabolizma kvasaca, i naročito od šećera i jedinjenja azota koja su bila prisutna prije početka fermentacije. Od sadržaja azota može da zavisi stvaranje nusproizvoda i krajnjih proizvoda koji dovode do razvoja poželjnih i nepoželjnih ukusa u vinima (Barbosa i sar., 2009).

2.3. Aronija

Listopadni crnoplodni grm aronije (*Aronia melanocarpa* L.) spada u porodicu ruža (*Rosaceae*), porijeklom je sa istoka Sjeverne Amerike, te istoka Kanade, a danas se uzgaja i u istočnoj Evropi (Bilić, 2017). Aronija se uzgaja kao ukrasna biljka, ali i zbog visoke nutritivne vrijednosti bobica (Slika 2.3.), kao i njenih antioksidativnih svojstava i karakterističnog ukusa. Aronija se prvenstveno počela uzgajati zbog jakog ljubičastog pigmenta koji je rezultat velikog sadržaja antocijana i posljedično se počela koristiti kao prirodna boja u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Prehrambena industrija najčešće proizvodi sokove i sirupe od aronije, a voće može da se jede sirovo, osušeno ili da se koristi za kompote, džemove, vina i likere (Šnebergová i sar., 2014).

Hemijski sastav aronije znatno varira i zavisi od mnogo faktora, posebno od genotipa (ili vrste), stepena zrelosti, klimatskih uslova, vremena berbe i upotrebe đubriva. Aronija sadrži vitamine B grupe (B1, B2, B6, niacin, pantotensku kiselinu), vitamin C (13-270 mg/kg), β -karoten (7,7-16,7 mg/kg) i značajnu količinu dijetalnih vlakana, minerala (4,4-5,8 g/kg izraženih kao pepeo), 16-18 % ugljenih hidrata (glukoza, fruktoza, sorbitol) i 1-1,5 % organskih kiselina (jabučna, vinska, limunska) (Šnebergová i sar., 2014).



Slika 2.3. Plod aronije (<https://biomed.ba/blog/aronija/>)

U prethodnim godinama povećao se interes za izolovanjem prirodnih supstanci iz biljaka. Bobičasti plodovi predstavljaju bogat izvor fenolnih jedinjenja i drugih bioaktivnih komponenti. Izolovane bioaktivne komponente iz aronije mogu poboljšati čovjekovo zdravlje. Aronija sadrži različite polifenole (proantocijanide, antocijane, flavonoide, fenole i fenolne kiseline) koji imaju antiinflamatorno i antivirusno djelovanje (Bataraga i Valkovska, 2020).

Cijanidin glukozid (spada u antocijane), kvercetin glukozid (spada u flavonoide), hlorogena kiselina i proantocijanidi su glavni polifenoli identifikovani u aroniji. Nekoliko studija ukazuje da aronija ima različit biološki efekat u *in vitro* i *in vivo* uslovima (gastroprotektivni, hepatoprotektivni i antiproliferativni efekat) (Ciocoiu i sar., 2013). Antocijani (grč. *Antos*-cvijet i *kyanos*-plavo) su vrsta biljnih sastojaka koji dijele isti difenilpropan skelet (C₆C₃C₆) rastvorljivi su u vodi i odgovorni za plavu, ljubičastu i crvenu boju u različitim dijelovima biljke (cvijet, plod ili biljno tkivo). U većim količinama ih ima u različitom voću, a najčešće u svim vrstama bobičastog voća (Cisowska i sar., 2011). Aronija je bogat izvor antocijana, proantocijanida, flavonoli (kvercetin glukozid) i flavan-3-oli (epikatehin). U poređenju sa ostalim bobičastim voćem, antocijani u aroniji se nalaze uglavnom u obliku cijanidin glukozida, poznatijih kao cijanidin-3-arabinozid, cijanidin-3-galaktozid, cijanidin-3-glukozid i cijanidin-3-ksilozid. Cijanidin-3-galaktozid i cijanidin-3-arabinozid su dominantna jedinjenja u bobičastom voću (Denev i sar., 2012).

Aronija pokazuje jaka antimikrobna svojstva na širok spektar mikroorganizama (Denev i sar., 2019). Antimikrobna aktivnost u biljkama bazirana je na fenolima (jednostavni fenoli, fenolne kiseline, kinoni, flavoni, flavonoidi, flavonoli, tanini, kumarini), terpenoidima, esencijalnim uljima, alkaloidima, lektinima i polipeptidima. Antimikrobna aktivnost fenolnih komponenti je u zavisnosti od pH vrijednosti uzrokovana slabim organskim kiselinama (Liepiņa i sar., 2013).

Poboljšani biološki i fiziološki efekti unosa aronije u organizam mogu da se objasne unosom fenolnih jedinjenja, hlorogene kiseline i antocijana. Postoji relativno mali broj dostupnih kliničkih studija uticaja aronije na ljude, te je većina eksperimenata rađena na miševima, nakon čega je izvršeno povezivanje sa efektima koji su postignuti na ljudima. U dostupnoj literaturi se navodi da antocijani smanjuju peroksidaciju lipida i utiču na povećanje aktivnosti enzima koji su uključeni u antioksidativni odbrambeni sistem. Takođe, dokazano je da crveni pigment u plodovima aronije, koji je sastavljen od cijanidina, predstavlja komponentu koja ima snažno djelovanje na DPPH radikal u *in vitro* i *in vivo* sistemima, a ujedno može da spriječi oštećenje sluzokože želuca koje je izazvano primjenom etanola. Jedan od mehanizama ovog djelovanja je uklanjanje aktivnog kiseonika derivatom cijanidina. Mnoga istraživanja ukazuju na antiproliferativne efekte aronije protiv raka debelog crijeva. Fenolna jedinjenja koja su prisutna u aroniji doprinose zaštiti i obnavljanju endotijelnih ćelija. Takođe, voćni sok od aronije je u velikom broju eksperimenata ometao povećanje ukupnog holesterola, LDL holesterola i lipida u plazmi (Kulling i Rawel, 2008).

Proizvodnja svježje aronije je ograničena na relativno kratak vremenski period. Njene crne bobice rastu u grozdovima i sazrijevaju početkom septembra u Sjevernoj i Zapadnoj Evropi. Bobice aronije se rijetko konzumiraju svježje zbog pojedinih negativnih senzornih karakteristika, kao što su gorčina i trpkost. U slučaju proizvodnje soka, termički tretman omogućava produženje roka trajanja ovakvom proizvodu. Obrada bobica podrazumijeva primjenu termičkog tretmana, kao što je blanširanje bobica i pasterizacija uz punjenje

zagrijanog proizvoda, što umanjuje kvalitet proizvoda usljed promjena u količini i kvalitetu termolabilnih fitohemikalija. Primjenom termičkog tretmana gubi se otprilike 80 % antocijana, zbog čega se za proizvodnju sokova sve češće koristi inovativna tehnologija primjenom visokog hidrostatskog pritiska. Ova metoda podrazumijeva cijedenje soka primjenom visokog pritiska u kratkom vremenu trajanju sa ili bez promjene temperature. Ovim načinom presovanja/cijedenja ne utiče se bitno na sadržaj bioaktivnih jedinjenja, tačnije sadržaj fenola, antocijana, flavonola i tanina se ne mijenja mnogo u odnosu na sadržaj ovih jedinjenja u plodu prije cijedenja (Błaszczak i sar., 2017). Sokovi su pogodniji za čuvanje i konzumiranje u odnosu na bobice, što predstavlja dodatni razlog za preradu bobica u sok (Denev i sar., 2012).

2.4. Optimizacija procesa proizvodnje medovine

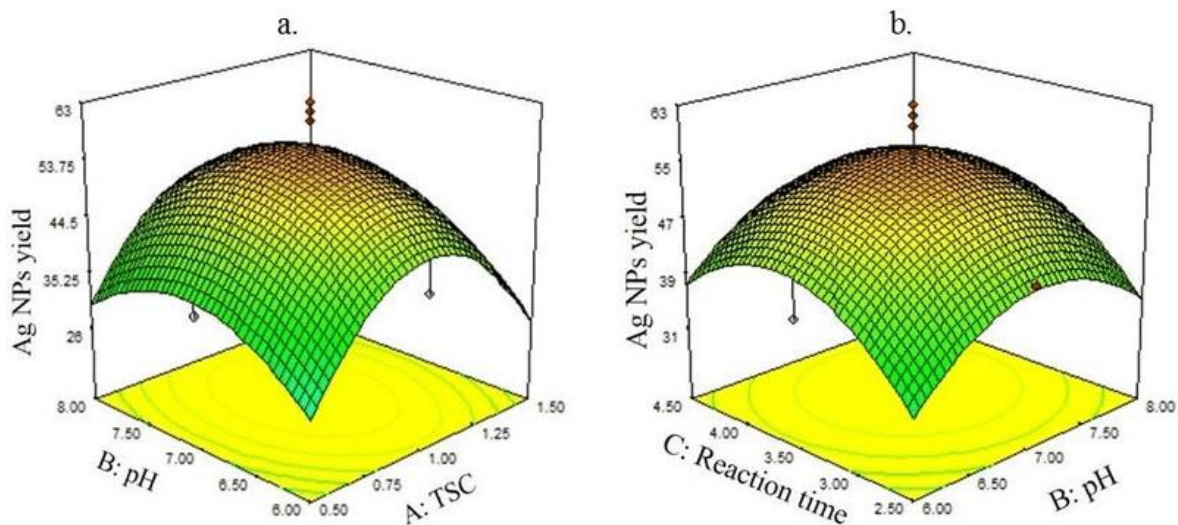
Optimizacija procesa predstavlja jedan od ključnih alata u razvoju ekonomičnih tehnologija pri proizvodnji fermentisanih proizvoda. Radi ostvarivanja bolje kontrole procesa fermentacije, razvijeno je više matematičkih modela koji opisuju dati proces, pri čemu se vrši izbor i podešavanje odgovarajućih parametara procesa. Kinetički modeli alkoholne fermentacije daju matematički opis procesa pri različitim uslovima temperature, pH vrijednosti, aeracije, miješanja, korekcije parametara, regulacije nivoa pjene i drugih. Ovo omogućava smanjenje troškova proizvodnje i povećanje kvaliteta finalnog proizvoda. Gompertz-ov matematički model može da se primjeni kod predviđanja kinetike fermentacije različitih supstrata (Dodić i sar., 2012).

Uobičajena metoda optimizacije uključuje promjenu jednog po jednog parametra dok se ostali održavaju konstantnim. Nedostatak ovakve metode je taj što se ne uključuju interaktivni efekti među varijablama i ne prikazuju se kompletni efekti parametra na proces, te se sve češće primjenjuje metodologija odzivnih površina (Khuri, 2017).

Metodologija odzivnih površina (RSM ili response surface methodology) spada u najčešće korištene postupke statistički planiranih eksperimenata. Ovaj postupak su uveli Box i Wilson (1951), a kasnije ga je popularizovao Montgomery, a definiše se kao empirijska statistička tehnika primjenjena za regresionu analizu podataka, dobijenih iz adekvatno planiranih eksperimenata simultanim rješavanjem sistema jednačina (Jokić, 2010).

RSM metoda je skup statističkih i matematičkih tehnika koje se koriste pri dizajniranju eksperimenata za adekvatno predviđanje odziva, za fitovanje hipotetičkog, odnosno empirijskog modela u eksperimentalno dobijene podatke prema izabranom dizajnu ili za optimizaciju uslova odvijanja datog procesa, odnosno odgovarajući izbor ulaznih promjenljivih koji dovode do željenog odziva zavisne promjenljive (Khuri, 2017). Kada se jednom ustanovi zakonitost ili odnos nezavisnih varijabli preko matematičkog oblika odzivne funkcije, takav oblik opisa pojave može poslužiti za donošenje konkretnih zaključaka o prirodi pojave i biti dobra podloga optimizaciji pomoću poznatih metoda optimizacije. Konačni cilj RSM-a je određivanje optimalnih uslova procesa i sistema ili utvrđivanje područja faktora u kojem su

radne specifikacije ili ograničenja zadovoljena (Sertić, 2015). Takođe, cilj je da se optimizuje odgovor na koji utiče nekoliko nezavisnih promjenljivih (ulazne promjenljive) (Jokić, 2010).

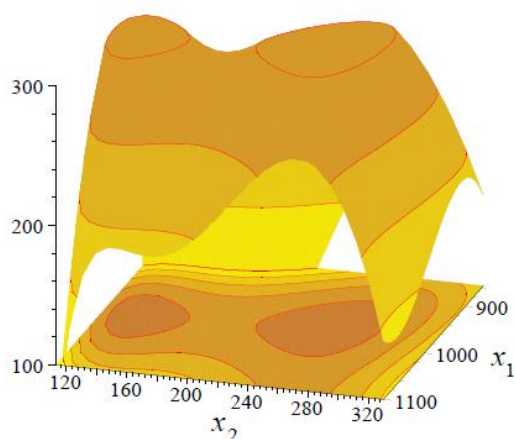


Slika 2.4. Trodimenzionalni prikaz odzivne površine (Chowdhury i sar., 2016)

Prvobitno, RSM je razvijen za modelovanje eksperimentalnih odgovora, a zatim se proširio na modelovanje numeričkih eksperimenata, a razlika je u vrsti greške koju generiše odgovor. U fizičkim eksperimentima, netačnost može biti uzrokovana na primjer greškama u mjerenju, dok je u računarskim eksperimentima, numerički šum rezultat nepotpune konvergencije iterativnog procesa i nastaje zbog greški u zaokruživanjima. Za RSM se pretpostavlja da su greške slučajne (Jokić, 2010).

Sušтина statističkog planiranja eksperimenata je u pronalaženju optimalnog rješenja, odnosno modela, čak i kad nije moguće utvrditi deterministički matematički model. Definisane značajnosti pojedinih faktora moguće je uraditi pomoću Studentovog t-testa, odnosno t-vrijednosti povezanih sa svakim od koeficijenata polinoma, koje ukazuju koji faktori su značajni odnosno koje od interakcija su bitne za posmatrani odziv. Najjednostavniji polinom koji se može primjeniti je polinom prvog reda koji u obzir uzima samo linearne uticaje pojedinačnih faktora. Ako se kao krajnji cilj postupka uzme pronalaženje optimalnog rješenja onda je neophodno koristiti polinome drugog reda za opisivanje odabranih odziva. Tada svaki od posmatranih faktora mora da ima tri ili pet nivoa vrijednosti u zavisnosti od primjenjenog eksperimentalnog plana. Najčešće se u istraživanjima koriste sledeći planovi: Box-Behnken dizajn (BBD), centralni kompozitni plan (CCD), potpuni eksperimentalni plan i dr. (Jokić, 2010).

Najranija tehnika RSM zahtijeva centralne kompozitne dizajne za crtanje 2D ili 3D odzivnih površina, modelovane pomoću kvadratne i/ili polinomske faktorijalne jednačine. RSM odgovor (rješenje) se može predstaviti grafički, bilo u trodimenzionalnom prostoru ili konturnim parcelama koje pomažu vizualizovati oblik odzivne površine. Konture su krive linije konstantnog odgovora nacrtane u x_i , x_j ravnima zadržavajući sve ostale promjenljive. Svaka kontura odgovara određenoj visini odgovora, kao što je prikazano na Slikama 2.4 i 2.5. Odzivna površina prikazuje se grafički u cijelom eksperimentalnom području, području mogućih kombinacija faktora. (Nakai i sar., 2006).



Slika 2.5. Trodimenzionalna površina odgovora i odgovarajuća konturna ploča (Nakai i sar., 2006)

Odzivne funkcije su polinomskog oblika s obzirom da se kvalitet fitovanja eksperimentalnih podataka može poboljšati povećanjem stepena polinoma. Ovakvi modeli su posebno pogodni za rješavanje optimizacionih problema s obzirom da je njima moguće opisati interakcije velikog broja faktora, a i procjena kvaliteta fitovanja polinomskih modela se može lako odrediti (Jokić, 2010).

Prvi korak u RSM metodi je pronalaženje odgovarajućeg približavanja pravoj vezi. Najčešći oblici su polinomi nižeg reda (prvi ili drugi). Prednost je što se struktura aproksimacije ne pretpostavlja unaprijed, već nastaje kao dio rješenja, što dovodi do kvaliteta funkcionalne strukture. Pored toga, kompleksnost funkcije nije ograničena na polinom, nego se može generalizovati uključivanjem bilo kog matematičkog operatora (npr. trigonometrijske funkcije), u zavisnosti od inženjerskog razumijevanja problema. To su regresioni koeficijenti uključeni u aproksimacioni model i procjenjuju se smanjenjem sume kvadrata greške. Konstrukcija modela odzivnih površina je iterativni proces. Kada se dobije približan model, vrši se procjena da li je rješenje zadovoljavajuće. Ako nije, proces aproksimacije se ponovo pokreće ili se model razvija sa drugim parametrima (Nakai i sar., 2006).

Važan korak u RSM metodi je aproksimacija eksperimentalnih podataka odgovarajućim modelom. Ako je odziv moguće dobro modelovati linearnom funkcijom, tada je dobijena aproksimacijska funkcija modela prvog reda:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot x_1 + \beta_2 \cdot x_2 + \dots + \beta_i \cdot x_i + \varepsilon$$

Međutim, najčešće se upotrebljava model odziva drugog reda:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^l \beta_i \cdot x_i + \sum_{i=1}^l \beta_{ii} \cdot x_i^2 + \sum_{i < j} \sum_{i=2} \beta_{ij} \cdot x_i \cdot x_j + \varepsilon$$

Koeficijenti odzivne funkcije (modela) određuju se metodom najmanjih kvadrata. Nakon određivanja koeficijenata odzivne funkcije radi se analiza i test adekvatnosti odzivne

funkcije primjenom analize varijanse (ANOVA) čime se ističu oni faktori ili njihove interakcije koji značajno utiču na posmatrani proces (Adžić, 2014).

Osnovna procedura eksperimentalnog dizajna je da se izračuna ANOVA korištenjem faktorijalnih analiza. U naukama o živim sistemima, frakcioni dizajni su neophodni za efikasnu analizu radi troškova eksperimenta (Nakai i sar., 2006). Ova metoda se najčešće koristi pri analizi nezavisnih parametara između kojih se razlike ne mogu iskazati kvantitativno. Kod nezavisnih parametara čija se vrijednost izražava kvantitativno (npr. procesni parametri bioprocasa), potrebno je posmatranje cijelog raspona vrijednosti koje parametar može primiti, te onih vrijednosti koje nisu bile predviđene planom eksperimenta. Analiza varijanse je disperzioni statistički test kojim se ispituje da li rezultati, odnosno statistički uzorci, dolaze iz populacije s jednakim varijansama. Nula-hipoteza kod ANOVA-e podrazumijeva da su srednje vrijednosti unutar tretmana (npr. ista vrijednost jednog parametra, a drugi se mijenja) jednake i da pripadaju istoj populaciji, te da je varijacija između srednjih vrijednosti rezultat greške. Ukupna varijacija podataka je izražena preko zbira kvadratnih odstupanja pojedinih odziva (y_i) od srednje vrijednosti odziva (\bar{y}) za n slučajeva:

$$SS_{tot} = (x + a)^n = \sum_{k=0}^n (y_1 - \bar{y})^2$$

Analizom varijanse se ukupna varijacija podataka (SS_{tot}) razdjeljuje na doprinos parametara (SS_x) i doprinos slučajne greške (SS_e):

$$SS_{tot} = SS_x + SS_e$$

SS_x je ustvari zbir kvadratnih odstupanja od srednje vrijednosti između tretmana, a SS_e je zbir kvadratnih odstupanja od srednje vrijednosti između tretmana (Bujan, 2016).

Nakon pronalazjenja značajnih faktora ovim eksperimentalnim dizajnom, sljedeći cilj je da se pronade optimalna vrijednost koja se pojavljuje na odzivnoj površini. Shodno tome, vizualizacija zakrivljenosti površina odgovora zahtijeva više vrijednosti po faktoru nego što su obezbjeđene eksperimentima na tri nivoa. Postojala su dva različita mišljenja u pogledu pristupa za aproksimaciju odzivne površine i pronalazjenje optimuma, a to su proširenje i/ili nastavak eksperimentalnog dizajna koje prati uklanjanje krivih da bi se ilustrovale odzivne površine. Drugo mišljenje je „evolucijska operacija“ i njeni derivati da rotiraju pretragu prema optimalnom toku iterativnog pretraživanja.

RSM metoda može da se koristi za aproksimaciju eksperimentalnih i numeričkih rezultata. Potrebno je definisati funkciju aproksimacije i dizajn plana eksperimenta (Nakai i sar., 2006). RSM metoda se primjenjuje za razvoj, poboljšanje i optimizaciju različitih tehnoloških procesa. Primjenom metoda planiranja eksperimenta moguće je na brz, kontrolisan i razumljiv način naći optimalno rješenje problema, te ostvariti potpun uvid u proces, a dobijene rezultate jednostavno prikazati (Adžić, 2014).

Metoda odzivne površine koristi se i za opisivanje brojnih procesa. Modelovanje mikrofiltracije uglavnom se zasniva na primjeni klasičnog eksperimentalnog postupka odnosno variranja pojedinačnih faktora koji utiču na proces. Ovaj postupak korišten je za modelovanje uklanjanja bojenih materija iz sirupa šećerne repe pomoću ultra i nanofiltracije. Uspješna primjena ove metode demonstrirana za modelovanje i optimizaciju procesa uklanjanja bakra iz

vodenih rastvora primjenom ultrafiltracije te za optimizaciju prečišćavanja sojinog ulja primjenom keramičkih membrana. Proces pervaporacije uspješno je modelovan i optimizovan primjenom postupka odzivne površine, kao i izolovanju aroma piva tokom pervaporacije (Jokić, 2010).

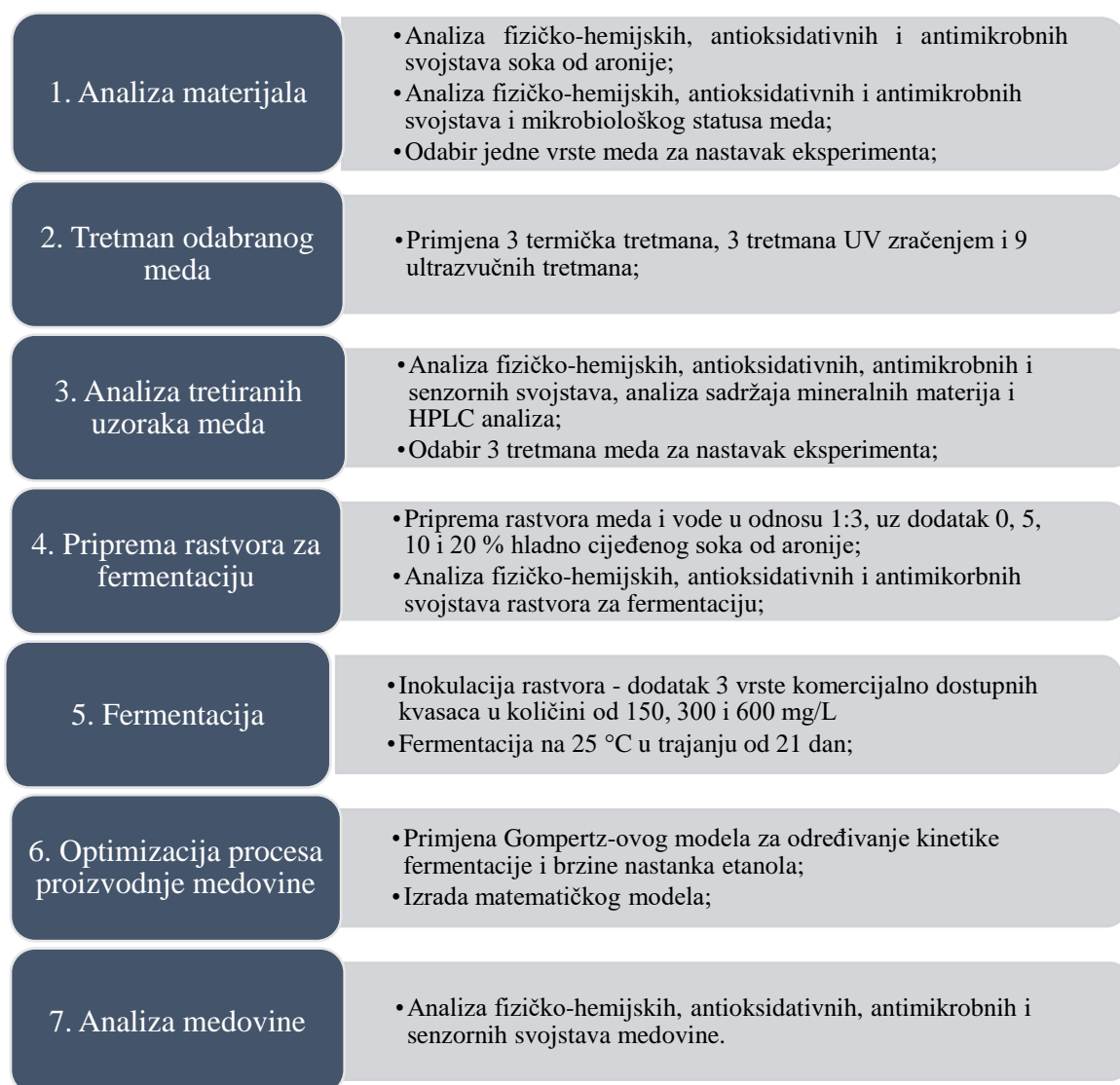
Gomes i sar. (2013) su koristili metodu RSM za određivanje optimalne temperature i koncentracije hranljivih sastojaka pri proizvodnji medovine. Kvadratni modeli su korišteni za analizu potrošnje glukoze i fruktoze i proizvodnju etanola, glicerola i sirćetne kiseline. Autori su zaključili da su temperatura i koncentracija hranljivih sastojaka značajni za proizvodnju glicerola i sirćetne kiseline, kao i potrošnju fruktoze i na potrošnju glukoze koja je u vezi sa proizvodnjom etanola. Srimeena i sar. (2016) su koristili metod RSM kako bi dobili pregled važnih faktora koji utiču na prinos etanola, čime su odredili optimalnu temperaturu, sadržaj šećera i dužinu trajanja fermentacije.

Greška RSM-a se definiše kao kumulativni efekat nekontrolisanih faktora koji su efekti nedefinisanih faktora, kao i bilo koji drugi faktori koji nisu izabrani tokom projektovanja eksperimenta. Međutim, najvažnija greška je ona koja bi kritički uticala na pouzdanost analize. Preporučuje se održavanje faktora što je moguće konstantnijim jer je ponovljivost analize izuzetno kritična. Obuka analitičara prije početka eksperimenta je minimalni preduslov, pošto povećanje ciklusa replikacije nije tako efikasna kao intenzivna obuka u smislu smanjenja veličine greške, što direktno utiče na pouzdanost odabira istinski uticajnih faktora (Nakai i sar., 2006).

3. MATERIJAL I METODE RADA

Ekperimentalni dio ove disertacije realizovan je najvećim dijelom u Laboratoriji za analizu namirnica, Laboratoriji za mikrobiologiju i Laboratoriji za instrumentalne metode na Tehnološkom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci. Dio istraživanja je urađen u Laboratoriji za ekotoksikologiju i analitiku pesticida na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci.

U navedenim laboratorijama su analizirani i tretirani svi uzorci meda, provedene pripreme rastvora za fermentaciju, izvršena fermentacija i analiza medovine po završetku fermentacije. Ekperimentalno istraživanje je podijeljeno na 7 koraka a šematski je prikazano na Slici 3.1.



Slika 3.1. Šematski prikaz eksperimentalnog dijela doktorske disertacije

3.1. Materijal

3.1.1. Med

U ovoj doktorskoj disertaciji su, kao sirovina, korištene tri različite vrste meda dobijene na području banjalučke regije, proizvedene tokom 2018. godine. Uzorci koji su korišteni su: cvjetni med koji je nabavljen kod lokalnog registrovanog proizvođača meda, zatim šumski med i medljikovac koji su nabavljeni u pčelarskoj poljoprivrednoj zadruzi “Matica” (Banja Luka, BiH) (Tabela 3.1.). Sve tri vrste meda su bile zapakovane u staklenim teglama zapremine 1000 mL. Za vrijeme eksperimentalnog rada, med je čuvan na tamnom mjestu na sobnoj temperaturi. Reprezentativnost uzoraka postignuta je miješanjem nekoliko nasumično odabranih tegli.

Tabela 3.1. Oznake tri različite vrste meda

Oznaka	Vrsta meda
C	cvjetni med
Š	šumski med
M	medljikovac

3.1.2. Hladno cijedeni sok od aronije

U eksperimentu je korišten hladno cijedeni sok od aronije, „Natural Aro“ proizvod poljoprivrednog gazdinstva „Vrhovac“ sa područja opštine Prnjavor, Republika Srpska. U toku proizvodnje sok nije zagrijavan nego je pakovan kao zamrznuti proizvod u plastičnu ambalažu zapremine 500 mL, kako bi se očuvala dobra antioksidativna svojstva proizvoda.

3.1.3. Kvasci za inokulaciju

Za proces fermentacije korištene su tri komercijalno dostupne vrste selekcionisanih kvasaca: Fermol Associates (AEB group, Italija) kao kombinacija *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces bayanus*, Spirifer (ERBSLÖH Geisenheim GmbH, Njemačka) gdje je radni mikroorganizam *Saccharomyces cerevisiae* i Fermol Lager (AEB group, Italija) gdje je radni mikroorganizam *Saccharomyces pastorianus*.

3.2. Postupak eksperimentalnih ogleda

3.2.1. Analiza materijala

U prvom koraku eksperimenta (Slika 3.1) izvršena je analiza hladno cijedenog soka od aronije i tri vrste meda. Analiza hladno cijedenog soka od aronije i meda je podrazumijevala analizu fizičko-hemijskih, antioksidativnih i antimikrobnih svojstava. Pored navedenih analiza, određen je i mikrobiološki status meda.

3.2.2. Tretmani meda

Nakon analize tri vrste meda, odabrana je jedna vrsta meda za dalji nastavak eksperimentalnog rada, koji je dalje podvrgnut različitim tretmanima koji su prikazani u Tabeli 3.2.

Termički tretmani meda su provedeni u staklenim čašama u vodenom kupatilu Precisterm (JP Selecta, Španija) na odgovarajućim temperaturama, određen vremenski period. Zamrzavanje je provedeno sipanjem meda u plastične epruvete sa navojnim čepom i skladištenjem u zamrzivaču, gdje je med ovako zamrznut čuvan do njegove analize. UV tretman meda je proveden na talasnoj dužini 254 nm. Med je sipan u Petrijeve posude u debljini sloja od 1-1,5 cm, a nakon toga stavljan u kutiju na čijem stropu je postavljena UV lampa (OSRAM, Njemačka). Ultrazvučni tretman je izvršen sipanjem meda u staklene čaše zapremine 100 mL u količini od 50 g. Med je zatim zagrijan na određenu temperaturu i tretiran ultrazvukom jačine 40 kHz određen vremenski period. Za potrebe ultrazvučnog tretmana korišteno je ultrazvučno kupatilo Ultrasonic Cleaner Set WUC-A03H (Witeg Labortechnik GmbH, Njemačka).

Tabela 3.2. Vrste tretmana meda i njihovi parametri

Oznaka	Vrsta tretmana	Temperatura	Dužina trajanja
T1	Termički tretman	65 °C	10 min
T2	Termički tretman	90 °C	1 min
T3	Zamrzavanje	-18 °C	do početka analize
T4	UV 254 nm	-	30 s
T5	UV 254 nm	-	1 min
T6	UV 254 nm	-	2 min
T7	Ultrazvuk 40 kHz	30 °C	1 min
T8	Ultrazvuk 40 kHz	45 °C	1 min
T9	Ultrazvuk 40 kHz	60 °C	1 min
T10	Ultrazvuk 40 kHz	30 °C	5 min
T11	Ultrazvuk 40 kHz	45 °C	5 min
T12	Ultrazvuk 40 kHz	60 °C	5 min
T13	Ultrazvuk 40 kHz	30 °C	10 min
T14	Ultrazvuk 40 kHz	45 °C	10 min
T15	Ultrazvuk 40 kHz	60 °C	10 min

3.2.3. Analiza tretiranih uzoraka meda

Treća faza eksperimentalnog dijela (Slika 3.1) podrazumijeva analizu tretiranih uzoraka meda i poređenje sa kontrolnim uzorkom. Pored prethodno navedenih analiza, izvršena je tečna hromatografija visokih performansi (HPLC analiza) i senzorna analiza svih 15 tretiranih uzoraka.

Na osnovu rezultata analize izvršena je analiza i obrada dobijenih rezultata korištenjem Design-Expert 11 programa (Stat-Ease, Inc. SAD) na osnovu koje su odabrana tri optimalna

tretmana meda od kojih je jedan tretman iz oblasti primjene različitih temperatura, jedan iz oblasti primjene UV zračenja i jedan iz oblasti ultrazvučnih tretmana.

3.2.4. Priprema rastvora za fermentaciju

Četvrta faza eksperimentalnog dijela (Slika 3.1) je podrazumijevala pripremu rastvora za fermentaciju, rastvaranjem tretiranog meda sa vodom u odnosu 1:3, čime je postignut sadržaj suve materije od 18,5 %. Za pripremu rastvora korištena je prokuvana i ohlađena destilovana voda u koju je prije kuvanja dodan nutrijent Vitamon Combi (ERBSLÖH Geisenheim GmbH, Njemačka).

Nakon rastvaranja medljikovca i vode, u rastvore za fermentaciju je dodan i hladno cijedeći sok od aronije koji je prije dodatka u rastvore pasterizovan na temperaturi 60 °C u trajanju od 10 min u vodenom kupatilu Precisterm (JP Selecta, Španija). Sok je zatim ohlađen i dodan u boce neposredno prije fermentacije, a količina dodanog soka je prikazana u Tabeli 3.3. Nakon dodatka soka, izvršena je analiza fizičko-hemijskih, antioksidativnih i antimikrobnih svojstava rastvora za fermentaciju.

Tabela 3.3. Oznake za količine dodanog soka od aronije u rastvore za fermentaciju

Oznaka	Količina soka
A	0 %
B	5 %
C	10 %
D	20 %

3.2.5. Inokulacija i fermentacija

U petoj fazi eksperimenta, izvršena je inokulacija polaznih rastvora sa tri komercijalno dostupna kvasca koja su navedena u Poglavlju 3.1.3 i prikazana u Tabeli 3.4. Kvasac je dodan prema uputstvu navedenom na proizvođačkoj specifikaciji.

Tabela 3.4. Oznake korištenih kvasaca

Oznaka	Kvasac
E	Fermol Associes
F	Spiriform
G	Fermol Lager

Na proizvođačkoj specifikaciji označena je preporučena količina od 300 mg/L. Kako bi se ispitalo uticaj količine kvasca na brzinu fermentacije, pored preporučene varirane su i količine od 150 i 600 mg/L, a oznake su prikazane u Tabeli 3.5.

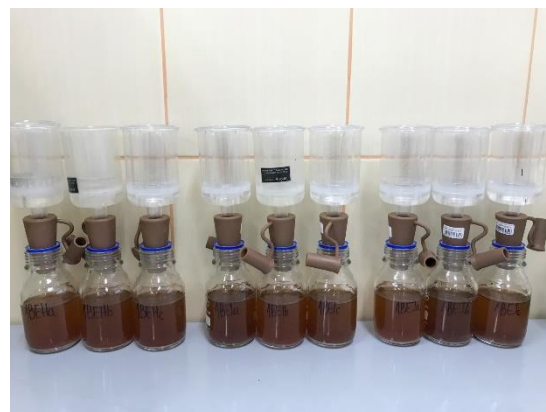
Tabela 3.5. Oznake za količine dodanih kvasaca

Oznaka	Količina kvasca (mg/L)
H	150
I	300
J	600

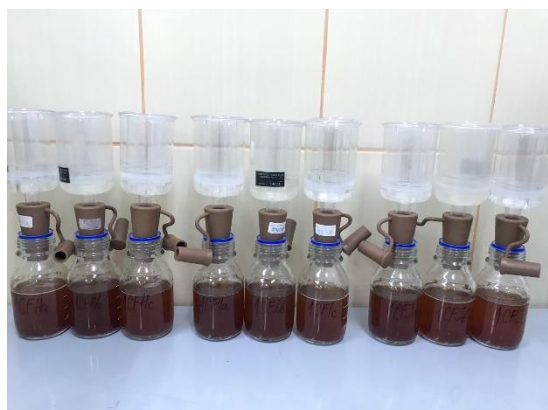
Nakon što je pripremljen osnovni rastvor sa 18,5 % suve materije, pokrenuta je fermentacija. U sterilne boce od 250 mL dodana je ukupna zapremina rastvora od 190 mL (osnovni rastvor + sok + hrana za kvasac). Podešavanje pH vrijednosti nije izvršeno zbog uticaja dodatka soka od aronije na pad pH vrijednosti. Na boce su stavljeni gumeni čepovi i vrenjače napunjene sa rastvorom K-metabisulfit. Priprema rastvora je izvršena u sterilnim uslovima uz korištenje plamenika. Odmah po dodatku kvasca boce su izvagane i stavljene u inkubator Cooled Incubator (Velp Scientifica, Švajcarska) na temperaturu od $25 \pm 0,5$ °C. Za svaki rastvor pripremljena su tri nezavisna ponavljanja.



Slika 3.2. Pripremljeni rastvori za fermentaciju uzoraka 1A



Slika 3.3. Pripremljeni rastvori za fermentaciju uzoraka 1B



Slika 3.4. Pripremljeni rastvori za fermentaciju uzoraka 1C



Slika 3.5. Pripremljeni rastvori za fermentaciju uzoraka 1D

Kako bi se ispratio tok procesa fermentacije, boce su vagane u određenim vremenskim intervalima. Istovremeno je u inkubator stavljena i kontrolna boca koja je bila napunjena sa destilovanom vodom, kako bi se izmjerila količina vode koja ispari na datoj temperaturi u inkubatoru u toku određenog vremena. Proces fermentacije je trajao 21 dan, nakon čega su pripremljeni uzorci za senzornu analizu, analizu fizičko-hemijskih, antioksidativnih i antimikrobnih svojstava. Uzorci za analizu su čuvani na temperaturi frižidera pri 4°C.

3.3. Metode

3.3.1. Metode fizičko-hemijskih, antioksidativnih, antimikrobnih i senzornih analiza

Određivanje sadržaja vode u polaznim i tretiranim uzorcima meda je izvršeno refraktometrijskom metodom (Pravilnik o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda, Sl. glasnik BiH 37/09).

Određivanje kiselosti polaznih i tretiranih uzoraka meda volumetrijskom metodom (Pravilnik o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda, Sl. glasnik BiH 37/09).

Potenciometrijsko određivanje pH vrijednosti polaznih i tretiranih uzoraka meda, hladno cijedenog soka od aronije, rastvora za fermentaciju i medovina.

Određivanje sadržaja pepela u polaznim i tretiranim uzorcima meda, gravimetrijski (Pravilnik o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda, Sl. glasnik BiH 37/09).

Određivanje električne provodljivosti polaznih i tretiranih uzoraka meda, potenciometrijski (Pravilnik o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda, Sl. glasnik BiH 37/09).

Određivanje sadržaja šećera u polaznim i tretiranim uzorcima meda, volumetrijski po Luff-Schoorlu (Pravilnik o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda, Sl. glasnik BiH 37/09).

Određivanje sadržaja hidrosimetilfurfurala u polaznim i tretiranim uzorcima meda, spektrofotometrijski (Pravilnik o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda, Sl. glasnik BiH 37/09).

Određivanje aktivnosti diastaze u polaznim i tretiranim uzorcima meda, spektrofotometrijski (Pravilnik o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda, Sl. glasnik BiH 37/09).

Određivanje aktiviteta vode u polaznim i tretiranim uzorcima meda na uređaju LabMaster (Novasina, Švajcarska).

Određivanje sadržaja mineralnih materija u polaznim i tretiranim uzorcima meda, spektrometrijski ICP-OES na instrumentu OPTIMA 8000 (Perkin Elmer, SAD).

HPLC analiza na instrumentu HPLC 1260 infinity (SAD) sa detektorom umreženih dioda (DAD) po metodi opisanoj u radu Hussein i sar. (2011).

Određivanje mikrobiološkog statusa meda prije tretmana prema ISO (International Standardisation Organisation) metodama podrazumijeva određivanje broja kvasaca i plijesni (BAS EN ISO 21527-1:2009; BAS EN ISO 21527-2:2009), enterobakterija (BAS ISO 21528-2:2013), aerobnih mezofilnih bakterija (BAS EN ISO 4833-1:2014) i sulfitoredujućih klostridija (BAS ISO 15213:2008) i FDA (Food and Drug Administration) metodama koje su u skladu sa ISO 17025 standardom. Vještački med je pripremljen otapanjem 39 g fruktoze, 31 g glukoze, 8 g maltoze, 3 g saharoze i 19 g destilovane vode (Majtan i Majtan, 2010)

Određivanje sadržaja ukupnih fenola u polaznim i tretiranim uzorcima meda, hladno cijedenom soku od aronije, rastvorima prije početka fermentacije i u medovinama, spektrofotometrijskom Folin-Ciocalteu metodom (Wolfe i Liu, 2003).

Određivanje sadržaja flavonoida u polaznim i tretiranim uzorcima meda, hladno cijedenom soku od aronije, rastvorima prije početka fermentacije i u medovinama, spektrofotometrijskom metodom (Ordonez i sar., 2006)

Ferric reducing/Antioxidant power (FRAP) test u polaznim i tretiranim uzorcima meda, hladno cijedenom soku od aronije, rastvorima prije početka fermentacije i u medovinama, spektrofotometrijskom metodom (Banzie i Strain, 1996).

2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) siamonium salt (ABTS) test u polaznim i tretiranim uzorcima meda, hladno cijedenom soku od aronije, rastvorima prije početka fermentacije i u medovinama, spektrofotometrijskom metodom (Re i sar., 1999).

2,2-diphenyl-1-picril-hydrazyl (DPPH) test u polaznim i tretiranim uzorcima meda, hladno cijedenom soku od aronije, rastvorima prije početka fermentacije i u medovinama, spektrofotometrijskom metodom (Brand-Williams i sar., 1995).

Antimikrobna svojstva u polaznim i tretiranim uzorcima meda, hladno cijedenom soku od aronije, rastvorima prije početka fermentacije i u medovinama, određene metodama agar-bunarčića i metodom razrjeđenja u agaru za određivanje vrijednosti minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) i minimalne baktericidne koncentracije (MBC) prema metodama EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2020) i Balouiri i sar. (2016) na bakterije: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 7004 i *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 iz kolekcije Laboratorije za bakteriologiju, mikologiju i parazitologiju Veterinarskog instituta Republike Srpske „Dr Vaso Butozan“ Banja Luka, Bosna i Hercegovina. Kulture su uzgajane u hranljivom bujonu i inkubirane 24 h na 37 °C, nakon čega su naciepljeni i uzgajani na hranljivom agaru naredna 24 h prema metodi Banzie i Strain (1996). Antibiotički diskovi koji su korišteni su Ampicilin (10

μg), Gentamicin (10 μg), Erythromycin (15 μg) i Ciprofloxacin (5 μg) proizvođača Mast Group Ltd (UK).

Određivanje sadržaja suve materije u hladno cijedenom soku od aronije, rastvorima za fermentaciju i medovinama, refraktometrijski.

Određivanje kiselosti u hladno cijedenom soku od aronije, rastvorima za fermentaciju i medovinama, volumetrijski, OIV referentna metoda.

Određivanje sadržaja usvojivog azota u rastvorima prije početka fermentacije, volumetrijski po metodi opisanoj u Pereira i sar. (2013).

Određivanje sadržaja pektina u hladno cijedenom soku od aronije, modifikovanom kolorimetrijskom metodom (Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza radi kontrole kvaliteta proizvoda od voća i povrća, Sl list SFRJ 29/83).

Određivanje sadržaja isparljivih kiselina u medovinama, volumetrijski, referentom OIV metodom OIV-MA-AS313-02, R-2015

Određivanje sadržaja etanola i metanola u medovinama, metodom gasne hromatografije GC/FID, na instrumentu Clarus 680 Perkin Elmer sa plameno jonizacionim detektorom (FID) detektorom, kolona Elite-Wax dužina 60 m, dijametar kolone 0,32, veličina punjenja 0,5, standardi apsolutni etanol i metanol, interni standard acetonitril. Temperatura injektora i detektora 250 °C, volumen uzorka 0,5 μL, temperaturni režim 45 °C 2 min, 45 °C/min do 245 °C 1 min. Ukupno vrijeme trajanja 7,44 min, protok 3 mL/min. Korištena je djelimično modifikovana metoda Wang i sar. (2003). Priprema uzoraka za analizu gasnom hromatografijom je izvršena prema Pravilniku o analitičkim metodama za jaka alkoholna i alkoholna pića, Sl. glasnik BiH 50/11.

Senzorna analiza polaznog i tretiranih uzoraka meda prema djelimično modifikovanoj kvantitativnoj deskriptivnoj ocjeni senzornih svojstava meda različitog nivoa kvaliteta po metodi opisanoj u Grujić (2015).

Senzorna analiza medovine (Pravilnik o postupku i metodama senzornog ocenjivanja vina, načinu obuke i provere stručne osposobljenih ocenjivača, Sl. glasnik RS 93/2015).

Lugolova reakcija, Lundova reakcija i Fiehe test su urađeni prema metodama opisanim u Almeida-Muradian i sar. (2013).

Za statističku analizu korišten je statistički softver IBM SPSS Statistics 23.0.

3.3.2. Proces optimizacije procesa fermentacije i izrada kinetičkog modela

Numerička optimizacija parametara procesa fermentacije i njihova stistička analiza je izvršena primjenom matematičkih alata Solver i Regression iz programskog paketa Microsoft Excel, primjenom nelinearne metode analize.

Produkcija etanola je opisana primjenom modifikovanog Gompertz-ovog modela, a kinetički parametri (P_m , $r_{p,m}$ i t_l) dobijeni su na osnovu fitovanja eksperimentalnih podataka u modifikovani Gompertz-ov model, kao i primjenom nelinearne regresione analize i ocjenom regresionih koeficijenata metodom najmanjih kvadrata.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

U prvom dijelu ovog poglavlja prikazani su rezultati analiza polaznih sirovina, koja je podrazumijevala fizičko-hemijska, antioksidativna i antimikrobna svojstva hladno cijedenog soka od aronije i tri vrste meda. Pored navedenog, u medu su analizirani mikrobiološki status, sadržaj mineralnih materija i kvalitativni testovi.

U drugom dijelu ovog poglavlja prikazani su rezultati analiza odabranog meda koji je tretiran primjenom 15 različitih tretmana od kojih su tri temperaturna tretmana, tri tretmana UV zračenjem i tri ultrazvučna tretmana. Analiza tretiranog meda je podrazumijevala rezultate fizičko-hemijskih, antioksidativnih, antimikrobnih i senzornih svojstava, kao i HPLC analizu. Nakon dobijenih rezultata, izvršeno je poređenje rezultata analiza tretiranih i netretiranog medljikovca, te izvršena optimizacija primijenjenih tretmana meda sa ciljem odabira po jednog tretmana unutar sve tri grupe.

U trećem dijelu ovog poglavlja su prikazani rezultati polaznih rastvora za fermentaciju, koja je podrazumijevala rezultate fizičko-hemijskih, antioksidativnih i antimikrobnih svojstava. Navedeni rezultati su korišteni za poređenje sa rezultatima analize medovine nakon završetka fermentacije, čime se teže otkriti jedinjenja nastala tokom procesa proizvodnje medovine.

Četvrti dio ovog poglavlja podrazumijeva rezultate izrade matematičkih modela u cilju optimizacije procesa proizvodnje medovine i razvijanje kinetičkog modela nastanka etanola na osnovu fitovanja eksperimentalnih podataka koji su podrazumijevali promjenu mase boca u određenom vremenskom periodu. Izdrada modifikovanog Gompertz-ovog modela uz primjenu nelinearne regresione analize i ocjenom regresionih koeficijenata metodom najmanjih kvadrata. Dobijeni matematički modeli su korišteni u cilju odabira optimalnog kvasca za navedene polazne rastvore za fermentaciju, te za praćenje uticaja količine dodanog kvasca i dodanog hladno cijedenog soka od aronije na brzinu toka alkoholne fermentacije.

U petom dijelu ovog poglavlja prikazani su rezultati analize medovine za odabranu vrstu kvasca. Analiza medovine je podrazumijevala analizu fizičko-hemijskih, antioksidativnih, antimikrobnih i senzornih svojstava finalnog proizvoda.

4.1. Rezultati analiza polaznih sirovina

4.1.1. Rezultati analiza hladno cijedenog soka od aronije

Plod aronije (lat. *Aronia melanocarpa*) danas predstavlja atraktivan istraživački materijal zbog mnogobrojnih benefita koje ima na ljudsko zdravlje, ali i zbog hemijskog sastava. Za potrebe eksperimenta korišten je komercijalni proizvod, hladno cijedeni sok od aronije, koji nakon cijedenja nije termički obrađen, nego je zamrznut i čuvan u zamrzivaču do njegove upotrebe, čime se teže očuvati dobra funkcionalna svojstva proizvoda. Sok od aronije je pri proizvodnji medovine dodan u količinama od 5, 10 i 20 %, te je iz tog razloga neophodno ispitati svojstva soka od aronije. Od fizičko-hemijskih analiza u soku od aronije izmjerena je pH vrijednost, kiselost, sadržaj suve materije i sadržaj pektina. Od antioksidativnih svojstava

izvršeno je određivanje sadržaja ukupnih fenola i flavonoida, FRAP, DPPH i ABTS testovi, a izvršeno je i testiranje soka na četiri bakterije, pri čemu su ispitane MIC i MBC vrijednosti.

4.1.1.1. Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstva hladno cijedenog soka od aronije

U Tabeli 4.1 su prikazani rezultati fizičko-hemijskih svojstava soka od aronije, gdje su navedeni rezultati kiselosti, pH vrijednosti, sadržaja suve materije i sadržaja pektina. Sadržaj kiselosti i pH vrijednost soka od aronije mogu da igraju važnu ulogu u fizičko-hemijskom sastavu polaznih rastvora za fermentaciju, što se posebno odnosi na pH vrijednost. Kako je prethodno navedeno, sok od aronije predstavlja kiseo proizvod sa niskom pH vrijednošću, tako da dodatak soka od aronije u rastvor meda i vode može da utiče na pH vrijednost polaznog rastvora. Ovo je važno iz razloga jer kvasci odgovorni za fermentaciju mogu da rastu i da se razmnožavaju pri odgovarajućim vrijednostima pH i sadržaja kiselina. U Tabeli 4.1. se može vidjeti da izmjerena kiselost u soku od aronije iznosi 10,29 g/L. Kako je analiziran hladno cijedeni sok od aronije, kome ništa nije dodano niti oduzeto, može se zaključiti da kiselost u soku potiče iz plodova aronije. Plodovi aronije u svom sastavu sadrže oko 1 do 1,5 % organskih kiselina, od kojih su najzastupljenije jabučna, vinska i limunska kiselina (Šnebergová i sar., 2014). Organske kiseline su nakon šećera veoma važna komponenta jer njihovo prisustvo i sastav utiču na senzorna svojstva (Denev i sar., 2018). Sosnowska i sar. (2016) u svom radu navode sadržaj organskih kiselina u granicama od 12,27 do 21,87 g/L u soku od aronije, što predstavljaju više vrijednosti u odnosu na vrijednost prikazanu u Tabeli 4.1.

Tabela 4.1. Rezultati fizičko-hemijske analize hladno cijedenog soka od aronije

Parametar	Sok od aronije
Kiselost (g/L)	10,29 ± 0,02
pH	3,33 ± 0,02
Sadržaj suve materije (%)	19,23 ± 0,01
Sadržaj pektina (%)	0,16 ± 0,00

Sadržaj organskih kiselina utiče na pH vrijednost soka od aronije. Izmjerena pH vrijednost u hladno cijedenom soku od aronije je 3,33, a slične rezultate navode autori Bolling i sar. (2015) koji su izmjerili pH vrijednost od 3,15 do 3,45. Nešto više vrijednosti od izmjerene se navode u radovima Tolić i sar. (2017) koji su za sok od aronije izmjerili pH vrijednost u granicama od 3,77 do 3,96, zatim Tolić i sar. (2018) koji navode vrijednosti pH od 3,54 do 3,92, kao i Sosnowska i sar. (2016) koji navode vrijednosti pH od 3,42 do 3,72. Ovako niske vrijednosti pH ukazuju da sok od aronije predstavlja kiseo proizvod koji u kombinaciji sa malim sadržajem šećera utiče na slabu prihvatljivost od strane potrošača (Tolić i sar., 2018).

Suva materija plodova aronije se najvećim dijelom sastoji od šećera, proteina, aminokiselina i lipida (Sidor i Gramza-Michałowska, 2019). U soku od aronije je izmjeren sadržaj suve materije koji iznosi 19,23 % (Tabela 4.1). Tolić i sar. (2018) navode sadržaj suve materije od 7,96 do 22,55 %, dok Tolić i sar. (2017) navode od 19,22 do 26,94 %, što predstavlja rezultate slične izmjerenim. Sidor i Gramza-Michałowska (2019) navode sadržaj suve materije u plodu aronije od 17,9 do 26 %, a u soku od 11,1 do 17,4 %. Ochmian i sar. (2012) navode

sadržaj suve materije u plodu od 15,3 do 19,5 %, od čega su od 14,2 do 18,7 % rastvorljive materije. Sadržaj suve materije u aroniji zavisi od sorte, zrelosti ploda, klimatskih uslova (Sidor i Gramza-Michałowska, 2019) i sastava zemljišta na kom je aronija uzgajana (Trenka i sar., 2020).

Miljić (2015) navodi da pektin koji potiče iz plodova voća može da bude uzrok povećanog sadržaja metanola u fermentisanim napicima. Plodovi aronije predstavljaju voće umjereno bogato pektinima, čiji sadržaj se kreće u granicama od 0,30 do 0,75 % (Trenka i sar., 2020). Adam i Versini (1996) navode da se cijedenjem soka iz plodova voća uklanja najveći dio pektinskih materija koje su najvećim dijelom smještene u voćnoj pulpi. Sadržaj pektina u analiziranom soku iznosi 0,16 %, što predstavlja manje vrijednosti u odnosu na literaturne podatke navedene za plod aronije.

4.1.1.2. Rezultati analiza antioksidativnih svojstava hladno cijedenog soka od aronije

Hladno cijedeni sokovi od svježeg voća sadrže važna polifenolna jedinjenja, najčešće antocijane, katehin i kvercetin (Boncheva i Turnovska, 2014). Zhu i sar. (2020) tvrde da je sadržaj polifenolnih jedinjenja u aroniji značajno veći u odnosu na druge vrste bobičastog voća kao što su borovnica i brusnica. Denev i sar. (2012) su poredili sadržaj antocijana u različitim vrstama voća, gdje su ustanovili da aronija ima značajno veće količine antocijana u odnosu na borovnicu, kupinu, malinu, grožđe i trešnju, dok su Jakobek i sar. (2007) potvrdili da je udio antocijana u aroniji skoro dvostruko veći nego u malini i jagodi. Aronija predstavlja bogat izvor antocijana, proantocijanidina i hidrokisicimetnih kiselina (Denev i sar., 2012), gdje su polimerni proantocijanini glavna grupa polifenolnih jedinjenja i predstavljaju 66 % polifenola u voću. Na sadržaj antocijana mogu uticati pH vrijednost, hemijski sastav, temperatura, svjetlost i kiseonik, posebno tokom prerade voća, najviše tokom cijedenja, bistrenja i pasterizacije pri preradi plodova u sok (Tolić i sar., 2017).

U Tabeli 4.2. su prikazani rezultati antioksidativnih svojstava soka od aronije, gdje se može vidjeti da je sadržaj ukupnih fenola u soku od aronije 3468,80 mg GAE/L. Tolić i sar. (2017) navode da sadržaj fenolnih jedinjenja u aroniji zavisi od sezone berbe i klimatskih uslova, te navode vrijednosti od 8563,8 do 12055,7 mg GAE/L. Efenberger-Szmechtyk i sar. (2020) navode sadržaj ukupnih fenola u plodu aronije oko 8615 mg GAE/L. Navedeni literaturni podaci ukazuju na nešto veće vrijednosti sadržaja ukupnih fenola u odnosu na rezultat prikazan u Tabeli 4.2. Razlog za ovo može biti gubitak pojedinih sastojaka tokom prerade plodova u sok. Jurikova i sar. (2017) su u soku od aronije izmjerili sadržaj ukupnih fenola od 690 do 2560 mg GAE/L, što predstavlja nešto niže vrijednosti u odnosu na vrijednost prikazanu u Tabeli 4.2. Visok sadržaj fenolnih jedinjenja u soku od aronije je važan jer se u istraživanjima potvrđuje njihov izrazit uticaj na smanjenje peroksidacije lipida plazme, uklanjanje slobodnih radikala i obnavljanje antioksidativnih enzima (Jurikova i sar., 2017).

Sadržaj flavonoida u soku od aronije je bio 2786,19 mg GAE/L (Tabela 4.2.). Tolić i sar. (2017) su u soku od aronije izmjerili sadržaj flavonoida od 6994 do 9710 mg GAE/L i ustanovili da postoje značajne razlike u sadržaju flavonoida u zavisnosti od sezone berbe. Oni

još navode da flavonoidi predstavljaju najzastupljeniju grupu fenolnih jedinjenja u aroniji, tačnije od 79,2 do 87,5 %. Veliki broj literaturnih podataka ukazuje da je od svih flavonoida u aroniji najzastupljeniji kvercetin (Denev i sar., 2012, Wilkes i sar., 2014), a Mikulić-Petkovšek i sar. (2012) navode da je najdominantniji derivat kvercetina galaktozid, a zatim glukozid.

Tabela 4.2. Rezultati antioksidativnih svojstava hladno cijedenog soka od aronije

Parametar	Sok od aronije
Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	3468,80 ± 28,28
Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	2786,19 ± 3,26
FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	30,78 ± 0,06
DPPH (µg TE/mL)	1548,33 ± 11,23
ABTS (mg TE/mL)	0,89 ± 0,01

Antioksidativna svojstva aronije potiču od fenolnih jedinjenja (Ciociou i sar., 2013). U Tabeli 4.2 su prikazani rezultati FRAP, DPPH i ABTS testova, gdje se vidi da vrijednost FRAP za sok od aronije iznosi 30,78 mmol Fe²⁺/mL. Tolić i sar. (2017) u soku od aronije navode vrijednosti FRAP od 128,2 do 179,5 mmol Fe²⁺/mL, što predstavlja veće vrijednosti u odnosu na vrijednosti prikazane u Tabeli 4.2. DPPH vrijednost u soku od aronije iznosi 1548,33 µg TE/mL, a ABTS 0,89 mg TE/mL. U literaturnim podacima postoji mali broj rezultata za DPPH i ABTS izraženih u jedinicama koje su korištene u ovom radu, te ne postoji mogućnost upoređivanja.

4.1.1.3. Rezultati antimikrobne analize hladno cijedenog soka od aronije

U Tabeli 4.3 su prikazani rezultati antimikrobnih svojstava soka od aronije na četiri analizirane bakterije, prikazani kao vrijednosti MIC i MBC. Na osnovu dobijenih rezultata se može vidjeti da su MIC vrijednosti iste za *S. aureus*, *B. cereus* i *P. aeruginosa* (< 20 % v/v), dok je za *E. coli* ova vrijednost viša (30 % v/v). Najniža MBC vrijednost je izmjerena za *P. aeruginosa* (30 % (v/v)), nešto viša za *S. aureus* (40 % (v/v)), dok su najviše vrijednosti izmjerene za *E. coli* i *B. cereus* (> 40 % (v/v)). Na osnovu navedenih vrijednosti može se vidjeti da hladno cijedeni sok od aronije, u pogledu MIC i MBC vrijednosti najizraženije antimikrobno dejstvo ima na bakteriju *P. aeruginosa*, dok najslabije na *E. coli*. Bräunlich i sar. (2013) navode da je većina uzoraka aronije pokazala bolju inhibiciju prema G (+) soju *B. cereus*, a manju prema G (-) soju *E. coli*, što se djelimično slaže sa dobijenim rezultatima. Liepiņa i sar. (2013) su u svom radu analizirali antimikrobna svojstva ekstrakta aronije na četiri bakterije koje su korištene i u ovoj doktorskoj disertaciji. Autori su došli do zaključka da je ekstrakt aronije pokazao aktivnost prema *B. cereus*, *S. aureus* i *P. aeruginosa*, dok za *E. coli* nije uočena aktivnost, iako Valcheva-Kuzmanova i Belcheva (2006) navode da aronija inhibira rast *E. coli*.

Denev i sar. (2019) navode da aronija ima jaka antimikrobna svojstva na širok spektar mikroorganizama. Na antimikrobna svojstva utiče sadržaj fenolnih kiselina, kinona, flavona, flavonoida, flavonola, tanina, kumarina, esencijalnih ulja, terpenoida i drugih jedinjenja (Liepiņa i sar., 2013). Liepiņa i sar. (2013) navode da je antimikrobna aktivnost fenolnih

komponenti u zavisnosti od pH vrijednosti uzrokovane slabim organskim kiselinama, iako Krisch i sar. (2008) navode da je korelacija između kiselosti i antibakterijskog djelovanja slaba.

Tabela 4.3. Rezultati antimikrobnih svojstava hladno cijedenog soka od aronije - minimalna inhibitorna (MIC) i minimalna baktericidna (MBC) koncentracija na rast bakterijskih kultura

Parametar	MIC % (v/v)	MBC % (v/v)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	30	> 40
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	< 20	40
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	< 20	> 40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	< 20	30

4.1.2. Rezultati analiza tri vrste meda

S obzirom da med predstavlja glavnu komponentu pri proizvodnji medovine, neophodno je bilo ispitati svojstva meda, prvenstveno analizu fizičko-hemijskih svojstava, ali i uraditi analizu antioksidativnih i antimikrobnih svojstava, kao i određivanje mikrobiološkog statusa meda. Rezultati navedenih analiza su poslužili u odabiru vrste meda pogodne za nastavak eksperimenta i provođenje procesa fermentacije.

4.1.2.1. Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstava tri vrste meda

Analiza fizičko-hemijskih svojstava tri vrste meda podrazumijevala je analizu predviđenu Pravilnikom o metodama za kontrolu meda i drugih pčelinjih proizvoda (Sl. glasnik BiH, 37/09). Hemijski sastav meda zavisi od cvjetnog izvora, sezonskih, ekoloških i poljoprivrednih uslova, klime, pčelinje vrste, kao i tretmana meda tokom ekstrakcije i skladištenja. Hemijska svojstva meda značajno utiču na hemijski sastav medovine, te je iz tog razloga bilo potrebno ispitati fizičko-hemijska svojstva tri odabrane vrste meda, sa ciljem odabira odgovarajuće vrste za nastavak eksperimenta.

U Tabeli 4.4 su prikazani rezultati sadržaja vode, aktiviteta vode (a_w), pH vrijednosti i kiselosti za tri analizirane vrste meda. Sadržaj vode u cvjetnom medu je 16,73 %, u šumskom medu 17,65 %, a u medljikovcu 18,50 %. Prema važećem Pravilniku (Sl. glasnik RS 101/15) dozvoljena količina vode u medu je do 20 %, na osnovu čega se može zaključiti da su sve tri uzorka meda u skladu sa važećim Pravilnikom. Sadržaj vode ima direktan uticaj na aktivnost mikroorganizama, tačnije na mogućnost kvarenja zbog pokretanja fermentacije u medu (Gomes i sar., 2009; Salazar i sar., 2017). Sadržaj vode veći od 20 % može ubrzati proces kristalizacije i povećati vrijednost aktiviteta vode, čime se omogućava rast i razvoj kvasca (Gomes i sar., 2009, Chua i Adnan, 2014). Sadržaj vode u medu zavisi od sezonskih uslova, stepena zrelosti

meda koji je postignut u košnici, klimatskih faktora (Kirs i sar., 2011) i uslova prikupljanja i prerade meda (Almeida-Muradian i sar., 2013). Prica i sar. (2014) su analizirali med sa područja Vojvodine, gdje su za cvjetni med izmjerili sadržaj vode od 16,0 do 19,2 %. Salazar i sar. (2017) su analizirali šumski med sa područja Rio Grande koji je imao sadržaj vode od 6,62 do 24,01 %, dok su Zappalla i sar. (2005) u šumskom medu utvrdili sadržaj vode od 15,8 do 18,0 %. Kukurová i sar. (2008) za šumski med navode sadržaj vode od 15,64 % do 17,88 %, a za medljikovac 15,50 %. Sadržaj vode u tri analizirana uzorka meda je sličan sa rezultatima u navedenim ispitivanjima, sa razlikom medljikovca, gdje je analizirani med u ovom radu pokazao veći sadržaj vode.

Tabela 4.4. Rezultati fizičko-hemijskih svojstava tri analizirane vrste meda

Uzorak	Sadržaj vode (%)	a_w	pH	Kiselost (mmol/kg)
C	16,73 ^a ± 0,02	0,548 ^a ± 0,001	3,95 ^a ± 0,01	16,83 ^a ± 0,76
Š	17,65 ^b ± 0,08	0,588 ^b ± 0,001	4,26 ^b ± 0,09	49,17 ^b ± 0,29
M	18,50 ^c ± 0,19	0,597 ^c ± 0,000	4,33 ^c ± 0,02	45,17 ^c ± 0,29

^{a,b,c} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)
C-cvjetni med; Š-šumski med; M-medljikovac

Važećim Pravilnikom (Sl. glasnik RS 101/15) nije regulisana vrijednost aktiviteteta vode, te samim tim za ovaj parametar nisu predviđene dozvoljene granične vrijednosti. Izmjerena vrijednost aktiviteteta vode u cvjetnom medu je 0,548, u šumskom medu 0,588, a u medljikovcu 0,597. Aktivitet vode manji od 0,60 ukazuje na dobru stabilnost meda jer je onemogućen rast mikroorganizama, dok vrijednosti veće od 0,60 pogoduju rastu kserofilnih plijesni, osmotolerantnih kvasaca i halofilnih bakterija (Scripcă i Amariei, 2021). Na razvoj kvasaca veći uticaj ima sadržaj slobodne, mikroorganizmima dostupne vode (čiji je pokazatelj aktivitet vode) nego ukupni sadržaj vode (Rockland i Beuchat, 1987). Gleiter i sar. (2006) su u svojoj studiji uporedili vrijednosti aktiviteteta vode za cvjetni med i medljikovac, u kojoj je ova vrijednost veća za medljikovac nego za cvjetni med, što je u skladu sa rezultatima dobijenim u ovom radu.

Pored aktiviteteta vode, važećim Pravilnikom (Sl. glasnik RS 101/15) se ne predviđa ni mjerenje pH vrijednosti meda, što znači da ni za ovaj parametar nisu predviđene dozvoljene granične vrijednosti. U Tabeli 4.4. su prikazane izmjerene pH vrijednosti za sve tri vrste meda, gdje za cvjetni med ona iznosi 3,95, za šumski med 4,26, a za medljikovac 4,33. Najviša vrijednost pH izmjerena je u medljikovcu, što se može objasniti specifičnim fizičko-hemijskim svojstvima i načinom dobijanja medljikovca, što u svom radu tvrde i Turhan i sar. (2008). pH vrijednost meda može da zavisi od pH vrijednosti nektara iz kog je med dobijen, od pH zemljišta ili biljke od koje je med proizveden (Salazar i sar., 2017). Niska pH vrijednost, koja je posljedica organskih kiselina, onemogućava rast velikog broja mikroorganizama (Bogdanov i sar., 2004). Kukurová i sar. (2008) su u svom radu analizirali različite vrste medova sa područja Slovačke, gdje se ova vrijednost za cvjetni med kretala u granicama od 3,50 do 4,10, za šumski med od 3,90 do 4,20, a za medljikovac 4,30. Rezultati za tri analizirane vrste meda su slične sa rezultatima u navedenoj literaturi.

Prema važećem Pravilniku (Sl. glasnik RS 101/15), maksimalno dozvoljena količina slobodnih kiselina u medu je 50 mmol/kg. Sadržaj slobodnih kiselina u analiziranom cvjetnom medu je 16,83 mmol/kg, u šumskom medu 49,17 mmol/kg, a u medljikovcu 45,17 mmol/kg, na osnovu čega se može zaključiti da su sve tri dobijene vrijednosti u skladu sa važećim Pravilnikom. Na kiselost meda utiču glukonska, sukcininska, jabučna, sirćetna, limunska, mravlja, folna i maslačna kiselina, koje najvećim dijelom potiču od pčela (Salazar i sar., 2017). Sadržaj kiselina u medu je obično nizak, dok visoka kiselost može da ukazuje na fermentacione procese u medu (Gomes i sar., 2009; Almeida-Muradian i sar., 2010). Prica i sar. (2014) su u svom radu istraživali cvjetni med sa područja Vojvodine, koji je sadržavao 21,12 mmol/kg slobodnih kiselina, dok Fallico i sar. (2008) za istu vrstu meda navode vrijednost 28,00 mmol/kg. Kukurová i sar. (2008) navode sadržaj slobodnih kiselina za cvjetni med od 7,10 do 30,21 mmol/kg, za šumski med od 12,82 do 20,84 mmol/kg, a za medljikovac 34,74 mmol/kg. Na osnovu rezultata dobijenih za tri analizirane vrste meda, kao i za literaturne navode, može se zaključiti da je sadržaj slobodnih kiselina u medljikovcu značajno veći nego u cvjetnom medu, što u svom radu tvrde i Turhan i sar. (2008).

Tabela 4.5. Rezultati fizičko-hemijskih svojstava tri analizirane vrste meda

Uzorak	Sadržaj pepela (g/100g)	Električna provodljivost (mS/cm)	Sadržaj HMF (mg/kg)	Aktivnost dijastaze	Sadržaj saharoze (%)
C	0,0714 ^a ± 0,00	0,327 ^a ± 0,00	6,2956 ^c ± 0,17	31,10 ^a ± 1,05	1,99 ^a ± 0,03
Š	0,3681 ^c ± 0,30	1,085 ^b ± 0,04	3,5564 ^a ± 0,15	44,75 ^b ± 0,12	2,13 ^b ± 0,09
M	0,3366 ^b ± 0,01	1,168 ^c ± 0,00	5,3200 ^b ± 0,25	47,67 ^c ± 0,32	2,01 ^a ± 0,00

^{a,b,c} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

C-cvjetni med; Š-šumski med; M-medljikovac

U Tabeli 4.5. prikazani su rezultati sadržaja pepela, električne provodljivosti, sadržaja HMF, aktivnost dijastaze i sadržaj saharoze u tri analizirane vrste meda. Prema važećem Pravilniku (Sl. glasnik RS 101/15) dozvoljeni sadržaj pepela iznosi 0,6 g/100 g meda, sa izuzetkom medljikovca čiji sadržaj može da iznosi maksimalno 1,2 g/100 g uzorka. U Tabeli 4.5. su prikazani rezultati sadržaja pepela tri analizirane vrste meda, gdje ova vrijednost za cvjetni med iznosi 0,0714 g/100 g, za šumski med 0,3681 g/100 g, a za medljikovac 0,3366 g/100 g meda, na osnovu čega se može zaključiti da navedeni rezultati ukazuju na usklađenost sa važećim Pravilnikom. Sadržaj pepela zavisi od geografskog i botaničkog porijekla meda, a ukazuje na sadržaj mineralnih materija u medu (Salazar i sar., 2017). Fallico i sar. (2008) u svom radu su analizirali cvjetni med za koji navode sadržaj pepela 0,12 g/100 g, što predstavlja više vrijednosti u odnosu na sadržaj pepela u cvjetnom medu analiziranom u ovom radu. Chua i Adnan (2014) su u svom radu za šumski med izmjerili sadržaj pepela u granicama od 0,20 do 0,27 g/100 g, što predstavljaju niže vrijednosti u odnosu na rezultate dobijene u ovom radu. Rehman i sar. (2008) su analizirali med porijeklom iz Pakistana gdje navode sadržaj pepela 0,30 g/100 g, što je u skladu sa rezultatima dobijenim za šumski med i medljikovac. Veća količina pepela je pronađena u medljikovcu u odnosu na cvjetni med, najvećim dijelom zbog

načina dobijanja medljikovca i njegovih fizičko-hemijskih svojstava, što su potvrdili i Almeida-Muradian i sar. (2013).

U Tabeli 4.5 su navedeni i rezultati analize električne provodljivosti, gdje za cvjetni med ona iznosi 0,327 mS/cm, za šumski med 1,085 mS/cm, a za medljikovac 1,168 mS/cm. Prema važećem Pravilniku (Sl. glasnik RS 101/15) maksimalno dozvoljena električna provodljivost je 0,8 mS/cm, osim za medljikovac kod koje se vrijednost 0,8 mS/cm navodi kao minimalno dozvoljena. Na osnovu dobijenih rezultata se vidi da šumski med nije u skladu sa važećim Pravilnikom, što može da se objasni višim sadržajem pepela u šumskom medu koji utiče na električnu provodljivost, što u svom radu tvrdi i Ngoi (2016). Pored pepela, na električnu provodljivost utiču sadržaj kiselina i proteina (Acquarone i sar., 2007; Gomes i sar., 2009, Kirs i sar., 2011). Fallico i sar. (2008) za cvjetni med navode vrijednost 0,33 mS/cm, dok Ciric i sar. (2018) za cvjetni med sa područja Bosne i Hercegovine navode 0,31 mS/cm. Slični rezultati za cvjetni med dobijeni su i u ovom radu. Kukurová i sar. (2008) su za šumski med dobili vrijednost od 0,211 do 0,656 mS/cm, što se razlikuje u odnosu na rezultate dobijene u ovom radu. Ciric i sar. (2018) su za medljikovac sa područja Bosne i Hercegovine dobili vrijednost od 0,27 mS/cm, a autori Kukurová i sar. (2008) su dobili vrijednost 0,987 mS/cm. Escriche i sar. (2008) navode da je električna provodljivost medljikovca veća nego kod ostalih vrsta meda zbog njegovog porijekla. Oni navode da pored medljikovca, šumski med može da ima veću kiselost i sadržaj pepela, čime su veće i vrijednosti električne provodljivosti, koje se razlikuju od cvjetnog meda, što je potvrđeno i u ovom eksperimentu.

Za cvjetni med sadržaj HMF je 6,2956 mg/kg, za šumski med 3,5564 mg/kg, a za medljikovac 5,3200 mg/kg. Važećim Pravilnikom (Sl. glasnik RS 101/15) dozvoljen je sadržaj HMF 40 mg/kg, što ukazuje da su svi navedeni uzorci u skladu sa važećom regulativom. HMF predstavlja parametar svježine meda, koji se povećava dužim stajanjem i zagrijavanjem (Buba i sar., 2013). Sadržaj HMF zavisi od temperature, vremena zagrijavanja, uslova skladištenja, pH vrijednosti, botaničkog porijekla meda (Fallico i sar., 2008; Almeida-Muradian i sar., 2013), sadržaja vode, prisustva metala, aminokiselina i šećera (Buba i sar., 2013). Buba i sar. (2013) su u svom eksperimentu za cvjetni med izmjerili sadržaj HMF 32,3 mg/kg, dok su Ciric i sar. (2018) u cvjetnom medu sa područja Bosne i Hercegovine izmjerili sadržaj HMF 30,79 mg/kg, a u medljikovcu 18,37 mg/kg. Rezultati u navedenim istraživanjima ukazuju na veće vrijednosti u odnosu na rezultate dobijene u ovom radu. Kukurová i sar. (2008) navode da se sadržaj HMF u cvjetnom medu kretao u granicama od 5,20 do 91,30 mg/kg, za šumski med u granicama od 11,70 do 60,60 mg/kg, a za medljikovac 4,40 mg/kg, što ukazuje na sličnost sa rezultatima dobijenim u ovom radu.

Prema važećem Pravilniku (Sl. glasnik RS 101/15) minimalno dozvoljena vrijednost aktivnosti dijastaze je 8. U ovom radu, za cvjetni med aktivnost dijastaze je 31,10, za šumski med 44,75, a za medljikovac 47,67, na osnovu čega se može zaključiti da su sva tri uzorka meda u skladu sa važećom regulativom. Aktivnost dijastaze, kao i HMF, predstavlja indikator starenja, odnosno parametar svježine meda, a može da ukazuje na pregrijavanje meda (Kirs i sar., 2011). Cvjetni med sa područja Bosne i Hercegovine koji su ispitivali Ciric i sar. (2018) je imao aktivnost dijastaze 23,37, dok Vorlova i Přidal (2002) u cvjetnom medu navode vrijednost 18,20. Zappala i sar. (2005) za šumski med navode vrijednosti od 13,7 do 20,0. Ciric i sar. (2018) za medljikovac navode vrijednosti aktivnosti dijastaze 12,73, a Vorlova i Přidal (2008) 24,60. Navedene literaturne vrijednosti ukazuju na niže vrijednosti u odnosu na

vrijednosti dobijene u ovom radu. Kako više vrijednosti ukazuju na svježinu meda, može se zaključiti da je med analiziran u ovom radu svjež, bez tragova značajnijeg pregrijavanja tokom procesa proizvodnje i skladištenja meda.

Sadržaj saharoze u cvjetnom medu je 1,99 g/100 g, u šumskom medu 2,13 g/100 g, a u medljikovcu 2,01 g/100 g. Prema važećem Pravilniku (Sl. glasnik RS 101/15) dozvoljen sadržaj saharoze u medu iznosi maksimalno 5 g/100 g, na osnovu čega se može zaključiti da su sva tri uzorka meda u pogledu ovog parametra u skladu sa važećom regulativom. Kukuřová i sar. (2008) za cvjetni med navode sadržaj saharoze od 1,41 do 9,43 g/100 g, za šumski med od 6,87 do 10,77 g/100 g, a za medljikovac 7,86 g/100 g. U poređenju sa navedenim literaturnim podacima može se zaključiti da je sadržaj saharoze manji u medovima analiziranim u ovom radu. Gomes i sar. (2009) veći sadržaj šećera objašnjavaju preranom berbom meda, odnosno prije nego što se saharoza razloži do prostijih šećera, glukoze i fruktoze.

4.1.2.2. Rezultati kvalitativnih testova tri vrste meda

Rezultati Fiehe testa, Lugol-ove i Lund-ove reakcije su prikazani u Tabeli 4.6. Lugol-ova reakcija se zasniva na reakcija joda i kalijum jodida u prisustvu glukoze. Pojava crveno ljubičaste do plave boje ukazuje na pozitivnu reakciju. Količina dekstrina glukoze u medu utiče na intenzitet obojenja. Ukoliko med nije vještački, nego je prirodni, ne dolazi do pojave boje (Almeida-Muradian i sar., 2013). Za sve tri analizirane vrste meda vidi se da je reakcija negativna, tačnije da nije došlo do pojave boje, čime se ukazuje na ispravnost meda, tačnije med nije falsifikovan, nego je proizveden na prirodan način, bez dodatka šećera i drugih komponenti u med.

Tabela 4.6. Rezultati kvalitativnih testova tri analizirane vrste meda

Uzorak	Lugol-ova reakcija	Lund-ova reakcija	Fiehe test
C	NR	PR	NR
Š	NR	PR	NR
M	NR	PR	NR

NR – negativna reakcija; PR – pozitivna reakcija
C-cvjetni med; Š-šumski med; M-medljikovac

Lund-ova reakcija se zasniva na taloženju proteina pod dejstvom taninske kiseline. Pojava taloga ukazuje na pozitivnu reakciju, tačnije na prisustvo prirodnog meda (Almeida-Muradian i sar., 2013). Rezultati prikazani u Tabeli 4.6 pokazuju da je za sva tri analizirana uzorka meda reakcija bila pozitivna, što ukazuje na njihovu ispravnost.

Fiehe test se zasniva na otkrivanju prisustva HMF koji je rezultat dehidracije fruktoze djelovanjem kiselina. Pojava crvene boje ukazuje na prisustvo veće količine HMF, što govori da je med podvrgavan termičkim tretmanima ili se skladišti duže vrijeme, dok negativan test ukazuje na svježinu uzorka meda (Almeida-Muradian i sar., 2013). Negativna reakcija ovog testa predstavlja kvalitativnu potvrdu sadržaja HMF u dozvoljenim količinama koji je potvrđen kvantitativnom metodom. Za sve tri analizirane vrste meda vidi se da je reakcija negativna, što znači da nije došlo do nastanka crvene boje, čime se smatra da su uzorci svježi.

4.1.2.3. Rezultati analize antioksidativnih svojstava tri vrste meda

Slobodni radikali su odgovorni za oksidaciju nukleinskih kiselina, proteina i lipida, te se smatra da predstavljaju potencijal za pokretanje degenerativnih bolesti. Antioksidansi imaju mogućnost eliminisanja slobodnih radikala prisutnih u biološkim sistemima. Takođe, hrana koja sadrži veću količinu antioksidanasa u svom sastavu može inhibirati ili odložiti oksidaciju. Različita istraživanja ukazuju da se med, zbog velikog broja antioksidativnih jedinjenja, koristi u terapijske svrhe (Monurizzman i sar., 2012). Med sadrži veliku količinu polifenola, tačnije jedinjenja koja sadrže aromatični prsten sa jednim ili više hidroksilnih supstituenata, a najviše su zastupljeni u obliku fenolne kiseline, flavonoida i njihovih derivata. Smatra se da ove komponente potiču od nektara, polena, medljike i propolisa (Parker i sar., 2016). Pored navedenih, na antioksidativna svojstva meda utiču i prisustvo askorbinske kiseline, katalaza, peroksidaza, karotenoidi, proizvodi Maillard-ove reakcije, α -tokoferol, aminokiseline (taurin, glicin, alanin, histidin), organske kiseline i drugo (Savatović i sar., 2011).

Antioksidativna aktivnost zavisi od botaničkog porijekla meda (Giorgiana i sar., 2008), procesa prerade, rukovanja i skladištenja meda (Savatović i sar., 2011). Savatović i sar. (2011) su, istražujući med sa područja Srbije, ustanovili da je antioksidativna aktivnost, pored sadržaja fenolnih jedinjenja, posljedica i sinergijskih i antagonističkih interakcija koje nastaju između fenolnih i nefenolnih jedinjenja, tačnije u reakciji fenolnih jedinjenja sa askorbinskom kiselinom, α -tokoferolom i karotenoidima.

Tabela 4.7. Rezultati antioksidativnih svojstava tri vrste meda

Uzorak	Fenoli (mg GAE/g)	Flavonoidi (mg GAE/g)
C	0,5317 ^a ± 0,0123	0,1383 ^a ± 0,0315
Š	1,1380 ^b ± 0,0129	0,5411 ^b ± 0,0207
M	1,4850 ^c ± 0,0238	0,8458 ^c ± 0,0052

^{a,b,c} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)

C-cvjetni med; Š-šumski med; M-medljikovac

Sadržaj fenola u cvjetnom medu je 0,5317 mg GAE/g, u šumskom medu 1,1380 mg GAE/g, a u medljikovcu 1,4850 mg GAE/g (Tabela 4.7). Na osnovu navedenih rezultata, može se vidjeti da je najveći sadržaj ukupnih fenola izmjereno u uzorku medljikovca, te da se ova vrijednost značajno razlikuje od cvjetnog meda, što u svom radu navode i Meda i sar. (2005). Pontis i sar. (2014) u svom radu ukazuju da postoji pozitivna korelacija između intenziteta boje, sadržaja fenola i antioksidativne aktivnosti. Pored tog, tvrde da medljikovac kao tamnija vrsta meda u odnosu na cvjetni med, pored više antioksidativne aktivnosti ima veći sadržaj ukupnih fenola, što je dobijeno i u ovom radu. Pontis i sar. (2014) su u svojoj studiji za med sa područja Brazila izmjerili sadržaj ukupnih fenola od 0,250 do 0,548 mg GAE/g. Bertoncelej i sar. (2007) za cvjetni med koji su analizirali u svom radu navode vrijednosti od 0,1268 do 0,1946 mg GAE/g, dok su Meda i sar. (2005) dobili vrijednosti od 0,3259 do 0,9366 mg GAE/g, a Halouzka i sar. (2016) od 0,412 do 0,723 mg GAE/g. Slični rezultati za cvjetni med dobijeni su i u ovom radu. Analizom medljikovca, Meda i sar. (2005) su izmjerili vrijednosti od 1,1305 do 1,1475 mg GAE/g, a Halouzka i sar. (2015) od 0,324 do 1,456 mg GAE/g, što takođe ukazuje

na sličnost sa rezultatima dobijenim u ovom radu. Razlike koje se pojavljuju u vrijednostima između istih vrsta meda mogu da se objasne različitim geografskim porijeklom analiziranih uzoraka, botaničkim porijeklom, klimatskim uslovima, ali i različitim postupcima prerade i skladištenja meda (Halouzka i sar., 2016).

Flavonoidi predstavljaju važnu grupu polifenola. Najzastupljeniji flavonoidi su flavoni, flavanoni, katehini i antocijani (Parker i sar., 2016). Rezultati dati u Tabeli 4.7 pokazuju da je sadržaj flavonoida u cvjetnom medu bio 0,1383 mg GAE/g, u šumskom medu 0,5411 mg GAE/g, dok je najviši sadržaj flavonoida izmjeren u medljikovcu 0,8458 mg GAE/g. Literaturni podaci ukazuju da je u velikom broju studija analiziran sadržaj flavonoida, koji ne mogu da se porede sa rezultatima dobijenim u ovom radu jer je izražavanje rezultata različito. Jovanović (2015) je analizirao različite vrste meda gdje ukazuje da je sadržaj flavonoida nekoliko puta veći u šumskom medu u poređenju sa cvjetnim medom, dok Halouzka i sar. (2016) navode da analizirajući različite medove, najveći sadržaj flavonoida je dobijen za medljikovac, dok su šumski i cvjetni med imali manji sadržaj. Može se vidjeti i da sadržaj flavonoida raste sa porastom sadržaja ukupnih fenola, što dodatno ukazuje na pozitivnu korelaciju između ova dva parametra, a što je prikazano u Tabeli 4.9.

Rezultati FRAP testa su prikazani u Tabeli 4.8. Najniža vrijednost za FRAP je izmjerena u cvjetnom medu 1,6465 mmol Fe²⁺/g, zatim u šumskom medu 6,0293 mmol Fe²⁺/g, dok je najviša vrijednost izmjerena u medljikovcu 8,0403 mmol Fe²⁺/g. Giorgiana i sar. (2008) su za cvjetni med izmjerili vrijednost FRAP od 0,0074 do 0,0371 mmol Fe²⁺/g, a za medljikovac 0,0072 do 0,0651 mmol Fe²⁺/g, dok Alvarez-Suarez i sar. (2010) za različite vrste meda navode od 0,0005 do 0,0019 mmol Fe²⁺/g. Navedeni literaturni podaci ukazuju na niže vrijednosti u odnosu na rezultate dobijene u ovom radu. Na osnovu dobijenih rezultata može se vidjeti da je sa porastom sadržaja ukupnih fenola i flavonoida došlo do porasta FRAP vrijednosti. Više vrijednosti FRAP ukazuju na veću antioksidativnu aktivnost analiziranog uzorka. Na osnovu ovog testa, najviša antioksidativna aktivnost je dobijena za uzorak medljikovca.

Tabela 4.8. Rezultati antioksidativnih svojstava tri vrste meda

Uzorak	FRAP (mmol Fe ²⁺ /g)	DPPH (mg/g)	ABTS (g/mg)
C	1,6465 ^a ± 0,0072	0,0310 ^a ± 1,3688	0,0298 ^b ± 0,0066
Š	6,0293 ^b ± 0,1041	0,1584 ^b ± 0,0008	0,0066 ^a ± 0,0001
M	8,0403 ^c ± 0,0809	0,1865 ^c ± 0,0008	0,0044 ^a ± 0,0006

^{a,b,c} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)
C-cvjetni med; Š-šumski med; M-medljikovac

DPPH je slobodni radikal, stabilan na sobnoj temperaturi koji u prisustvu antioksidansa gubi stabilnost i biva uništen. Sposobnost uklanjanja slobodnih radikala određuje antioksidativnu aktivnost uzorka u kom se nalazi (Pontis i sar., 2014). Rezultati DPPH testa su prikazani u Tabeli 4.8. Za cvjetni med je DPPH testom izmjerena najniža vrijednost od 0,0310 mg/g meda. Nešto viša vrijednost je izmjerena u uzorku šumskog meda 0,1584 mg/g, dok je najviša vrijednost izmjerena za medljikovac 0,1865 mg/g, što ukazuje na značajnu statističku razliku. Na osnovu ovih rezultata vidi se da su više vrijednosti DPPH dobijene za šumski med i medljikovac, za razliku od cvjetnog meda. Slične rezultate vidimo i u radu Jovanović (2015)

koji je istraživao med sa područja Srbije, te je na osnovu dobijenih rezultata zaključio da je viša antioksidativna aktivnost dobijena za šumski med u odnosu na cvjetni med. Takođe, Bertonecelj i sar. (2007) navode da je antioksidativna aktivnost prikazana u odnosu na DPPH bolja za šumski med u odnosu na cvjetni med, što ukazuje na sličnost sa eksperimentalno dobijenim rezultatima. Halouzka i sar. (2016) koji su primjenom različitih testova analizirali različite vrste meda, došli do zaključka da medljikovac pokazuje najveća antioksidativna svojstva u odnosu na sve analizirane vrste meda, što je potvrđeno i u ovom radu.

U Tabeli 4.8 prikazani su i rezultati ABTS testa, iskazani kao vrijednost IC_{50} . Ova vrijednost se odnosi na koncentraciju ispitivanog uzorka koja može da inhibira 50 % slobodnog radikala. Veća sposobnost neutralisanja slobodnih radikala ukazuje na niže vrijednosti ABTS, odnosno niže vrijednosti ABTS odgovaraju većoj antioksidativnoj aktivnosti (Pontis i sar., 2014). Vrijednost ABTS za cvjetni med je iznosila 0,0298 g/mg, za šumski med 0,0066 g/mg, a za medljikovac 0,0044 g/mg. Na osnovu dobijenih rezultata, u pogledu ovog parametra, najbolju antioksidativnu aktivnost pokazuje uzorak medljikovca, a najnižu cvjetni med. Obzirom da niže vrijednosti ABTS ukazuju na veću antioksidativnu aktivnost, vidi se da je najviša antioksidativna aktivnost dobijena u uzorku medljikovca, zatim šumskog meda, dok je najniža vrijednost dobijena za cvjetni med.

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabelama 4.7 i 4.8, koji se odnose na sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, kao i FRAP, DPPH i ABTS testove, može se konstatovati da je najveća antioksidativna aktivnost izmjerena u uzorku medljikovca. Nešto niža antioksidativna aktivnost je izmjerena u šumskom medu, a najniža u cvjetnom medu. Rezultati koji su izmjereni se slažu sa tvrdnjama da tamnije vrste meda imaju veći sadržaj ukupnih fenola i flavonoida, kao i jača antioksidativna svojstva, dok svjetlije vrste meda imaju slabija antioksidativna svojstva, kao i manji sadržaj ukupnih fenola i flavonoida, što u svom radu navode Pontis i sar. (2014).

Tabela 4.9. Korelacija (Pearson-ov koeficijent korelacije – r) između sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti

Parametar	Sadržaj ukupnih fenola	Sadržaj flavonoida	FRAP	DPPH	ABTS
Sadržaj ukupnih fenola	-	0,996*	0,998*	0,981**	-0,958
Sadržaj flavonoida	-	-	0,990**	0,961**	-0,931
FRAP	-	-	-	0,990**	-0,973
DPPH	-	-	-	-	-0,996

* $p \leq 0,05$, ** $p > 0,05$

U Tabeli 4.9 je prikazana korelacija između sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti mjerene FRAP, DPPH i ABTS testovima. Regresiona analiza je pokazala da je sadržaj ukupnih fenola u jakoj korelaciji sa sadržajem flavonoida (0,996), FRAP (0,98) i DPPH rezultatima (0,98), dok je u negativnoj korelaciji sa ABTS (-0,958). Za razliku od ostalih rezultata antioksidativnih svojstava, niže vrijednosti ABTS ukazuju na veću antioksidativnu vrijednost, što opravdava negativnu korelaciju navedenih parametara sa vrijednostima ABTS. Sadržaj flavonoida je u jakoj korelaciji sa FRAP (0,99) i sa DPPH (0,961)

vrijednostima, dok se za ABTS ponovo pojavljuje negativna vrijednost (-0,931). Izrazito jaka korelacija se može uočiti i između FRAP i DPPH (0,989) vrijednosti.

4.1.2.4. Rezultati analiza mikrobiološkog statusa tri vrste meda

Sa mikrobiološkog aspekta, med se smatra veoma stabilnim proizvodom. Za njegovu stabilnost zaslužan je hemijski sastav, tačnije visok sadržaj šećera, niska vrijednost aktiviteta vode, izrazita kiselost i niska pH vrijednost, prisustvo vodonik peroksida i veliki broj različitih jedinjenja koja imaju inhibitornu ulogu (Gradvol i sar., 2015). Bez obzira na sve navedene faktore koji inhibitorno djeluju na mikroorganizme, med nije sterilan proizvod, što znači da pojedine vrste mikroorganizama mogu da opstanu u njemu. Najčešće su prisutni sporogeni oblici bakterija (*Clostridium* spp.) i kserofilni i osmofilni kvasci (Snowdon i Cliver, 1996). Adadi i Obeng (2017) kao razlog kontaminacije meda navode nedovoljno poštovanje higijene u toku proizvodnje meda ili neadekvatno skladištenje.

Tabela 4.10. Rezultati mikrobiološkog statusa tri vrste meda

Ispitivani mikroorganizmi	C	Š	M
Kvasci	ND	ND	ND
Plijesni	ND	ND	ND
Enterobakterije	ND	ND	ND
Aerobne mezofilne bakterije	ND	ND	ND
Sulfitoredukujuće klostridije	ND	ND	ND

ND – nije detektovano

C-cvjetni med; Š-šumski med; M-medljikovac

U Tabeli 4.10 su prikazani rezultati mikrobiološkog statusa tri analizirane vrste meda. Izvršene su analize na prisustvo kvasaca, plijesni, enterobakterija, aerobnih mezofilnih bakterija i sulfitoredukujućih klostridija. Ni u jednom od tri analizirana uzorka meda nije detektovana nijedna vrsta ispitivanih mikroorganizama, što ukazuje da je med odgovarajućeg mikrobiološkog kvaliteta i nekontaminiran, zbog čega je njihovo skladištenje jednostavnije. U pojedinim uzorcima meda koje su analizirali Adadi i Obeng (2017) nisu bile prisutne bakterije, tačnije med nije bio kontaminiran. Kao razlog oni navode nisku pH vrijednost, odnosno u medu koji je imao nižu pH vrijednosti nije ustanovljeno prisustvo bakterija dok su u medovima sa višim pH vrijednostima detektovane *E. coli* i *P. aeruginosa*, kao i bakterije iz rodova: *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Shigella* i *Klebsiella*.

4.1.2.5. Rezultati antimikrobnih analiza tri vrste meda

U Tabeli 4.11 su prikazani rezultati MIC/MBC vrijednosti tri analizirane vrste meda. Analizirajući rezultate prikazane u navedenoj Tabeli, primjećuje se da su uzorci pokazali različito dejstvo na četiri testirane bakterije. Najbolje dejstvo na *E. coli* je pokazao šumski med

(MIC 6,25 % (w/v) i MBC 12,5 % (w/v)), iako je istu vrijednost MIC imao i uzorak medljikovca, ali je njegova MBC vrijednost bila viša nego za uzorak šumskog meda. Na *S. aureus* najbolje dejstvo je pokazao šumski med (MIC 6,25 % (w/v) i MBC 12,5 % (w/v)). Šumski med i medljikovac su pokazali jednako dejstvo na *B. cereus* (MIC 6,25 % (w/v) i MBC 12,5 % (w/v)). Na *P. aeruginosa* najbolje dejstvo je pokazao šumski med (MIC 6,25 % (w/v) i MBC 6,25 % (w/v)), iako je istu vrijednost MIC pokazao i medljikovac. Rezultati za vještački med pokazuju da su sve bakterije bile inhibirane na 50 % (w/v) , izuzev *P. aeruginosa* (inhibirana na 25 % (w/v)), uz ostvareni baktericidni efekat kod G (-) bakterija pri koncentraciji od 50% (w/v) , dok je kod G (+) bakterija ta koncentracija iznosila više od 50 % . Ovo pokazuje da je na antimikrobno dejstvo testiranih uzoraka meda uticala ne samo visoka koncentracija šećera, već i druge materije koju su bile prisutne u medu. Uzimajući u obzir sve navedene rezultate, uzorak šumskog meda je pokazao najbolje rezultate antimikrobne aktivnosti.

Tabela 4.11. Rezultati antimikrobnih svojstava tri analizirane vrste meda (MIC i MBC vrijednosti) i antibiotskih diskova (prečnik zone inhibicije u mm)

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		<i>Bacillus cereus</i> WDCM 00151		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WDCM 00024	
	MIC % (w/v)	MBC % (w/v)	MIC % (w/v)	MBC % (w/v)	MIC % (w/v)	MBC % (w/v)	MIC % (w/v)	MBC % (w/v)
C	25	>25	25	>25	12,5	>25	12,5	25
Š	6,25	12,5	6,25	12,5	6,25	12,5	6,25	6,25
M	6,25	25	12,5	25	6,25	12,5	6,25	12,5
Vještački med	50	50	50	>50	50	>50	25	50
Etanol 80 % (w/v) (mm)	NA		NA		NA		NA	
Ampicilin 10 mg (mm)	33,00 ± 2,16		16,00 ± 4,39		10,88 ± 2,53		NA	
Ciprofloxacilin 5 mg (mm)	29,25 ± 2,99		37,00 ± 3,37		27,38 ± 3,54		33,33 ± 0,58	
Erytromycin 15 mg (mm)	27,75 ± 2,99		10,75 ± 1,50		24,50 ± 2,52		NA	
Gentamicin 10 mg (mm)	29,75 ± 1,90		25,50 ± 1,29		24,00 ± 2,53		21,33 ± 1,53	

NA – nema aktivnosti

C-cvjetni med; Š-šumski med; M-medljikovac

Veći dio antimikrobne aktivnosti vještačkog meda prouzrokovan je visokim sadržajem šećera u njemu, kao i niskom a_w vrijednošću. Kako je jedinu razliku u hemijskom sastavu između vještačkog meda i ostalih uzoraka meda u ovom radu činio sadržaj enzima i neperoksidnih supstanci (fenola, flavonoida, drugih organskih jedinjenja), kojih u vještačkom medu korištenom kao kontrolni uzorak nema, za pretpostaviti je da su ova jedinjenja zaslužna za veću antimikrobnu aktivnost svih uzoraka meda analiziranih u ovom radu u odnosu na vještački med. Montenegro i Mejías (2013) navode da na antimikrobnu aktivnost utiče

osmolarnost, pH vrijednost, proizvodnja H₂O₂, metilglioksal, antimikrobni peptid pčelinji defensin-1, lizozim, fenolne kiseline, flavonoidi i drugo. pH vrijednost meda se kreće u granicama od 3,2 do 4,5, što govori o kiselosti meda, koja inhibira rast većine bakterija i plijesni. Pored pH vrijednosti, dejstvom enzima glukoza oksidaze nastaje H₂O₂, jedinjenje koje ima najveću ulogu u antimikrobnom dejstvu meda. Pored peroksidne, postoji i neperoksidna antimikrobna aktivnost meda (Prica i sar., 2014). Najveća antimikrobna aktivnost šumskog meda može se objasniti udruženim djelovanjem neperoksidne i peroksidne antimikrobne aktivnosti, uz nisku koncentraciju vode, niske pH vrijednosti i visoke koncentracije šećera. Neperoksidna antimikrobna aktivnost omogućena je izuzetno visokom koncentracijom fenola i flavonoida u šumskom medu.

U dostupnoj literaturi se mogu naći različiti podaci o antimikrobnoj aktivnosti medljikovca. Dugalić-Vrndić i sar. (2005) su proučavali antimikrobnu aktivnost cvjetnog, šumskog i bagremovog meda koji su proizvedeni na području Srbije na bakterijske sojeve *Staphylococcus albus*, *Corynebacterium renalle* i kvasac *Candida albicans*. Rezultati ove studije ukazuju da najveću antimikrobnu aktivnost na *Staphylococcus albus* ispoljio šumski med, a nakon njega cvjetni med. Najsenzitivniji bakterijski sojevi na antimikrobno dejstvo meda u toj studiji bili su *E. coli* i *P. aeruginosa*, a najotporniji *B.cereus*. Vorlová i sar. (2005) u svojoj studiji su ispitivali različite vrste meda sa područja Češke, gdje navode da medljikovac pokazuje najveću antimikrobnu aktivnost u odnosu na ostale vrste meda. Pored tog, oni navode da postoji veća osjetljivost G (-) bakterija na medljikovac.

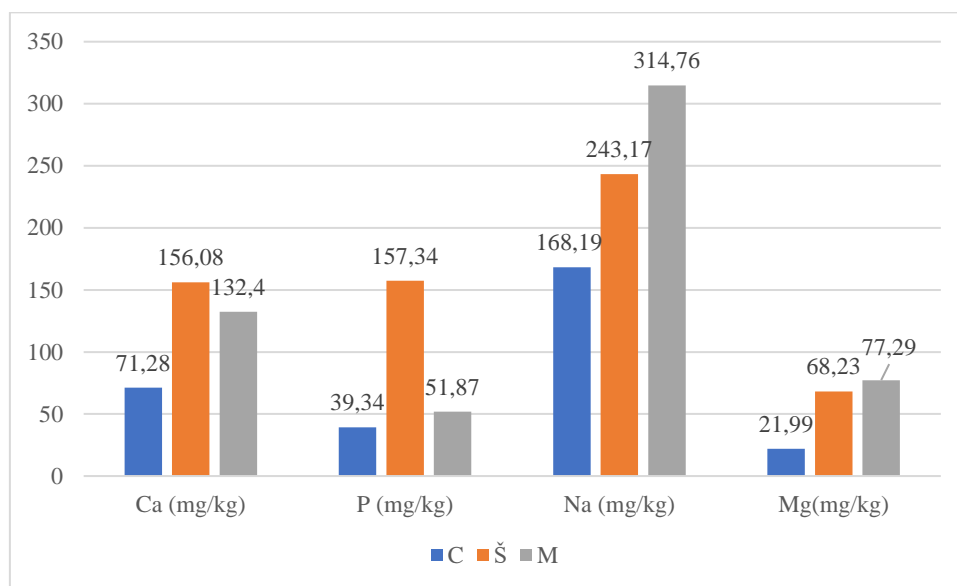
4.1.2.6. Rezultati analiza sadržaja mineralnih materija u tri vrste meda

Sadržaj mikro- i makro- elemenata u medu može da se kreće u granicama od 0,02 do 1,03 %, a često se izražava kao sadržaj pepela. Za normalan metabolizam čovjekovog organizma neophodni su elementi poput Se, Cu, Mn, Fe, Ni, Zn i drugi, dok se Pb, Cd i As smatraju toksičnim za čovjeka (Altun i sar., 2017). Dhahir i Hemed (2015) navode da su Na, K i Ca glavni elementi neophodni za normalan rad ljudskih ćelija. Bogdanov i sar. (2007) i Lazarević i sar. (2017) navode da se sadržaj mineralnih materija u svjetlijim vrstama meda, kao što je cvjetni med, kreće u granicama od 0,1 do 0,2 %, dok se za tamnije vrste meda, kao što je medljikovac, taj sadržaj kreće iznad 1 %. Slični rezultati su prikazani na Slikama 4.1 i 4.2, gdje se vidi da je za sve analizirane elemente, sa izuzetkom Zn i Al, sadržaj veći u medljikovcu i šumskom medu, nego u cvjetnom medu koji je svjetliji od navedenih vrsta meda.

Na Slikama 4.1 i 4.2 prikazani su rezultati sadržaja mineralnih materija određenih metodom ICP-OES. Anacleto i Marchini (2004) navode da je najzastupljeniji element u medu K, a nakon njega Ca, Na i Mg. Ca ima važnu ulogu za kalcifikaciju kostiju (Altun i sar., 2017), za nervni sistem, kontrakciju mišića, kao i za zgrušavanje krvi (Dhahir i Hemed, 2015). Najmanji sadržaj Ca pronađen je u cvjetnom medu gdje iznosi 71,28 mg/kg, nešto viši sadržaj je pronađen u medljikovcu - 132,40 mg/kg, a najviši sadržaj u šumskom medu - 156,08 mg/kg. Liberato i sar. (2013) su za ispitivane uzorke meda dobili vrijednosti od 16,67 do 87,54 mg/kg, dok Solayman i sar. (2016) navode više vrijednosti, od 4,85 do 218,00 mg/kg, u čiji opseg ulaze i medovi analizirani u ovom radu. Tarapatsky i sar. (2021) su za cvjetni med dobili sadržaj Ca

od 50,080 mg/kg, a za medljikovac 58,319 mg/kg, što predstavlja niže vrijednosti u odnosu na vrijednosti dobijene u ovom radu.

Sadržaj P u cvjetnom medu je 39,34 mg/kg, u šumskom medu 157,34 mg/kg, a u medljikovcu 51,87 mg/kg. Solayman i sar. (2016) su u analiziranim medovima pronašli sadržaj P u granicama od 28,80 do 118,50 mg/kg, što je u skladu sa rezultatima dobijenim u ovom radu. Niži sadržaj P vidimo u radu Coolborn i Adetoun (2016), koji je za analizirani med iznosio od 27,40 do 32,50 mg/kg.



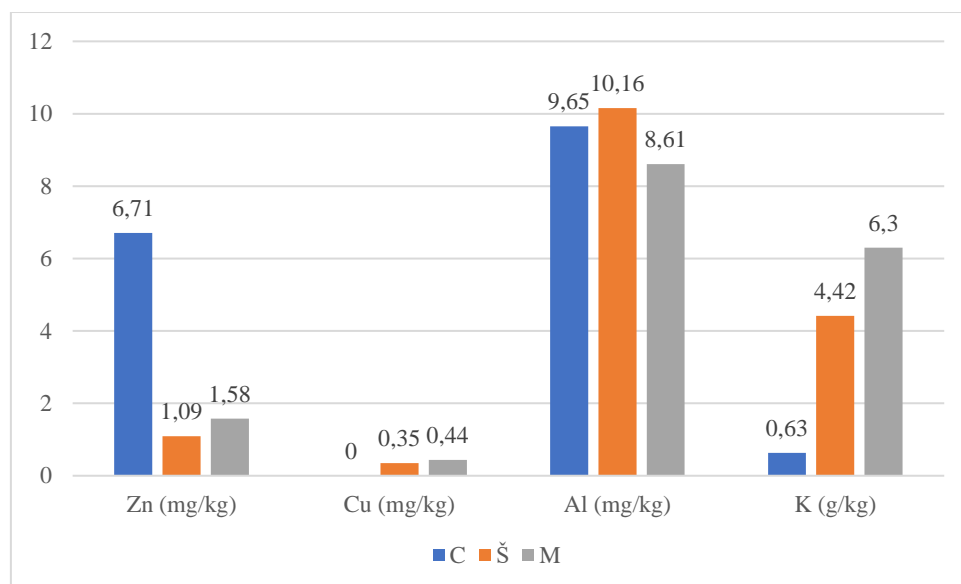
Slika 4.1. Sadržaj mineralnih materija u tri analizirane vrste meda (Ca, P, Na, Mg)
C – cvjetni med (plava boja); Š – šumski med (narandžasta boja); M – medljikovac (siva boja)

Natrijum u organizmu ima ulogu održavanja normalne funkcije ćelije, uz regulaciju kiselinsko-bazne ravnoteže, kao i za prenos nervnih impulsa (Altun i sar., 2017). Najmanji sadržaj Na je dobijen za cvjetni med gdje iznosi 168,19 mg/kg, zatim šumski med 243,17 mg/kg, dok je najviši sadržaj u medljikovcu - 314,76 mg/kg. Liberato i sar. (2013) navode sadržaj Na u cvjetnom medu u granicama od 2,10 do 23,10 mg/kg, dok Dhahir i Hemed (2015) za cvjetni med navode 85,20 mg/kg. Navedeni rezultati ukazuju na niže vrijednosti u odnosu na sadržaj Na u ispitivanom uzorku cvjetnog meda. U medu koji su ispitivali Altun i sar. (2017) sadržaj Na iznosi 2,92 mg/kg, Kováčik i sar. (2016) 8,49 mg/kg, a Coolborn i Adetoun (2016) 24,19 do 26,27 mg/kg. Sadržaj Na veći u analiziranim uzorcima u odnosu na literaturne navode može da se objasni različitim botaničkim, geografskim i ekološkim faktorima (Bogdanov i sar., 2007). Lazarević i sar. (2017) navode da najveća količina mineralnih materija u med dopijeva iz zemljišta na kom su uzgajane biljke na kojima je prikupljan nektar, što takođe može da bude jedan od razloga višeg sadržaja Na u analiziranim uzorcima.

Magnezijum se nalazi u sastavu velikog broja enzima koji su dio metabolizma proteina, ugljenih hidrata i lipida (Dhahir i Hemed, 2015). Od analiziranih uzoraka, najmanji sadržaj Mg pronađen je u cvjetnom medu (21,99 mg/kg), nešto viša vrijednost je u šumskom medu (68,23 mg/kg), a najviša vrijednost u medljikovcu (77,29 mg/kg). Tarapatsky i sar. (2021) za cvjetni med navode sadržaj Mg od 32,190, mg/kg, a za medljikovac 41,960 mg/kg, gdje vidimo sličnost

cvjetnog meda sa analiziranim uzrokom. Više vrijednosti sadržaja Mg su prikazane u radu Solayman i sar. (2016) i kreću se u granicama od 2,18 do 563,72 mg/kg, dok su niže vrijednosti navedene u radu Liberato i sar. (2013) gdje se kreću u granicama od 2,48 do 25,16 mg/kg.

Cink može da bude sastavni dio specifičnih enzima, a smatra se i antioksidansom (Altun i sar., 2017). Sadržaj Zn u cvjetnom medu je bio 6,71 mg/kg, u šumskom medu 1,09 mg/kg, a u medljikovcu 1,58 mg/kg, na osnovu čega se može vidjeti da je veći sadržaj ovog elementa pronađen u cvjetnom medu nego u šumskom medu i medljikovcu. Tarapatsky i sar. (2021) su u svom istraživanju izmjerili veći sadržaj ovog elementa u cvjetnom medu, nego u medljikovcu, što je u skladu sa rezultatima dobijenim u ovom radu. U svom radu, Solayman i sar. (2016) navode da se sadržaj Zn kreće u granicama od 0,26 do 73,60 mg/kg, u čijem rasponu se nalaze i rezultati uzoraka analiziranih u ovom radu. Niži sadržaj ovog elementa navode Coolborn i Adetoun (2016), u granicama od 1,64 do 2,06 mg/kg.



Slika 4.2. Sadržaj mineralnih materija u tri analizirane vrste meda (Zn, Cu, Al, K)
C – cvjetni med (plava boja); Š – šumski med (narandžasta boja); M – medljikovac (siva boja)

Bakar ima ulogu pri disanju eukariotskih organizama (Altun i sar., 2017). U ispitanim uzorcima je izmjeren sadržaj od 0,35 mg/kg u šumskom medu, a u medljikovcu 0,44 mg/kg, dok u cvjetnom medu ovaj element nije detektovan. Dhahir i Hemed (2015) u svom radu navode <0,1 mg/kg sadržaja Cu, što ukazuje na prisustvo malih količina ovog elementa u medu. Coolborn i Adetoun (2016) u svom radu su analizirali različite vrste meda, gdje su se izmjerene vrijednosti kretale u granicama od 0,66 do 1,18 mg/kg, dok su Solayman i sar. (2016) za pojedine uzorke izmjerili sadržaj od 0,05 do 17,30 mg/kg. Na osnovu navedene literature, može se zaključiti da je sadržaj Cu u medovima nizak, na šta ukazuju rezultati dobijeni u ovom radu.

Sadržaj aluminijuma se često vezuje za kontaminaciju koja nastane u kontaktu meda sa opremom prilikom prerade (Altun i sar., 2017). U cvjetnom medu sadržaj ovog elementa je 9,65 mg/kg, u šumskom medu 10,16 mg/kg, a u medljikovcu 8,61 mg/kg (Slika 4.2). Solayman i sar. (2016) u svom radu navode sadržaj ovog elementa od 1,39 do 11,36 mg/kg, što je u skladu sa

rezultatima dobijenim u ovom radu. Nešto niže vrijednosti navode Coolborn i Adetoun (2016), kod kojih se sadržaj Al kretao u granicama od 2,14 do 2,62 mg/kg.

Od mineralnih materija, najzastupljeniji je kalijum (45 do 85 % od ukupnog sadržaja mineralnih materija) (Lazarević i sar., 2017; Bogdanov i sar., 2007). Najmanji sadržaj K u analiziranim uzorcima je izmjeren u cvjetnom medu gdje je 0,63 g/kg, zatim u šumskom medu 4,42 g/kg, a najveća količina je izmjerena u medljikovcu 6,30 g/kg. Solayman i sar. (2016) u svom radu navode da se sadržaj ovog elementa u analiziranim medovima kreće u granicama od 0,0396 g/kg do 1,3493 g/kg, što je u skladu sa rezultatima cvjetnog meda analiziranog u ovom radu. Liberato i sar. (2013) navode sadržaj kalijuma u granicama od 0,0445 do 1,5133 g/kg, dok Tarapatsky i sar. (2021) u svom radu navode vrijednosti od 0,9486 do 2,2594 g/kg. Navedeni rezultati predstavljaju niže vrijednosti u odnosu na rezultate dobijene u ovom radu, što može da se objasni različitim uslovima u kojima je med proizveden.

Nizak sadržaj Cr, Ni, Cd i Pb najčešće ukazuje na nezagađenost okruženja u kom se sakupljao med ili u kojem su se nalazile košnice u toku prikupljanja meda (Altun i sar., 2017). Pored elemenata čiji su rezultati prikazani na Slikama 4.1 i 4.2, analiziran je i sadržaj As, Se, Fe, Mn, Ni, Cr, Pb i Cd, koji nisu detektovani ni u jednom od tri analizirane vrste meda. Matei i sar. (2004) su za analizirani med sa područja Rumunije naveli sadržaj Cr od 0,03 mg/kg do 0,71 mg/kg, Fe od 2,04 mg/kg do 2,91 mg/kg, Mn od 1,75 mg/kg do 2,23 mg/kg i Ni od 0,90 mg/kg do 2,03 mg/kg.

4.1.2.7. Odabir vrste meda za nastavak eksperimenta

Prethodno navedeni rezultati su predstavljeni i prodiskutovani sa ciljem da se od tri analizirane vrste meda izvrši odabir jedne vrste, pogodne za proizvodnju medovine sa poboljšanim funkcionalnim svojstvima. Iz tog razloga izvršena je analiza fizičko-hemijskih svojstava, kako bi se utvrdilo da li su osnovni parametri u skladu sa dozvoljenim vrijednostima i njihovim fiziološkim svojstvima. Na osnovu rezultata fizičko-hemijskih svojstava meda, sve tri vrste meda su u skladu sa važećim Pravilnikom, izuzev šumskog meda koji ima povišenu vrijednost električne provodljivosti. Rezultati ostalih analiza (sadržaj vode, kiselost, sadržaj HMF, sadržaj šećera, aktivnost dijastaze i sadržaj pepela) bili su u granicama dozvoljenih vrijednosti. To govori o ispravnosti sve tri vrste meda koje su analizirane. Pored fizičko-hemijskih analiza, rezultati kvalitativnih testova za sve tri vrste meda ukazuju na ispravnost meda, tačnije da je med proizveden prirodnim putem bez tragova falsifikovanja.

Kako je jedan od ciljeva ovog rada proizvodnja medovine sa dodatkom voćnog soka od aronije, kao proizvoda sa poboljšanim funkcionalnim karakteristikama, izvršena je analiza antioksidativnih i antimikrobnih svojstava sve tri vrste meda. Na osnovu rezultata analize antioksidativnih svojstava (sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, FRAP, DPPH i ABTS) može se vidjeti da su najbolje vrijednosti dobijene za medljikovac (uzorak M). Medljikovac je pokazao najviši sadržaj ukupnih fenola i flavonoida, te najviše vrijednosti FRAP i DPPH, a najniže vrijednosti ABTS. Nešto slabija antioksidativna svojstva ima uzorak šumskog meda, dok najslabiju antioksidativnu aktivnost ima cvjetni med. U nastavku eksperimenta određen je mikrobiološki status, a rezultati su pokazali da su svi ispitani uzorci meda bili odgovarajućeg mikrobiološkog statusa. Rezultati antimikrobnih analiza (MIC i MBC vrijednosti testirane za

četiri različite bakterije) ukazuju na slične MIC vrijednosti medljikovca i šumskog meda, izuzev za *Staphylococcus aureus*, gdje je niža vrijednost MIC dobijena za šumski med. Cvjetni med je pokazao najslabija antimikrobna svojstva.

Analizom sadržaja mineralnih materija je utvrđeno da je za najveći broj ispitivanih elemenata najniži sadržaj pronađen u cvjetnom medu (sa izuzetkom Zn i Al). Najveći sadržaj Na, Mg, K i Cu je detektovan u medljikovcu. Prisustvo veće količine mineralnih materija, posebno Mg, Zn i Ca, je pogodan za fermentacione procese, jer utiču na stopu konverzije šećera i predstavljaju kofaktore neophodne za neke od metaboličkih puteva u alkoholnoj fermentaciji. Svi prethodno navedeni rezultati predstavljaju preliminarne pokazatelje mogućnosti upotrebe različitih vrsta meda za proizvodnju medovine. S obzirom da je jedan od ciljeva rada bio da se proizvede medovina sa poboljšanim funkcionalnim svojstvima, antioksidativna i antimikrobna svojstva meda mogu da imaju veoma važnu ulogu u kvalitetu finalnog proizvoda. Iz navedenih razloga, za nastavak istraživanja je odabran medljikovac (uzorak M) zbog dobrih fizičko-hemijskih i najviših vrijednosti antioksidativnih svojstava. Pored toga, antimikrobna svojstva su pokazala zadovoljavajuće vrijednosti (posebno MIC vrijednosti), a ujedno sadržaj mineralnih materija govori u prilog odabiru ove vrste meda.

U prilog odabiru ove vrste meda, Pereira i sar. (2019) su eksperimentalno utvrdili da na proces proizvodnje medovine veliki uticaj ima vrsta meda, te da su medovine proizvedene sa tamnijim vrstama meda pokazale bolje rezultate u odnosu na medovine u kojima su korištene svjetlije vrste meda, najviše zbog visokog sadržaja mineralnih materija i više pH vrijednosti. Czabaj i sar. (2017) su naveli da vrsta meda može da utiče i na količinu etanola koja nastane u toku alkoholne fermentacije, te da medljikovac bolje fermentiše u odnosu na ostale vrste meda, što se objašnjava visokom električnom provodljivošću koja je potvrđena u eksperimentalnom dijelu ove doktorske disertacije, kao i visokim puferskim kapacitetom i sadržajem mineralnih materija koje medljikovac ima.

4.2. Rezultati analiza nakon tretmana odabrane vrste meda

Primjena različitih tretmana meda može da ima višestruku ulogu, od kojih je jedna uticaj na fizičko-hemijska svojstva meda, ali i mogućnost poboljšanja funkcionalnih svojstava meda, kako antioksidativnih, tako i antimikrobnih svojstva. Takođe, uloga tretmana može da bude i eliminisanje eventualno prisutnih mikroorganizama koji mogu dovesti do neželjene i nekontrolisane fermentacije meda. Kako je konačni cilj proizvodnja medovine, za pokretanje fermentacije je neophodno izvršiti obradu meda radi osiguranja nesmetane fermentacije, ispitani su uticaji različitih tretmana na medljikovac. Primijenjeni tretmani su podijeljeni u tri grupe, od kojih su jedna grupa termički tretmani, druga tretmani UV zračenjem, a treća grupa su tretmani ultrazvukom. U Tabeli 4.12 su date oznake korištenih tretmana.

Nakon što je medljikovac tretiran sa 15 različitih tretmana, izvršena je analiza fizičko-hemijskih, antioksidativnih, antimikrobnih i senzornih svojstava tretiranih uzoraka, kao i HPLC analiza, nakon čega su dobijeni rezultati upoređeni sa rezultatima analize netretiranog medljikovca, te je iz svake grupe odabran po jedan tretman koji će se koristiti za nastavak eksperimenta, odnosno za proizvodnju medovine.

Tabela 4.12. Oznake tretiranih uzoraka medljikovca

Oznaka	Vrsta tretmana	Temperatura	Vrijeme
M	Bez tretmana	-	-
T1	Termički tretman	65 °C	10 min
T2	Termički tretman	90 °C	1 min
T3	Zamrzavanje	-18 °C	do početka analize
T4	UV 254 nm	-	30 s
T5	UV 254 nm	-	1 min
T6	UV 254 nm	-	2 min
T7	Ultrazvuk 40 kHz	30 °C	1 min
T8	Ultrazvuk 40 kHz	45 °C	1 min
T9	Ultrazvuk 40 kHz	60 °C	1 min
T10	Ultrazvuk 40 kHz	30 °C	5 min
T11	Ultrazvuk 40 kHz	45 °C	5 min
T12	Ultrazvuk 40 kHz	60 °C	5 min
T13	Ultrazvuk 40 kHz	30 °C	10 min
T14	Ultrazvuk 40 kHz	45 °C	10 min
T15	Ultrazvuk 40 kHz	60 °C	10 min

4.2.1. Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstava tretiranog medljikovca

Voda je, nakon šećera, najzastupljenija komponenta meda i ima veliki uticaj na trajnost meda (Janghu i sar., 2017). Sadržaj vode u netretiranom medljikovcu (M) iznosio je 18,5 %, a sadržaj vode u tretiranim uzorcima je prikazan u Tabeli 4.13. Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da je kod većine tretiranih uzoraka došlo do smanjenja sadržaja vode. Najveće promjene su uočene u uzorcima T1 (17,86 %) i T2 (17,68 %), u kojima su izvršeni termički tretmani na temperaturama iznad 60 °C. U skladu sa kinetičkom teorijom toplote, više temperature (90 °C) dovode do većeg gubitka vode (Chua i sar., 2014), što je i potvrđeno u ovom eksperimentu, odnosno, veći gubitak vode je ostvaren u medljikovcu tretiranom na višoj temperaturi. Chua i sar. (2014) su zagrijavanjem meda na temperaturi 63 °C sadržaj vode smanjili sa 21,36 % na 19,30 %, dok je pri temperaturi od 90 °C sadržaj vode smanjen na 17,04 %. Thrasyvoulou i sar. (1994) za medljikovac navode da je sadržaj vode u početnom uzorku iznosio 18,20 %, a nakon izvršenog termičkog tretmana pri 60 °C u trajanju od 30 min, sadržaj vode je iznosio 17,50 %. Slični rezultati su dobijeni i u ovom radu. Blago povećanje sadržaja vode uočeno je u uzorku 3 (18,54 %), koji je podvrgnut tretmanu zamrzavanja. Subramanian i sar. (2007) navode blago povećanje sadržaja vode u uzorcima koji su duže vrijeme skladišteni na niskim temperaturama, dok Kędzińska-Matysek i sar. (2016) navode da zamrzavanje meda može da dovede do smanjenja sadržaja vode, što je suprotno od vrijednosti dobijenih u ovom radu. Oni su analizom meda na sobnoj temperaturi dobili sadržaj vode od 18,53 %, dok se zamrzavanjem meda na temperaturi -20 °C sadržaj vode smanjio na 18,06 %. Sadržaj vode u uzorcima T4, T5 i T6 se kretao u granicama od 17,94 do 18,88 %. UV tretman je u uzorcima T4 i T5 doveo do blagog porasta sadržaja vode u odnosu na uzorak M, a u uzorku T6 došlo je

do smanjenja sadržaja vode. Razlog za ovo može da bude vrijeme trajanja UV zračenja, jer je izlaganjem medljikovca UV zračenju dužim od 1 min došlo do veće redukcije vode. Primjenom ultrazvučnih tretmana došlo je do smanjenja sadržaja vode u svim uzorcima, osim u uzorku T8 gdje je sadržaj vode blago povećan. Vrijednosti sadržaja vode u uzorcima tretiranim ultrazvukom su se kretale u granicama od 17,90 % (uzorak T7) do 18,66 % (uzorak T8). Scripcă i Amariei (2021) navode smanjenje sadržaja vode primjenom ultrazvuka sa 16,20 % na 15,90 %. U radu Thrasyvoulou i sar. (1994) ustanovljeno je da korištenjem ultrazvučnih tretmana dolazi do smanjenja sadržaja vode, što je potvrđeno i od strane Janghu i sar. (2017), dok Fauzi (2014) navodi da primjena ultrazvuka nema značajan uticaj na sadržaj vode u medu.

Tabela 4.13. Rezultati sadržaja vode, aktiviteta vode, pH vrijednosti i kiselosti tretiranog medljikovca

Uzorak	Sadržaj vode (%)	a_w	pH	Kiselost (mmol/kg)
T1	17,86 ^{bc} ± 0,06	0,577 ^b ± 0,000	4,22 ^{bc} ± 0,01	45,75 ^b ± 0,25
T2	17,68 ^c ± 0,08	0,570 ^c ± 0,001	4,23 ^{cd} ± 0,00	45,75 ^b ± 0,25
T3	18,54 ^{adef} ± 0,18	0,578 ^b ± 0,001	4,24 ^d ± 0,01	46,00 ^b ± 0,00
T4	18,74 ^{ef} ± 0,02	0,587 ^d ± 0,001	4,19 ^e ± 0,00	45,75 ^b ± 0,25
T5	18,88 ^f ± 0,08	0,593 ^e ± 0,001	4,20 ^e ± 0,01	47,25 ^c ± 0,25
T6	17,94 ^{beg} ± 0,26	0,587 ^d ± 0,000	4,20 ^{ef} ± 0,01	45,75 ^b ± 0,25
T7	17,90 ^{bc} ± 0,06	0,562 ^f ± 0,001	4,19 ^e ± 0,00	46,00 ^b ± 0,00
T8	18,66 ^{def} ± 0,10	0,554 ^g ± 0,001	4,21 ^{bf} ± 0,01	45,75 ^b ± 0,25
T9	18,46 ^{adefgh} ± 0,06	0,552 ^h ± 0,000	4,19 ^e ± 0,00	47,25 ^c ± 0,25
T10	18,14 ^{abcdgh} ± 0,02	0,568 ⁱ ± 0,000	4,20 ^{bef} ± 0,00	48,00 ^d ± 0,00
T11	18,26 ^{acdegh} ± 0,14	0,556 ^j ± 0,000	4,17 ^{gh} ± 0,01	46,00 ^b ± 0,00
T12	18,06 ^{abcegh} ± 0,18	0,567 ⁱ ± 0,000	4,15 ^g ± 0,00	47,00 ^c ± 0,00
T13	18,14 ^{abcdgh} ± 0,02	0,558 ^k ± 0,001	4,20 ^{bef} ± 0,00	46,25 ^{be} ± 0,25
T14	18,14 ^{abcdgh} ± 0,46	0,568 ⁱ ± 0,001	4,17 ^h ± 0,00	47,25 ^c ± 0,25
T15	17,98 ^{bcegh} ± 0,22	0,548 ^l ± 0,000	4,19 ^{ef} ± 0,02	46,75 ^{ce} ± 0,25

^{a,b,c...l} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)

Prije tretmana medljikovca, aktivitet vode u kontrolnom uzorku je iznosio 0,597. Nakon što su izvršeni tretmani, došlo je do smanjenja a_w vrijednosti u svim uzorcima, koje se kreću od 0,548 u uzorku T15 do 0,593 u uzorku T5. Najveće a_w vrijednosti izmjerene su kod uzoraka tretiranih UV zračenjem, koji se međusobno značajno ne razlikuju, dok su najniže vrijednosti a_w izmjerene u uzorcima koji su tretirani ultrazvukom, i one se kreću od 0,548 u uzorku T15 do 0,568 u uzorcima T10 i T14. Scripcă i Amariei (2021) navode u svom istraživanju da je a_w svježeg meda iznosio 0,61, te da je nakon izvršenog ultrazvučnog tretmana zadržao istu vrijednost. Oni još navode da je aktivitet vode u direktnoj vezi sa sadržajem vode u uzorku. Veći sadržaj slobodne vode omogućava lakše pokretanje fermentacije i kvarenje meda, te je zbog duže održivosti meda pogodnije da se tretmanom smanji a_w . Granična a_w vrijednost za kvasce u medu je oko 0,61-0,62 (Rahima, 2013), dok će mnoge vrste bakterija rasti samo ako je a_w 0,94 – 0,99, dok se prosječan a_w u medu kreće od 0,56 do 0,62 (Molan, 1992).

pH vrijednost uzorka M je iznosila 4,33, dok se nakon izvršenih tretmana pH vrijednost smanjila u svim uzorcima. Prica i sar. (2014) navode da povećanje kiselosti, odnosno smanjenje pH vrijednosti može da nastane pri dužem skladištenju, pri preradi meda ili djelovanjem povišene temperature. Chaikham i Pranghtip (2015) kao razlog smanjenja pH vrijednosti navode oslobađanje organskih kiselina iz polena tokom prerade meda. Scripcă i Amariei (2021) navode da termički i ultrazvučni tretmani mogu da utiču na promjenu pH vrijednosti. Nakon izvršenih termičkih tretmana, u uzorku T1 pH vrijednost je 4,22, a u uzorku T2 4,23. Nakon izvršenih ultrazvučnih tretmana pH vrijednost se kretala u granicama od 4,15 u uzorku T12 do 4,21 u uzorku T8. Slično smanjenje pH vrijednosti navode Janghu i sar. (2017), kod kojih se pH vrijednost nakon ultrazvučnih tretmana smanjila sa 3,52 na 3,48. Janghu i sar. (2017) navode da se pH vrijednost uzoraka meda obrađenih termičkim tretmanom značajno smanjila, dok je pri primjeni ultrazvuka ta promjena bila manja. Slični rezultati mogu se naći i u radu Thrasyvoulou i sar. (1994), koji su za netretirani medljikovac izmjerili pH vrijednost 3,90. Nakon termičkog tretmana na 60 °C u trajanju od 30 min, pH vrijednost je iznosila 3,10, a nakon ultrazvučnog tretmana pri 76 °C u trajanju od 18 min iznosila je 3,80. Nakon zamrzavanja medljikovca pH vrijednost je iznosila 4,24, što ukazuje na smanjenje pH vrijednosti. Sličan intenzitet smanjenja pH vrijednosti dobijen je u i radu Kędzińska-Matysek i sar. (2016), koji su za netretirani med dobili vrijednost pH 4,20, a nakon zamrzavanja 3,93. Nakon UV tretmana, pH vrijednost se kretala u granicama od 4,19 u uzorku T4 do 4,20 u uzorcima T5 i T6, što ukazuje da dužina izlaganja medljikovca UV zračenju ne utiče značajno na smanjenje pH vrijednosti. Slično su potvrdili Marghitas i sar. (2010) koji su testirali uticaj UV zračenja na uklanjanje pesticida iz meda.

Visoka kiselost ukazuje na postojanje fermentativnih procesa u medu, ali i na prisustvo organskih kiselina koje nastaju oksidacijom glukoze djelovanjem enzima glukoza oksidaze (Scripcă i Amariei, 2021). U uzorku M kiselost je iznosila 50,67 mmol/kg. U Tabeli 4.14 su prikazani rezultati kiselosti medljikovca nakon izvršenih tretmana, gdje se može vidjeti da je primjena različitih tretmana dovela je do smanjenja kiselosti u svim uzorcima. Iako je nakon izvršenih tretmana došlo do smanjenja pH vrijednosti, kiselost se nije povećala, nego se smanjila u odnosu na netretirani uzorak. Lazarević (2016) navodi da pH vrijednost meda nije u direktnoj vezi sa kiselošću, a kao razlog navodi prisustvo fosfata, karbonata i drugih mineralnih soli koje su prirodno prisutne u medu. Nakon termičkih tretmana kiselost je iznosila 45,75 mmol/kg, bez obzira na primijenjenu temperaturu i vrijeme tretiranja uzorka. Smanjenje kiselosti je primjetno i nakon zamrzavanja. Međutim, Kędzińska-Matysek i sar. (2016) su uočili povećanje kiselosti nakon zamrzavanja. Oni su za netretirani med izmjerili sadržaj ukupnih kiselina 18,71 mmol/kg, dok je nakon zamrzavanja na -20 °C došlo do povećanja kiselosti na 21,71 mmol/kg. Nakon UV tretmana kiselost meda se smanjila i kretala se u granicama od 45,75 mmol/kg u uzorcima T6 i T4 do 47,25 mmol/kg u uzorku T5. Navedeni rezultati se razlikuju od tvrdnji Marghitas i sar. (2010) koji su nakon obrade meda UV zračenjem konstatovali da je vrijednost kiselosti ostala ista ili se blago povećala. Vrijednosti izmjerene kod uzoraka obrađenih ultrazvukom kretale su se od 45,75 mmol/kg u uzorku T8 do 48,00 mmol/kg u uzorku T10. Smanjenje kiselosti nakon ultrazvučnih tretmana navode i Scripcă i Amariei (2021), koji su za svježi med izmjerili kiselost 14,0 mmol/kg, a nakon ultrazvučnog tretmana ta vrijednost je iznosila 13,60 mmol/kg.

Tabela 4.14. Rezultati određivanja sadržaja saharoze, sadržaja pepela i električne provodljivosti tretiranog medljikovca

Uzorak	Sadržaj saharoze (%)	Sadržaj pepela (g/100g)	Električna provodljivost (mS/cm)
T1	1,80 ^a ± 0,15	0,68 ^d ± 0,03	1,261 ^b ± 0,000
T2	2,50 ^{bc} ± 0,30	0,57 ^{ef} ± 0,03	1,245 ^c ± 0,000
T3	2,09 ^{ab} ± 0,15	0,66 ^{de} ± 0,02	1,196 ^d ± 0,000
T4	1,96 ^{ab} ± 0,00	0,62 ^{def} ± 0,02	1,235 ^e ± 0,000
T5	2,77 ^c ± 0,27	0,59 ^{def} ± 0,00	1,216 ^f ± 0,000
T6	2,77 ^c ± 0,65	0,56 ^{ef} ± 0,01	1,212 ^g ± 0,000
T7	2,18 ^{abc} ± 0,04	0,43 ^{bg} ± 0,05	1,303 ^h ± 0,000
T8	2,24 ^{abc} ± 0,20	0,59 ^{def} ± 0,01	1,300 ⁱ ± 0,000
T9	2,42 ^{abc} ± 0,19	0,53 ^{fg} ± 0,09	1,297 ^j ± 0,000
T10	2,37 ^{abc} ± 0,03	0,34 ^{abc} ± 0,06	1,284 ^k ± 0,000
T11	2,30 ^{abc} ± 0,08	0,28 ^c ± 0,01	1,259 ^l ± 0,000
T12	2,43 ^{abc} ± 0,02	0,41 ^{ab} ± 0,00	1,260 ^m ± 0,000
T13	2,60 ^{bc} ± 0,06	0,31 ^{ac} ± 0,01	1,269 ⁿ ± 0,000
T14	2,13 ^{abc} ± 0,06	0,24 ^c ± 0,06	1,248 ^o ± 0,000
T15	2,25 ^{abc} ± 0,07	0,28 ^c ± 0,01	1,284 ^k ± 0,000

^{a,b,c,...o} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

U Tabeli 4.14 su prikazani rezultati sadržaja saharoze, sadržaja pepela i električne provodljivosti. Sadržaj saharoze u uzorku M iznosio je 2,01 %. Nakon tretmana došlo je do promjene u njenom sadržaju, pri čemu je najveća promjena uočena u uzorcima obrađenim termičkim tretmanima, odnosno u uzorku T2 gdje je izmjeren najveći sadržaj saharoze (2,50 %), i u uzorku T1 gdje je izmjeren najniži sadržaj saharoze (1,80 %). Scripcă i Amariei (2021) navode da ultrazvučni tretman ne utiče na sadržaj saharoze. Fiț i sar. (2014) su potvrdili njihove tvrdnje, a dodatno navode i da UV tretman ne utiče na sadržaj šećera u medu, što potvrđuju i Marghitas i sar. (2010). Navedene tvrdnje su potvrđene i u ovom radu.

Sadržaj pepela u uzorku M je iznosio 0,34 g/100 g uzorka. Nakon izvršenih termičkih tretmana sadržaj pepela u uzorku T1 je 0,68 g/100g, a u uzorku 2 0,57 g/100, dok je u uzorku 3 0,66 g/100 g. Nakon izvršenih UV tretmana sadržaj pepela se u uzorcima kretao u granicama od 0,56 g/100 g u uzorku T6 do 0,62 g/100 g u uzorku T4, dok se nakon ultrazvučnih tretmana sadržaj pepela kretao u granicama od 0,24 g/100 g u uzorku T14 do 0,59 g/100 g u uzorku T8. Na osnovu navedenih rezultata se može vidjeti da je u najvećem broju uzoraka došlo do povećanja sadržaja pepela, što je povezano i sa povećanjem vrijednosti električne provodljivosti. Istu tvrdnju u svom radu navodi i Ngoi (2016) koji kaže da je količina pepela u pozitivnoj korelaciji sa električnom provodljivošću, dok su Chua i sar. (2014) ekseperimentalno dobili iste vrijednosti sadržaja pepela prije i nakon izvršenih termičkih tretmana na temperaturama od 63 i 90 °C. Oni navode da termički tretman ne utiče na sadržaj pepela u medu, što u ovom eksperimentu nije potvrđeno. Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 4.14 vidi se značajna statistička razlika u rezultatima sadržaja pepela nakon izvršenih tretmana.

Električna provodljivost uzorka M iznosila je 1,168 mS/cm. U Tabeli 4.14, prikazane su vrijednosti dobijene nakon izvršenih tretmana, gdje je primjetno da je u svim uzorcima došlo do porasta električne provodljivosti. Najniža vrijednost je izmjerena u uzorku T3 gdje iznosi 1,196 mS/cm, dok je najviša u uzorku T7 gdje iznosi 1,303 mS/cm. Kędzierska-Matysek i sar. (2016) navode da primjena različitih temperatura tokom skladištenja meda ne utiče bitno na električnu provodljivost. Oni su u svom eksperimentu dobili iste vrijednosti za električnu provodljivost prije i nakon zamrzavanja, što nije potvrđeno u ovom eksperimentu. Zagrijavanjem meda, primjenom niže temperature došlo je do višeg povećanja električne provodljivosti. Porast električne provodljivosti nakon termičkih tretmana potvrđuje i Ngoi (2016). Autori Thrasyvoulou i sar. (1994) i Subramanian i sar. (2007) navode da pri kombinaciji ultrazvuka i temperature ne dolazi do značajnih promjena, kako u električnoj provodljivosti, tako i u pH vrijednosti i sadržaju vlage, što je eksperimentom i potvrđeno. U okviru ultrazvučnih tretmana, više vrijednosti su dobijene za uzorke koji su tretirani pri nižim temperaturama. Thrasyvoulou i sar. (1994) navode da je električna provodljivost medljikovca koji su ispitivali iznosila 1,180 mS/cm. Nakon termičkog tretmana pri 60 °C došlo je do povećanja vrijednosti na 1,200 mS/cm, a nakon ultrazvučnog tretmana su dobili vrijednost 1,100 mS/cm. Nakon UV tretmana, vidi se da je pri kraćem izlaganju medljikovca UV zračenju, električna provodljivost bila veća nego pri dužem izlaganju.

Aktivnost dijastaze i sadržaj HMF predstavljaju pokazatelje svježine i zagrijavanja meda (Fallico i sar., 2008; Hasan, 2013; Ngoi, 2016). Rezultati sadržaja HMF i aktivnosti dijastaze u tretiranom medljikovcu su prikazani u Tabeli 4.15. Sadržaj HMF u uzorku M je iznosio 5,32 mg/kg. Ovaj podatak ukazuje na svjež, termički neobrađen med. Nakon izvršenih tretmana, došlo je do značajnijeg porasta vrijednosti HMF u svim uzorcima, osim u uzorku T3 gdje je vrijednost HMF neznatno porasla i iznosila je 7,27 mg/kg. Piekut i Baranovska (2001) navode da najmanje promjene HMF nastaju pri temperaturama zamrzavanja. Slično navode i Kędzierska-Matysek i sar. (2016), koji ukazuju na očuvanje svježine u zamrznutom medu. Basmaci (2010) i Chua i sar. (2013) objašnjavaju da HMF nastaje kao rezultat Maillard-ove reakcije, djelovanjem kiselina na heksoze, te da se ovaj proces ubrzava djelovanjem visokih temperatura. Najviša vrijednost HMF je zabilježena u uzorku T2 (27,65 mg/kg), u kome je izvršen termički tretman na temperaturi od 90 °C u trajanju od 1 min. Na osnovu toga, može se zaključiti da termički tretmani doprinose povećanju sadržaja HMF, što je potvrđeno i u radovima Eschriche i sar. (2008) i Blidi i sar. (2017) koji tvrde da se sadržaj HMF može znatno povećati kada je med izložen ekstremnim temperaturnim uslovima. Slične rezultate navode Turhan i sar. (2008), gdje je sadržaj HMF u netretiranom medljikovcu iznosio 7,57 mg/kg, a nakon zagrijavanja pri temperaturi od 90 °C ova vrijednost je porasla na 12,45 mg/kg. Povećanje sadržaja HMF je dobijeno i u uzorcima koji su tretirani ultrazvukom na različitim temperaturama. Do sličnih rezultata došli su i Thrasyvoulou i sar. (1994), Subramanian i sar. (2007), Nunta i Intipunya (2013). Dužina trajanja ultrazvučnog tretmana nije uzrokovala velike razlike u rezultatima između uzoraka, dok Scripcă i Amariei (2021) navode da veća količina HMF nastaje pri dužem trajanju tretmana. Može se primjetiti da je sadržaj HMF manji u uzorcima tretiranim ultrazvukom, u odnosu na termički tretman, što govori da ultrazvuk smanjuje štetni efekat termičke obrade, a do sličnih rezultata je došao i Basmaci (2010) u svom radu. Džugan i sar. (2021) su za svježi medljikovac izmjerili sadržaj HMF 0,69 mg/kg, a nakon ultrazvučnog tretmana ta vrijednost je porasla na 0,91 mg/kg. Male promjene nakon

ultrazvučnog tretmana na sobnoj temperaturi dobili su i Quintero-Lira i sar. (2016). UV tretman je također uticao na povećanje sadržaja HMF, koji se kretao u granicama od 23,90 mmol/kg u uzorku 6 do 24,97 mmol/kg u uzorku T5. Dobijeni rezultati se ne slažu sa rezultatima Marghitas i sar. (2010), koji su nakon obrade meda UV zračenjem ustanovili da ne postoji značajan uticaj na vrijednost HMF.

Tabela 4.15. Rezultati sadržaja HMF-a i aktivnosti dijastaze tretiranog medljikovca

Uzorak	Sadržaj HMF (mg/kg)	Aktivnost dijastaze
T1	25,51 ^{bc} ± 0,27	37,37 ^c ± 0,38
T2	27,65 ^d ± 0,04	36,18 ^c ± 0,88
T3	7,27 ^e ± 0,02	49,04 ^{ad} ± 0,55
T4	24,78 ^{fg} ± 0,11	39,51 ^e ± 1,63
T5	24,97 ^{gh} ± 0,00	43,42 ^f ± 0,25
T6	23,90 ⁱ ± 0,02	43,61 ^f ± 0,27
T7	23,84 ⁱ ± 0,14	38,17 ^{ce} ± 1,10
T8	25,26 ^{ch} ± 0,07	40,03 ^e ± 0,11
T9	23,05 ^j ± 0,03	49,52 ^{ad} ± 0,66
T10	25,50 ^{bc} ± 0,05	43,71 ^f ± 0,06
T11	23,22 ^j ± 0,00	46,05 ^b ± 0,79
T12	25,30 ^{ch} ± 0,17	50,05 ^{dg} ± 0,83
T13	25,84 ^b ± 0,09	43,06 ^f ± 0,38
T14	22,63 ^k ± 0,07	47,40 ^{ab} ± 0,28
T15	24,54 ^f ± 0,18	51,69 ^g ± 0,46

^{a,b,c...k} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)

Dijastaza je enzim osjetljiv na povišene temperature, te se iz tog razloga često koristi kao indikator stepena prerade i pregrijavanja meda (Bogdanov i sar., 2000). Pri analizi uzorka M aktivnost dijastaze je iznosila 47,67. Nakon primjene tretmana najniže vrijednosti aktivnosti dijastaze su uočene u uzorcima obrađenim termičkim tretmanom, tačnije u uzorku T2 (36,18) i uzorku T1 (37,36). Smanjenje aktivnosti dijastaze, primjenom termičkih tretmana, ustanovljeno je i u radu Chua i sar. (2014), gdje se navodi da je aktivnost dijastaze u netretiranom medu iznosila 0,85, a nakon termičkih tretmana na 90 °C iznosila je 0,34. Iz dobijenih rezultata vidi se da je najniža aktivnosti dijastaze uočena u uzorcima u kojima je izmjerena najviša vrijednost HMF. Slično navode i Chua i sar. (2014), koji kažu da se u uzorcima koji su podvrgnuti termičkom tretmanu sadržaj HMF povećao, dok se aktivnost dijastaze smanjila. Takođe, može se vidjeti da je do većeg smanjenja aktivnosti dijastaze došlo pri izlaganju medljikovca termičkim tretmanima, nego pri primjeni ultrazvuka na odgovarajućim temperaturama, što navode i Janghu i sar. (2017). Pored toga, oni navode da je došlo do smanjenja aktivnosti dijastaze i u uzorcima obrađenim ultrazvukom. To je potvrđeno i u radovima Thrasyvoulou i sar. (1994), Džugan i sar. (2021) i Scripcă i Amariei (2021). Kao razlog smanjenja aktivnosti dijastaze usljed djelovanja ultrazvučne energije, oni navode pojavu kavitacije, koja uzrokuje gubitak biološke aktivnosti enzima. Džugan i sar. (2021) su primjenom ultrazvuka u trajanju

od 15 min na temperaturi od 53 °C, pokazali da nema velike promjene u aktivnosti dijastaze. U njihovom radu, prije ultrazvučnog tretmana, aktivnost dijastaze je iznosila 17,60, a nakon tretmana 17,10. U ovom eksperimentu promjene su veće nego u radu Džugan i sar. (2021). Zamrzavanje medljikovca dovelo je do blagog povećanja aktivnosti dijastaze, koja je nakon tretmana iznosila 49,04. Kędzierska-Matysek i sar. (2016) navode da primjenom temperatura zamrzavanja ne dolazi do značajnijih promjena aktivnosti dijastaze. UV tretman je uticao na smanjenje aktivnosti dijastaze koja se kretala u granicama od 39,51 u uzorku T4 do 43,61 u uzorku T6. Može se primjetiti da je veće smanjenje aktivnosti dijastaze uočeno u uzorcima koji su kraći vremenski period bili izloženi UV zračenju. Marghitas i sar. (2010) su tretirajući med UV zračenjem ustanovili da je sadržaj HMF ostao nepromijenjen, dok je aktivnost dijastaze značajno smanjena. Malo drugačije rezultate dobili su Fiř i sar. (2014), koji su ustanovili da je nakon UV obrade meda došlo do smanjenja HMF vrijednosti i porasta aktivnosti dijastaze.

4.2.2. Rezultati analiza antioksidativnih svojstava tretiranog medljikovca

Medljikovac karakteriše izuzetno tamna boja. Tamne vrste meda imaju jaču antioksidativnu aktivnost u odnosu na svjetlije vrste meda (Bertoncelj i sar., 2007; Tezcan i sar., 2011; Jasicka-Misiak i sar., 2012; Alzahrani i sar., 2012; Alves i sar., 2013;).

U Tabeli 4.16 su prikazani rezultati sadržaja ukupnih fenola i flavonoida nakon izvršenih tretmana medljikovca. Sadržaj ukupnih fenola u uzorku M je iznosio 1,493 mg GAE/g, a nakon izvršenih tretmana došlo je do značajnih promjena u pogledu ovog parametra. Sadržaj ukupnih fenola u uzorku T1 iznosi 1,361 mg GAE/g, a u uzorku T2 iznosi 1,396 mg GAE/g, što ukazuje da je primjena povišenih temperatura dovela do smanjenja ovih vrijednosti. Termički tretman može da dovede do poboljšanja antioksidativnih svojstava medljikovca, kao i do povećanja sadržaja polifenola (Scripcă i Amariei, 2021), što je suprotno od rezultata dobijenih u ovom radu. Uticaj niskih temperatura na fenolna jedinjenja koja se nalaze u matrici proizvoda proučavan je u malom broju istraživanja. Zamrzavanje medljikovca je takođe rezultovalo smanjenjem ove vrijednosti, ali manje u odnosu na tretmane visokim temperaturama, te je dobijena vrijednost u uzorku T3 iznosila 1,414 mg GAE/g. Tretman UV zračenjem je takođe doveo do smanjenja sadržaja ukupnih fenola koji se kretao u granicama od 1,415 mg GAE/g u uzorku T4 do 1,451 mg GAE/g u uzorku T6. Duže izlaganje medljikovca UV zračenju je rezultovalo višim vrijednostima u pogledu ovog parametra. U okviru ultrazvučnih tretmana, sadržaj ukupnih fenola se kretao u granicama od 1,453 mg GAE/g u uzorku T10 do 1,570 mg GAE/g u uzorku T9. U najvećem broju uzoraka tretiranih ultrazvukom došlo je do blagog povećanja ove vrijednosti. Scripcă i Amariei (2021) i Džugan i sar. (2021) navode da ultrazvučni tretmani mogu da povećaju sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i da poboljšaju antioksidativna svojstva meda. Takođe, oni navode i da ultrazvučni tretman u zavisnosti od uslova tretmana može da dovede i do smanjenja sadržaja polifenola, a isto navode i Mahnot i sar. (2019). Na osnovu rezultata svih 15 tretiranih uzoraka, najveći sadržaj ukupnih fenola je izmjereno u uzorku T9, u kom je medljikovac tretiran ultrazvukom na temperaturi 60 °C u trajanju od 1 min, što govori da je, bez obzira na primjenu visoke temperature, ultrazvuk

doveo do povećanja sadržaja fenolnih jedinjenja, za razliku od uzorka T1 u kom je med tretiran na istoj temperaturi, ali bez primjene ultrazvuka.

Tabela 4.16. Sadržaj ukupnih fenola i flavonoida u tretiranom medljikovcu

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg/g)	Sadržaj flavonoida (mg/g)
T1	1,361 ^b ± 0,001	0,703 ^b ± 0,002
T2	1,396 ^c ± 0,000	0,767 ^c ± 0,003
T3	1,414 ^c ± 0,001	0,885 ^d ± 0,003
T4	1,415 ^c ± 0,002	0,714 ^b ± 0,003
T5	1,441 ^d ± 0,000	0,785 ^e ± 0,001
T6	1,451 ^{de} ± 0,006	0,788 ^e ± 0,004
T7	1,469 ^e ± 0,002	0,710 ^b ± 0,003
T8	1,505 ^{af} ± 0,004	0,770 ^c ± 0,002
T9	1,570 ^g ± 0,005	0,819 ^f ± 0,008
T10	1,453 ^{de} ± 0,005	0,769 ^c ± 0,005
T11	1,497 ^a ± 0,001	0,818 ^f ± 0,004
T12	1,517 ^f ± 0,002	0,821 ^f ± 0,001
T13	1,543 ^h ± 0,002	0,799 ^g ± 0,001
T14	1,557 ^h ± 0,000	0,816 ^f ± 0,001
T15	1,564 ^g ± 0,007	0,824 ^f ± 0,005

^{a,b,c,...h} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)

Sadržaj flavonoida u uzorku M je iznosio 0,846 mg GAE/g. Tretiranjem medljikovca smanjen je sadržaj flavonoida u svim uzorcima, sa izuzetkom uzorka T3, što je prikazano u Tabeli 4.16. U ovom uzorku primijenjen je tretman niskim temperaturama, a sadržaj flavonoida je iznosio 0,885 mg GAE/g. Najniža vrijednost sadržaja flavonoida izmjerena je u uzorku T1, što potvrđuje da termički tretmani dovode do smanjenja sadržaja fenolnih jedinjenja. Flavonoidi su jedinjenja koja su osjetljiva na izlaganje visokim temperaturama, gdje najčešće dolazi do promjena u strukturi flavonoida, čime se utiče na antioksidativna svojstva proizvoda (Ioannou i sar., 2020). Unutar UV tretmana, vrijednosti su se kretale u granicama od 0,714 mg GAE/g u uzorku T4 do 0,788 mg GAE/g u uzorku T6. Može se zaključiti da je, kao i kod sadržaja ukupnih fenola, sadržaj flavonoida bio u porastu za uzorke koji su tretirani duži vremenski period. Ultrazvučni tretmani su takođe doveli do smanjenja sadržaja flavonoida, a vrijednosti su se kretale u granicama od 0,710 mg GAE/g u uzorku T7 do 0,824 mg GAE/g u uzorku T15. Iz dobijenih rezultata se primijeti da je sadržaj fenola i flavonoida unutar ultrazvučnih tretmana veći pri višoj temperaturi, uz jednaku dužinu trajanja tretmana. Slične rezultate navode i Quintero-Lira i sar. (2016), koji još navode da su nakon 5 minuta ultrazvučnog tretmana promjene u sadržaju fenola i flavonoida beznačajne, ali da većina meda nakon 15 min pokazuje značajnije povećanje ovih parametara. Navedena tvrdnja je dokazana i u ovom radu. Scripcă i Amariei (2021) navode da primjenom ultrazvučnog tretmana dolazi do povećanja sadržaja flavonoida.

Tabela 4.17. Rezultati FRAP, DPPH i ABTS testova tretiranog medljikovca

Uzorak	FRAP (mmol Fe ²⁺ /g)	DPPH (µg/mg)	ABTS (g/mg)
T1	8,145 ^{ab} ± 0,080	0,346 ^b ± 0,002	0,0043 ^{abc} ± 0,0001
T2	7,561 ^c ± 0,018	0,344 ^b ± 0,002	0,0043 ^{abc} ± 0,0001
T3	8,330 ^{bd} ± 0,083	0,347 ^b ± 0,002	0,0047 ^a ± 0,0000
T4	8,916 ^e ± 0,162	0,368 ^c ± 0,002	0,0038 ^{bdef} ± 0,0003
T5	8,836 ^e ± 0,035	0,355 ^d ± 0,002	0,0044 ^{ac} ± 0,0001
T6	8,779 ^{ef} ± 0,153	0,365 ^c ± 0,002	0,0043 ^{abc} ± 0,0000
T7	9,592 ^g ± 0,209	0,365 ^c ± 0,002	0,0037 ^{de} ± 0,0001
T8	9,589 ^g ± 0,024	0,368 ^c ± 0,002	0,0034 ^{de} ± 0,0001
T9	9,640 ^g ± 0,029	0,367 ^c ± 0,002	0,0029 ^{fg} ± 0,0000
T10	8,050 ^{ab} ± 0,000	0,403 ^e ± 0,003	0,0025 ^g ± 0,0001
T11	8,098 ^{ab} ± 0,000	0,406 ^e ± 0,001	0,0039 ^{bcd} ± 0,0000
T12	8,147 ^{ab} ± 0,002	0,404 ^e ± 0,000	0,0038 ^{def} ± 0,0000
T13	8,450 ^d ± 0,172	0,401 ^e ± 0,005	0,0033 ^{ef} ± 0,0000
T14	8,488 ^d ± 0,008	0,404 ^e ± 0,003	0,0037 ^{de} ± 0,0001
T15	8,564 ^{df} ± 0,034	0,402 ^e ± 0,001	0,0048 ^a ± 0,0000

^{a,b,c...g} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)

U Tabeli 4.17 su prikazani rezultati FRAP, DPPH i ABTS testova za tretirani medljikovac. Vrijednost FRAP za uzorak M iznosila je 8,006 mmol Fe²⁺/g. Nakon izvršenih tretmana došlo je do povećanja ove vrijednosti u svim uzorcima, osim u uzorku T2 gdje je izvršen termički tretman na 90 °C. Do sličnih rezultata su došli Šarić i sar. (2013), koji su za sve uzorke meda nakon tretiranja na temperaturi od 95 °C dobili niže vrijednosti za FRAP. Najviša vrijednost je uočena u uzorku T9 koji je tretiran ultrazvukom, a iznosi 9,640 mmol Fe²⁺/g. Unutar UV tretmana ova vrijednost se kretala u granicama od 8,779 mmol Fe²⁺/g u uzorku 6 do 8,916 mmol Fe²⁺/g u uzorku T4, što ukazuje na dosta slične vrijednosti. Mahnot i sar. (2019) su otkrili da nema velikih razlika prije i nakon izvršenih ultrazvučnih tretmana u vrijednostima FRAP-a, tačnije za neke vrste su se povećale ili smanjile, što je delimično u skladu sa rezultatima dobijenim u ovom radu.

Vrijednost DPPH u uzorku M je iznosila 0,186 µg/mg. Nakon izvršenih tretmana došlo je do značajnog porasta DPPH vrijednosti u svim uzorcima. Unutar primjene različitih temperatura (uzorci T1, T2 i T3) može se vidjeti da se navedene vrijednosti statistički značajno ne razlikuju. Nakon primjene UV zračenja, DPPH se kretao u granicama od 0,355 µg/mg u uzorku T5 do 0,368 µg/mg u uzorku T4, dok se unutar ultrazvučnih tretmana kretao u granicama od 0,365 µg/mg u uzorku T7 do 0,406 µg/mg u uzorku T11. Quintero-Lira i sar. (2016) su ustanovili da je nakon ultrazvučnog tretmana došlo do povećanja DPPH vrijednosti u odnosu na netretirani med, što je potvrđeno i u ovom radu. Statistički gledano, unutar pojedinih grupa tretmana, ne postoji značajnija statistička razlika za vrijednosti DPPH.

ABTS vrijednost za uzorak M iznosila je 0,0044 g/mg, a nakon izvršenih tretmana mogu se primjetiti značajne razlike u pogledu ovog parametra. Nakon primjene povišenih temperatura (uzorci T1 i T2) izmjerena ABTS vrijednost je 0,0043 g/mg, što ne ukazuje na značajno

smanjenje, dok je nakon zamrzavanja došlo do porasta ABTS vrijednosti koja iznosi 0,0047 g/mg. Nakon primjene UV zračenja medljikovca, vrijednost ABTS se kretala u granicama od 0,0038 g/mg u uzorku T4 do 0,0044 g/mg u uzorku T5. Vrijednosti za ABTS unutar primjene ultrazvučnih tretmana su se kretale u granicama od 0,0025 g/mg u uzorku 10 do 0,0048 g/mg u uzorku T15. Quintero-Lira i sar. (2016) su ustanovili da primjenom ultrazvuka dolazi do povećanja antioksidativne aktivnosti, mjerene kao ABTS, što je pokazano i u ovom eksperimentu kod najvećeg broja uzoraka tretiranih ultrazvukom. Takođe, oni su utvrdili da postoji dobra korelacija između ABTS i sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja. Pico (2013) i Quintero-Lira i sar. (2016) poboljšanje antioksidativne aktivnosti objašnjavaju povećanjem dostupnosti fenolnih kiselina i flavonoida, usljed djelovanja ultrazvuka.

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabelama 4.16 i 4.17, vidi se da je u najvećem broju slučajeva došlo do povećanja antioksidativne aktivnosti tretiranih uzoraka medljikovca. Sadržaj ukupnih fenola je, nakon tretmana, u najvećem broju uzoraka povećan, što nije slučaj sa sadržajem flavonoida gdje je došlo do smanjenja sadržaja ovih jedinjenja u svim uzorcima, osim pri zamrzavanju. FRAP i DPPH vrijednosti su veće za sve tretirane uzorke u odnosu za netretirane, dok su ABTS vrijednosti za pojedine uzorke smanjenje, a za pojedine povećane, što se može objasniti različitim afinitetom ovih testova prema jedinjenjima koja pokazuju antioksidativno dejstvo.

Primjena povišenih temperatura dovodi do promjena u antioksidativnim svojstvima meda, što se objašnjava nastajanjem novih proizvoda u Maillard-ovoj reakciji (Šarić i sar., 2013). Manzocco i sar. (2001) i Ngoi (2016) navode isto, uz činjenicu da se gubitak prirodnih antioksidanasa tokom zagrijavanja može nadoknaditi stvaranjem novih antioksidanasa u navedenoj reakciji. Uticaj termičkih tretmana na antioksidativna svojstva hrane je ispitivan u velikom broju istraživanja. Dio rezultata ukazuje da termički tretmani ne dovode do značajnijeg gubitka prirodnih antioksidanasa u hrani, dok drugi dio govori o povećanju antioksidativnog dejstva u hrani (Ngoi, 2016). Što se tiče tretmana meda niskim temperaturama i UV zračenjem i o njihovom uticaju na promjene u antioksidativnim svojstvima, nema mnogo dostupnih informacija. Neri i sar. (2020) navode da zamrzavanje negativno utiče na antioksidativna svojstva voćnih kaša i sokova, dok su Çubukçu i sar. (2019) analizirali antioksidativna svojstva, prije i nakon zamrzavanja pojedinih vrsta povrća, gdje su za pojedine vrste utvrdili da dolazi do povećanja, a negdje do smanjenja antioksidativne aktivnosti. Liu i sar. (2012) su istraživali uticaj UV zračenja na antioksidativna svojstva paradajza, gdje su zaključili da ova vrsta tretmana pozitivno utiče na povećanje antioksidativne aktivnosti proizvoda. Islam i sar. (2016) su istraživali uticaj UV zračenja na sok od jabuke, i dobili su rezultate koji ukazuju na blago poboljšanje antioksidativne aktivnosti. Ultrazvučni tretmani predstavljaju alternativni tretman očuvanja meda i održavanja njegovog kvaliteta, sa posebnim akcentom na povećanje antioksidativnih svojstava nakon izvršenih tretmana (Scripcă i Amariei, 2021).

4.2.3. Rezultati HPLC analize tretiranog medljikovca

Mnoge studije pokazuju da med sadrži veliki broj različitih fenola i flavonoida. Sastav ovih jedinjenja zavisi od botaničkog porijekla, ekoloških, sezonskih i uslova prerade (Lachman i sar., 2010; Oliveira i sar., 2017). HPLC-DAD analizom je u ispitivanim uzorcima ustanovljeno

prisustvo katehina, malvidina i galne kiseline, od kojih je katehin najzastupljeniji, a galna kiselina najmanje zastupljena, što se i vidi iz rezultata prikazanih u Tabeli 4.18.

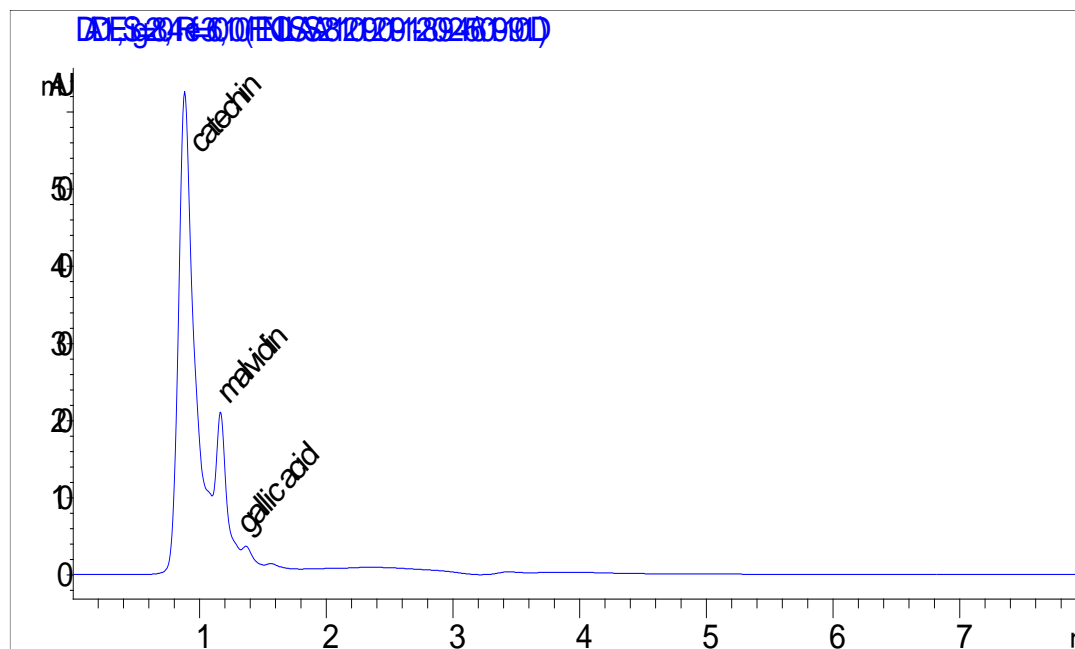
Tabela 4.18. Sadržaj katehina, malvidina i galne kiseline u netretiranom (M) i tretiranim uzorcima medljikovca (TM1-TM15)

Uzorak	Katehin (mg/100 g)	Malvidin (mg/100 g)	Galna kiselina (mg/100 g)
M	0,804 ^a	0,264 ^a	0,014 ^a
T1	1,012 ^b	0,222 ^b	0,010 ^{bc}
T2	1,106 ^c	0,258 ^c	0,013 ^a
T3	1,116 ^d	0,285 ^d	0,013 ^{ad}
T4	1,636 ^e	0,499 ^e	0,077 ^e
T5	0,890 ^f	0,122 ^f	0,022 ^f
T6	0,686 ^g	0,079 ^g	0,033 ^g
T7	0,886 ^f	0,090 ^h	0,048 ^h
T8	1,104 ^b	0,267 ^a	0,013 ^a
T9	1,040 ^h	0,208 ⁱ	0,019 ⁱ
T10	0,694 ⁱ	0,062 ^j	0,038 ^j
T11	1,220 ^j	0,213 ^k	0,008 ^k
T12	1,070 ^k	0,231 ^l	0,011 ^{bd}
T13	1,108 ^b	0,194 ^m	0,008 ^k
T14	1,052 ^l	0,203 ⁿ	0,009 ^{bk}
T15	0,979 ^m	0,162 ^p	0,016 ^l

^{a,b,c...g} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p \leq 0,05$)

Najveće koncentracije katehina, malvidina i galne kiseline izmjerene su u uzorku T4, gdje je izvršen UV tretman u trajanju od 30 s. Povećanje vremena izlaganja UV zračenju dovelo je do smanjenja sadržaja ovih fenolnih komponenti. Zamrzavanje se, unutar temperaturnih tretmana, pokazalo boljim od pasterizacije i sterilizacije, po pitanju sadržaja ovih fenolnih komponenata. Što se tiče ultrazvučnih tretmana, najboljim su se, u većini slučajeva, pokazali uzorci koji su obrađivani na temperaturi od 45°C. U dostupnoj literaturi se može naći veoma malo podataka o uticaju odgovarajućih tretmana na fenolni profil medljikovca, a naročito ultrazvuka i UV zračenja. Silici i Karaman (2014) su analizirali 10 uzoraka medljikovca i 15 vrsta nektarskog meda dobijenih iz različitih regija Turske, kako bi se utvrdili i uporedili njihovi fenolni profili. Testirano je dvadeset fenolnih standarda radi hromatografskog poređenja podataka, ali je u obe vrste meda utvrđeno prisustvo samo sedam od ovih dvadeset fenolnih jedinjenja: galna kiselina, hlorogena kiselina, kafa kiselina, kumarna kiselina, ferulna kiselina, katehin, epikatehin, uz kvercetin i pinocembrin koji su nađeni samo u nektarskom medu. Hussein i sar. (2011) su testirali uticaj gama zračenja, koje se inače koristi kao fitosanitarni tretman za kontrolu mikroorganizama, na kvalitet meda i ustanovili su da je došlo do povećanja antioksidativnog djelovanja i sadržaja ukupnih fenola, iako HPLC analiza fenolnih jedinjenja nije pokazala statistički značajne razlike između gama ozračenih i neozračenih uzoraka meda. Pretpostavlja se da radikali izazvani radijacijom mogu prekinuti glikozidne veze u medu i formirati nova jedinjenja oslobađanjem fenola iz glikozidnih jedinjenja, kao i razbijanjem većih fenolnih jedinjenja na manje (Hussein i sar., 2011). Quintero-Lira i sar. (2016) su ustanovili da

nakon 5 minuta dejstva ultrazvuka nema značajnog uticaja na sadržaj fenolnih materija i antioksidativna svojstva meda, dok je nakon 15 minuta dejstva ultrazvuka u nekim vrstama meda ipak došlo do porasta sadržaja fenolnih materija i antioksidativnih svojstava meda, a do sličnog zaključka su došli i Chaikham i Prangthip (2015). Slika 4.3 prikazuje hromatogram uzorka medljikovca na 280 nm.



Slika 4.3. Hromatogram fenolnih jedinjenja detektovanih u uzorku meda korištenjem HPLC-DAD apsorpcije na 280 nm

4.2.4. Rezultati antimikrobnih analiza tretiranog medljikovca

Vrijednosti MIC/MBC uzoraka medljikovca u odnosu na četiri testirane bakterije su prikazane u Tabeli 4.19. Posmatrajući rezultate prikazane u ovoj Tabeli, može se primjetiti da su uzorci pokazali različito dejstvo na testirane bakterije. Među uzorcima obrađenim termičkim tretmanima (1-3) najbolje dejstvo na *S. aureus* pokazao je uzorak T2 (MIC 12,5 % (w/v) i MBC 25 % (w/v)), na *E. coli* (MIC 12,5 % (w/v) i MBC 25 % (w/v)) i *P. aeruginosa* (MIC 6,25 % (w/v) i MBC 25 % (w/v)) uzorak T3, a na *B. cereus* uzorak 1 (MIC 12,5 % (w/v) i MBC 25 % (w/v)). U poređenju sa netretiranim medljikovcem, uzorci T1-T3 su u najvećem broju slučajeva imali veće vrijednosti MIC i MBC. Uzorak T4 se pokazao najefikasniji među uzorcima obrađenim dejstvom UV zračenja (T4-T6). U poređenju sa netretiranim medljikovcem, uzorci T4-T6 su, uglavnom, imali niže vrijednosti MIC i MBC. Unutar velike grupe uzoraka obrađenih dejstvom ultrazvuka (T7-T15), najjače dejstvo na *S. aureus* je pokazao uzorak T13 (MIC 13,125 % (w/v) i MBC 25 % (w/v)), na *E. coli* (MIC <3,125 % (w/v) i MBC 25 % (w/v)) i *P. aeruginosa* (MIC <3,125 % (w/v) i MBC 6,25 % (w/v)) uzorak T10, na *B. cereus* uzorci T7 i T11 (MIC i MBC 12,5 % (w/v)). Uzorci T7-T15 su u odnosu na uzorak M u 2 slučaja (T9 i T13) imali niže vrijednosti MIC, a u ostalim slučajevima iste ili više vrijednosti MBC kod *S. aureus*. U slučaju *E. coli* i *P. aeruginosa* iste ili u par uzoraka niže vrijednosti MIC/MBC, a u slučaju *B. cereus* više vrijednosti MIC/MBC (izuzetak MBC vrijednosti kod uzoraka T7 i T11).

Uzorci T4, T5 i T13 su zabilježeni kao najsnažniji protiv *S. aureus*, sa MIC vrijednošću <3,125 % (w/v) i MBC 25 % (w/v), dok je najslabije dejstvo pokazao uzorak T3 (MIC i MBC 25-50 % (w/v)).

Tabela 4.19. Rezultati antimikrobne aktivnosti tretiranog medljikovca (MIC i MBC vrijednosti) i antibiotikskih diskova (prečnik zone ihbicije u mm)

Oznake	<i>S.aureus</i> ATCC 25923		<i>E.coli</i> ATCC 25922		<i>B.cereus</i> ATCC 7004		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10145	
	MIC % (w/v)	MBC % (w/v)	MIC % (w/v)	MBC % (w/v)	MIC % (w/v)	MBC % (w/v)	MIC % (w/v)	MBC % (w/v)
M	12,5	25	6,25	25	6,25	12,5	6,25	12,5
T1	25	25-50	25	25-50	12,5	25	12,5	25
T2	12,5	25	25-50	25-50	12,5	25-50	25	25-50
T3	25-50	25-50	12,5	25	25	25-50	6,25	25
T4	<3,125	25	6,25	25	12,5	>50	6,25	6,25
T5	<3,125	25	6,25	25	12,5	50	6,25	12,5
T6	12,5	50	6,25	25	12,5	25	6,25	6,25
T7	12,5	50	6,25	25	12,5	12,5	6,25	12,5
T8	12,5	50	6,25	25	12,5	25	6,25	12,5
T9	6,25	25	6,25	25	12,5	>50	6,25	6,25
T10	12,5	50	<3,125	25	12,5	25	<3,125	6,25
T11	12,5	50	6,25	25	12,5	12,5	6,25	12,5
T12	12,5	50	6,25	25	12,5	25	6,25	6,25
T13	<3,125	25	6,25	25	12,5	>50	6,25	12,5
T14	12,5	25	6,25	25	12,5	>50	6,25	12,5
T15	12,5	25	6,25	25	12,5	50	6,25	12,5
Vještački med	50	>50	50	50	50	>50	25	50
Ampicillin 10 mg (mm)	33,00 ± 2,16		16,00 ± 4,39		10,88 ± 2,53		NA	
Ciprofloxacilin 5 mg (mm)	29,25 ± 2,99		37,00 ± 3,37		27,38 ± 3,54		33,33 ± 0,58	
Erytromycin 15 mg (mm)	27,75 ± 2,99		10,75 ± 1,50		24,50 ± 2,52		NA	
Gentamicin 10 mg (mm)	29,75 ± 1,90		25,50 ± 1,29		24,00 ± 2,53		21,33 ± 1,53	

NA – nema aktivnosti

Najjače dejstvo na *E. coli* pokazao je uzorak T10 (MIC <3,125 % (w/v) i MBC 25 % (w/v), a najslabije dejstvo uzorak 2 (MIC i MBC 25 – 50 % (w/v). G (+) bakterija *B. cereus* se pokazala najotpornijom na dejstvo svih uzoraka, a najaktivnijim se pokazao netretirani uzorak (MIC 6,25 % (w/v) i MBC 12,5 % (w/v)), dok je najviša MIC vrijednost utvrđena kod uzorka 3,25 % (w/v), najviši MBC >50 % (w/v) kod uzoraka T4, T9, T13 i 1T4. *P. aeruginosa* se pokazala najosjetljivijom na dejstvo uzoraka, a najjače dejstvo je pokazao, kao i u slučaju druge G (-) bakterije *E. coli*, uzorak T10 (<3.125 % (w/v) MIC i 6.25% (w/v) kao MBC), a najslabije dejstvo uzorak T2 (MIC 25% (w/v), a MBC 25-50 % (w/v)). Rezultati za vještački med su

pokazali da su sve bakterije inhibirane tek pri koncentraciji 50% (w/v), osim *P. aeruginosa* (inhibirana na 25 % (w/v)), uz ostvareni baktericidni efekat (kod G (-) bakterija pri koncentraciji od 50% (w/v), dok je kod G (+) bakterija ta koncentracija iznosila više od 50 % (w/v). Dobijeni rezultati pokazuju da je na antimikrobno dejstvo testiranih uzoraka meda uticala ne samo visoka koncentracija šećera, već i druge materije koju su bile prisutne u medu.

Koristeći med u terapeutske svrhe, ustanovljeno je da on pokazuje različita svojstva: antimikrobna, antivirusna, antiupalna, antioksidativna i antitumorna (Molan, 2001; Lusby i sar., 2005; Bardy i sar., 2008; Estevinho i sar., 2008). Mohaptra i sar. (2011) navode da med pokazuje inhibitorno dejstvo na oko 60 vrsta bakterija. Na antimikrobnu aktivnost meda utiče više faktora: visok osmotski pritisak, aktivitet vode, pH vrijednost, proizvodnja H₂O₂, metilglioksat, antimikrobni peptid bee defensin-1, lizozim, fenolne kiseline, flavonoidi i drugo (White i sar., 1963; Molan, 1992; Snowdon i Cliver, 1996; Mavric i sar., 2008; Kwakman i sar., 2010; Montenegro i Mejías, 2013; Leyva-Jiménez i sar., 2019). Med je prirodno veoma kiseo proizvod i pH vrijednost meda je prilično niska, najčešće između 3,2 i 4,5, što inhibira rast većine bakterija i plijesni (Prica i sar., 2014). Dejstvom enzima glukoza oksidaza nastaje, uz glukonsku kiselinu, i vodonik peroksid, jedinjenje za koje se pretpostavlja da ima najveći uticaj na antimikrobnu aktivnost meda (Molan, 1992). d'Arcy (2007) navodi da je ovaj enzim aktivan samo u nezrelom ili nerazrijeđenom medu i da je najaktivniji kada je koncentracija šećera u medu 25 - 30 %. Na aktivnost glukoza oksidaze negativno utiču svjetlost i toplota (White i sar., 1963).

Osim glukoza oksidaze, u medu se može naći i enzim katalaza koji u med dospijeva sa polenom, a uzrokuje razgradnju vodonik peroksida na vodu i kiseonik, čime se umanjuje i antimikrobna aktivnost meda (White i sar., 1963). Za razliku od neperoksidne antimikrobne aktivnosti, peroksidna aktivnost meda može biti uništena dejstvom toplote, svjetlosti kao i dugotrajnim čuvanjem meda, tako da se antimikrobna aktivnost medljikovca može objasniti udruženim dejstvom neperoksidne (visoke koncentracije fenola i flavonoida) i peroksidne antimikrobne aktivnosti, uz nisku koncentraciju slobodne i vezane vode, niske pH vrijednosti i visoke koncentracije šećera. Antimikrobna aktivnosti vještačkog meda prouzrokovana je njegovim visokim sadržajem šećera, kao i niskom koncentracijom vode. Razlika u hemijskom sastavu između vještačkog i prirodnog meda predstavlja sadržaj enzima i neperoksidnih materija (fenola, flavonoida itd.), kojih u vještačkom medu nema, pa je prisustvo ovih jedinjenja zaslužno za veću antimikrobnu aktivnost uzoraka meda analiziranih u ovom radu u odnosu na vještački med. Cooper i sar. (2002) pokazali su da određene vrste meda, čak i u koncentraciji od 2 % (w/v), potpuno inhibiraju rast *S. aureus*, odnosno u koncentraciji od 4 % (w/v) inhibiraju rast meticilin rezistentnog *S. aureus* (MRSA), dok je u istoj studiji MIC za sirup, koji se sastojao od smjese šećera u istoj koncentraciji kao u medu, iznosila 30% (w/v). U dostupnoj literaturi se mogu naći različiti podaci o antimikrobnoj aktivnosti medljikovca. Fikselova i sar. (2014) su proučavali antimikrobnu aktivnost većeg broja uzoraka medljikovca, porijeklom iz različitih regiona u Srbiji, na nekoliko vrsta bakterija i kvasaca i ustanovili su da su se najsenzitivnijim bakterijskim sojevima pokazale G (-) bakterije *E. coli* i *P. aeruginosa*, a najotpornija je bila G (+) bakterija *B. cereus*, što nije u skladu sa rezultatima ovog istraživanja. Sa druge strane, u istraživanju Srećković i sar. (2019) medljikovac je pokazao mnogo veće dejstvo prema G (+) bakterijama u poređenju sa G (-), naročito prema *B. cereus*, *S. epidermidis* i *S. aureus*. Alvarez-Suarez i sar. (2010) i Gobin i sar. (2018) su, takođe, potvrdili da su G (+) bakterije bile

osjetljivije na uzorke meda od G (-) bakterija, što se slaže sa rezultatima. Kabbani (2013) je testirala antimikrobno dejstvo sirovog, ultrazvukom obrađenog i termički obrađenog meda od ruzmarina na nekoliko mikroorganizama i ustanovila je da je najbolje dejstvo pokazao ultrazvukom obrađeni med, što je objasnila mogućim sinergističkim dejstvom tretmana i materija prisutnih u medu (npr. glukoza oksidaza). Bueno-Costa i sar. (2016) su testirali antimikrobno dejstvo 24 različita uzorka ultrazvukom obrađenog meda (10 min, 45°C) na G (-) bakterije *S. dysenteriae* ATCC13313, *S. typhimurium* ATCC14028 i G (+) bakterije *S. aureus* ATCC25923 i *B. cereus* ATCC1778. Svi uzorci ultrazvukom obrađenog meda pokazali su dejstvo na testirane bakterije, pri čemu je veća aktivnost pokazana na G (-) bakterije. Fiş i sar. (2014) su testirali antibakterijsku aktivnost miješanog, bagremovog i suncokretovog meda, kao i meda od limete, obrađenih termičkim tretmanom u trajanju od 30 min na četiri različite temperature (37, 50, 70 i 100° C). Oni su ustanovili da termički tretman meda na 37 i 50 °C nije imao uticaja na njegova antibakterijska svojstva, kao i da je na tim temperaturama ostvaren sličan antibakterijski efekat, dok je na temperaturama od 70 i 100 °C došlo do pada antibakterijske aktivnosti, što se slaže sa rezultatima ovog istraživanja. Noori i sar. (2014) su testirali antimikrobnu aktivnost različitih koncentracija svježeg meda (10–100% (w/v)), odležalog meda, termički obrađenog meda, meda obrađenog UV zračenjem na 254 nm, 24 h odležalog, termički obrađenog meda na veći broj mikroorganizama. Rast svih testiranih mikroorganizama je bila inhibirana pri koncentracijama meda 30-100 %, pri čemu su najveću osjetljivost pokazale *E. coli*, *P. aeruginosa* i *H. influenza*. Zagrijavanje meda na 80°C, 1h dovelo je do smanjivanja antimikrobne aktivnosti novog i odležalog meda. Izlaganje ultraljubičastom zračenju nije smanjilo antimikrobnu aktivnost sirovog meda protiv *S. hemoliticus* grupa B, dok je povećala aktivnost protiv *S. aureus*, *Klebsiella* sp., *E. cloacae*, *H. influenzae*, *S. dysenteriae*, *C. albicans* i *Proteus* sp.

4.2.5. Rezultati analiza senzornih svojstava tretiranog medljikovca

U Tabelama 4.20, 4.21 i 4.22 prikazani su rezultati senzorne analize tretiranih uzoraka medljikovca (T1-T15) i razlike u pojedinačnim senzornim svojstvima između tretiranog i netretiranog uzorka. Medljikovac je okarakterisan kao tamno obojena vrsta meda (Ngoi, 2016). Medljikovac koji je analiziran i korišten za dalje tretmane je bio tamne, homogene boje. Nakon izvršenih tretmana, boja uzoraka se promijenila. To se vidi i na osnovu statističkih podataka, koji govore da postoje značajnije razlike između pojedinačnih uzoraka. Primjena povišenih temperatura je dovela do dodatnog potamnjenja meda. Takođe, veće tamnjenje je primjetno kod uzorka T2 gdje je primijenjena viša temperatura, nego kod uzorka T1, što se može objasniti stvaranjem novih smeđih pigmenta. Do istog zaključka dolazi Ngoi (2016), koji navodi da više temperature uzrokuju izraženije tamnjenje meda u Maillard-ovoj reakciji i reakciji karamelizacije. Niske temperature nisu značajno uticale na promjenu boje, što ukazuje na dobro očuvanje kvaliteta proizvoda čuvanjem na niskim temperaturama. Tretiranje UV zračenjem uzrokovalo je tamnjenje medljikovca, s tim da su veće promjene, odnosno tamnija boja primjećene kod uzoraka koji su duže vrijeme izlagani ovom zračenju. Dejstvo ultrazvuka je dovelo do slabijeg ili intenzivnijeg tamnjenja, izuzev uzorka T11, gdje je boja ostala nepromijenjena. Tamnjenje meda su objasnili Quintero-Lira i sar. (2016) Maillard-ovom

reakcijom, reakcijom karamelizacije, ali i povećanjem sadržaja flavonoida. Oni navode da ukupna promjena boje zavisi i od dužine trajanja tretmana, što je potvrđeno i u ovom radu.

Tabela 4.20. Rezultati senzorne analize netretiranog i tretiranih uzoraka medljikovca (boja, konzistencija i tekstura) sa ocjenom razlike tretiranog u odnosu na netretirani medljikovac

Oznake	Boja		Konzistencija i tekstura	
	Ocjena	Razlika	Ocjena	Razlika
M	5,00 ^e ± 0,00	-	5,00 ^e ± 0,00	-
T1	4,10 ^{abcd} ± 0,20	2,70 ^{bcd} ± 0,67	3,20 ^a ± 0,40	4,10 ^d ± 0,50
T2	3,60 ^{ab} ± 0,22	3,20 ^{cd} ± 0,30	3,20 ^{a±} 0,27	4,10 ^d ± 0,55
T3	4,70 ^{de} ± 0,30	0,80 ^{ab} ± 0,40	4,40 ^{bcde} ± 0,20	1,60 ^{abc} ± 1,10
T4	4,10 ^{abcd} ± 0,22	2,00 ^{abcd} ± 0,71	4,60 ^{cde} ± 0,22	0,80 ^{ab} ± 0,45
T5	4,30 ^{abcde} ± 0,30	1,80 ^{abcd} ± 1,10	4,30 ^{bcde} ± 0,30	1,80 ^{abc} ± 0,80
T6	4,10 ^{abcd} ± 0,74	1,80 ^{abcd} ± 1,48	4,50 ^{cde} ± 0,00	1,00 ^{ab} ± 0,00
T7	3,50 ^a ± 0,40	3,60 ^d ± 1,50	4,10 ^{bcd} ± 0,20	1,70 ^{abc} ± 1,00
T8	4,50 ^{cde} ± 0,00	1,30 ^{abc} ± 0,67	4,30 ^{bcde} ± 0,27	1,00 ^{ab} ± 0,00
T9	4,30 ^{abcde} ± 0,40	1,40 ^{abcd} ± 0,90	3,80 ^{abc±} 0,40	2,60 ^{bcd} ± 0,90
T10	3,94 ^{abcd} ± 0,44	2,60 ^{bcd} ± 1,34	4,60 ^{de} ± 0,42	1,00 ^{ab} ± 1,22
T11	5,00 ^e ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00	4,30 ^{bcde±} 0,40	1,40 ^{abc} ± 0,90
T12	4,40 ^{bcde} ± 0,55	1,00 ^{abc} ± 1,00	3,70 ^{ab} ± 0,45	2,50 ^{bcd} ± 1,22
T13	4,30 ^{abcde} ± 0,40	1,60 ^{abcd} ± 1,30	4,40 ^{bcde±} 0,40	1,80 ^{abc} ± 1,30
T14	4,06 ^{abcd} ± 0,26	2,30 ^{bcd} ± 0,84	4,10 ^{bcd} ± 0,22	2,00 ^{bc} ± 1,00
T15	3,70 ^{abc} ± 0,60	3,20 ^{cd} ± 1,60	3,70 ^{ab} ± 0,40	3,20 ^{cd} ± 1,10

^{a,b,c,d,e} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

Konzistencija uzorka M je gusta, viskozna, sa sitnim granulama koje se osjete pod jezikom. Nakon izvršenih tretmana, došlo je do značajnih promjena u teksturi i konzistenciji. Nakon tretmana visokim temperaturama, konzistencija je postala glatka i staklasta, bez osjetnih granula i tragova kristalizacije. Pored navedenog, dosta je tečnija u odnosu na uzorak M, što se primijetilo ravnomjernim kapanjem meda iz kašike. Tretman niskim temperaturama doveo je do stvaranja manjih grudvica u strukturi meda. Ovakva konzistencija dovodi do neravnomjernog kapanja medljikovca iz kašike, jer je uzorak T3 dosta gušći u odnosu na uzorak M. UV tretmani su doveli do smanjenja granula koje su prisutne u uzorku M, iako je sa povećanjem trajanja tretmana došlo do povećanja granula. Uzorak T6, koji je UV zrakama izložen 120 sekundi imao je nehomogenu strukturu, uz neravnomjerno kapanje iz kašike. Ultrazvučni tretmani su se međusobno razlikovali, u zavisnosti od temperature koja je korištena. Ultrazvuk primijenjen uz niže temperature (30 °C) doveo je do blagog smanjenja granula, koje su prijatne na jeziku. Više temperature (60 °C) su dovele do gubitka granula, uz pojavu staklaste strukture meda.

Tabela 4.21. Rezultati senzorne analize netretiranog i tretiranih uzoraka medljikovca (miris, ukus i aroma) sa ocjenom razlike tretiranog u odnosu na netretirani medljikovac

Oznake	Miris		Ukus i aroma	
	Ocjena	Razlika	Ocjena	Razlika
M	5,00 ^b ± 0,00	-	5,00 ^f ± 0,00	-
T1	5,00 ^b ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00	3,30 ^{ab} ± 0,30	3,30 ^{de} ± 0,70
T2	4,70 ^{ab} ± 0,45	0,60 ^{ab} ± 0,89	3,10 ^a ± 0,42	3,40 ^e ± 0,55
T3	4,70 ^{ab} ± 0,40	0,50 ^{ab} ± 0,70	5,00 ^f ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00
T4	4,40 ^{ab} ± 0,42	1,20 ^{abc} ± 1,10	4,50 ^{def} ± 0,35	1,20 ^{abc} ± 1,10
T5	4,70 ^{ab} ± 0,30	0,80 ^{abc} ± 0,80	4,20 ^{de} ± 0,30	1,20 ^{abc} ± 0,40
T6	4,20 ^{ab} ± 0,45	1,80 ^{abc} ± 1,10	4,60 ^{ef} ± 0,22	0,80 ^{ab} ± 0,45
T7	3,90 ^a ± 0,40	2,80 ^c ± 1,60	3,80 ^{abcd} ± 0,30	2,40 ^{bcde} ± 1,10
T8	4,50 ^{ab} ± 0,00	1,40 ^{abc} ± 0,55	5,00 ^f ± 0,00	0,00 ^a ± 0,00
T9	4,50 ^{ab} ± 0,40	1,40 ^{abc} ± 0,90	4,20 ^{de} ± 0,40	1,60 ^{abcd} ± 0,90
T10	4,34 ^{ab} ± 0,48	0,70 ^{ab} ± 0,45	4,54 ^{ef} ± 0,09	0,90 ^{ab} ± 0,22
T11	4,40 ^{ab} ± 0,40	1,30 ^{abc} ± 1,00	4,10 ^{cde} ± 0,40	1,90 ^{bcde} ± 1,00
T12	4,26 ^{ab} ± 0,43	1,50 ^{abc} ± 0,87	3,90 ^{bcde} ± 0,55	2,20 ^{bcde} ± 1,10
T13	4,50 ^{ab} ± 0,40	1,00 ^{abc} ± 0,70	4,30 ^{def} ± 0,30	2,00 ^{bcde} ± 1,00
T14	4,46 ^{ab} ± 0,43	1,10 ^{abc} ± 0,89	3,80 ^{abcd} ± 0,27	2,80 ^{cde} ± 1,10
T15	4,20 ^{ab} ± 0,50	2,10 ^{bc} ± 1,20	3,50 ^{abc} ± 0,50	3,10 ^{de} ± 0,90

^{a,b,c...f} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

Miris uzorka M je okarakterisan kao čist, intenzivan i izrazito prijatan. Nakon izvršenih tretmana, miris se djelimično promijenio, a može se primijetiti da se rezultati statistički ne razlikuju značajno. Primjena visokih temperatura je dovela do blagog gubitka mirisa, dok su niske temperature najvećim dijelom očuvale miris u potpunosti. UV tretmani su djelimično uticali na smanjenje intenziteta mirisa, kao i kod uzoraka tretiranih ultrazvukom gdje je miris postojan, specifičan medljikovcu, ali sa nešto slabijim intenzitetom u odnosu na netretirani uzorak.

Ukus uzorka M je okarakterisan kao izrazito prijatan i čist, specifičan medljikovcu, bez prisustva stranih mirisa. Nakon tretmana, ukus i aroma su pokazali određene razlike, na šta ukazuje i statistička analiza. Primjenom viših temperatura došlo je do nastanka blago kiselijeg ukusa meda, tačnije do neizbalansiranosti kiselosti i slasti. Pored navedenog, uzorak 2 podsjeća na vještački med, jer slast najviše podsjeća na dodanu saharozu u med, dok su se arome meda djelimično izgubile. Primjena niskih temperatura nije dovela do promjena u ukusu i aromi, uzorak je isti kao uzorak M. UV tretmani su doveli do blagih izmjena ukusa i arome u odnosu na uzorak M, usljed blago izraženije kiselosti u odnosu na uzorak M, ali je aroma i dalje postojana. Kod ultrazvučnih tretmana, veće promjene u ukusu su primjetne kod uzoraka koji su podvrgnuti višim temperaturama (uzorci T9, T12 i T15), gdje je povećana slast uz djelimični gubitak arome. Niže temperature (uzorci T7, T10 i T12) imaju nešto slabije izraženu aromu u odnosu na uzorak M, iako ukus nije značajnije izmijenjen.

Tabela 4.22. Rezultati senzorne analize netretiranog i tretiranih uzoraka medljikovca (cjelokupni utisak) sa ocjenom razlike tretiranog u odnosu na netretirani medljikovac

Oznake	Cjelokupni utisak	
	Ocjena	Razlika
M	5,00 ^f ± 0,00	-
1	3,40 ^{ab} ± 0,40	3,20 ^{de} ± 0,40
2	3,20 ^a ± 0,27	3,40 ^e ± 0,55
3	4,50 ^{def} ± 0,30	0,90 ^{ab} ± 0,50
4	4,40 ^{cdef} ± 0,22	1,20 ^{abc} ± 0,45
5	4,30 ^{cdef} ± 0,30	1,60 ^{abcd} ± 0,50
6	4,35 ^{cdef} ± 0,34	1,50 ^{abcd} ± 0,71
7	4,10 ^{bcde} ± 0,30	2,00 ^{bcde} ± 0,70
8	4,54 ^{def} ± 0,09	1,00 ^{ab} ± 0,00
9	4,10 ^{cde} ± 0,50	2,00 ^{bcde} ± 1,20
10	4,60 ^{ef} ± 0,22	1,00 ^{ab} ± 0,71
11	4,30 ^{cdef} ± 0,40	1,60 ^{abcd} ± 0,90
12	3,90 ^{abcde} ± 0,42	2,80 ^{cde} ± 1,30
13	4,30 ^{cde} ± 0,30	2,00 ^{bcde} ± 1,00
14	3,80 ^{abc} ± 0,27	2,80 ^{cde} ± 1,10
15	3,90 ^{abcd} ± 0,20	2,60 ^{bcde} ± 0,50

^{a,b,c,...,f} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)

Kao što se može vidjeti u Tabeli 4.22, cjelokupni utisak ima srednje do niske vrijednosti, a ocjene tretiranih uzoraka su se kretale u granicama od 3,20 u uzorku T2 do 4,60 u uzorku T10. Ovo ukazuje da je došlo do značajnijih promjena u senzornim svojstvima nakon izvršenih tretmana. Sveukupni zaključak je da je primjena visokih temperatura od 90 °C negativno uticala na sve navedene parametre, čime je izmijenjen senzorni profil medljikovca. Pored ultrazvučnih tretmana, nešto slabije promjene su zabilježene pri tretmanu niskim temperaturama (uzorak T3), što ukazuje na činjenicu da zamrzavanje predstavlja alternativni metod očuvanja kvaliteta i senzornih karakteristika proizvoda.

4.2.6. Primjena RSM-a u cilju optimizacije tretmana medljikovca i odabira tretmana

U cilju ispitivanja uticaja termičkih tretmana, tretmana UV zracima i ultrazvukom, na karakteristične parametre kvaliteta medljikovca, proveden je niz eksperimenata u skladu sa zahtjevima dizajna eksperimenta za jednofaktorske kategoričke parametre. Svi navedeni tretmani su posmatrani kao kategoričke varijable. Dizajn eksperimenta, analiza i obrada dobijenih rezultata je urađena korištenjem programa Design-Expert 11 (Stat-Ease, Inc.). Navedeni modeli se odnose na značajnost uticaja posmatranog tretmana na zavisnu varijablu, tj. odziv koji predstavlja jedno od antioksidativnih svojstava medljikovca (sadržaj ukupnih fenola, sadržaj flavonoida, DPPH, FRAP i ABTS).

Primjena RSM-a ima za cilj odabir pojedinačnih tretmana medljikovca unutar pojedinih grupa (termički tretmani, tretmani UV zračenjem i ultrazvučni tretmani) koji će u eksperimentu koristiti za pripremu polaznih rastvora za fermentaciju.

U Tabeli 4.23 je prikazana korištena šema eksperimenta i rezultati odgovarajućih mjerenja za uticaj termičkih tretmana na medljikovac. Ispitivani kategorički faktor je termički tretman medljikovca na 4 nivoa uticaja, gdje je T1 (nivo 1), T2 (nivo 2), T3 (nivo 3), dok je kao četvrti nivo uticaja posmatran netretiran medljikovac M (nivo 4). Za svaki nivo uticaja rađena su po tri paralelna ponavljanja, odnosno provedeno je ukupno 12 eksperimenata. Kao zavisne veličine (Tabela 4.23, odzivi 1-5), odnosno veličine za koje je potrebno odrediti da li ispitivani faktor (tretman) ima statistički značajan uticaj ili ne, izabrane su: sadržaj ukupnih fenola, sadržaj flavonoida i rezultati DPPH, FRAP i ABTS testova. U Tabeli 4.23 se može vidjeti da kod svih zavisnih veličina postoji određena varijacija u pojedinačnim vrijednostima, posebno u odnosu na netretirani medljikovac. Za ispitivanje statističke značajnosti ovih varijacija korištena je analiza varijanse dobijenih podataka, koja je prikazana u Tabeli 4.24.

Tabela 4.23. Šema eksperimenta i rezultati odgovarajućih mjerenja za uticaj termičkih tretmana

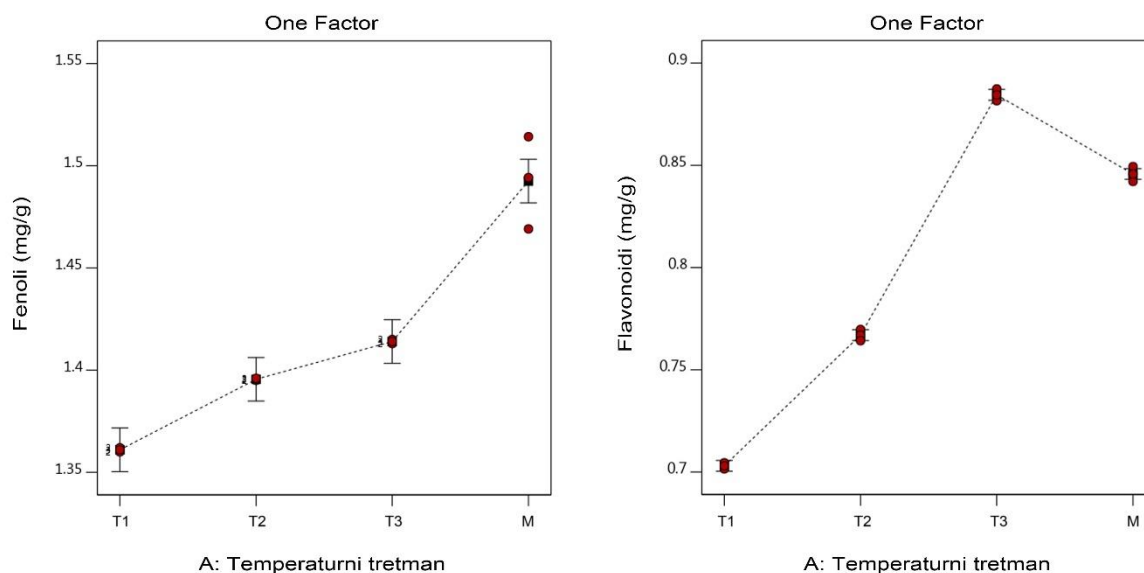
Std	Run	Faktor 1	Odziv 1	Odziv 2	Odziv 3	Odziv 4	Odziv 5
		A: Termički tretman	Sadržaj ukupnih fenola (mg/g)	Sadržaj flavonoida (mg/g)	DPPH ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	FRAP (mmol Fe^{2+}/g)	ABTS (g/mg)
5	5	T1	1,362	0,702	0,348	8,064	0,0042
1	7	T1	1,360	0,704	0,344	8,225	0,0044
9	12	T1	1,361	0,703	0,346	8,144	0,0043
10	3	T2	1,396	0,764	0,342	7,542	0,0043
2	4	T2	1,395	0,769	0,345	7,579	0,0042
6	6	T2	1,395	0,766	0,344	7,561	0,0042
3	2	T3	1,415	0,887	0,346	8,246	0,0047
7	9	T3	1,413	0,882	0,349	8,413	0,0047
11	11	T3	1,414	0,884	0,347	8,329	0,0047
8	1	M	1,469	0,842	0,187	7,986	0,0042
4	8	M	1,514	0,849	0,186	7,971	0,0040
12	10	M	1,494	0,846	0,186	8,061	0,0051

Kod zavisnih veličina: sadržaj ukupnih fenola, sadržaj flavonoida, DPPH i FRAP prisutna je visoka F-vrijednost koja ukazuje da je uticaj tretmana medljikovca primjenom navedenih termičkih tretmana statistički izuzetno značajan, te da postoji 0,01 % vjerovatnoće da su ovako visoke F-vrijednosti posljedica šuma u mjerenjima, a ne uticaja različitih nivoa tretmana (sa primjenom termičkih tretmana i bez). Značajnost uticaja termičkih tretmana na vrijednost svih navedenih parametara kvaliteta (zavisnih veličina) je potvrđena odgovarajućim izuzetno niskim p-vrijednostima. U Tabeli 4.24 se vidi da su za navedene zavisne veličine p-vrijednosti daleko niže od granične vrijednosti ($p=0,05$) za prihvatanje zavisnosti slučaja. Kod ABTS kao zavisne veličine, F-vrijednost je relativno niska (1,37), te postoji 31,99 % šanse da je ova vrijednost posljedica šuma u mjerenjima, te se ne može tvrditi da tretman ima značajan

uticaj na ABTS vrijednost. Ovo je potvrđeno i odgovarajućom relativno visokom p-vrijednosti (0,3199) koja je veća od granične vrijednosti ($p=0,05$). U prilog svim navedenim tvrdnjama idu i rezultati sekundarne provjere, odnosno statistike fitovanja eksperimentalnih podataka, prema kojima su za sve zavisne veličine, osim za ABTS, predviđene vrijednosti koeficijenta determinacije (Predicted R^2) dosta bliske podešenim vrijednostima (Adjusted R^2), koje se međusobno razlikuju za manje od 0,2, što je granica prihvatanja. Kod ABTS kao zavisne veličine, predviđeni R^2 ima negativnu vrijednost što ukazuje da ukupna srednja vrijednost može biti bolji prediktor odziva od trenutnog modela, a razlika između predviđenog R^2 i prilagođenog R^2 je 2,61, što predstavlja veću vrijednost od granične vrijednosti 0,2. Takođe i pouzdanost eksperimentalnih mjerenja je dosta visoka, a što je izraženo visokim vrijednostima odnosa mjerenog signala prema šumu (Adeq. precision), koja je kod svih zavisnih veličina, osim ABTS, veća od granične vrijednosti za pouzdanost analize, koja iznosi 4.

Tabela 4.24. Analiza varijanse za tretmane UV zračenjem

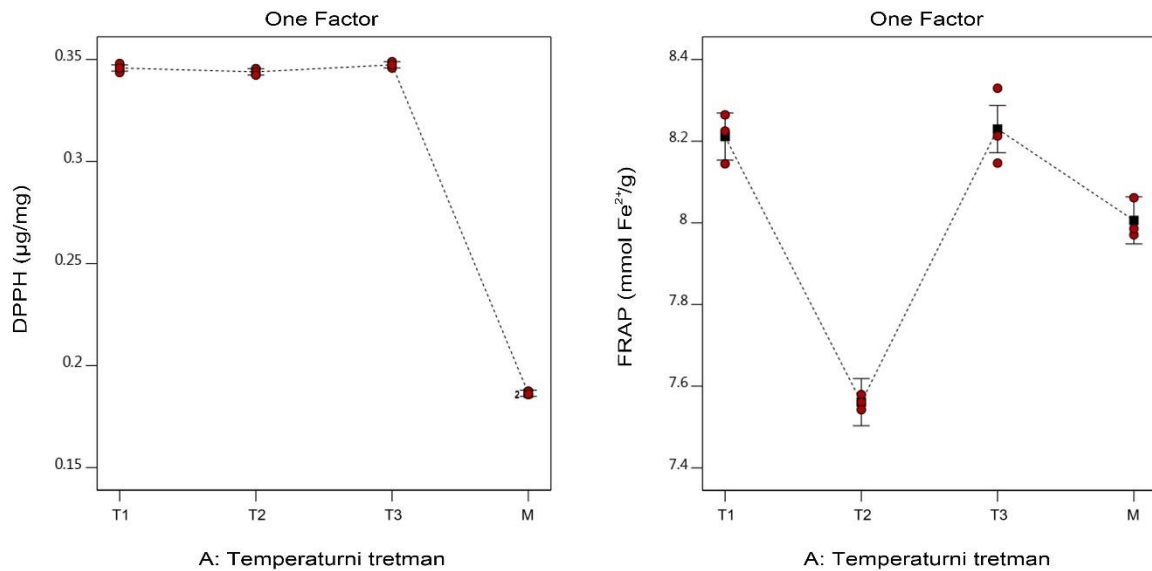
	Odziv 1	Odziv 2	Odziv 3	Odziv 4	Odziv 5
	Sadržaj ukupnih fenola	Sadržaj flavonoida	DPPH	FRAP	ABTS
F-value	72,54	2502,41	7135,46	77,18	1,37
p-value	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3199
Adjusted R^2	0,9512	0,9985	0,9995	0,9541	0,0917
Predicted R^2	0,9202	0,9976	0,9992	0,9249	-0,4864
Adeq. precision	20,1137	111,9443	170,6846	18,8900	2,6123



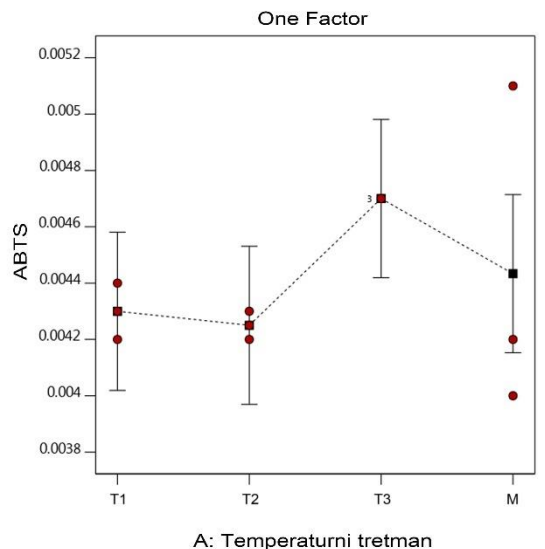
Slika 4.4. Uticaj termičkih tretmana na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (fenoli, flavonoidi)

Do gore navedenih zaključaka može se doći posmatranjem odnosa I-barova na Slikama 4.4, 4.5 i 4.6. Da bi se dva tretmana značajno razlikovala po uticaju na posmatranu promjenljivu

ne smije postojati horizontalno preklapanje I-barova. Na Slici 4.4, posmatranjem I-barova za uticaj tretmana na fenole, može se vidjeti da sve tri tretmana značajno razlikuju u odnosu na uzorak M, dok između T2 i T3 postoji horizontalno preklapanje, što ukazuje da nema značajne statističke razlike u pogledu uticaja ovih tretmana na sadržaj ukupnih fenola. Posmatranjem I-barova za uticaj tretmana na sadržaj flavonoida, može se vidjeti da su sva tri korištena tretmana imala značajan uticaj na sadržaj flavonoida, te da se sve tri značajno razlikuju jedan od drugog.



Slika 4.5. Uticaj termičkih tretmana na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (DPPH i FRAP)



Slika 4.6. Uticaj termičkih tretmana na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (ABTS)

Primjenjeni tretmani su značajno uticali na DPPH vrijednost, na šta ukazuje značajna statistička razlika u analizi tretiranih i netretiranog medljikovca, iako se može vidjeti da poređenjem navedenih tretmana međusobno ne postoji značajna statistička razlika, jer postoji

horizontalno preklapanje I-barova za sve tri termička tretmana. Kod analize FRAP vrijednosti, pokazano je da postoji značajna statistička razlika nakon primjene termičkih tretmana, gdje se vidi da je do poboljšanja navedenih vrijednosti došlo u uzorcima T1 i T3, za razliku od T2. Takođe, može se vidjeti da se u pogledu FRAP vrijednosti uzorci T1 i T3 značajno statistički ne razlikuju.

Kod ABTS vrijednosti se ne može uočiti značajna statistička razlika između tretiranih i netretiranog medljikovca, kao ni između pojedinačnih tretmana, jer kod svih uzoraka postoji horizontalno preklapanje I barova.

Na osnovu rezultata RSM analize, primjenom termičkih tretmana se može vidjeti da su u pogledu svih 5 zavisnih veličina antioksidativna svojstva najbolje očuvana kod tretmana zamrzavanja. Međutim, kako je prethodno navedeno u Poglavlju 2, kod pripreme polaznih rastvora za fermentaciju neophodno je izvršiti obradu sirovina kako bi se onemogućilo ometanje fermentacije i izvršila redukcija broja mikroorganizama prisutnih u medu. Kao najefikasniji način navodi se primjena povišenih temperatura (Iglesias i sar., 2014; Pereira, 2015) kako kod obrade meda, tako i vode koja se koristi za pripremu polaznih rastvora za fermentaciju. Poređenjem uticaja na antioksidativna svojstva medljikovca između dva termička tretmana, može se vidjeti da ne postoji značajna razlika u pogledu ABTS, dok je u pogledu FRAP i DPPH bolji uticaj postignut u uzorku T1, gdje je korištena niža temperatura (60 °C). Kako je ovaj režim predložen za pasterizaciju aronije, za dalji nastavak eksperimenta je odabran uzorak T1 koji podrazumijeva zagrijavanje meda na 60 °C u trajanju od 10 min.

Tabela 4.25. Šema eksperimenta i rezultati odgovarajućih mjerenja za uticaj tretmana UV zračenjem

Std	Run	Faktor 1	Odziv 1	Odziv 2	Odziv 3	Odziv 4	Odziv 5
		A: Tretman UV zračenjem	Sadržaj ukupnih fenola (mg/g)	Sadržaj flavonoida (mg/g)	DPPH (µg/mg)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /g)	ABTS (g/mg)
1	1	T4	1,417	0,716	0,365	9,078	0,0035
9	3	T4	1,413	0,711	0,370	8,754	0,0041
5	9	T4	1,415	0,714	0,368	8,916	0,0038
10	6	T5	1,441	0,785	0,357	8,801	0,0043
2	7	T5	1,441	0,786	0,353	8,871	0,0044
6	10	T5	1,441	0,785	0,355	8,836	0,0044
7	2	T6	1,445	0,792	0,363	8,626	0,0043
3	5	T6	1,457	0,784	0,367	8,932	0,0043
11	11	T6	1,451	0,788	0,365	8,779	0,0043
8	4	M	1,469	0,842	0,187	7,986	0,0042
12	8	M	1,514	0,849	0,186	7,971	0,0040
4	12	M	1,494	0,846	0,186	8,061	0,0051

U Tabeli 4.25 je prikazana korištena šema eksperimenta i rezultati odgovarajućih mjerenja za uticaj tretmana UV zračenjem pri 254 nm na medljikovac. Ispitivani kategorički

faktor je UV tretman medljikovca, na 4 nivoa uticaja, gdje je netretirani medljikovac M (nivo 1), T4 (nivo 2) u trajanju od 30 s, T5 (nivo 3) u trajanju od 60 s i T6 (nivo 4) u trajanju od 120 s. Za svaki nivo uticaja rađena su po tri paralelna ponavljanja, odnosno provedeno je ukupno 12 eksperimenata. Kao zavisne veličine (Tabela 4.25, odzivi 1-5), odnosno veličine za koje je potrebno odrediti da li ispitivani tretman ima statistički značajan uticaj ili ne, koriste se rezultati antioksidativnih svojstava (sadržaj ukupnih fenola, sadržaj flavonoida, rezultati DPPH, FRAP i ABTS testova). Iz Tabele 4.25 se može vidjeti da kod svih zavisnih veličina postoji određena varijacija u pojedinačnim vrijednostima, posebno u poređenju sa netretiranim medljikovcem. U Tabeli 4.26 su prikazani rezultati analize varijanse dobijenih podataka koja je korištena za ispitivanje statističke značajnosti navedenih varijacija.

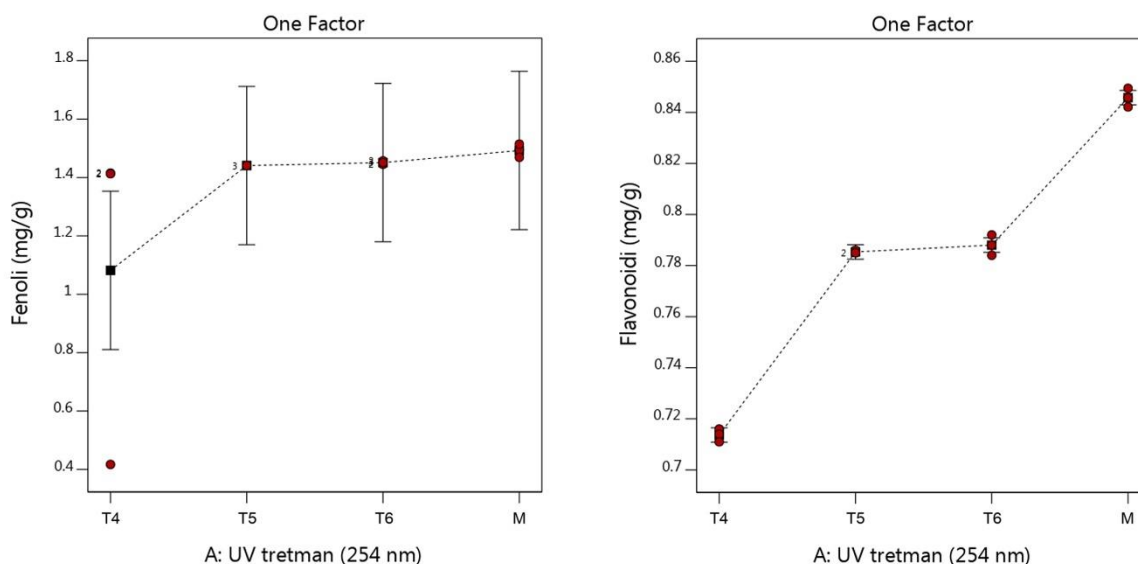
Tabela 4.26. Analiza varijanse za temperaturne tretmane

	Odziv 1	Odziv 2	Odziv 3	Odziv 4	Odziv 5
	Sadržaj ukupnih fenola	Sadržaj flavonoida	DPPH	FRAP	ABTS
F-value	1,32	975,29	6147,00	40,25	2,29
p-value	0,3332	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1554
Adjusted R ²	0,0808	0,9963	0,9994	0,9146	0,2599
Predicted R ²	-0,5042	0,9939	0,9990	0,8602	-0,2111
Adeq. precision	2,4704	76,2698	161,0477	13,6623	3,3201

Kod zavisnih veličina: sadržaj flavonoida, DPPH i FRAP prisutna je visoka F-vrijednost koja ukazuje da je tretman medljikovca primjenom navedenih tretmana UV zračenja statistički izuzetno značajan, te da postoji 0,01 % vjerovatnoće da su ovako visoke F-vrijednosti posljedica šuma u mjerenjima, a ne uticaja različitih nivoa tretmana (sa primjenom tretmana UV zračenja i bez). Značajnost uticaja tretmana UV zračenjem na vrijednost svih navedenih parametara kvaliteta (zavisnih veličina) je potvrđena odgovarajućim izuzetno niskim p-vrijednostima. U Tabeli 4.26 se vidi da su za navedene zavisne veličine p-vrijednosti daleko niže od granične vrijednosti ($p=0,05$) za prihvatanje zavisnosti slučaja. Kod sadržaja ukupnih fenola i ABTS kao zavisnih veličina, F-vrijednosti su relativno niske. F-vrijednost za sadržaj ukupnih fenola je 1,32, te postoji 33,32 % šanse da je ova vrijednost posljedica šuma u mjerenjima, te se ne može tvrditi da tretman ima značajan uticaj na sadržaj ukupnih fenola. Slično je i kod ABTS, gdje F-vrijednost iznosi 2,29, te je 15,54 % šanse da je ova vrijednost posljedica šuma u mjerenjima. Navedene F-vrijednosti su potvrđene relativno visokim p-vrijednostima koja za sadržaj ukupnih fenola iznosi 0,3332, a za ABTS 0,1554. Navedene vrijednosti su veće od granične ($p=0,05$), što potvrđuje da ne postoji značajna statistička razlika za navedene zavisne veličine nakon tretmana UV zračenjem. U prilog navedenim tvrdnjama idu i rezultati sekundarne provjere, odnosno statistike fitovanja eksperimentalnih podataka, prema kojima su za sadržaj flavonoida, FRAP i DPPH vrijednosti, predviđene vrijednosti koeficijenta determinacije (Predicted R²) dosta bliske podešenim vrijednostima (Adjusted R²), koje se međusobno razlikuju za manje od 0,2, što je granica prihvatanja. Kod sadržaja ukupnih fenola i ABTS vrijednosti Predicted R² ima negativnu vrijednost što ukazuje da ukupna srednja vrijednost može biti bolji prediktor odziva od trenutnog modela, a razlika između predviđenog

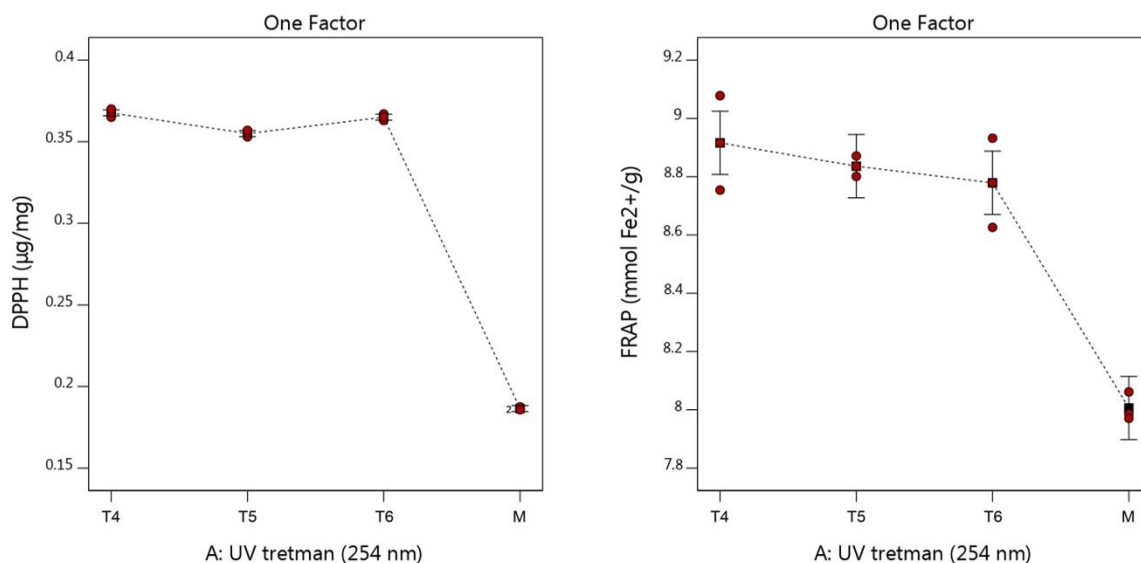
R^2 i prilagođenog R^2 za sadržaj ukupnih fenola je 2,4704, a za ABTS 3,3201, što predstavlja veće vrijednosti od granične vrijednosti 0,2. Takođe i pouzdanost eksperimentalnih mjerenja je dosta visoka, što je izraženo visokim vrijednostima odnosa mjerenog signala prema šumu (Adeq. precision), koja je kod svih zavisnih veličina, osim sadržaja ukupnih fenola i ABTS, veća od granične vrijednosti za pouzdanost analize, koja iznosi 4.

Do gore navedenih zaključaka može se doći posmatranjem odnosa I-barova na Slikama 4.7, 4.8 i 4.9. Da bi se dva tretmana značajno razlikovala po uticaju na posmatranu promjenljivu ne smije postojati horizontalno preklapanje I-barova. Na Slici 4.7, posmatranjem I-barova za uticaj tretmana na fenole, može se vidjeti da sve tri tretmana značajno ne razlikuju u odnosu na netretirani medljikovac (M), kao i da postoji preklapanje I-barova između tretiranih uzoraka. Posmatranjem I-barova za uticaj tretmana na sadržaj flavonoida, može se vidjeti da su sva tri korištena tretmana imala značajan uticaj na sadržaj flavonoida, te da se poređenjem tretmana međusobno može vidjeti da između tretmana T4 i T5 ne postoji značajna razlika, ali da se T4 i T6 tretman značajno razlikuje od tretmana T5 i T6.



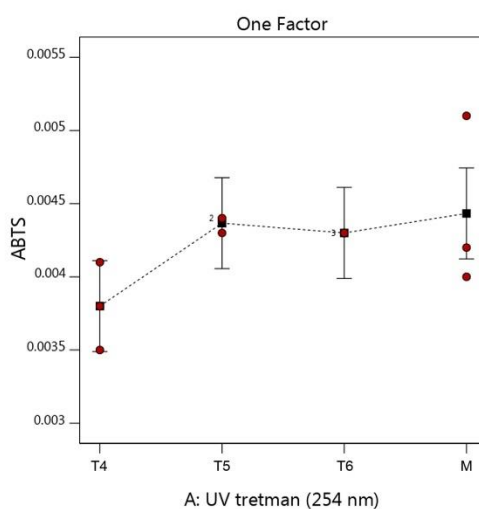
Slika 4.7. Uticaj tretmana UV zračenja na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (sadržaj ukupnih fenola i flavonoida)

Primjenjeni tretmani su značajno uticali na DPPH vrijednost, na šta ukazuje značajna statistička razlika u analizi tretiranih i netretiranog medljikovca. Poređenjem I-barova između tretiranih uzoraka može se vidjeti da se uzorci T4 i T6 međusobno ne razlikuju, ali se razlikuju u odnosu na T5. Kod analize FRAP vrijednosti, pokazano je da postoji značajna statistička razlika nakon primjene termičkih tretmana, iako se može vidjeti da poređenjem navedenih tretmana međusobno ne postoji značajna statistička razlika, jer postoji horizontalno preklapanje I-barova za sve tri tretmana UV zračenjem.



Slika 4.8. Uticaj tretmana UV zračenja na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (DPPH i FRAP)

Kod ABTS vrijednosti se može vidjeti da dolazi do preklapanja I-barova između sva tri medljikovca tretirana UV zračenjem i netretiranog medljikovca, te da navedeni tretmani nisu uticali značajno na medljikovac.



Slika 4.9. Uticaj tretmana UV zračenja na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (ABTS)

Na osnovu svih navedenih rezultata može se primjetiti da u pogledu tri zavisne veličine (sadržaj flavonoida, DPPH i FRAP) postoji statistički značajan uticaj navedenih tretmana u odnosu na netretirani medljikovac, dok za druge dvije zavisne veličine (sadržaj ukupnih fenola i ABTS) ne postoji statistički značajan uticaj na netretirani medljikovac. Ukoliko se međusobno uporede I-barovi za tri različita režima UV zračenja za zavisne veličine kod kojih je pokazano da postoji statistička značajna razlika nakon primjenjenih tretmana, može se vidjeti da se I-

barovi za FRAP vrijednosti horizontalno preklapaju, što znači da su razlike statistički zanemarljive. Kod sadržaja flavonoida se može vidjeti preklapanje kod uzoraka T5 i T6 kod kojih je izmjeren veći sadržaj flavonoida nakon tretmana u odnosu na T4. Kod DPPH vrijednosti, može se primjetiti horizontalno preklapanje kod T4 i T6 koji su pokazali više vrijednosti u odnosu na T5. Na osnovu svih navedenih rezultata, odabran je tretman T4, te je medljikovac obrađen UV zrakama pri 254 nm u trajanju od 2 min.

Tabela 4.27. Šema eksperimenta i rezultati odgovarajućih mjerenja za uticaj ultrazvučnih tretmana

Std	Run	Faktor 1	Odziv 1	Odziv 2	Odziv 3	Odziv 4	Odziv 5
		A: Ultrazvučni tretman	Sadržaj ukupnih fenola (mg/g)	Sadržaj flavonoida (mg/g)	DPPH ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	FRAP (mmol Fe^{2+}/g)	ABTS (g/mg)
2	5	T7	1,467	0,713	0,367	9,383	0,0036
22	20	T7	1,471	0,707	0,363	9,801	0,0037
12	30	T7	1,469	0,710	0,365	9,592	0,0037
3	4	T8	1,505	0,770	0,368	9,589	0,0034
23	8	T8	1,509	0,772	0,366	9,613	0,0033
13	18	T8	1,501	0,768	0,370	9,566	0,0035
14	14	T9	1,575	0,826	0,365	9,611	0,0029
24	22	T9	1,564	0,811	0,369	9,669	0,0028
4	25	T9	1,570	0,819	0,367	9,640	0,0029
25	27	T10	1,458	0,763	0,406	8,050	0,0026
15	29	T10	1,453	0,769	0,403	8,050	0,0025
5	7	T10	1,448	0,774	0,401	8,050	0,0024
26	9	T11	1,496	0,823	0,405	8,097	0,0039
16	2	T11	1,497	0,818	0,406	8,098	0,0039
6	17	T11	1,498	0,814	0,407	8,098	0,0039
27	3	T12	1,519	0,820	0,404	8,145	0,0038
7	21	T12	1,515	0,823	0,404	8,147	0,0038
17	26	T12	1,517	0,821	0,404	8,147	0,0038
8	24	T13	1,541	0,800	0,407	8,278	0,0033
28	15	T13	1,545	0,798	0,396	8,622	0,0033
18	12	T13	1,543	0,799	0,401	8,450	0,0033
29	16	T14	1,557	0,815	0,407	8,496	0,0038
9	23	T14	1,557	0,817	0,402	8,480	0,0036
19	28	T14	1,557	0,816	0,404	8,488	0,0037
20	10	T15	1,571	0,830	0,401	8,512	0,0048
10	11	T15	1,557	0,819	0,402	8,581	0,0047
30	13	T15	1,564	0,824	0,402	8,546	0,0048
8	1	M	1,469	0,842	0,187	7,986	0,0042
4	8	M	1,514	0,849	0,186	7,971	0,0040
12	10	M	1,494	0,846	0,186	8,061	0,0051

U Tabeli 4.27 je prikazana korištena šema eksperimenta i rezultati odgovarajućih mjerenja za uticaj ultrazvučnih tretmana na medljikovac. Ispitivani kategorički faktor je ultrazvučni tretman medljikovca, na 10 nivoa uticaja, gdje je netretirani medljikovac M (nivo 1), T7 (nivo 2) pri 30 °C 1 min, T8 (nivo 3) pri 45 °C 1 min, T9 (nivo 4) pri 60 °C 1 min, T10

(nivo 5) pri 30 °C 5 min, T11 (nivo 6) pri 45 °C 5 min, T12 (nivo 7) pri 60 °C 5 min, T13 (nivo 8) pri 30 °C 10 min, T14 (nivo 9) pri 45 °C 10 min i T15 (nivo 10) pri 60 °C 10 min. Za svaki nivo uticaja su rađena po tri paralelna ponavljanja, odnosno provedeno je ukupno 30 eksperimenata. Kao zavisne veličine (Tabela 4.27, odzivi 1-5), odnosno veličine za koje je potrebno odrediti da li ispitivani tretman ima statistički značajan uticaj ili ne, koriste se rezultati antioksidativnih svojstava (sadržaj ukupnih fenola, sadržaj flavonoida, rezultati DPPH, FRAP i ABTS testova). U Tabeli 4.27 se može vidjeti da kod svih zavisnih veličina postoji određena varijacija u pojedinačnim vrijednostima, posebno u poređenju sa netretiranim medljikovcem. U Tabeli 4.28 su prikazani rezultati analize varijanse dobijenih podataka koja je korištena za ispitivanje statističke značajnosti navedenih varijacija.

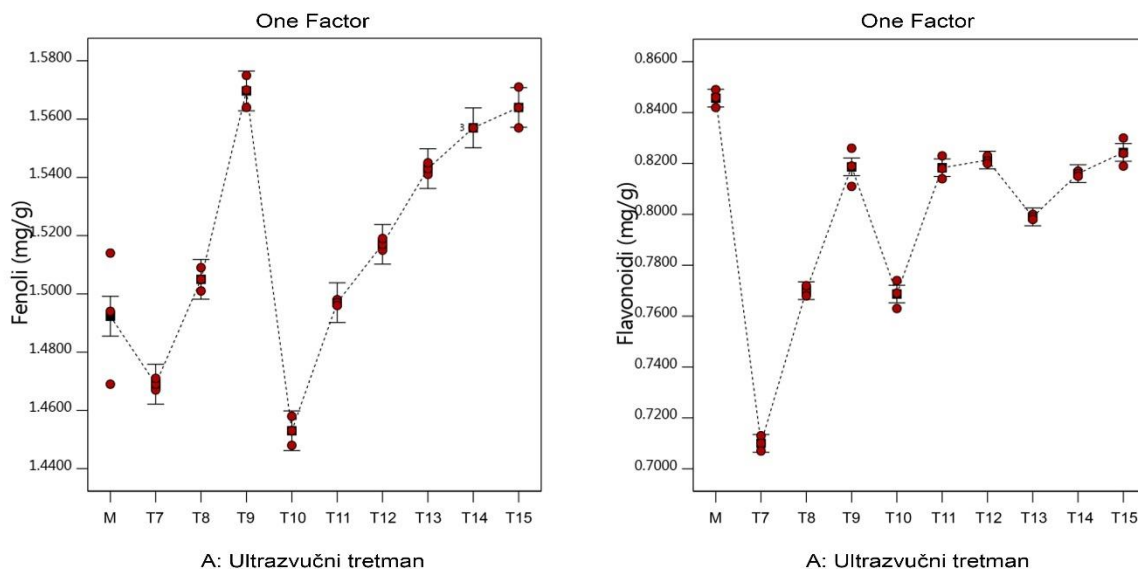
Tabela 4.28. Analiza varijanse za ultrazvučne tretmane

	Odziv 1	Odziv 2	Odziv 3	Odziv 4	Odziv 5
	Sadržaj ukupnih fenola	Sadržaj flavonoida	DPPH	FRAP	ABTS
F-vrijednost	76,94	280,43	2333,54	177,20	35,36
p-vrijednost	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Adjusted R ²	0,9593	0,9886	0,9986	0,9820	0,9143
Predicted R ²	0,9368	0,9823	0,9979	0,9721	08670
Adeq. precision	25,2262	57,5010	158,1987	31,9963	20,0521

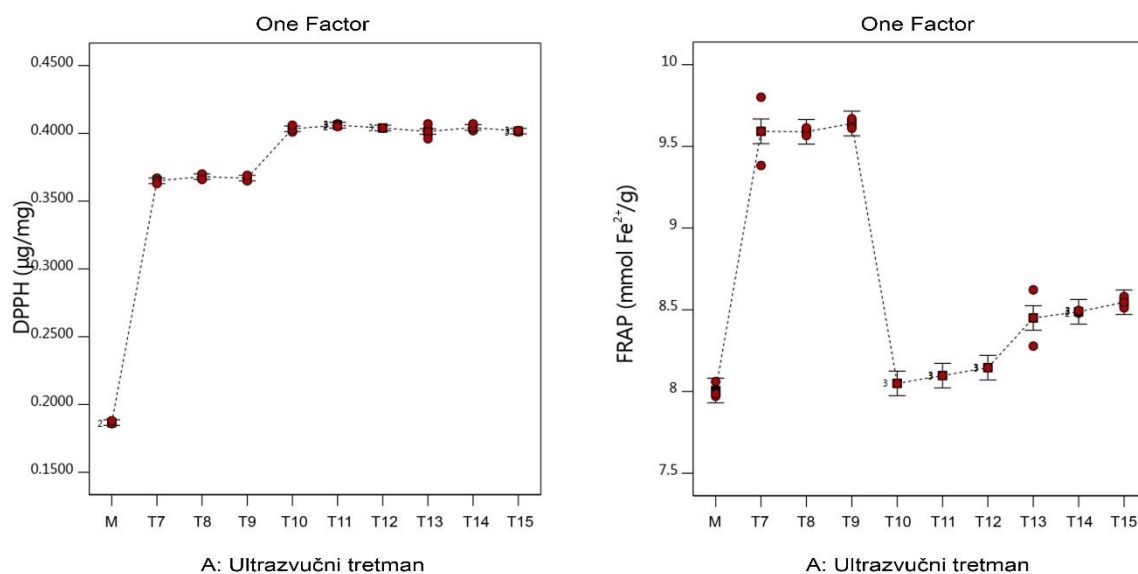
F-vrijednost zavisnih veličina (sadržaj ukupnih fenola, sadržaj flavonoida, DPPH, FRAP i ABTS) ukazuju da je uticaj ultrazvučnih tretmana na medljikovac izuzetno značajan, te da postoji 0,01 % vjerovatnoće da su ovako visoke F-vrijednosti posljedica šuma u mjerenjima, a ne uticaja različitih nivoa tretmana (sa primjenom ultrazvučnih tretmana i bez). Značajnost uticaja tretmana ultrazvukom na vrijednost svih navedenih parametara kvaliteta (zavisnih veličina) potvrđena je i odgovarajućim izuzetno niskim p-vrijednostima. U Tabeli 4.28 se vidi da su za navedene zavisne veličine p-vrijednosti daleko niže od granične vrijednosti ($p=0,05$) za prihvatanje zavisnosti slučaja. U prilog svim navedenim tvrdnjama idu i rezultati sekundarne provjere, odnosno statistike fitovanja eksperimentalnih podataka, prema kojima su za sve zavisne veličine, predviđene vrijednosti koeficijenta determinacije (Predicted R²) dosta bliske podešenim vrijednostima (Adjusted R²), koje se međusobno razlikuju za manje od 0,2, što je u granicama prihvatanja. U Tabeli 4.28 je prikazana i pouzdanost eksperimentalnih mjerenja koja je visoka, što je izraženo visokim vrijednostima odnosa mjerenog signala šuma (Adeq. precision), koja je kod svih zavisnih veličina veća od granične vrijednosti za pouzdanost analize koja iznosi 4.

Prethodno navedeni zaključci se mogu potvrditi posmatranjem I-barova prikazanim na Slikama 4.10, 4.11 i 4.12. Može se vidjeti da je najveći broj ultrazvučnih tretmana imao značajan uticaj na sadržaj fenola u odnosu na netretirani medljikovac, osim u uzorcima UZ 2 i UZ 5 gdje dolazi do horizontalnog preklapanja I-barova. Najveća promjena u sadržaju flavonoida se može vidjeti u uzorku T9, gdje je došlo do najvećeg porasta sadržaja fenola. Može se vidjeti da ne postoji značajna statistička razlika između uzoraka T9 u poređenju sa T14 i T15. U pogledu sadržaja flavonoida, može se vidjeti da su svi ultrazvučni tretmani značajno uticali

na netretirani medljikovac. Najveći sadržaj flavonoida je izmjeren u uzorcima T9, T11, T12, T14 i T15, između kojih ne postoji značajna statistička razlika.



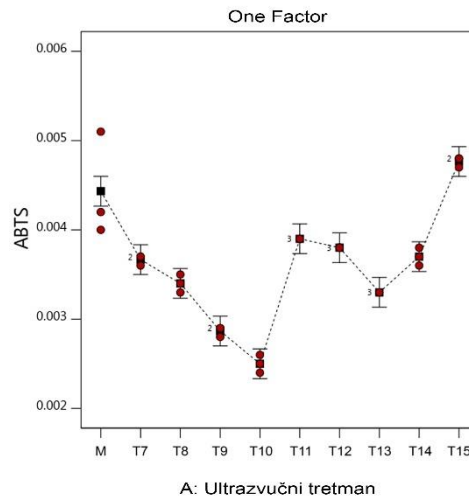
Slika 4.10. Uticaj ultrazvučnih tretmana na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (fenoli, flavonoidi)



Slika 4.11. Uticaj ultrazvučnih tretmana na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (DPPH, FRAP)

Na Slici 4.11 se može vidjeti uticaj ultrazvučnih tretmana na DPPH kao posmatranu promjenljivu, gdje se može primjetiti da su ultrazvučni tretmani doveli do značajnih statističkih razlika u pogledu DPPH vrijednosti. Takođe, T7, T8 i T9 se međusobno statistički značajno ne razlikuju, kao i uzorci T10, T11, T12, T13, T14 i T15, na šta ukazuje horizontalno preklapanje I-barova. Kod FRAP vrijednosti se može vidjeti da za najveći broj uzoraka postoje statistički značajne razlike u odnosu na netretirani medljikovac. Najviša vrijednost FRAP je izmjerena u uzorku T9, koji se statistički značajno ne razlikuje u odnosu na T7 i T8.

Na Slici 4.12 su prikazani I-barovi za uticaj ultrazvučnih tretmana na vrijednost ABTS, gdje se može vidjeti da za najveći broj uzoraka postoji značajna statistička razlika u odnosu na netretirani medljikovac. Najniža vrijednost ABTS je izmjerena u uzorku T10, kod kog postoji horizontalno preklapanje I-barova sa uzorkom T9.



Slika 4.12. Uticaj ultrazvučnih tretmana na mjerene vrijednosti antioksidativnih svojstava (ABTS)

Na osnovu rezultata RSM za uticaj ultrazvučnih tretmana na medljikovac može se vidjeti da postoji značajan uticaj na sve zavisne veličine. Najbolji uticaj na sadržaj ukupnih fenola kao zavisnu promjenljivu je pokazao T9, dok se kod sadržaja flavonoida može primjetiti veći broj uzoraka kod kojih je došlo do povećanja ovih vrijednosti, a kod uzorka T9 se može primjetiti najviša vrijednost. U pogledu DPPH se može primjetiti povećanje ove vrijednosti kod svih uzoraka, iako je najveće u uzorcima od T10 do T15. U pogledu FRAP vrijednosti, najviše vrijednosti su ostvarili uzorci od T7 do T9, iako je do povećanja ove vrijednosti došlo i kod ostalih uzoraka, a na ABTS vrijednost najbolji uticaj u odnosu na netretirani medljikovac je pokazao T10. Na osnovu navedenih rezultata može se zaključiti da su uzorci T9 i T10 pokazali najveće povećanje antioksidativnih svojstava. Za nastavak eksperimenta u okviru ultrazvučnih tretmana odabran je T9, te je medljikovac tretiran na 60 °C u trajanju od 1 min. Ovaj tretman je odabran kako bi se osiguralo uništavanje eventualno prisutnih mikroorganizama, čime se teži obezbijediti nesmetan proces fermentacije.

U ovom dijelu eksperimenta optimizacija je poslužila za odabir jednog tretmana unutar tri pojedinačne grupe (termički tretmani, tretmani UV zračenjem i ultrazvučni tretmani) na osnovu njihovog uticaja na antioksidativna svojstva tretiranog medljikovca. Na ovaj način se u procesu fermentacije teži obezbijediti sirovina koja će imati najbolja funkcionalna svojstva, s posebnim osvrtom na nesmetan tok alkoholne fermentacije.

4.3. Analiza polaznih rastvora za fermentaciju

4.3.1. Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju

Na kvalitet proizvedene medovine uticaj mogu imati fizičko-hemijska svojstva polaznih sirovina. Rezultati pH vrijednosti, sadržaja suve materije, kiselost i sadržaj usvojitog azota (YAN) mogu da ukažu na potrebu za korekcijom polaznih rastvora kako bi se omogućili dobri uslovi za rast kvasca i provođenje alkoholne fermentacije, čime bi se dobila medovina željenog kvaliteta i hemijskog sastava. Iz tog razloga je, nakon pripreme polaznih rastvora, izvršena analiza fizičko-hemijskih svojstava, čiji rezultati se nalaze u Tabeli 4.29.

Prema literaturnim podacima, priprema polaznih rastvora podrazumijeva miješanje meda i vode u odnosima od 1:0,5 do 1:3 (Sroka i Tuszyński, 2007; Pereira, 2015), odnosno da sadržaj šećera bude od 12 do 18 %. Priprema polaznih rastvora u ovom dijelu eksperimenta je podrazumijevala miješanje termički obrađenog medljikovca sa vodom u odnosu 1:3, nakon čega je dodan sok od aronije.

Tabela 4.29. Rezultati fizičko-hemijskih svojstava polaznih rastvora

Oznaka	Sadržaj suve materije (%)	pH vrijednost	Kiselost (g/L)	YAN (mg/L)
1A	18,5 ± 0,0	3,99 ± 0,11	1,59 ± 0,12	49,00 ± 0,89
1B	18,5 ± 0,0	3,96 ± 0,05	1,88 ± 0,05	49,30 ± 0,14
1C	18,3 ± 0,1	3,91 ± 0,02	2,29 ± 0,00	49,55 ± 0,21
1D	18,0 ± 0,0	3,86 ± 0,00	2,89 ± 0,11	49,72 ± 0,91
2A	18,5 ± 0,0	3,93 ± 0,01	1,73 ± 0,01	49,07 ± 0,09
2B	18,5 ± 0,0	3,91 ± 0,01	2,04 ± 0,07	49,24 ± 0,14
2C	18,3 ± 0,1	3,89 ± 0,02	2,44 ± 0,06	49,47 ± 0,15
2D	18,0 ± 0,1	3,86 ± 0,04	3,15 ± 0,04	49,70 ± 0,23
3A	18,5 ± 0,0	3,95 ± 0,08	1,73 ± 0,03	49,05 ± 0,13
3B	18,5 ± 0,0	3,93 ± 0,03	1,97 ± 0,11	49,18 ± 0,22
3C	18,3 ± 0,0	3,89 ± 0,01	2,36 ± 0,09	49,55 ± 0,04
3D	18,0 ± 0,1	3,85 ± 0,07	2,94 ± 0,05	49,70 ± 0,00

1-termički tretiran medljikovac; 2-medljikovac tretiran UV zračenjem; 3-ultrazvučno tretiran medljikovac; A-bez dodatka soka; B- 5% soka; C-10 % soka; D-20% soka.

U Tabeli 4.29 su prikazani rezultati fizičko-hemijske analize polaznih rastvora pripremljenih sa tretiranim medljikovcem i dodatkom tri količine soka. Rastvaranjem termički obrađenog medljikovca sa vodom u odnosu 1:3, izmjeren je sadržaj suve materije 18,50 % za sve tri polazna rastvora. Dodatkom soka od aronije u količini od 5 %, ova vrijednost je ostala nepromijenjena, dodatkom 10 % kod svih polaznih rastvora je izmjeren sadržaj suve materije 18,30 %, a dodatkom 20 % soka od aronije, sadržaj suve materije u svim polaznim rastvorima je 18,00 %. Na osnovu navedenih vrijednosti sadržaja suve materije u polaznim rastvorima i rezultata analize medljikovca, može se pretpostaviti da u polaznim rastvorima postoji dovoljna količina ugljenih hidrata neophodnih za alkoholnu fermentaciju i proizvodnju željene količine etanola. Takođe, odnos meda i vode veći od 1:1 ukazuje da proces fermentacije ne bi trebao biti

zaustavljen zbog previsokog osmotskog pritiska u polaznim rastvorima, nastao zbog visokog sadržaja šećera (Sroka i Tuszyński, 2007).

pH vrijednost uzorka 1A iznosi 3,99, uzorka 2A 3,93, a uzorka 3A 3,95, na osnovu čega se može vidjeti da postoje male razlike između uzoraka koje se razlikuju u tretmanu medljikovca koji je korišten za pripremu polaznih rastvora. Nakon dodatka soka od aronije, u svim uzorcima je došlo do pada pH vrijednosti, pri čemu su najniže vrijednosti izmjerene kod uzoraka D u koje je dodana najveća količina soka od aronije. Pad pH vrijednosti u polaznim rastvorima u kojima je dodan sok od aronije može se objasniti niskom pH vrijednošću soka i visokim sadržajem kiselina koje aronija ima u svom sastavu. Izmjerene pH vrijednosti odgovaraju uslovima neophodnim za nesmetanu fermentaciju, jer literaturni podaci navode da je neophodno obezbijediti da pH vrijednost rastvora bude između 3,7 i 4,0 (Iglesias i sar., 2014). Zbog navedenog, u polazne rastvore za fermentaciju nije potrebno dodavati regulatore kiselosti kao što su kiseline ili soli, kojima se reguliše pH vrijednost rastvora.

Pored pH vrijednosti, u polaznim rastvorima je određena i kiselost, čiji rezultati su prikazani u Tabeli 4.29. Može se vidjeti da kiselost za uzorak 1A iznosi 1,59 g/L, a za uzorke 2A i 3A 1,73 g/L, što ne ukazuje na veliku razliku između polaznih rastvora pripremljenih sa različito tretiranim medljikovcem. Dodatkom soka od aronije došlo je do povećanja kiselosti, a najviša vrijednost je izmjerena u uzorku 2D gdje iznosi 3,15 g/L. Može se primjetiti da je sa povećanjem količine dodanog soka došlo do povećanja kiselosti, što je u skladu sa rezultatima pH vrijednosti, koje su dodatkom soka opadale. Kiselost polaznih rastvora najvećim dijelom potiče od pčelinjeg meda koji u svom sastavu sadrži glukonsku kiselinu, a ujedno i od voćnih sokova koji se dodaju u rastvore (Dobrowolska-Iwanek, 2015). Više vrijednosti kiselosti u polaznim rastvorima nisu poželjne jer tokom fermentacije dolazi do sinteze kiselina, koje utiču na pad pH vrijednosti, koji je važan parametar za rast kvasca tokom cijelog procesa fermentacije (Sroka i Tuszyński, 2007).

Med u svom sastavu sadrži male količine azotnih jedinjenja (Kempka i sar., 2015) koje su neophodne za rast kvasca, zbog čega je prilikom pripreme polaznih rastvora poželjno dodati nutrijente bogate azotom (Pereira, 2015). Nedovoljna količina azota može da dovede do usporavanja ili potpunog zaustavljanja fermentacije, do produžene fermentacije ili do smanjene količine proizvedenog etanola (Iglesias i sar., 2014). Mendes-Ferreira i sar. (2010) navode da dodatkom dovoljnih količina azota dolazi do ubrzanja procesa fermentacije, povećanja prinosa etanola i poboljšanja kvaliteta medovine. Zbog navedenog, u pripremljenim polaznim rastvorima izvršeno je određivanje sadržaja usvojitog azota (YAN), čiji su rezultati prikazani u Tabeli 4.29. U polaznim rastvorima u koje nije dodan sok od aronije vrijednosti YAN su se kretale od 49,00 mg/L u uzorku 1A do 49,07 mg/L u uzorku 2A. Dodatkom soka od aronije nije došlo do značajnijih promjena u sadržaju YAN, a najveća vrijednost je izmjerena u uzorku 1D gdje iznosi 49,72 mg/L. Literaturni podaci ukazuju da je prije početka fermentacije, poželjno dodati hranu za kvasac, kako bi se osigurala dovoljna količina dostupnog azota tokom cijelog procesa fermentacije. Nakon analize YAN, u sve rastvore je dodana komercijalna hrana za kvasac navedena u Poglavlju 3.2.4 u količini 267 mg/L, na osnovu preporuka nevedenim u Pereira (2015).

4.3.2. Rezultati analiza antioksidativnih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju

U Tabeli 4.30 su prikazani rezultati antioksidativnih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju u kojima su analizirani sadržaj ukupnih fenola, sadržaj flavonoida, FRAP, DPPH i ABTS testovi. Sadržaj ukupnih fenola u polaznim rastvorima u koje nije dodan sok od aronije se kretao od 258,08 mg GAE/L u uzorku 2A do 292,28 mg GAE/L u uzorku 1A. Dodatkom soka od aronije došlo je do povećanja sadržaja ukupnih fenola u svim rastvorima, što se može pripisati sadržaju fenola prisutnih u soku od aronije. Najveće vrijednosti sadržaja ukupnih fenola su izmjerene u uzorcima sa dodatkom 20 % soka od aronije koje su se kretale od 652,88 mg GAE/L u uzorku 1D do 654,68 mg GAE/L u uzorku 2D.

Najmanji sadržaj flavonoida je izmjeren u uzorcima bez dodatka soka od aronije, gdje se vrijednosti kreću od 135,80 mg GAE/L u uzorku 3A do 162,80 mg GAE/L u uzorku 1A. Kao i kod fenola, sa povećanjem količine dodanog soka od aronije, došlo je do povećanja sadržaja flavonoida, a najveći sadržaj je izmjeren u uzorcima D u kojima se vrijednosti kreću u granicama od 431,60 mg GAE/L u uzorku 1D do 444,40 mg GAE/L u uzorku 2D.

Tabela 4.30. Rezultati antioksidativnih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju

Oznaka	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1A	292,28 ± 0,85	162,80 ± 0,85	1,83 ± 0,03	16,36 ± 1,16	11,84 ± 0,59
1B	399,68 ± 2,83	246,80 ± 0,57	3,07 ± 0,01	23,85 ± 0,40	8,17 ± 0,02
1C	473,28 ± 0,57	286,20 ± 2,55	3,77 ± 0,02	41,86 ± 0,27	5,18 ± 0,00
1D	652,88 ± 2,26	431,60 ± 2,83	6,51 ± 0,03	60,52 ± 0,45	4,12 ± 0,00
2A	258,08 ± 0,00	150,80 ± 0,85	1,84 ± 0,01	31,34 ± 0,46	12,51 ± 0,25
2B	377,28 ± 0,57	253,20 ± 2,26	3,19 ± 0,03	39,92 ± 0,37	9,23 ± 0,11
2C	483,28 ± 1,13	305,00 ± 0,85	4,07 ± 0,00	44,37 ± 0,49	6,46 ± 0,19
2D	654,68 ± 3,11	444,40 ± 2,26	6,07 ± 0,03	60,83 ± 0,12	4,35 ± 0,19
3A	274,08 ± 0,57	135,80 ± 0,85	1,83 ± 0,00	30,58 ± 0,09	11,66 ± 0,40
3B	389,68 ± 0,57	239,40 ± 0,28	3,11 ± 0,02	36,46 ± 0,23	9,14 ± 0,01
3C	477,68 ± 1,70	298,80 ± 0,57	3,74 ± 0,00	42,18 ± 2,59	6,72 ± 0,26
3D	653,28 ± 0,57	436,40 ± 0,57	6,29 ± 0,01	58,38 ± 0,21	3,52 ± 0,07

1-termički tretiran medljikovac; 2-medljikovac tretiran UV zračenjem; 3-ultrazvučno tretiran medljikovac; A-bez dodatka soka; B- 5% soka; C-10 % soka; D-20% soka.

FRAP vrijednosti u uzorcima bez dodatka soka od aronije iznose 1,83 mmol Fe²⁺/mL u uzorcima 1A i 3A i 1,84 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 2A. Dodatkom 5 % soka od aronije došlo je do povećanja FRAP vrijednosti koje se kreću u granicama od 3,07 mmol Fe²⁺/mL za uzorak 1B do 3,19 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 2B. FRAP vrijednosti za uzorke sa dodatkom 10 % soka od aronije se kreću od 3,74 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 3C do 4,07 mmol Fe²⁺/mL u 2C, a dodatkom 20 % soka od aronije kreću se od 6,07 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 2D do 6,51 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 1D. Na osnovu navedenih rezultata može se primjetiti da je dodatak soka od aronije uticao na povećanje FRAP vrijednosti.

DPPH vrijednosti u polaznim rastvorima bez dodatka soka od aronije se kreću u granicama od 16,36 µg TE/mL u uzorku 1A do 31,34 µg TE/mL u uzorku 2A. Dodatkom 5 % soka od aronije DPPH vrijednost se povećala i kretala od 23,85 µg TE/mL u uzorku 1B do 39,92 µg TE/mL u uzorku 2B. Dodatkom 10 % soka od aronije, DPPH se kreće od 41,86 µg TE/mL u uzorku 1C do 44,37 µg TE/mL u uzorku 2C, a dodatkom 20 % soka od aronije od 58,38 µg TE/mL u uzorku 3D do 60,83 µg TE/mL u uzorku 2D.

Najviše vrijednosti ABTS su izmjerene u uzorcima bez dodatka soka od aronije, dok su najniže vrijednosti u uzorku sa dodatkom 20 % soka od aronije. ABTS u uzorcima A se kreće od 11,66 mg TE/mL u uzorku 3A do 12,51 mg TE/mL u uzorku 2A. U uzorcima B ABTS vrijednosti su se kretale u granicama od 8,17 mg TE/mL u uzorku 1B do 9,23 mg TE/mL u uzorku 2B, u uzorcima C od 5,18 mg TE/mL u uzorku 1C do 6,72 mg TE/mL u uzorku 3C, a u uzorcima D od 3,52 mg TE/mL u uzorku 3D do 4,35 mg TE/mL u uzorku 2D. Na osnovu navedenih rezultata se može vidjeti da je najniža vrijednost izmjerena u uzorku 3D, što ukazuje da je u uzorcima sa dodatkom najveće količine soka od aronije izmjerena najveća antioksidativna aktivnost izmjerena ABTS testom.

Navedeni rezultati antioksidativnih svojstava su pokazali da je sa većim dodatkom soka došlo do povećanja sadržaja ukupnih fenola i flavonoida, kao i antioksidativnih svojstava izmjerenih FRAP, DPPH i ABTS testovima, čime se teže postići poboljšana funkcionalna svojstva finalnog proizvoda. Rezultati će poslužiti da se u odnosu na njih uporede iste vrijednosti dobijene nakon završetka procesa fermentacije.

4.3.3. Rezultati antimikrobne analize polaznih rastvora za fermentaciju

U Tabeli 4.31 su prikazani rezultati antimikrobne analize polaznih rastvora za fermentaciju (MIC i MBC vrijednosti) koji su testirani na četiri bakterije. Najjače dejstvo na *S. aureus* su pokazali uzorci 3A, 3B i 3D kod kojih su MIC i MBC vrijednosti <20 % (v/v). U pogledu MIC vrijednosti najslabije dejstvo na ovu bakteriju su pokazali uzorci 1B, 1C i 1D (>50 % (v/v)), a u pogledu MBC vrijednosti najslabije dejstvo su pokazali uzorci 1B, 1C, 1D, 2C i 2D. Najjače dejstvo na *E. coli* u pogledu MIC vrijednosti su pokazali uzorci 1A, 1C, 3A, 3B, 3C i 3D (30 % (v/v)), a kod većeg broja uzoraka je MBC vrijednost iznosila >40 % (v/v). Najslabije dejstvo na bakteriju *B. cereus* u pogledu MIC i MBC vrijednosti su pokazali uzorci 1B i 1D. Najjače dejstvo na bakteriju *B. cereus* u pogledu MIC i MBC vrijednosti su pokazali uzorci 3C i 3D, dok je najslabije dejstvo pokazao uzorak 2D. U pogledu *P. aeruginosa*, najjače dejstvo u pogledu MIC je pokazao uzorak 2A (<20 % (v/v)), a u pogledu MBC uzorci 2A, 2B, 3B i 3D. Najslabije dejstvo u pogledu ove bakterije su pokazali uzorci 1B, 1D i 2D kod kojih su MIC i MBC vrijednosti 50 % (v/v).

Antimikrobna svojstva polaznih rastvora potiču prije svega od antimikrobnih svojstava sirovina korištenih za pripremu polaznih rastvora za fermentaciju. Pretraživanjem dostupne literature utvrđeno je da ne postoje podaci o antimikrobnim svojstvima rastvora koji se koriste za pokretanje fermentacije. Navedeni rezultati su važni kako bi se nakon završetka fermentacije rezultati antimikrobnih svojstava medovine mogli uporediti sa rezultatima antimikrobnih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju.

Tabela 4.31. Rezultati antimikrobne analize polaznih rastvora za fermentaciju (MIC i MBC vrijednosti) na četiri testirane bakterije

Uzorak	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	ATCC 25923		ATCC 25922		ATCC 7004		ATCC 10145	
	MIC %(v/v)	MBC %(v/v)	MIC %(v/v)	MBC %(v/v)	MIC %(v/v)	MBC %(v/v)	MIC %(v/v)	MBC %(v/v)
1A	40	>40	30	>40	30	>40	30	40
1B	>50	>50	50	>50	50	50	50	50
1C	>50	>50	30	>40	30	40	30	>40
1D	>50	>50	50	>50	50	50	50	50
2A	>40	>40	40	>40	40	40	<20	30
2B	>40	>40	>40	>40	40	>40	30	30
2C	50	>50	50	50	50	50	25	50
2D	50	>50	50	50	50	>50	50	50
3A	<20	<20	30	>40	30	40	30	40
3B	<20	<20	30	>40	30	>40	30	30
3C	30	30	30	>40	30	30	30	40
3D	<20	<20	30	>40	30	30	30	30

4.4. Analiza medovine

4.4.1. Izrada matematičkog modela u cilju optimizacije procesa proizvodnje medovine

Glavni cilj istraživanja u okviru ovog poglavlja bio je da se razviju matematički modeli koji imaju ulogu da omoguće bolju kontrolu procesa u smislu optimalnog izbora i podešavanja parametara procesa. Nakon određivanja optimalnog tretmana polazne sirovine (medljikovca) razvijen je kinetički model nastanka etanola, na osnovu fitovanja eksperimentalnih podataka (promjene mase boca u vremenu trajanja procesa fermentacije) u modifikovani Gompertz-ov model, uz primjenu nelinearne regresione analize i ocjenom regresionih koeficijenata metodom najmanjih kvadrata. Numerička optimizacija kinetičkih parametara i njihova statistička analiza izvršena je primjenom alata Solver i Regression iz Microsoft Excel softverskog paketa. Rezultati prethodnih istraživanja ukazuju da modifikovani Gompertz-ov model može da opiše kinetiku alkoholne fermentacije pri korištenju različitih podloga i sirovina (Dodić i sar., 2012; Olaoye i Kolawole, 2013; Srimachai i sar., 2015), čime se pokazala široka mogućnost primjene različitih oblika Gompertz-ove krive pri različitim biohemijskim procesima. Papuga i sar. (2018) navode da ne postoje literaturni podaci koji ukazuju na primjenu Gompertz-ovog modela prilikom proizvodnje medovine, te su oni u svom radu predstavili Gompertz-ov model prilikom proizvodnje medovine uz varijaciju dodatka različitih količina YAN-a. Iz tog razloga je ovaj kinetički model iskorišten za opisivanje proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije medovine sa korekcijom količine dodanog soka u polazne rastvora za fermentaciju, uz korištenje podataka o vrsti i količini dodanog kvasca pri dobijanju medovine.

Primjena Gompertz-ovog modela je podrazumijevala korištenje jednačine (Papuga i sar., 2018):

$$P = P_m \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{r_{p,m} \cdot \exp(1)}{P_m} \right] (t_1 - t) + 1 \right\}$$

gdje P predstavlja koncentraciju etanola (g/l), P_m potencijalnu maksimalnu koncentraciju etanola (g/l), $r_{p,m}$ maksimalnu brzinu nastanka etanola (g/lh), t_1 lag vrijeme (h), odnosno vrijeme potrebno za prilagođavanje kvasca i početak eksponencijalne faze nastanka etanola i t predstavlja vrijeme trajanja procesa fermentacije (h). Parametri P_m , $r_{p,m}$ i t_1 su zapravo kinetički parametri koji se dobijaju fitovanjem eksperimentalnih podataka u modifikovani Gompertz-ov model.

Nakon pripreme medljikovca primjenom termičkog tretmana, tretmana UV zračenjem i ultrazvučnog tretmana, pripremljeni su rastvori u kojima je medljikovac rastvoren sa vodom u odnosu 1:3 čime su dobijeni rastvori sa oznakama 1, 2 i 3. U pojedinačne rastvore dodan je hladno cijeđeni sok od aronije, čime su dobijeni pojedinačni rastvori označeni sa A (kontrolni uzorak, bez dodatka soka od aronije), B (sa dodatkom 5 % soka od aronije), C (sa dodatkom 10 % soka od aronije) i D (sa dodatkom 20 % soka od aronije). Inokulacija pripremljenih rastvora izvršena je sa tri komercijalne vrste kvasca: vinski kvasac Fermol Associates (oznaka E), rakijski kvasac Spirifer (oznaka F) i pivski kvasac Fermol Lager (oznaka G). Pored varijacije tri vrste komercijalnih kvasaca, inokulacija sa sve tri vrste je izvršena u količinama od 150 mg/l (oznaka H), 300 mg/l (oznaka I) i 600 mg/l (oznaka J). Zbog varijacije tri parametra, a u cilju odabira adekvatnog kvasca za provođenje alkoholne fermentacije poređeni su uzorci koji su imali isti polazni rastvor (tretman medljikovca i količina dodanog voćnog soka) uz varijaciju kvasca i količine kvasca korištenog za inokulaciju.

Proces fermentacije je trajao 21 dan (~504 h) na temperaturi 25 °C, a rezultati trajanja fermentacije su prikazani u satima (h). Kinetika procesa fermentacije je praćena na osnovu mjerenja promjene mase boca u određenim vremenskim intervalima, gdje promjena mase boca predstavlja količinu CO₂ koji je nastao tokom alkoholne fermentacije. Kako se pretpostavlja da je stehiometrija između količine nastalog CO₂ i etanola i količine utrošenog šećera zadovoljena, rezultati su izraženi kao kumulativna masa (g) proizvedenog etanola u određenom vremenskom periodu. Lakićević i sar. (2018) navode da proizvodnja CO₂ tokom alkoholne fermentacije predstavlja indirektnu mjeru za potrošnju fermentabilnih šećera.

Primjenom ovog modela ispitana je mogućnost primjene tri različite vrste komercijalnih kvasaca u fermentaciji medovine, kako bi izbor adekvatne vrste doveo do poboljšanja parametara procesa fermentacije, ali i do uticaja na fizičko-hemijska svojstva (sadržaj isparljivih kiselina, sadržaj etanola, pH vrijednost i sl.) kao i na senzorna svojstva medovine.

U Tabeli 4.32 su prikazane vrijednosti kinetičkih parametara razvijenih jednačina i odgovarajuće vrijednosti izračunate na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa termički obrađenim medljikovcem bez dodatka voćnog soka od aronije, uz kombinaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (1A uzorci). Izmjerene vrijednosti maksimalne koncentracije etanola (P_m) se kreću u granicama od 38,25 za uzorak 1AFH do 92,40 za uzorak 1AGI, dok se vrijednosti P_m predviđene modelom kreću u granicama od 84,23 za uzorak 1AEH do 408,73 za uzorak 1AFH. Za najveći broj uzoraka se može primjetiti da se mjerene vrijednosti P_m ne razlikuju značajno od modelom predviđenih vrijednosti P_m , osim za uzorke u kojima je dodana najmanja količina kvasca (uzorci H-150 mg/L) kod kojih je došlo do većih odstupanja. Mjerene vrijednosti maksimalne brzine proizvodnje etanola ($r_{p,m}$) se kreću

u granicama od 0,02 g/Lh za uzorke 1AEI i 1AGH do 0,07 g/Lh za uzorak 1AFH, dok se vrijednosti $r_{p,m}$ predviđene modelom kreću u granicama od 0,11 za uzorak 1AEH do 0,47 za uzorak 1AFJ. Na osnovu svih vrijednosti $r_{p,m}$ može se vidjeti da su za sve uzorke 1A vrijednosti predviđene modelom značajno veće u odnosu na mjerene. Vremena trajanja lag faze (t_l) je predviđeno modelom i kreće se u granicama od 35,34 h za uzorak 1AGJ do 416,81 h za uzorak 1AFH. Iz prikazanih rezultata može se vidjeti da je za uzorke 1AFH i 1AGH lag faza trajala najduže, što ukazuje da je dodatak F i G kvasaca u količini od 150 mg/L doveo do dužih trajanja faza prilagođavanja, za razliku od ostalih količina dodanih kvasaca. Posebno se ističe trajanje t_l faze kod uzorka 1AFH kod kog je eksponencijalna faza počela neposredno pred završetak procesa proizvodnje medovine. Kod uzoraka sa najmanjom količinom dodanog kvasca može se primjetiti da je došlo do najvećih odstupanja između mjerenih i modelom predviđenih vrijednosti P_m , što može da se poveže sa dužinom trajanja t_l i početkom eksponencijalne faze rasta.

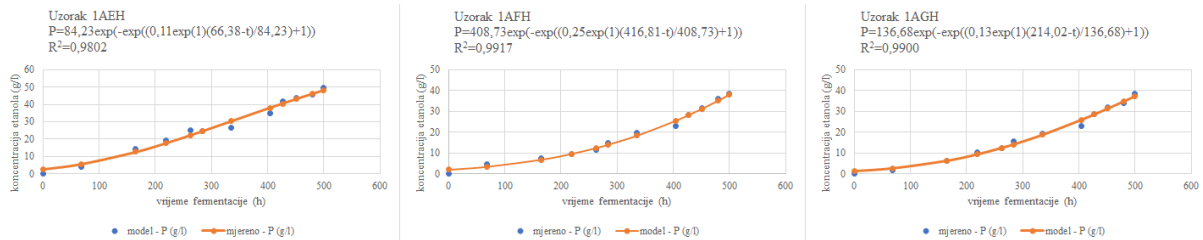
Tabela 4.32. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 1A

Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
1AEH	84,23	0,11	66,38
	49,33*	0,06*	-
1AFH	408,73	0,25	416,81
	38,25*	0,07*	-
1AGH	136,68	0,13	214,02
	38,50*	0,02*	-
1AEI	88,58	0,41	83,76
	89,75*	0,02*	-
1AFI	89,75	0,38	133,54
	86,48*	0,04*	-
1AGI	96,48	0,32	51,66
	92,40*	0,06*	-
1AEJ	84,31	0,44	91,60
	86,13*	0,03*	-
1AFJ	89,94	0,47	116,77
	90,69*	0,03*	-
1AGJ	93,54	0,26	35,34
	86,33*	0,06*	-

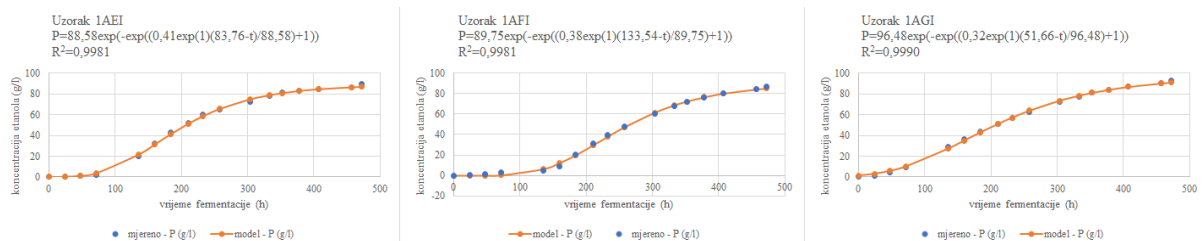
*mjerene vrijednosti

Na Slikama 4.13, 4.14 i 4.15 se nalaze grafici na kojima su prikazane kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije za uzorke 1A, gdje su mjerene vrijednosti prikazane u obliku odgovarajućih simbola, dok su fitovane krive, tačnije modelom predviđene vrijednosti koncentracije etanola u funkciji vremena prikazane punim linijama. Na prikazanim graficima može se vidjeti da za sve uzorke postoji velika sličnost između krivih koje su utvrđene eksperimentalno i fitovanih krivih, odnosno da modelovane krive odgovaraju ekperimentalno mjerenim vrijednostima koncentracije u cijelom mjenom intervalu koncentracija, na šta ukazuje i visoka vrijednost koeficijenta korelacije (R^2). Takođe, na Slici 4.13 se može vidjeti da je za uzorke sa sve tri vrste kvasca dodanog u količini 150 mg/L postignuta niska

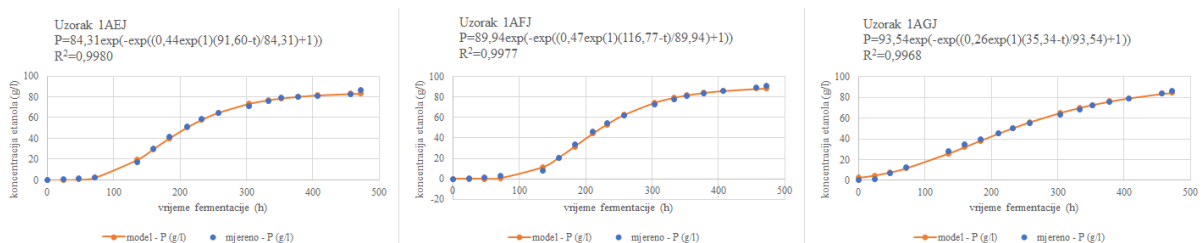
koncentracija etanola, te da se na graficima ne vidi jasno prelaz lag faze na eksponencijalnu fazu, za razliku od uzoraka u kojima je kvasac dodan u količini od 300 i 600 mg/L. Razlog za izostanak burne fermentacije može da bude količina dodanog kvasca koja je manja od količine preporučene od strane proizvođača.



Slika 4.13. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1AEH, 1AFH i 1AGH



Slika 4.14. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1AEI, 1AFI i 1AGI

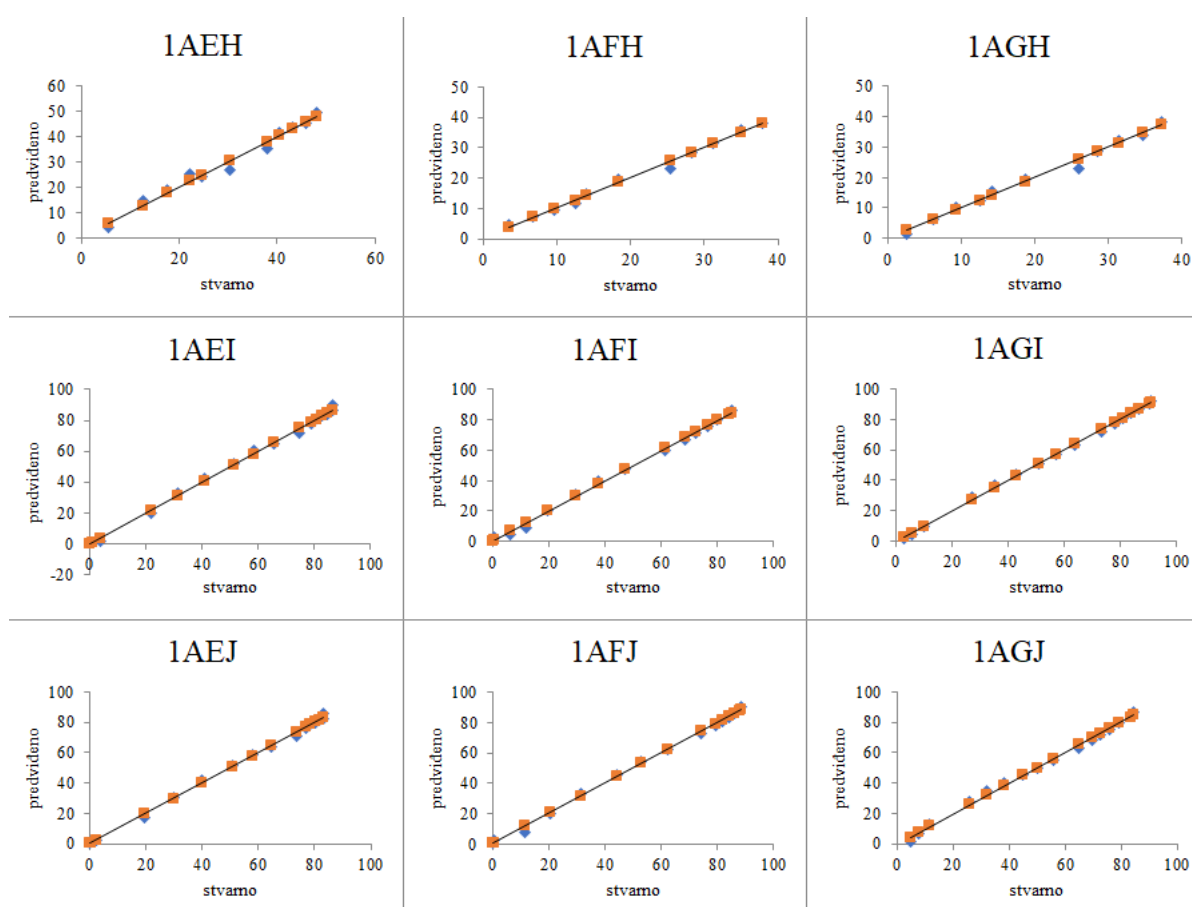


Slika 4.15. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1AEJ, 1AFJ i 1AGJ

U Tabeli 4.33 su prikazani rezultati Fit statistike za uzorke 1A, gdje se može vidjeti da se F-vrijednosti kreću u granicama od $2,36 \cdot 10^{-22}$ za uzorak 1AGI do $5,70 \cdot 10^{-9}$ za uzorak 1AEH. F-vrijednosti manje od 0,001 ukazuju na statističku značajnost navedenih rezultata, na osnovu čega se može zaključiti da su F-vrijednosti za sve uzorke 1A statistički značajne. Pored F-vrijednosti, u Tabeli 4.33 prikazani su rezultati p-vrijednosti koji ukazuju na statističku značajnost u slučajevima kada je p-vrijednost niža od 0,05. Najniža p-vrijednost je izmjerena u uzorku 1AGI (0,3252), a najviša u uzorku 1AGH (0,9896), na osnovu čega se može vidjeti da dati član jednačine nema statističku značajnost.

Tabela 4.33. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 1A

Uzorak	F-vrijednost	P-vrijednost	R ²	R ² -prilagođeni
1AEH	$5,70 \cdot 10^{-9}$	0,8134	0,9802	0,9779
1AFH	$1,11 \cdot 10^{-10}$	0,4572	0,9917	0,9908
1AGH	$2,73 \cdot 10^{-10}$	0,9896	0,9900	0,9888
1AEI	$2,09 \cdot 10^{-20}$	0,6522	0,9981	0,9979
1AFI	$1,95 \cdot 10^{-20}$	0,3518	0,9981	0,9979
1AGI	$2,36 \cdot 10^{-22}$	0,3252	0,9990	0,9989
1AEJ	$2,30 \cdot 10^{-20}$	0,8344	0,9980	0,9979
1AFJ	$8,15 \cdot 10^{-20}$	0,4424	0,9977	0,9975
1AGJ	$7,67 \cdot 10^{-19}$	0,6169	0,9968	0,9965



Slika 4.16. Line Fit Plot grafici za uzorke 1A (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

Analiza varijanse (ANOVA) je primijenjena kako bi se testirale značajne razlike između uzoraka. Rezultati ANOVA za uzorke 1A su prikazani u Tabeli 4.33, gdje se može vidjeti da se vrijednosti R² kreću u granicama od 0,9802 za uzorak 1AEH do 0,9990 za uzorak 1AGI, što ukazuje na prihvatljivo slaganje između eksperimentalno dobijenih i modelom predviđenih podataka. Na visoku vrijednost korelacije navedenih podataka ukazuje i vrijednost prilagođenog R² koje se kreću u granicama od 0,9779 za uzorak 1AEH do 0,9989 za uzorak 1AGI. Prilagođeni R² u obzir uzima ukupan broj faktora u kojima se javljaju nezavisne

varijable, te se sa povećanjem broja faktora vrijednost R^2 smanjuje, ako isti ne poboljšavaju konkretan model. Za uzorke 1A je jasno da su svi faktori statistički značajni jer su vrijednosti R^2 izuzetno bliske vrijednostima prilagođenog R^2 .

Validacija razvijenih modela izvršena je upoređivanjem eksperimentalno dobijenih podataka sa odgovarajućim vrijednostima dobijenim korištenjem modela (Slika 4.16) i analizom statistike uklapanja iz Tabele 4.33. Na Slici 4.16 su prikazani grafici Line Fit Plot za uzorke 1A na kojima je prikazano poređenje stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom. Za sve uzorke 1A se može primjetiti da su stvarne vrijednosti približne vrijednostima predviđenim modelom, odnosno da su pojedinačne vrijednosti blizu idealne prave i nalaze se nasumično raspoređene sa obe strane prave ($y=x$). Ovi grafici su u skladu sa visokim vrijednostima R^2 koje su prikazane u Tabeli 4.33, te dodatno potvrđuju da postoji korelacija između stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom.

Tabela 4.34. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 1B

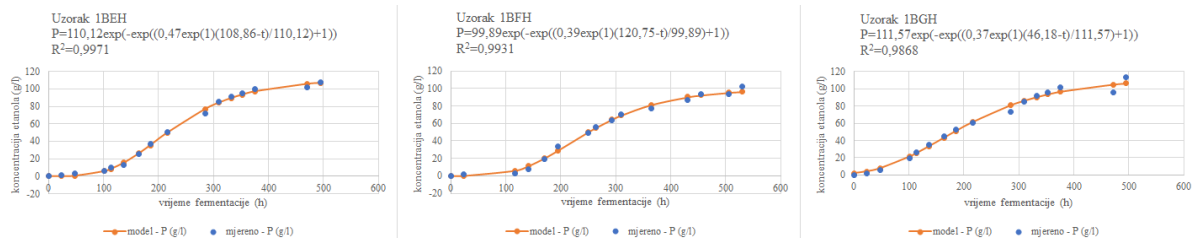
Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_i (h)
1BEH	110,12	0,47	108,86
	107,50*	0,04*	-
1BFH	99,89	0,39	120,75
	101,92*	0,08*	-
1BGH	111,57	0,37	46,18
	113,47*	0,09*	-
1BEI	97,53	0,42	110,94
	99,95*	0,04*	-
1BFI	236,17	0,69	507,10
	74,35*	0,01*	-
1BGI	98,77	0,35	43,95
	102,44*	0,05*	-
1BEJ	100,69	0,53	110,09
	105,05*	0,04*	-
1BFJ	150,16	0,29	181,78
	93,84*	0,04*	-
1BGJ	99,66	0,42	37,52
	105,12*	0,08*	-

*mjerene vrijednosti

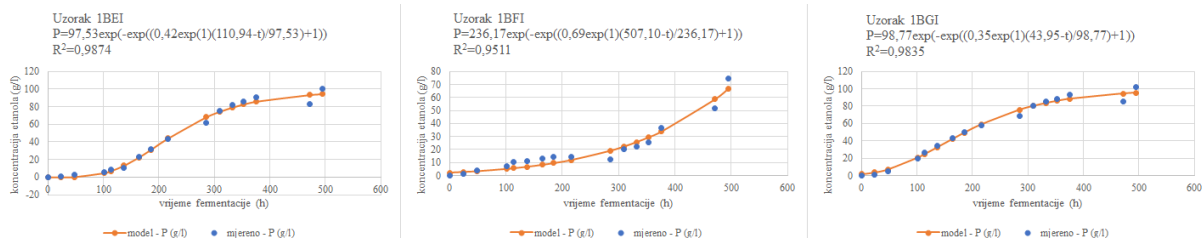
U Tabeli 4.34 prikazane su vrijednosti kinetičkih parametara razvijenih jednačina i odgovarajuće vrijednosti izračunate na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa termički tretiranim medljikovcem i dodatkom 5 % voćnog soka od aronije, uz kombinaciju tri vrste i tri količine dodanog komercijalnog kvasca (uzorci 1B). Najniža vrijednost P_m je izmjerena u uzorku 1BFI (74,35), dok je najviša vrijednost izmjerena u uzorku 1BGH (113,47). Ukoliko se mjerene vrijednosti P_m uporede sa vrijednostima dobijenim modelom, može se primjetiti da su za najveći broj uzoraka približne. Veće razlike između mjerenih i modelom predviđenih vrijednosti su dobijene u uzorcima 1BFI i 1BFJ, što može biti pokazatelj da se u vremenskom periodu od 21 dan nije proizvela dovoljna količina etanola. Mjerene i modelom predviđene vrijednosti $r_{p,m}$ se značajno razlikuju za uzorke 1B, jer je u svim

uzorcima vrijednost $r_{p,m}$ predviđena modelom značajno veća od vrijednosti izračunate iz eksperimentalnih podataka. Mjerene vrijednosti $r_{p,m}$ se kreću u granicama od 0,01 g/Lh za uzorak 1BFI do 0,09 g/Lh za uzorak 1BGH. Modelom predviđena t_l se kreću u granicama od 37,52 h u uzorku 1BGJ do 507,10 h u uzorku 1BFI. Ovako visoka vrijednost t_l za uzorak 1BFI ukazuje da bi eksponencijalna faza rasta mogla početi nakon više od 21-og dana koji su predviđeni za vrijeme trajanja alkoholne fermentacije navedenog uzorka, čime ne bi došlo do proizvodnje željene količine etanola u određenom vremenskom periodu. Rezultati koji su prikazani u Tabeli 4.34 ukazuju da je za sve pojedinačne količine dodanog kvasca najkraće vrijeme t_l predviđeno u uzorcima u koje je dodan kvasac G, nešto duže trajanje t_l je predviđeno u uzorcima sa dodatkom kvasca E, dok je najduže t_l predviđeno u uzorcima u koje je dodan kvasac F.

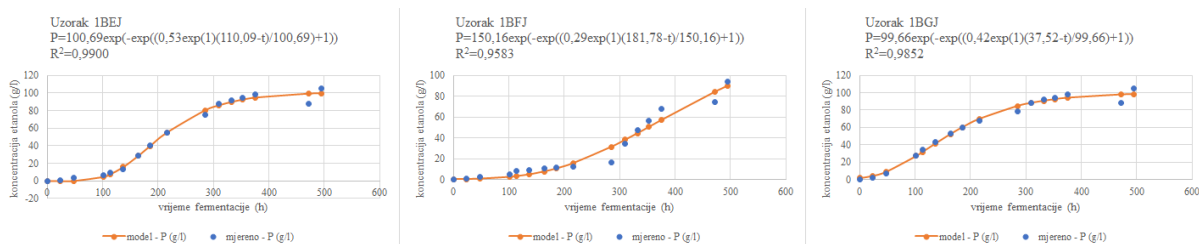
Na Slikama 4.17, 4.18 i 4.19 se nalaze grafici na kojima su prikazane kinetike proizvodnje etanola gdje je izvršeno poređenje mjerenih vrijednosti i vrijednosti dobijenih modelom. Može se vidjeti da u svim 1B uzorcima ne postoje velike razlike između eksperimentalno dobijenih vrijednosti i modelom predviđenih, što potvrđuju i visoke vrijednosti R^2 . Takođe, unutar pojedinih količina dodanog kvasca vidi se da se krive rasta razlikuju. Ova razlika se uočava kod uzoraka 1BFI i 1BFJ koji su imali drugačiji tok fermentacije, posebno u pogledu trajanja lag faze i nemogućnosti određivanja jasnog prelaza sa lag na eksponencijalnu fazu. Razlog za ovo može da bude otežana mogućnost prilagođavanja kvasca na fermentacione uslove. Grafici za uzorke 1BFI i 1BFJ su u skladu sa vrijednostima t_l koja je navedena u Tabeli 4.34, gdje se jasno vidi da je trajanje ove faze duže u odnosu na ostale uzorke.



Slika 4.17. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1BEH, 1BFH i 1BGH



Slika 4.18. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1BEI, 1BFI i 1BGI



Slika 4.19. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1BEJ, 1BFJ i 1BGJ

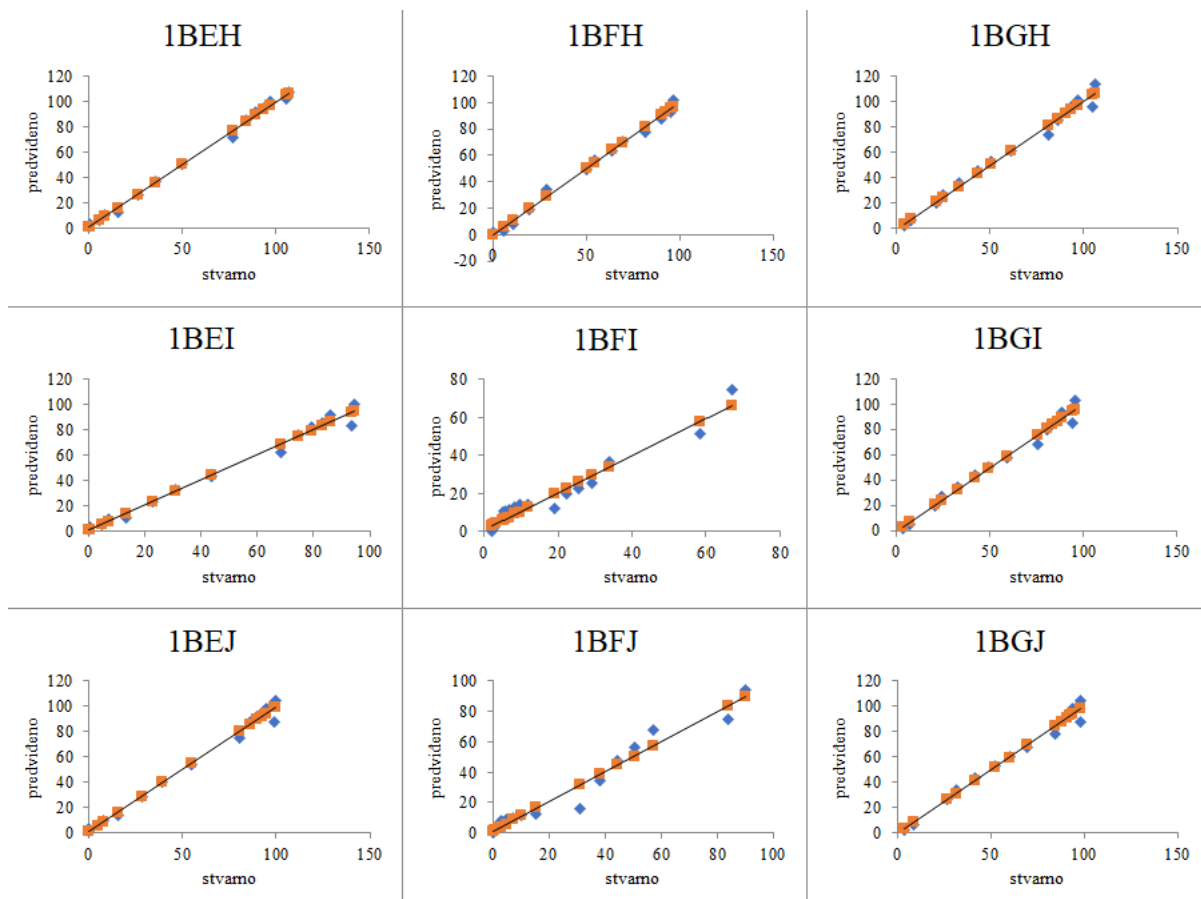
U Tabeli 4.35 su prikazane F-vrijednosti za uzorke 1B, koje se kreću u granicama od $6,81 \cdot 10^{-18}$ za uzorak 1BEH do $1,42 \cdot 10^{-10}$ za uzorak 1BFI. Ovako niske F-vrijednosti ($<0,001$) ukazuju da su navedeni rezultati statistički značajni, što nije slučaj sa p-vrijednostima koje su za sve 1B uzorke veće od 0,05, a kreću se u granicama od 0,5062 u uzorku 1BEH do 0,8773 u uzorku 1BEI, što ukazuje da ne postoji statistička značajnost.

U Tabeli 4.35 su prikazane i ANOVA vrijednosti za kvadratne modele za uzorke 1B, gdje se mogu uočiti visoke vrijednosti R^2 koje se kreću u granicama od 0,9511 u uzorku 1BFI do 0,9971 u uzorku 1BEH, što ukazuje na visoku vrijednost korelacije između prethodno navedenih eksperimentalno dobijenih i modelom predviđenih vrijednosti. Takođe, može se vidjeti da između R^2 i prilagođenog R^2 postoje male razlike, što dodatno ukazuje da navedene vrijednosti imaju visoku korelaciju. Najniža vrijednost prilagođenog R^2 je dobijena u uzorku 1BFI (0,9476), a najviša u uzorku 1BEH (0,9969).

Tabela 4.35. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 1B

Uzorak	F-vrijednost	p-vrijednost	R^2	R^2 -prilagođeni
1BEH	$6,81 \cdot 10^{-18}$	0,5062	0,9971	0,9969
1BFH	$2,47 \cdot 10^{-14}$	0,8773	0,9931	0,9925
1BGH	$1,32 \cdot 10^{-13}$	0,8249	0,9868	0,9858
1BEI	$9,84 \cdot 10^{-14}$	0,6484	0,9874	0,9864
1BFI	$1,42 \cdot 10^{-10}$	0,5379	0,9511	0,9476
1BGI	$5,63 \cdot 10^{-13}$	0,7920	0,9835	0,9822
1BEJ	$2,25 \cdot 10^{-14}$	0,5858	0,9900	0,9892
1BFJ	$4,64 \cdot 10^{-11}$	0,5944	0,9583	0,9554
1BGJ	$2,77 \cdot 10^{-13}$	0,7846	0,9852	0,9841

Na Slici 4.20 su prikazani grafici Line Fit Plot za uzorke 1B, gdje se može vidjeti da se za sve uzorke pojedinačne vrijednosti nalaze nasumično raspoređene sa obe strane prave, što ukazuje na postojanje korelacije između stvarnih vrijednosti dobijenih eksperimentom i vrijednosti predviđenih modelom. Navedeni grafici su u skladu sa rezultatima R^2 koji se nalaze u Tabeli 4.35. Najveća odstupanja stvarnih vrijednosti od modelom predviđenih se mogu vidjeti u uzorcima 1BFI i 1BFJ, gdje su vrijednosti R^2 niže u odnosu na ostale 1B uzorke, a potvrđeno je i graficima na Slikama 4.18 i 4.19, gdje se mogu vidjeti manja odstupanja od fitovane krive.



Slika 4.20. Line Fit Plot grafici za uzorke 1B (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

U Tabeli 4.36 su prikazane vrijednosti kinetičkih parametara razvijenih jednačina i odgovarajuće vrijednosti izračunate na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa termički tretiranim medljikovcem i dodatkom 10 % voćnog soka od aronije, uz kombinaciju tri vrste i tri količine dodanog komercijalnog kvasca (uzorci 1C). Može se vidjeti da su mjerene vrijednosti za maksimalnu koncentraciju etanola (P_m) približne vrijednostima dobijenim modelom. Najviša izmjerena vrijednost P_m je u uzorku 1CEI gdje iznosi 107,59, dok je najniža vrijednost u uzorku 1CFH i iznosi 87,95. Upoređivanjem mjenjenih i modelom dobijenih vrijednosti za maksimalnu brzinu proizvodnje etanola ($r_{p,m}$), može se primjetiti da su za sve uzorke u Tabeli 4.36 vrijednosti predviđene modelom značajno veće u odnosu na mjerene. Najniža vrijednost $r_{p,m}$ je izmjerena u uzorku 1CFH (0,02), dok je najviša u uzorku 1CGI (0,13). Vremena trajanja lag faze, odnosno vremena potrebnog za prilagođavanje kvasca i početak fermentacije, prema razvijenom modelu, kreću se u granicama od 25,22 h za uzorak 1CGJ do 191,02 h za uzorak 1CFI. Na osnovu prikazanih rezultata može se primjetiti da je vrsta dodanog kvasca uticala na trajanje t_l , te da je za sve tri količine dodanog kvasca najkraća lag faza predviđena za kvasac G, zatim za kvasac E, a najduža za kvasac F.

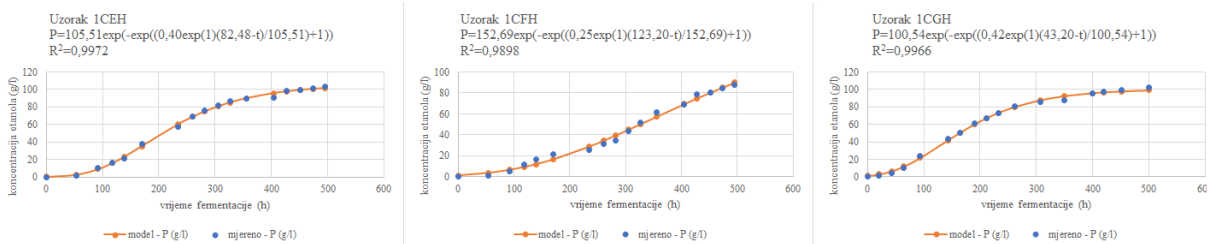
Na Slikama 4.21, 4.22 i 4.23 prikazane su kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije za uzorke 1C gdje se može primjetiti velika sličnost između fitovanih krivih i krivih koje su utvrđene eksperimentalno. Na visoku korelaciju ukazuju i vrijednosti R^2 koje su prikazane u Tabeli 4.37. Takođe, za najveći broj uzoraka može se ustanoviti relativno slična

kriva specifična za proces alkoholne fermentacije sa izuzetkom uzorka 1CFH, gdje se ne uočava prelaz sa lag na eksponencijalnu fazu.

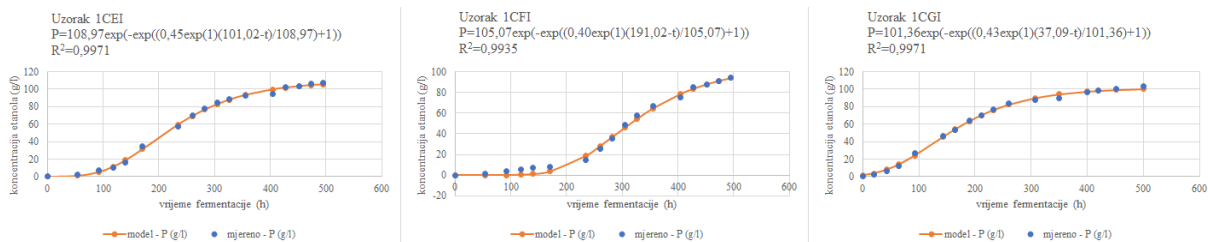
Tabela 4.36. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 1C

Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
1CEH	105,51	0,40	82,48
	103,45*	0,03*	-
1CFH	152,69	0,25	123,20
	87,95*	0,02*	-
1CGH	100,54	0,42	43,20
	102,41*	0,08*	-
1CEI	108,97	0,45	101,02
	107,59*	0,04*	-
1CFI	105,07	0,40	191,02
	93,93*	0,03*	-
1CGI	101,36	0,43	37,09
	103,29*	0,13*	-
1CEJ	99,98	0,46	92,42
	100,87*	0,04*	-
1CFJ	104,22	0,38	148,27
	96,62*	0,03*	-
1CGJ	101,76	0,42	25,22
	104,45*	0,10*	-

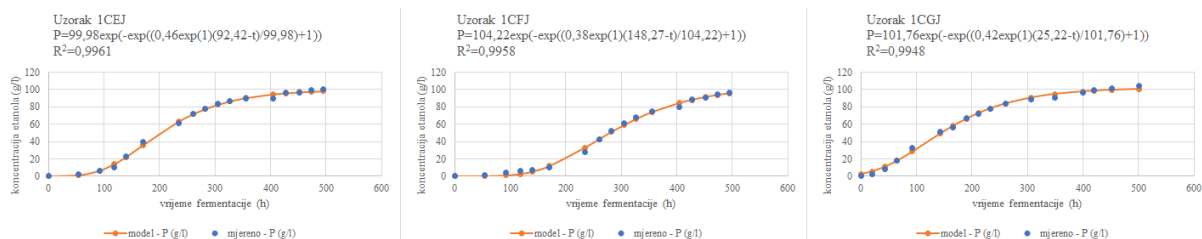
*mjerene vrijednosti



Slika 4.21. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1CEH, 1CFH i 1CGH



Slika 4.22. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1CEI, 1CFI i 1CGI



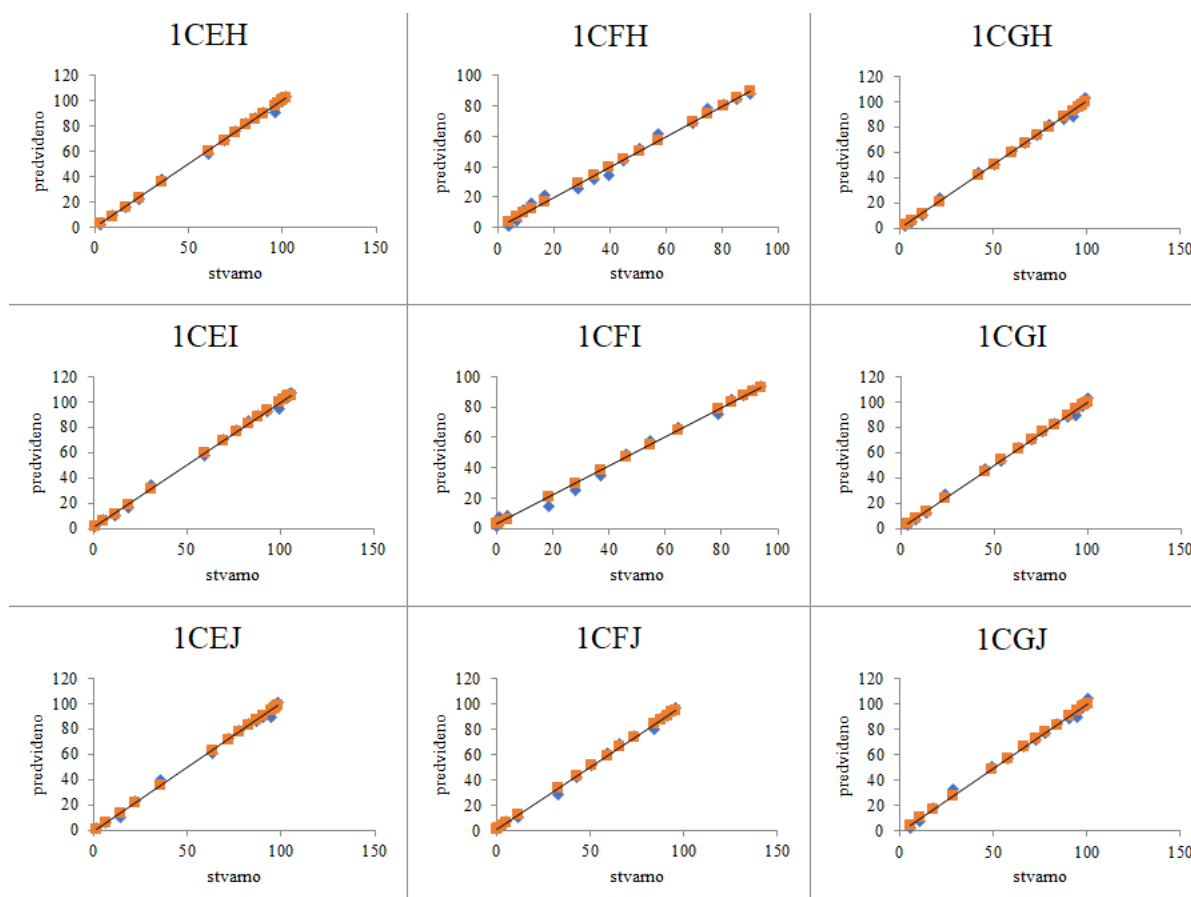
Slika 4.23. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1CEJ, 1CFJ i 1CGJ

Tabela 4.37. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 1C

Uzorak	F-vrijednost	P-vrijednost	R ²	R ² -prilagođeni
1CEH	$2,99 \cdot 10^{-19}$	0,8895	0,9972	0,9970
1CFH	$2,46 \cdot 10^{-15}$	0,9558	0,9898	0,9890
1CGH	$1,19 \cdot 10^{-18}$	0,5452	0,9966	0,9963
1CEI	$3,34 \cdot 10^{-19}$	0,8913	0,9971	0,9969
1CFI	$1,01 \cdot 10^{-16}$	0,0296	0,9935	0,9931
1CGI	$3,82 \cdot 10^{-19}$	0,6679	0,9971	0,9969
1CEJ	$2,74 \cdot 10^{-18}$	0,8773	0,9961	0,9959
1CFJ	$5,22 \cdot 10^{-18}$	0,2361	0,9958	0,9955
1CGJ	$2,10 \cdot 10^{-17}$	0,5995	0,9948	0,9945

F-vrijednosti za uzorke 1C su prikazani u Tabeli 4.37 gdje se može vidjeti da je najmanja F-vrijednost izmjerena u uzorku 1CGI ($3,82 \cdot 10^{-19}$), dok je najviša vrijednost izmjerena u uzorku 1CFH ($2,46 \cdot 10^{-15}$). Ovako niske vrijednosti ukazuju da su navedeni rezultati statistički značajni (F-vrijednost manja od 0,001). Statistički značajni efekat za p-vrijednost je u slučajevima kada je on manji od 0,05, što se može primjetiti samo za uzorak 1CFI, dok je kod ostalih uzoraka p-vrijednost veća od 0,05 i ne ukazuje na statističku značajnost.

Validacija razvijenih modela izvršena je upoređivanjem eksperimentalno dobijenih podataka sa odgovarajućim vrijednostima dobijenim korištenjem modela (Slika 4.24) i analizom statistike uklapanja iz Tabele 4.37. U Tabeli 4.37 prikazani su rezultati analize varijanse (ANOVA) za uzorke 1C, gdje se može vidjeti da se vrijednosti R² kreću u granicama od 0,9935 za uzorak 1CFI do 0,9972 za uzorak 1CEH. Ovako visoke vrijednosti R² ukazuju da za navedene uzorke postoji prihvatljivo slaganje između eksperimentalno dobijenih podataka i modelom predviđenih. Takođe i vrijednosti prilagođenog R² su izuzetno visoke te se kreću u granicama od 0,9931 za uzorak 1CFI do 0,9970 za uzorak 1CEH, što takođe ukazuje na visoku vrijednost korelacije. Prilagođeni R² uzima u obzir i ukupan broj faktora u kojima se javljaju nezavisne varijable, te se njegova vrijednost smanjuje sa povećanjem broja faktora, ako isti ne poboljšavaju konkretan model. U ovom slučaju je jasno da su svi faktori statistički značajni jer su vrijednosti R² izuzetno bliske vrijednostima prilagođenog R².



Slika 4.24. Line Fit Plot grafici za uzorke 1C (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

Grafici Line Fit Plot prikazuju poređenje stvarnih i vrijednosti predviđenih modelom. Na Slici 4.24 su prikazani Line Fit Plot grafici za uzorke 1C, gdje se može vidjeti da su stvarne vrijednosti približne vrijednostima predviđenim modelom, odnosno da su pojedinačne vrijednosti u blizini idealne linije ($y=x$), te da su nasumično raspoređene sa obe strane prave, što ukazuje da postoji korelacija između stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom. Ovakve vrijednosti su prethodno potvrđene i vrijednostima R^2 prikazanih u Tabeli 4.37.

U Tabeli 4.38 su prikazane vrijednosti kinetičkih parametara razvijenih jednačina i odgovarajuće vrijednosti izračunate na osnovu ekperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa termički obrađenim medljikovcem i dodatkom 20 % soka od aronije uz varijaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (1D uzorci). Može se vidjeti da se za sve 1D uzorke modelom dobijena vrijednost P_m ne razlikuje značajno od izračunatih vrijednosti, iako se mogu primjetiti značajne razlike u navedenim vrijednostima između pojedinačnih uzoraka. Najniža izmjerena P_m vrijednost iznosi 49,95 u uzorku 1DFH, dok najviša iznosi 102,70 u uzorku 1DGI. Mjerene vrijednosti $r_{p,m}$ za uzorke 1D se razlikuju od vrijednosti predviđenih modelom, a kreću se u granicama od 0,03 g/Lh za uzorak 1DFH do 0,17 g/Lh za uzorak 1DFI, dok se modelom predviđene vrijednosti kreću u granicama od 0,25 g/Lh za uzorak 1DFH do 0,53 g/Lh za uzorak 1DFJ. Vremena potrebna za prilagođavanje kvasca i početak eksponencijalne faze rasta se razlikuju i kreću se u granicama od 33,43 h za uzorak 1DGJ do 105,97 h za uzorak 1DEH. Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 4.38 može se zaključiti da su najkraće t_l faze trajale kod uzoraka sa dodatkom kvasca G, zatim kod uzoraka sa dodatkom

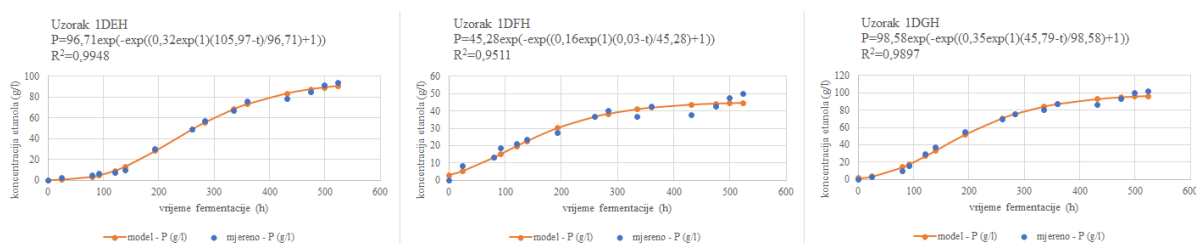
kvasca F, dok su najduže t_i trajale kod uzoraka sa dodatkom kvasca E, što se razlikuje od podataka dobijenih kod uzoraka 1B i 1C.

Tabela 4.38. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 1D

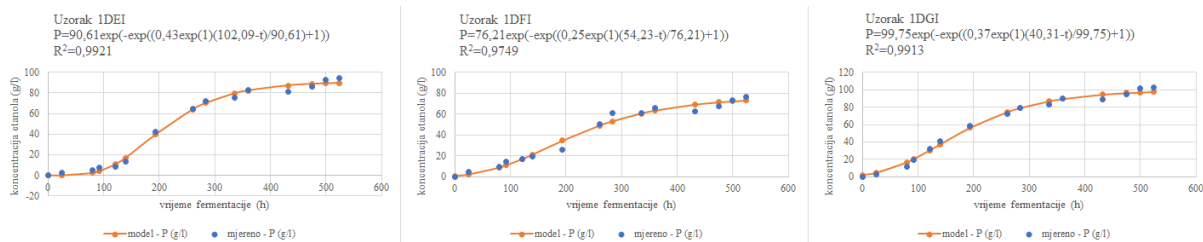
Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_i (h)
1DEH	96,71	0,32	105,97
	93,45*	0,09*	-
1DFH	45,28	0,16	51,00
	49,95*	0,03*	-
1DGH	98,58	0,35	45,79
	101,39*	0,10*	-
1DEI	90,61	0,43	102,09
	94,42*	0,10*	-
1DFI	76,21	0,25	54,23
	76,50*	0,17*	-
1DGI	99,75	0,37	40,31
	102,70*	0,12*	-
1DEJ	94,14	0,46	86,31
	98,11*	0,15*	-
1DFJ	92,23	0,53	71,48
	99,18*	0,11*	-
1DGJ	94,80	0,36	33,43
	98,56*	0,14*	-

*mjerene vrijednosti

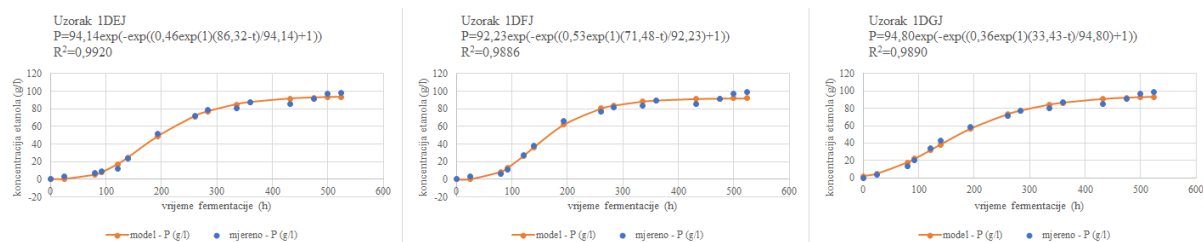
Na Slikama 4.25, 4.26 i 4.27 su prikazani grafici kinetike proizvodnje etanola, gdje su mjerene vrijednosti predstavljene simbolima a vrijednosti dobijene modelom punom linijom. Na graficima se može vidjeti da za najveći broj uzoraka ne postoje značajna odstupanja između navedenih vrijednosti, na šta ukazuju visoke vrijednosti R^2 . Najveća odstupanja se mogu vidjeti kod uzoraka 1DFI i 1DFJ na šta ukazuju nešto niže vrijednosti R^2 u odnosu na ostale 1D uzorke. Takođe, na graficima kod uzoraka u koje je dodan kvasac E, može se uočiti najduže trajanje t_i prikazano na krivoj, što je u skladu sa rezultatima prikazanim u Tabeli 4.38.



Slika 4.25. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1DEH, 1DFH i 1DGH.



Slika 4.26. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1DEI, 1DFI i 1DGI.



Slika 4.27. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 1DEJ, 1DFJ i 1DGJ.

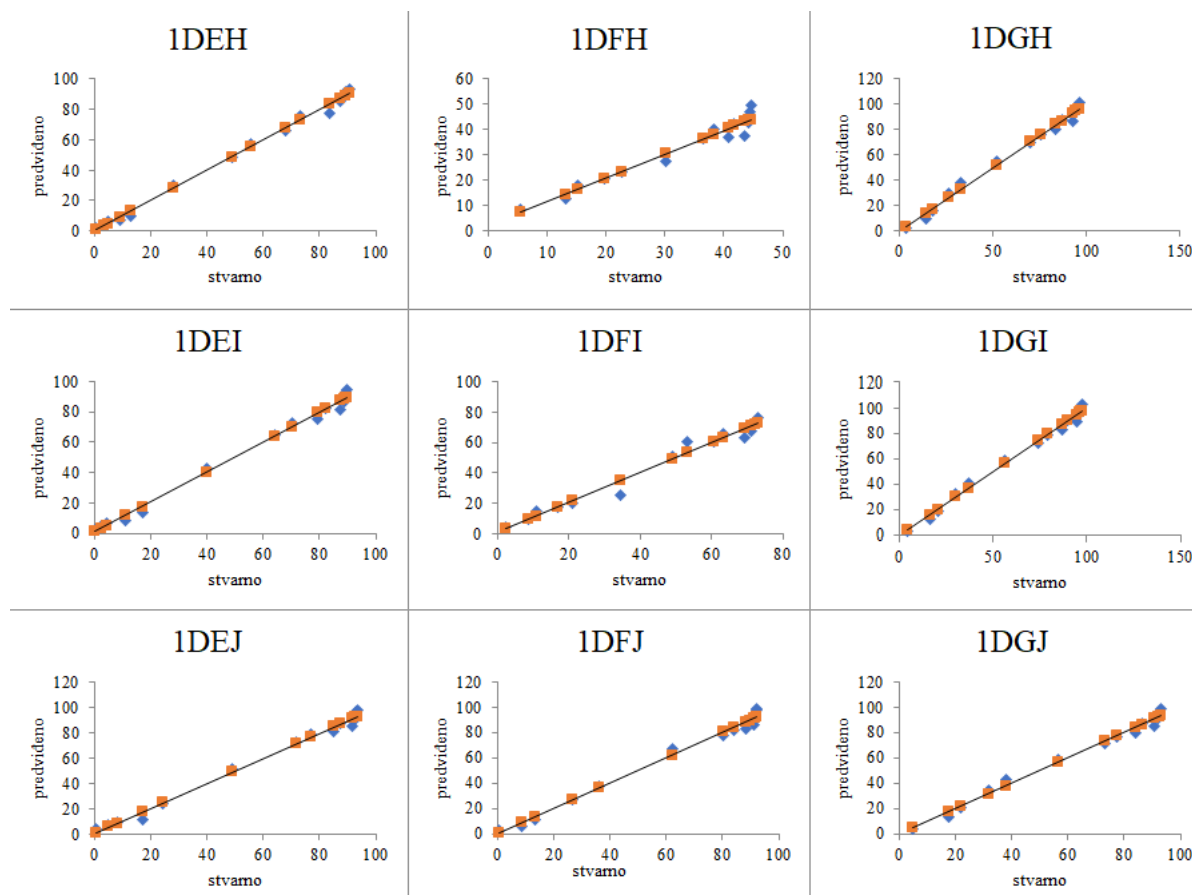
U Tabeli 4.39 su prikazane vrijednosti Fit statistike za uzroke 1D gdje se može vidjeti da su se F-vrijednosti kretale u granicama od $4,33 \cdot 10^{-15}$ za uzorak 1DEH do $3,14 \cdot 10^{-09}$ za uzorak 1DFH. Ovako niske F-vrijednosti ($<0,001$) u svim 1D uzorcima ukazuju da su navedeni rezultati statistički značajni. Za razliku od F-vrijednosti, p-vrijednost se kretala u granicama od 0,3156 za uzorak 1DFH do 0,9890 za uzorak 1DFJ, što ne ukazuje na statistički značajan efekat, jer su sve p-vrijednosti veće od 0,05.

Tabela 4.39. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 1D

Uzorak	F-vrijednost	P-vrijednost	R ²	R ² -prilagođeni
1DEH	$4,33 \cdot 10^{-15}$	0,7489	0,9948	0,9944
1DFH	$3,14 \cdot 10^{-09}$	0,3156	0,9511	0,9471
1DGH	$2,70 \cdot 10^{-13}$	0,7297	0,9897	0,9888
1DEI	$5,54 \cdot 10^{-14}$	0,5598	0,9921	0,9914
1DFI	$5,69 \cdot 10^{-11}$	0,7399	0,9749	0,9728
1DGI	$1,00 \cdot 10^{-13}$	0,7575	0,9913	0,9905
1DEJ	$5,77 \cdot 10^{-14}$	0,5877	0,9920	0,9914
1DFJ	$5,03 \cdot 10^{-13}$	0,9890	0,9886	0,9876
1DGJ	$4,11 \cdot 10^{-13}$	0,7815	0,9890	0,9880

Vrijednosti R² i prilagođenog R² za uzorke 1D prikazani su u Tabeli 4.39. Najniža vrijednost R² je dobijena u uzorku 1DFH (0,9511), dok je najviša u uzorku 1DEH (0,9948). Ove vrijednosti su prikazane i na Slikama 4.25, 4.26 i 4.27 gdje vrijednosti R² ukazuju na odstupanje između mjerenih i modelom predviđenih vrijednosti kinetike proizvodnje etanola. Vrijednosti prilagođenog R² su se kretale u granicama 0,9471 u uzorku 1DFH do 0,9944 u

uzorku 1DEH. Takođe, može se primjetiti da ne postoji značajnija razlika između R^2 i prilagođenog R^2 , što govori da sa povećanjem broja faktora nije došlo do značajnog smanjenja ove vrijednosti. Na osnovu navedenog može se zaključiti da su svi faktori statsitički značajni i da su u visokoj korelaciji.



Slika 4.28. Line Fit Plot grafici za uzorke 1D (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

Na Slici 4.28 su prikazani Line Fit Plot grafici za uzorke 1D na kojima se može vidjeti da su stvarne vrijednosti približne vrijednostima predviđenim modelom, tačnije da su odstupanja minimalna i da su navedene vrijednosti nasumično raspoređene sa obe strane prave ($y=x$). Na minimalna odstupanja koja su prikazana na Slici 4.28 ukazuju i visoke vrijednosti R^2 prikazane u Tabeli 4.39.

U Tabeli 4.40 su prikazani rezultati kinetičkih parametara razvijenih jednačina koji su poređeni sa parametrima izračunatim na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa medljikovcem tretiranim UV zracima bez dodatka voćnog soka od aronije, uz varijaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (2A uzorci). Na osnovu podataka u Tabeli 4.40, najmanja vrijednost P_m je izmjerena u uzorku 2AFH (205,70), dok je najviša vrijednost izmjerena u uzorku 2AGI (128,80). Za najveći broj uzoraka mjerene vrijednosti za maksimalnu koncentraciju etanola su približne vrijednostima dobijenim modelom, osim za uzorke 2AFH i 2AFI kod kojih postoje značajnija odstupanja između navedenih vrijednosti. Vrijednost $r_{p,m}$ se kretala u granicama od 0,01 g/Lh u uzorku 2AEI do 0,05 g/Lh u uzorku 2AGJ. Vremena trajanja lag faze su se kretala u granicama od 84,52 h za uzorak 2AGJ do 270,23 h za uzorak 2AFH.

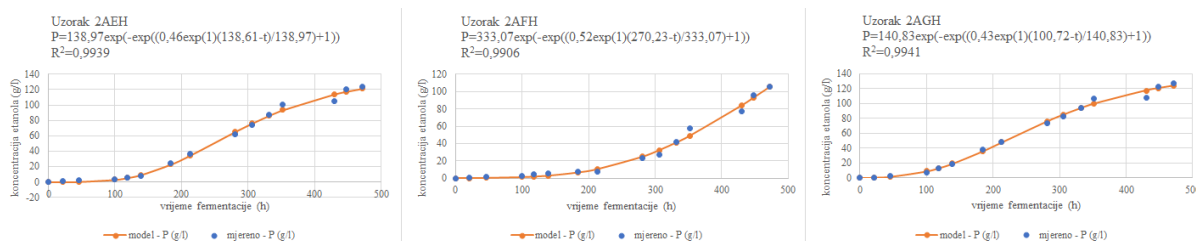
Može se primjetiti da je kod uzoraka 2A najkraće vrijeme prilagođavanja predviđeno za kvasac G, zatim za kvasac E, a najduže za kvasac F. Dužina trajanja lag faze, odnosno vrijeme potrebno za pokretanje eksponencijalne faze bi moglo biti objašnjenje za veliku razliku između stvarnih i modelom predviđenih P_m vrijednosti za uzorke sa dodatkom kvasca F.

Tabela 4.40. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 2A

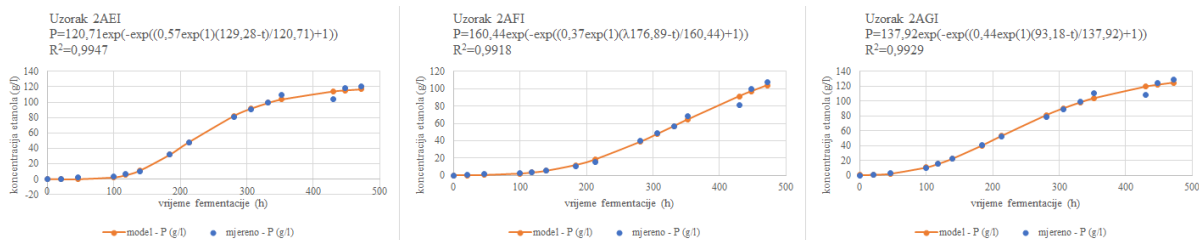
Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
2AEH	138,97	0,46	138,61
	124,35*	0,03*	-
2AFH	333,07	0,52	270,23
	105,70*	0,03*	-
2AGH	140,83	0,43	100,72
	126,71*	0,04*	-
2AEI	120,71	0,57	129,28
	120,61*	0,01*	-
2AFI	160,44	0,37	176,89
	107,98*	0,03*	-
2AGI	137,92	0,44	93,18
	128,80*	0,04*	-
2AEJ	116,90	0,56	117,92
	118,86*	0,03*	-
2AFJ	114,86	0,60	154,16
	115,24*	0,04*	-
2AGJ	131,39	0,42	84,52
	123,49*	0,05*	-

*mjerene vrijednosti

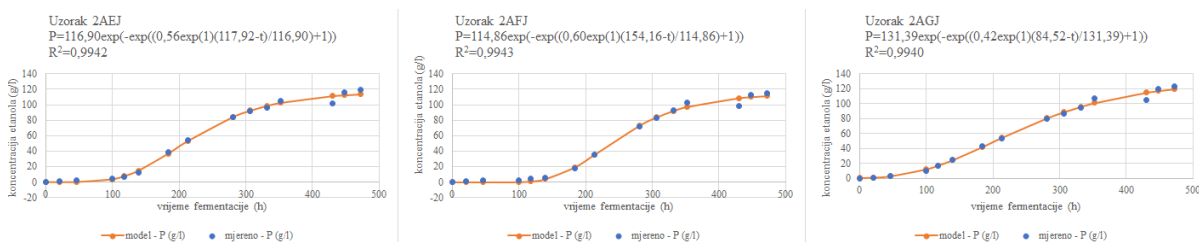
Kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije za uzorke 2A su prikazane na Slikama 4.29, 4.30 i 4.31, gdje su vrijednosti utvrđene eksperimentalno prikazane simbolima, a fitovane krive punom linijom. Može se primjetiti da za sve 2A uzorke postoji sličnost između fitovanih krivih i krivih utvrđenih eksperimentalno, te da ne postoje značajnija odstupanja. Visoka korelacija između navedenih vrijednosti se može potvrditi i visokim vrijednostima R^2 koji su prikazani u Tabeli 4.41.



Slika 4.29. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2AEH, 2AFH i 2AGH



Slika 4.30. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2AEI, 2AFI i 2AGI



Slika 4.31. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2AEJ, 2AFJ i 2AGJ

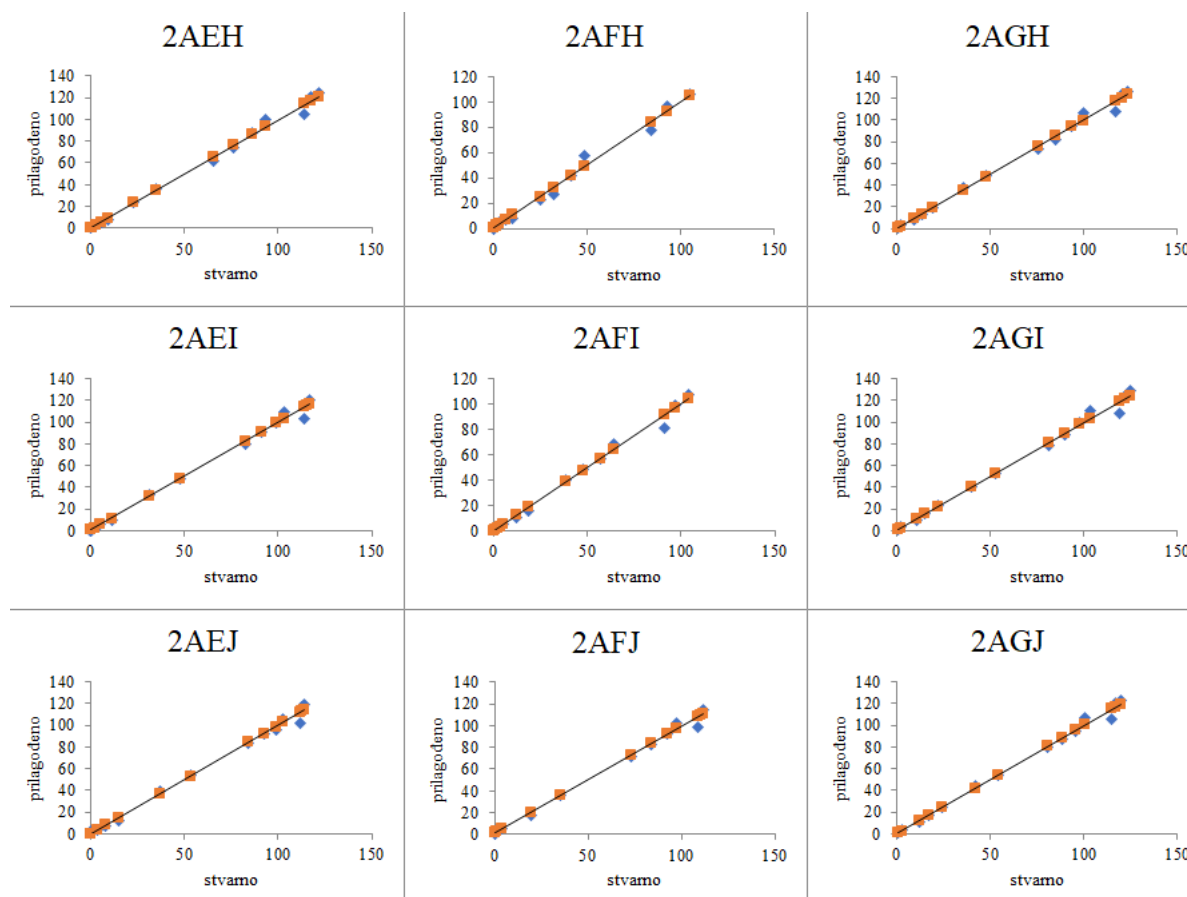
U Tabeli 4.41 su prikazani rezultati F-vrijednosti za uzorke 2A, gdje se može vidjeti da je najmanja F-vrijednost izmjerena u uzorku 2AEI ($3,32 \cdot 10^{-16}$), dok je najviša vrijednost izmjerena u uzorku 2AFI ($6,71 \cdot 10^{-14}$), na osnovu čega se može zaključiti da su navedeni rezultati statistički značajni jer su sve F-vrijednosti manje od 0,001. p-vrijednosti za uzorke 2A ne ukazuju na statistički značajan efekat, jer je p-vrijednost za sve uzorke 2A veća od 0,05, a kreću se u granicama od 0,3959 za uzorak 2AFJ do 0,9807 za uzorak 2AGH.

U Tabeli 4.41 su prikazani rezultati analize varijanse (ANOVA) za uzorke 2A, gdje se može vidjeti da je najmanja vrijednost R^2 u uzorku 1AFH (0,9906), a najveća u uzorku 2AEI (0,9947), na osnovu čega se može zaključiti da postoji prihvatljivo slaganje između eksperimentalno dobijenih podataka i modelom predviđenih. Vrijednosti prilagođenih R^2 za uzorke 2A se kreću u granicama od 0,9899 za uzorak 2AFH do 0,9943 za uzorak 2AEI, na osnovu čega se može zaključiti da postoji visoka vrijednost korelacije, te da ne postoje značajnija odstupanja između vrijednosti R^2 i prilagođenih R^2 .

Tabela 4.41. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 2A

Uzorak	F-vrijednost	p-vrijednost	R^2	R^2 -prilagođeni
2AEH	$1,17 \cdot 10^{-14}$	0,8656	0,9939	0,9934
2AFH	$1,46 \cdot 10^{-14}$	0,6289	0,9906	0,9899
2AGH	$9,42 \cdot 10^{-15}$	0,9807	0,9941	0,9936
2AEI	$3,32 \cdot 10^{-16}$	0,7235	0,9947	0,9943
2AFI	$6,71 \cdot 10^{-14}$	0,8528	0,9918	0,9912
2AGI	$2,84 \cdot 10^{-14}$	0,9685	0,9929	0,9923
2AEJ	$8,55 \cdot 10^{-15}$	0,8822	0,9942	0,9937
2AFJ	$8,12 \cdot 10^{-15}$	0,3959	0,9943	0,9938
2AGJ	$1,09 \cdot 10^{-14}$	0,9438	0,9940	0,9935

Na Slici 4.32 prikazani su grafici Line Fit Plot za uzorke 2A, koji prikazuju poređenje stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom. Može se vidjeti da su stvarne vrijednosti približne vrijednostima predviđenim modelom za sve uzorke 2A, te da ne postoje značajna odstupanja pojedinačnih vrijednosti od idealne linije ($y=x$), nego se vidi nasumična raspoređenost sa obe strane prave. Ovako visoka korelacija stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom se može vidjeti i u Tabeli 4.41 u kojoj su prikazani visoki vrijednosti koeficijenta determinacije (R^2).



Slika 4.32. Line Fit Plot grafici za uzorke 2A (naranđasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

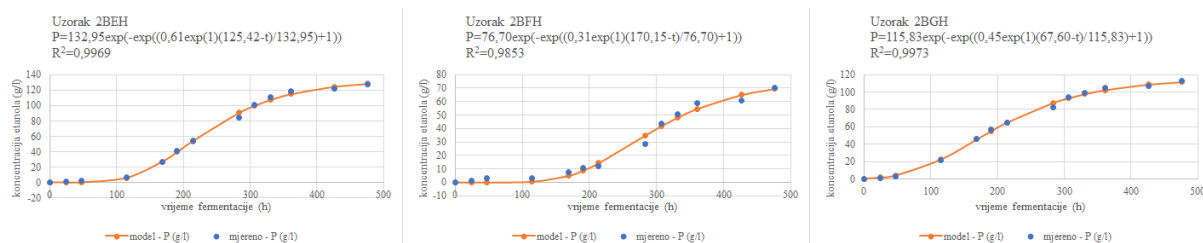
U Tabeli 4.42 su prikazani rezultati kinetičkih parametara razvijenih matematičkih modela i eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa medljikovcem tretiranim UV zračenjem sa dodatkom 5 % voćnog soka 2B, uz varijaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (2B uzorci). U Tabeli 4.42 se može vidjeti da je najniža izmjerena vrijednost P_m u uzorku 2BFH gdje iznosi 70,18, dok je najviša u uzorku 2BGJ gdje iznosi 129,97. U najvećem broju uzoraka 2B se može primjetiti da ne postoje veća odstupanja između mjerenih i modelom predviđenih vrijednosti P_m , osim za uzorke 2BFI i 2BFJ gdje se navedene razlike značajnije razlikuju. Najmanja izmjerena vrijednost $r_{p,m}$ je 0,03 g/Lh u uzorku 2BGH, dok je najveća 0,12 g/Lh u uzorku 2BFI. Kao i kod prethodnih uzoraka, može se vidjeti da postoje veća odstupanja između mjerenih i modelom predviđenih vrijednosti $r_{p,m}$. Vremena trajanja lag faza su se razlikovala u zavisnosti od vrste kvasca, a može se vidjeti da je najkraće t_l predviđeno u uzorku 2BGH (67,60 h), a najduže u uzorku 2BFJ (213,47 h). Može se primjetiti da je za sve tri

koncentracije kvasca, najkraće vrijeme prilagođavanja za kvasac G, zatim za kvasac E, a najduže za kvasac F. Slični rezultati su dobijeni i kod uzoraka 1B.

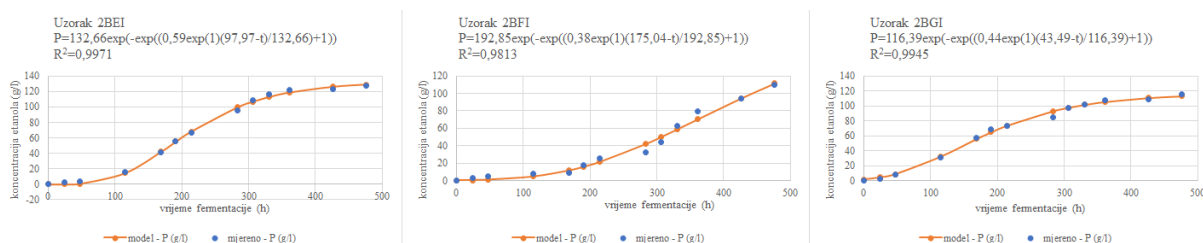
Tabela 4.42. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 2B

Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
2BEH	132,95	0,61	125,42
	127,92*	0,04*	-
2BFH	76,70	0,31	170,15
	70,18*	0,06*	-
2BGH	115,83	0,45	67,60
	112,37*	0,03*	-
2BEI	132,66	0,59	97,97
	127,57*	0,09*	-
2BFI	192,85	0,38	175,04
	109,95*	0,12*	-
2BGI	116,39	0,44	43,49
	115,53*	0,11*	-
2BEJ	123,63	0,59	91,92
	121,11*	0,10*	-
2BFJ	120,28	0,44	213,47
	97,42*	0,04*	-
2BGJ	136,95	0,48	59,69
	129,97*	0,08*	-

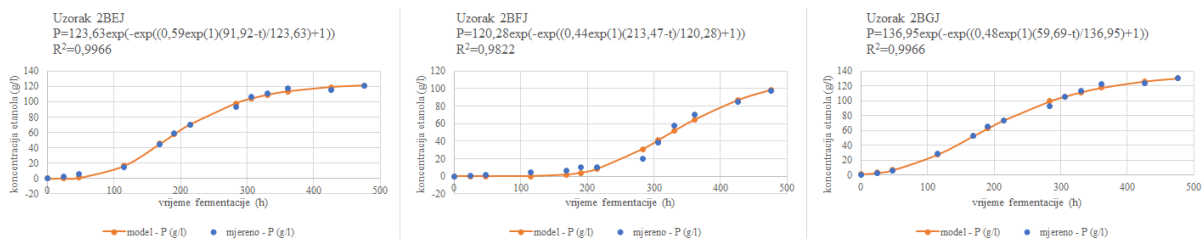
*mjerene vrijednosti



Slika 4.33. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2BEH, 2BFH i 2BGH



Slika 4.34. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2BEI, 2BFI i 2BGI



Slika 4.35. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2BEJ, 2BFJ i 2BGJ

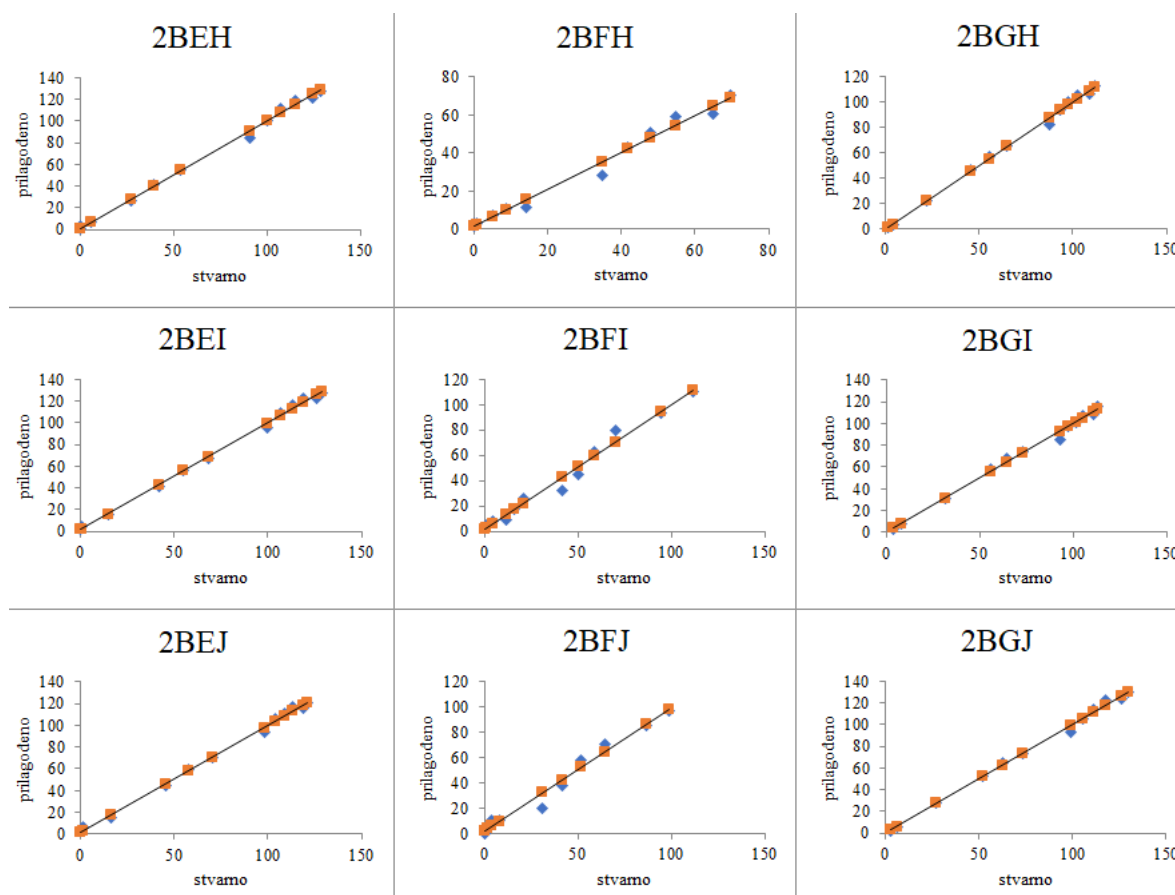
Na Slikama 4.33, 4.34 i 4.35 prikazani su grafici kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije za uzorke 2B, koji predstavljaju uklapanje eksperimentalnih podataka u Gompertz-ovu jednačinu. Na graficima se može primjetiti velika sličnost između fitovanih krivih i krivih koje su utvrđene eksperimentalno. Na visoku korelaciju između navedenih krivih ukazuju i visoke vrijednosti R^2 za uzorke 2B koje su prikazane u Tabeli 4.43.

U Tabeli 4.43 su prikazane F-vrijednosti i p-vrijednosti za uzorke 2B, gdje se može vidjeti da najmanja F-vrijednost iznosi $3,87 \cdot 10^{-14}$, a izmjerena je u uzorku 2BGH, dok najveća iznosi $5,70 \cdot 10^{-10}$ izmjerena u uzorku 2BFI. Može se vidjeti da su sve F-vrijednosti manje od 0,001, što ukazuje da su navedeni rezultati statistički značajni. p-vrijednosti za navedene uzorke su se kretale u granicama od 0,2311 za uzorak 2BEJ do 0,8256 za uzorak 2BGJ, što ne ukazuje na statističku značajnost, jer su sve navedene p-vrijednosti veće od 0,05.

U Tabeli 4.43 su prikazani rezultati analize varijanse (ANOVA) za uzorke 2B, gdje se može vidjeti da se vrijednosti R^2 kreću u granicama od 0,9813 za uzorak 2BFI do 0,9973 za uzorak 2BGH, što predstavlja visoke vrijednosti R^2 koje ukazuju na prihvatljivo slaganje između eksponencijalno dobijenih podataka i modelom predviđenih. Vrijednosti prilagođenog R^2 su se kretale u granicama od 0,9794 za uzorak 2BFI do 0,9970 za uzorak 2BGH, što ukazuje na visoku vrijednost korelacije, jer se vrijednosti R^2 i prilagođenog R^2 ne razlikuju značajno. Navedena tvrdnja govori da sa povećanjem broja faktora u kojima se javljaju nezavisne varijable vrijednost prilagođenog R^2 se nije značajno smanjila.

Tabela 4.43. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 2B

Uzorak	F-vrijednost	p-vrijednost	R^2	R^2 -prilagođeni
2BEH	$6,10 \cdot 10^{-14}$	0,5216	0,9969	0,9967
2BFH	$1,70 \cdot 10^{-10}$	0,3014	0,9853	0,9839
2BGH	$3,87 \cdot 10^{-14}$	0,7653	0,9973	0,9970
2BEI	$5,01 \cdot 10^{-14}$	0,3110	0,9971	0,9968
2BFI	$5,70 \cdot 10^{-10}$	0,5502	0,9813	0,9794
2BGI	$1,30 \cdot 10^{-12}$	0,7568	0,9945	0,9939
2BEJ	$1,06 \cdot 10^{-13}$	0,2311	0,9966	0,9936
2BFJ	$5,71 \cdot 10^{-11}$	0,2654	0,9822	0,9805
2BGJ	$1,18 \cdot 10^{-13}$	0,8256	0,9966	0,9962



Slika 4.36. Line Fit Plot grafici za uzorke 2B (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

Upoređivanjem analize statistike uklapanja prikazane u Tabeli 4.43 i eksperimentalno dobijenih podataka sa odgovarajućim vrijednostima dobijenim korištenjem modela na Slici 4.36, izvršena je validacija razvijenih modela. Na graficima se može vidjeti da su kod svih 2B uzoraka stvarne vrijednosti približne vrijednostima predviđenim modelom, odnosno da su pojedinačne vrijednosti u blizini idealne linije ($y=x$) i da postoji nasumična raspoređenost sa obe strane prave. Ovakvi grafici ukazuju da postoji korelacija između stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom, što se potvrđuje i visokim vrijednostima R^2 prikazanih u Tabeli 4.43. Takođe, može se vidjeti da je najveće odstupanje sa obe strane prave u uzorcima 2BFH, 2BFI i 2BFJ u kojima su dobijene najmanje vrijednosti R^2 i prilagođenog R^2 .

U Tabeli 4.44 su prikazane vrijednosti kinetičkih parametara razvijenih jednačina i odgovarajuće vrijednosti izračunate na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa medljikovcem tretiranim UV zračenjem i dodatkom 10 % voćnog soka od aronije, uz kombinaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (2C uzorci). Izmjerene vrijednosti P_m su se kretale u granicama od 91,73 za uzorak 2CGH do 141,48 za uzorak 2CGJ. Za najveći broj uzoraka se može primjetiti da se mjerene vrijednosti P_m ne razlikuju značajno od modelom predviđenih vrijednosti P_m , osim za uzorke u kojima je dodan kvasac G, gdje se mogu primijetiti značajnija odstupanja između navedenih vrijednosti. Mjerene vrijednosti $r_{p,m}$ se kreću u granicama od 0,03 g/Lh za uzorak 2CEH do 0,42 g/Lh za uzorak 2CGI, dok se vrijednosti $r_{p,m}$ predviđene modelom kreću u granicama od 0,44 g/Lh za uzorak 2CGJ do 0,67 g/Lh za uzorak 2CEJ. Na osnovu svih vrijednosti $r_{p,m}$ može se vidjeti da su za sve uzorke 2C vrijednosti

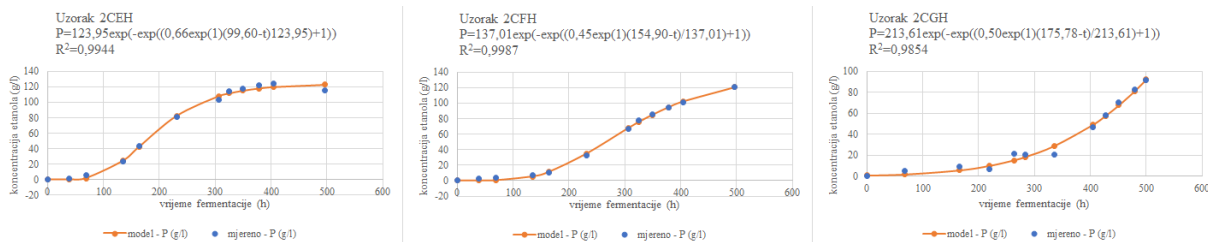
predviđene modelom značajno veće u odnosu na mjerene. Vrijeme trajanja t_1 je predviđeno modelom i kreće se u granicama od 91,75 h za uzorak 2CEJ do 178,63 h za uzorak 2CFJ. Iz prikazanih rezultata se može vidjeti da su vremena t_1 najkraće trajala u uzorcima u koje je dodan kvasac E, dok su uzorci sa dodatkom kvasca F i G trajala duže, što se razlikuje od rezultata kod uzoraka 1C, gdje je najkraće vrijeme t_1 predviđeno za uzorke sa dodatkom kvasca G.

Tabela 4.44. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 2C

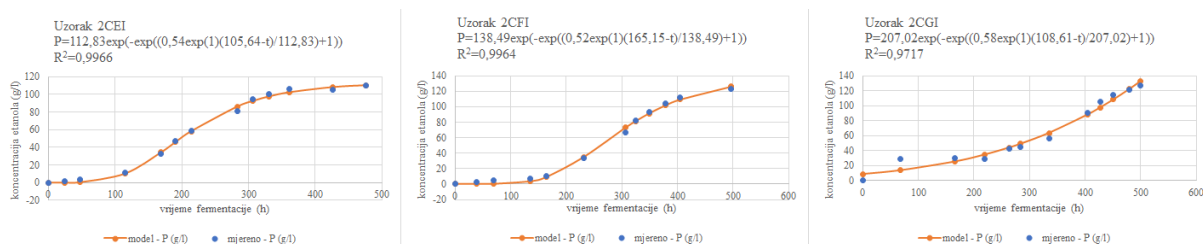
Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_1 (h)
2CEH	123,95	0,66	99,60
	115,11*	0,03*	-
2CFH	137,01	0,45	154,90
	120,40*	0,07*	-
2CGH	213,61	0,50	175,78
	91,73*	0,08*	-
2CEI	112,83	0,54	105,64
	109,87*	0,07*	-
2CFI	138,49	0,52	165,15
	123,03*	0,06*	-
2CGI	207,02	0,58	108,61
	127,39*	0,42*	-
2CEJ	130,74	0,67	91,75
	128,78*	0,06*	-
2CFJ	110,49	0,54	178,63
	100,69*	0,06*	-
2CGJ	250,05	0,44	160,63
	141,48*	0,11*	-

*mjerene vrijednosti

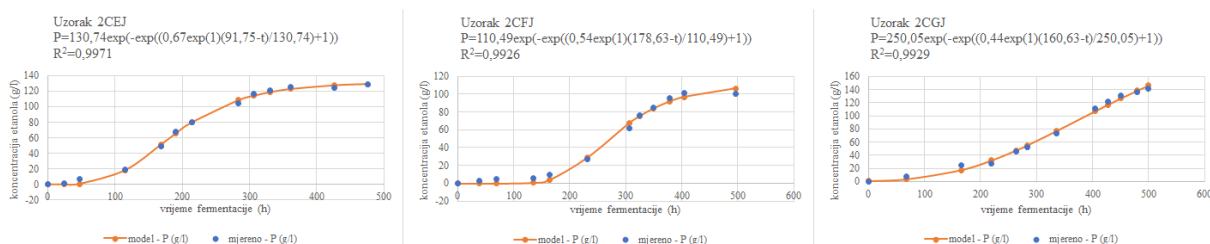
Na Slikama 4.37, 4.38 i 4.39 su prikazani grafici na kojima se nalaze kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije za uzorke 2C, gdje su mjerene vrijednosti prikazane u obliku odgovarajućih simbola, dok su modelom predviđene vrijednosti prikazane u obliku punih linija. Na prikazanim graficima se može vidjeti da za sve 2C uzorke postoji velika sličnost između krivih koje su utvrđene eksperimentalno i fitovanih krivih, odnosno da modelovane krive odgovaraju eksperimentalno mjerenim vrijednostima koncentracije u cijelom mjerenom intervalu koncentracija, na šta ukazuju i visoke vrijednosti R^2 . Takođe, na slikama se može vidjeti da se unutar iste koncentracije kvasca krive razlikuju, posebno kod uzoraka u koje je dodan kvasac G, gdje se ne može uočiti jasan prelaz između lag i eksponencijalne faze, što je potvrđeno rezultatima t_1 prikazanim u Tabeli 4.44. Prikazani izgled krive kod uzoraka 2CG se razlikuje od krivih za uzorke 1CG.



Slika 4.37. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2CEH, 2CFH i 2CGH



Slika 4.38. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2CEH, 2CFH i 2CGH



Slika 4.39. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2CEH, 2CFH i 2CGH

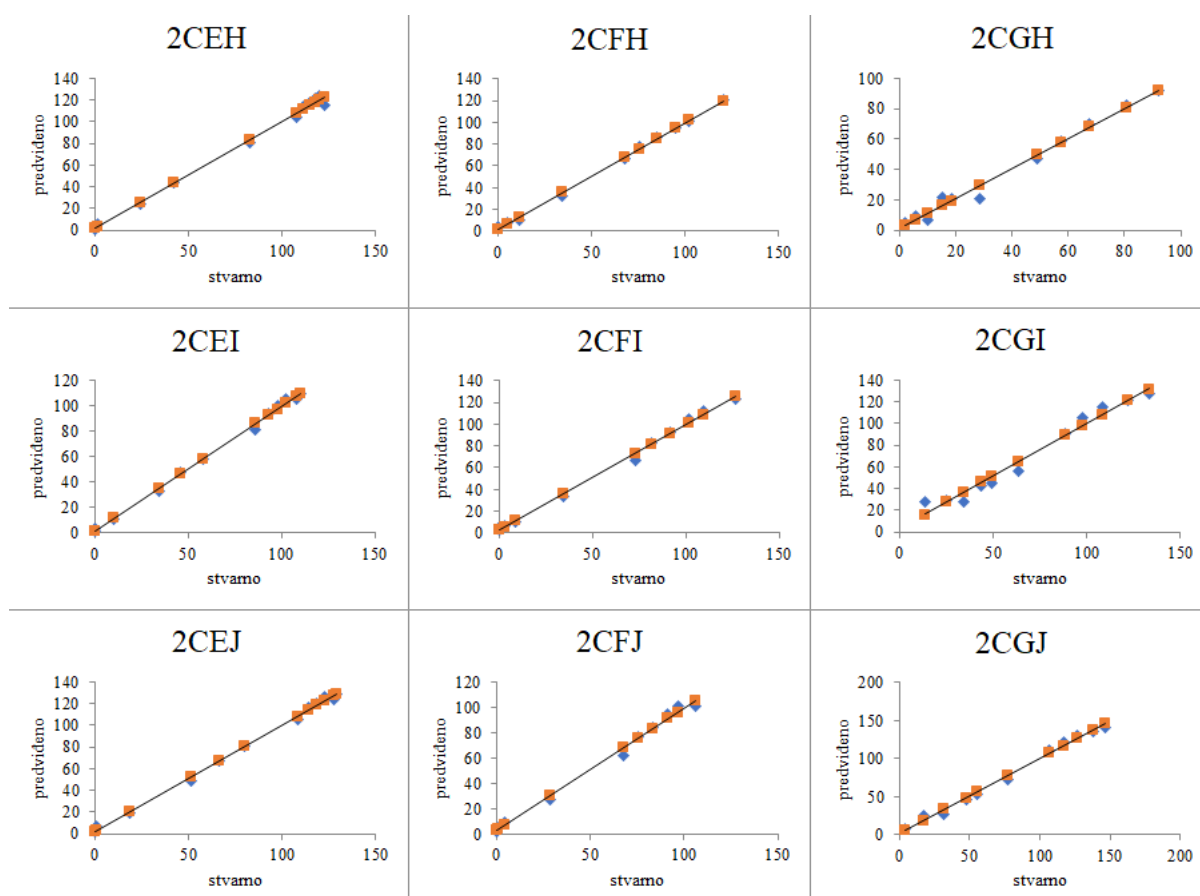
U Tabeli 4.45 su prikazani rezultati Fit statistike za uzorke 2C, gdje se može vidjeti da se F-vrijednosti kreću u granicama od $2,42 \cdot 10^{-14}$ za uzorak 2CFH do $2,84 \cdot 10^{-8}$ za uzorak 2CGI. F-vrijednosti manje od 0,001 ukazuju na statističku značajnost navedenih rezultata, na osnovu čega se može zaključiti da su F-vrijednosti za sve uzorke 2C statistički značajne. Pored F-vrijednosti, prikazani su rezultati p-vrijednosti koji ukazuju na statističku značajnost u slučajevima kada je p-vrijednost niža od 0,05. Najniža p-vrijednost je izmjerena u uzorku 2CFH (0,0635), a najviša u uzorku 2CGJ (0,5607), na osnovu čega se može vidjeti da dati član jednačine nema statističku značajnost.

Analiza varijanse (ANOVA) je primijenjena kako bi se testirale značajne razlike između uzoraka. Rezultati ANOVA za uzorke 2C su prikazani u Tabeli 4.45, gdje se može vidjeti da se vrijednosti R^2 kreću u granicama od 0,9717 za uzorak 2CGI do 0,9987 za uzorak 2CFH, što ukazuje na prihvatljivo slaganje između eksperimentalno dobijenih i modelom predviđenih podataka. Na visoku vrijednost korelacije navedenih podataka ukazuje i vrijednost prilagođenog R^2 koje se kreću u granicama od 0,9685 za uzorak 2CGI do 0,9986 za uzorak 2CFH. Prilagođeni R^2 u obzir uzima ukupan broj faktora u kojima se javljaju nezavisne

varijable, te se sa povećanjem broja faktora vrijednost R^2 smanjuje, ako isti ne poboljšavaju konkretan model. Za uzorke 2C je jasno da su svi faktori statistički značajni jer su vrijednosti R^2 izuzetno bliske vrijednostima prilagođenog R^2 .

Tabela 4.45. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 1A

Uzorak	F-vrijednost	p-vrijednost	R^2	R^2 -prilagođeni
2CEH	$1,95 \cdot 10^{-11}$	0,5427	0,9944	0,9937
2CFH	$2,42 \cdot 10^{-14}$	0,0635	0,9987	0,9986
2CGH	$1,42 \cdot 10^{-9}$	0,5212	0,9854	0,9838
2CEI	$1,12 \cdot 10^{-13}$	0,3426	0,9966	0,9963
2CFI	$2,48 \cdot 10^{-12}$	0,1343	0,9964	0,9960
2CGI	$2,84 \cdot 10^{-8}$	0,4544	0,9717	0,9685
2CEJ	$4,89 \cdot 10^{-14}$	0,1918	0,9971	0,9968
2CFJ	$6,66 \cdot 10^{-11}$	0,1080	0,9926	0,9918
2CGJ	$5,50 \cdot 10^{-11}$	0,5607	0,9929	0,9921



Slika 4.40. Line Fit Plot grafici za uzorke 2C (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

Validacija razvijenih modela izvršena je upoređivanjem eksperimentalno dobijenih podataka sa odgovarajućim vrijednostima dobijenim korištenjem modela (Slika 4.40) i analizom statistike uklapanja iz Tabele 4.45. Na Slici 4.40 su prikazani grafici Line Fit Plot za uzorke 2C na kojima se može vidjeti poređenje stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih

modelom. Za sve uzorke 2C se može primijetiti da su stvarne vrijednosti približne vrijednostima predviđenih modelom, odnosno da su pojedinačne vrijednosti blizu idealne prave i nalaze se nasumično raspoređene sa obe strane prave ($y=x$). Ovi grafici su u skladu sa visokim vrijednostima R^2 koje su prikazane u Tabeli 4.45, te dodatno potvrđuju da postoji korelacija između stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom.

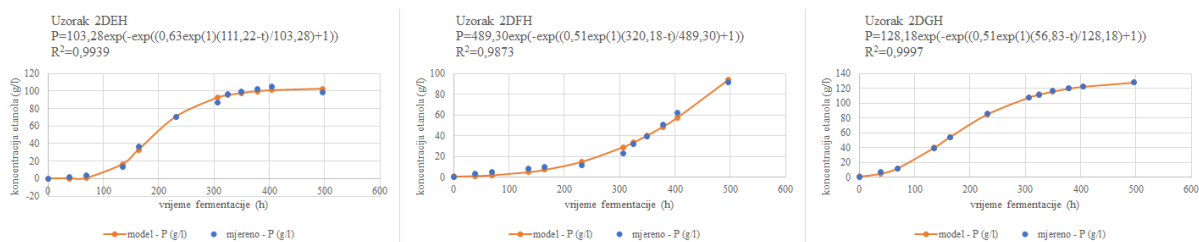
Tabela 4.46. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 2D

Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
2DEH	103,28	0,63	111,22
	98,00*	0,04*	-
2DFH	489,30	0,51	320,18
	91,87*	0,09*	-
2DGH	131,69	0,51	56,83
	128,18*	0,17*	-
2DEI	123,77	0,68	117,84
	115,18*	0,03*	-
2DFI	115,84	0,42	176,36
	101,60*	0,10*	-
2DGI	140,73	0,61	60,27
	138,85*	0,11*	-
2DEJ	121,03	0,65	91,15
	112,63*	0,08*	-
2DFJ	171,38	0,41	156,24
	125,14*	0,06*	-
2DGJ	128,87	0,54	65,61
	127,34*	0,11*	-

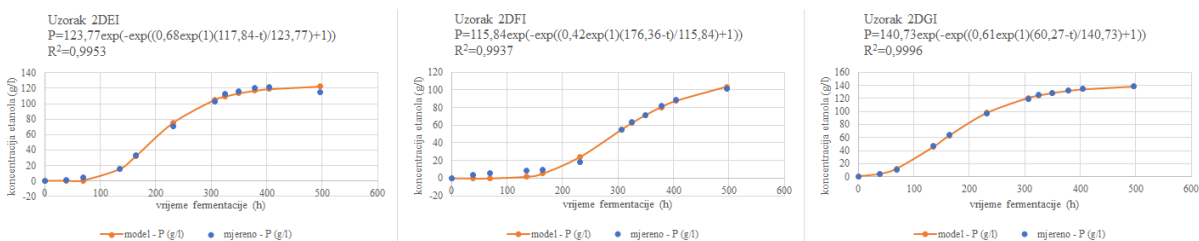
*mjerene vrijednosti

U Tabeli 4.46 prikazani su rezultati kinetičkih parametara razvijenih jednačina i parametri izračunati na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa medljikovcem tretiranim UV zracima i dodatkom 20 % voćnog soka od aronije uz varijaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (uzorci 2D). Može se vidjeti da se mjerene vrijednosti P_m kreću u granicama od 91,87 za uzorak 2DFH do 138,85 za uzorak 2DGI. Za najveći broj uzoraka se može primjetiti da, u pogledu ovog parametra, ne postoje veća odstupanja između mjerenih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom, osim u uzorku 2DFH, gdje je vrijednost P_m predviđena modelom iznosila 489,30. Mjerene vrijednosti $r_{p,m}$ se kreću u granicama od 0,03 g/Lh za uzorak 2DEI do 0,17 g/Lh za uzorak 2DGH. Poređenjem mjerenih vrijednosti $r_{p,m}$ sa vrijednostima dobijenim modelom može se vidjeti da postoje razlike za sve 2D uzorke, gdje su vrijednosti predviđene modelom značajno više u odnosu na eksperimentalno određene vrijednosti. Vremena trajanja t_l faze, tačnije vremena potrebna za prilagođavanje kvasca i početak eksponencijalne faze, prema razvijenom modelu, kreću se u granicama od 56,83 h za uzorak 2DGH do 320,18 h za uzorak 2DFH. Najduže trajanje t_l predviđeno modelom kod uzorka 2DFH može biti razlog za veliko odstupanje vrijednosti P_m . Unutar sve tri količine dodanog kvasca (H, I, J) može se primjetiti da je najkraća t_l primjećena u uzorcima sa dodatkom

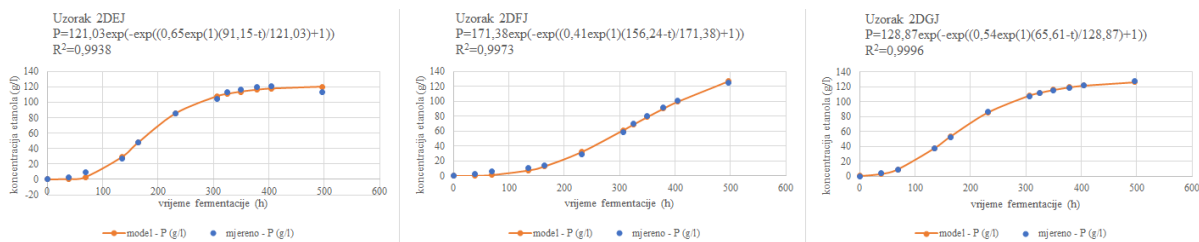
kvasca G, nešto duže vrijeme je bilo potrebno za kvasac E, a najduže vrijeme za kvasac F. Ovakvi rezultati su slični sa prethodno navedenim rezultatima.



Slika 4.41. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2DEH, 2DFH i 2DGH



Slika 4.42. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2DEI, 2DFI i 2DGI



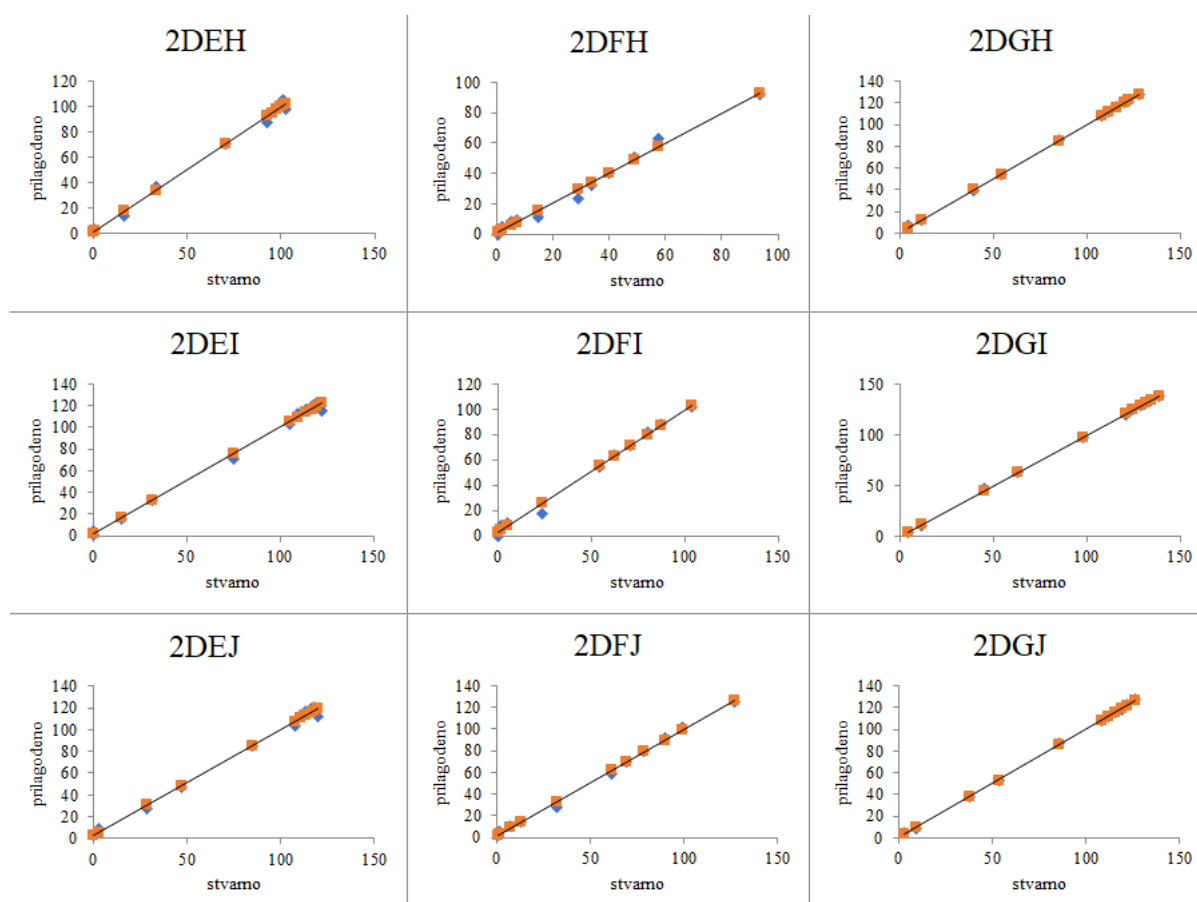
Slika 4.43. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 2DEJ, 2DFJ i 2DGJ

Tabela 4.47. ANOVA za kvadratne modele i Fit statistika za uzorke 2D

Uzorak	F-vrijednost	P-vrijednost	R ²	R ² -prilagođeni
2DEH	$2,85 \cdot 10^{-11}$	0,6001	0,9939	0,9932
2DFH	$8,04 \cdot 10^{-11}$	0,5250	0,9873	0,9861
2DGH	$1,01 \cdot 10^{-17}$	0,3665	0,9997	0,9997
2DEI	$8,71 \cdot 10^{-12}$	0,4303	0,9953	0,9948
2DFI	$2,39 \cdot 10^{-12}$	0,0572	0,9937	0,9931
2DGI	$9,36 \cdot 10^{-17}$	0,6674	0,9996	0,9996
2DEJ	$2,98 \cdot 10^{-11}$	0,2938	0,9938	0,9931
2DFJ	$7,71 \cdot 10^{-13}$	0,2104	0,9973	0,9969
2DGJ	$8,64 \cdot 10^{-17}$	0,8893	0,9996	0,9996

Na Slikama 4.41, 4.42 i 4.43 prikazane su kinetike proizvodnje etanola tokom alkoholne fermentacije za uzorke 2D, gdje se može primijetiti da postoji velika sličnost između krivih koje su utvrđene eksperimentalno i fitovanih krivih. Na visoku korelaciju ukazuju i vrijednosti R^2 koje su prikazane u Tabeli 4.47. Takođe, na graficima koji su prikazani za uzorke 2D može se vidjeti razlika u trajanju t_1 između različitih vrsta kvasaca, odnosno početak eksponencijalne faze, što je u skladu sa rezultatima prikazanim u Tabeli 4.46.

U Tabeli 4.47 su prikazani rezultati F-vrijednosti za uzorke 2D, gdje se može vidjeti da je najmanja F-vrijednost izmjerena u uzorku 2DGH ($1,01 \cdot 10^{-17}$), dok je najviša vrijednost izmjerena u uzorku 2DFH ($8,04 \cdot 10^{-11}$), što ukazuje da su navedeni rezultati statistički značajni, jer su sve F-vrijednosti manje od 0,001. p-vrijednosti za uzorke 2D su takođe prikazane u Tabeli 4.47, gdje se može vidjeti da se kreću u granicama od 0,0572 za uzorak 2DFI do 0,8893 za uzorak 2DGJ, što ne ukazuje na visoku statističku vrijednost, jer su svi navedeni rezultati veći od 0,05.



Slika 4.44. Line Fit Plot grafici za uzorke 2D (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

Validacija razvijenih modela izvršena je upoređivanjem eksperimentalno dobijenih podataka sa odgovarajućim vrijednostima dobijenim korištenjem modela (Slika 4.44) i analizom statistike uklapanja iz Tabele 4.47. U Tabeli 4.47 su prikazani rezultati analize varijanse (ANOVA) za uzorke 2D, gdje se može vidjeti da ja najmanja vrijednost R^2 u uzorku 2DFH (0,9873), a najveća u uzorku 2DGH (0,9997), što ukazuje da za navedene uzorke postoji prihvatljivo slaganje između eksperimentalno dobijenih podataka i modelom predviđenih.

Vrijednosti prilagođenog R^2 , koje su se kretale u granicama od 0,9861 za uzorak (2DFH) do 0,9997 za uzorak (2DGH), takođe ukazuju na visoku vrijednost korelacije. Kako prilagođeni R^2 uzima u obzir ukupan broj faktora u kojima se javljaju nezavisne varijable, njegova vrijednost se smanjuje povećanjem broja faktora, ako isti ne poboljšavaju konkretan model. Na osnovu navedenog se može vidjeti da su se vrijednosti prilagođenog R^2 za uzorke 2D smanjile minimalno, dok su za uzorke 2DGI i 2DGJ vrijednosti R^2 i prilagođenog R^2 ostale iste (0,9996), kao i za uzorak 2DGH (0,9997), čime se još jednom može potvrditi visoka vrijednost korelacije za navedene uzorke.

Line Fit Plot grafici za uzorke 2D se nalaze na Slici 4.44, gdje je prikazano poređenje stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom. Na osnovu prikazanih grafika vidi se da su pojedinačne vrijednosti u blizini idealne linije ($y=x$), tačnije da postoji ravnomjerna raspoređenost sa obe strane prave, bez većih odstupanja, što ukazuje da postoji korelacija između stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom, na šta ukazuju i visoke vrijednosti R^2 prikazane u Tabeli 4.47.

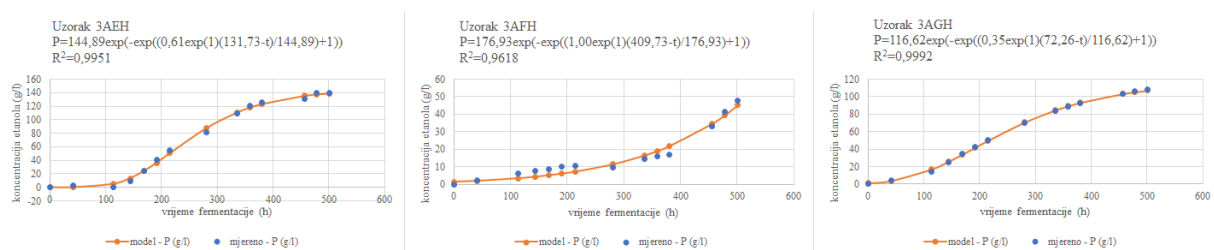
Tabela 4.48. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 3A

Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
3AEH	144,89	0,61	131,73
	139,83*	0,06*	-
3AFH	176,93	1,00	409,73
	47,72*	0,06*	-
3AGH	116,62	0,35	72,26
	107,89*	0,10*	-
3AEI	156,51	0,56	104,87
	148,82*	0,07*	-
3AFI	227,36	0,29	239,82
	73,81*	0,10*	-
3AGI	151,96	0,50	88,51
	142,42*	0,15*	-
3AEJ	133,78	0,57	81,19
	134,36*	0,08*	-
3AFJ	99,54	0,40	154,04
	94,26*	0,07*	-
3AGJ	128,12	0,48	74,58
	124,45*	0,15*	-

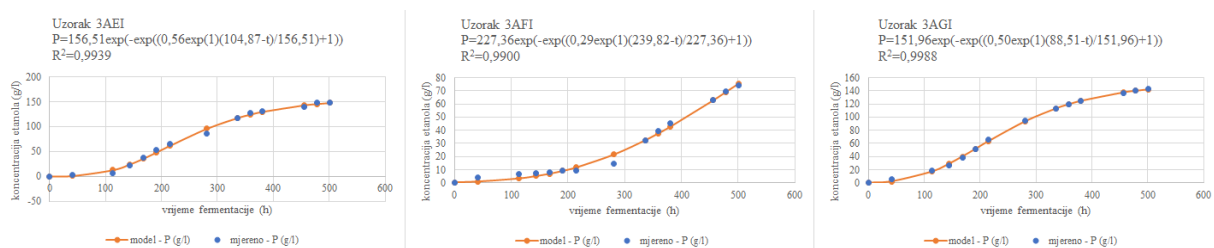
*mjerene vrijednosti

U Tabeli 4.48 su prikazane vrijednosti kinetičkih parametara razvijenih jednačina i odgovarajuće vrijednosti izračunate na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa ultrazvučno obrađenim medljikovcem bez dodatka voćnog soka od aronije, uz kombinaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (3A uzorci). Izmjerene vrijednosti P_m su se kretale u granicama od 47,72 za uzorak 3AFH do 148,82 za uzorak 3AEI, dok su se vrijednosti P_m predviđene modelom kretale u granicama od 99,54 za uzorak 3AFJ do 227,36 za uzorak 3AFI. Za najveći broj uzoraka se može primijetiti da se mjerene vrijednosti P_m ne razlikuju

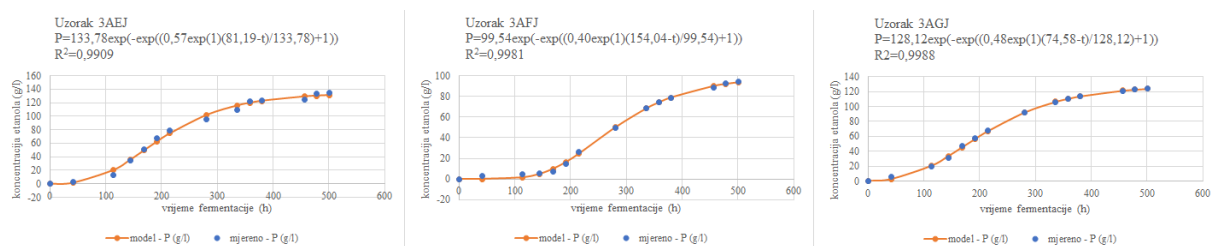
značajno od modelom predviđenih vrijednosti P_m , osim za uzorke sa dodatkom kvasca F u količini od 150 i 300 mg/L, dok pri dodatku istog kvasca u količini od 600 mg/L ne postoji značajnija razlika. Mjerene vrijednosti $r_{p,m}$ se kreću u granicama od 0,06 g/Lh za uzorke 3AEH i 3AFH do 0,15 g/Lh za uzorke 3AGI i 3AGJ, dok se vrijednosti $r_{p,m}$ predviđene modelom kreću u granicama od 0,29 za uzorak 3AFI do 1,00 za uzorak 3AFH. Na osnovu vrijednosti $r_{p,m}$ može se vidjeti da su za sve uzorke 3A vrijednosti predviđene modelom značajno veće u odnosu na mjerene. Vrijeme trajanja t_1 je predviđeno modelom i kreće se u granicama od 72,26 h za uzorak 3AGH do 409,73 h za uzorak 3AFH. Iz prikazanih rezultata se može vidjeti da je za sve tri koncentracije dodanog kvasca, najkraća t_1 predviđena za uzorke sa dodatkom kvasca G, nešto duža za uzorke sa dodatkom kvasca E, dok je značajno duže vrijeme potrebno za uzorke sa dodatkom kvasca F. Posebno se ističe trajanje t_1 faze kod uzorka 3AFH kod kog je eksponencijalna faza počela neposredno pred završetak procesa proizvodnje medovine. Kod uzoraka sa najmanjom količinom dodanog kvasca može se primijetiti da je došlo do najvećih odstupanja između mjerenih i modelom predviđenih vrijednosti P_m , što može da se poveže sa dužinom trajanja lag faze i početkom eksponencijalne faze rasta.



Slika 4.45. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3AEH, 3AFH i 3AGH



Slika 4.46. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3AEI, 3AFI i 3AGI



Slika 4.47. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3AEJ, 3AFJ i 3AGJ

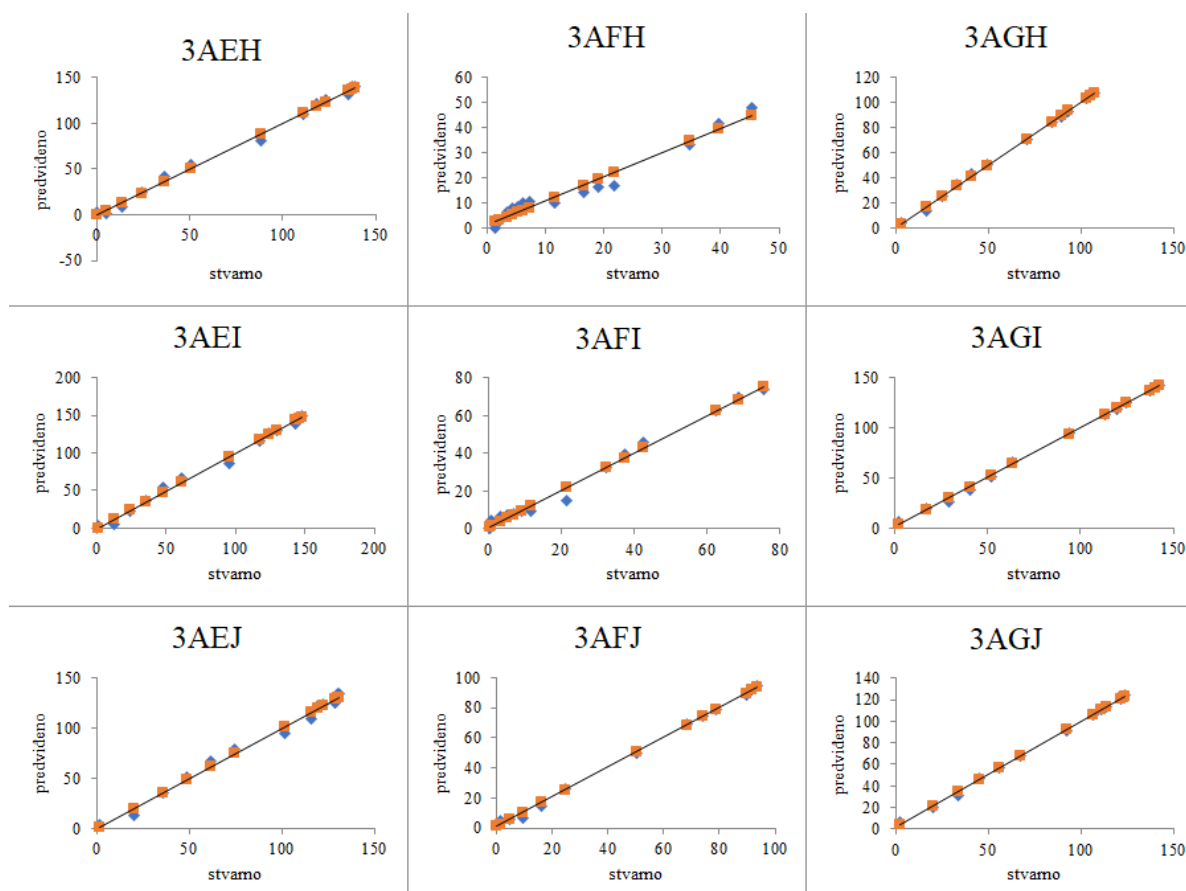
Na Slikama 4.45, 4.46 i 4.47 mogu se vidjeti grafici na kojima su prikazane kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu za uzorke 3A, gdje su mjerene vrijednosti prikazane u obliku simbola, a fitovane krive, odnosno modelom predviđene vrijednosti koncentracije etanola u funkciji vremena prikazane punim linijama. Na prikazanim graficima se može vidjeti da za najveći broj uzoraka 3A postoji sličnost između krivih koje su utvrđene eksperimentalno i fitovanih krivih, tačnije da modelovane krive odgovaraju eksperimentalno mjerenim vrijednostima. Najveće odstupanje se može primijetiti kod uzorka 3AFH, što se može potvrditi i najmanjom vrijednošću R^2 za uzorak 3AFH. Takođe, na Slikama 4.45 i 4.46 za uzorke sa dodatkom kvasca F se ne uočava prelaz lag faze na eksponencijalnu fazu. To se može povezati sa dužim trajanjem lag faze, posebno kod uzorka 1AFH (rezultati prikazani u Tabeli 4.48).

U Tabeli 4.49 su prikazani rezultati Fit statistike za uzorke 3A, gdje se može vidjeti da najniža F-vrijednost iznosi $2,55 \cdot 10^{-18}$ u uzorku 3AGH do $7,12 \cdot 10^{-10}$ u uzorku 3AFH. F-vrijednosti manje od 0,001 ukazuju na statističku značajnost podataka, na osnovu čega se može zaključiti da su F-vrijednosti za sve uzorke 3A statistički značajne. p-vrijednosti manje od 0,05 takođe ukazuju na statističku značajnost, što se ne može potvrditi kod uzoraka 3A, jer se p-vrijednosti kreću u granicama od 0,2170 za uzorak 3AFJ do 0,9374 za uzorak 3AGH.

Analiza varijanse (ANOVA) je primijenjena kako bi se testirale značajne razlike između uzoraka. Rezultati ANOVA za uzorke 3A su prikazani u Tabeli 4.49, gdje se može vidjeti da je najniža vrijednost R^2 kod uzorka 3AFH (0,9618), dok su sve ostale vrijednosti veće i kreću se do 0,9992 za uzorak 3AGH. Visoka vrijednost R^2 ukazuje na korelaciju između eksperimentalno dobijenih i modelom predviđenih vrijednosti. Na visoku vrijednost korelacije navedenih podataka ukazuje i vrijednost prilagođenog R^2 koje se kreću u granicama od 0,9586 za uzorak 3AFH do 0,9991 za uzorak 3AGH. Prilagođeni R^2 u obzir uzima ukupan broj faktora u kojima se javljaju nezavisne varijable, te se sa povećanjem broja faktora vrijednost R^2 smanjuje, ako isti ne poboljšavaju konkretan model. Za uzorke 3A je jasno da su svi faktori statistički značajni jer su vrijednosti R^2 izuzetno bliske vrijednostima prilagođenog R^2 .

Tabela 4.49. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 3A

Uzorak	F-vrijednost	p-vrijednost	R^2	R^2 -prilagođeni
3AEH	$4,74 \cdot 10^{-14}$	0,8277	0,9951	0,9946
3AFH	$7,12 \cdot 10^{-10}$	0,3671	0,9618	0,9586
3AGH	$2,55 \cdot 10^{-18}$	0,9374	0,9992	0,9991
3AEI	$1,54 \cdot 10^{-13}$	0,8485	0,9939	0,9934
3AFI	$2,28 \cdot 10^{-13}$	0,5407	0,9900	0,9892
3AGI	$2,14 \cdot 10^{-17}$	0,3583	0,9988	0,9987
3AEJ	$1,40 \cdot 10^{-12}$	0,8926	0,9909	0,9901
3AFJ	$2,22 \cdot 10^{-16}$	0,2170	0,9981	0,9980
3AGJ	$2,00 \cdot 10^{-17}$	0,4110	0,9988	0,9987



Slika 4.48. Line Fit Plot grafici za uzorke 3A (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

Validacija razvijenih modela izvršena je upoređivanjem eksperimentalno dobijenih podataka sa odgovarajućim vrijednostima dobijenim korištenjem modela (Slika 4.48) i analizom statistike uklapanja iz Tabele 4.49. Na Slici 4.48 su prikazani grafici Line Fit Plot za uzorke 3A na kojima se može vidjeti poređenje stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom. Za sve uzorke 3A se može primjetiti da su stvarne vrijednosti približne vrijednostima predviđenim modelom, odnosno da su pojedinačne vrijednosti blizu idealne prave i nalaze se nasumično raspoređene sa obe strane prave ($y=x$). Najveće odstupanje može da se primjeti kod uzorka 3AFH, gdje vrijednosti određene eksperimentalno ravnomjerno sa obe strane imaju odstupanja od fitovane krive, što je u skladu sa nižom vrijednošću R^2 . Ovi grafici su u skladu sa visokim vrijednostima R^2 koje su prikazane u Tabeli 4.49, te dodatno potvrđuju da postoji korelacija između stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom.

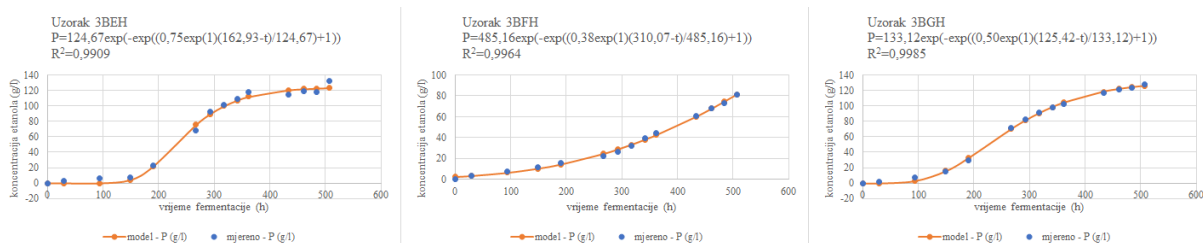
U Tabeli 4.50 su prikazani rezultati kinetičkih parametara razvijenih jednačina i odgovarajuće vrijednosti izračunate na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa ultrazvučno obrađenim medljikovcem i dodatkom 5 % voćnog soka od aronije, uz varijaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (3B uzorci). Najniža izmjerena P_m vrijednost je 72,72 u uzorku 1BFJ, dok je najviša izmjerena 166,19 u uzorku 1BEJ. U najvećem broju 3B uzoraka mjerene P_m vrijednosti i modelom izračunate P_m vrijednosti se značajno ne razlikuju, osim u uzorcima u koje je dodan kvasac F u sve tri količine, kod kojih se mogu primijetiti značajnija odstupanja između navedenih vrijednosti. Kod svih 3B uzoraka se može vidjeti da postoje veće razlike između eksperimentalno izračunatih i modelom predviđenih vrijednosti

$r_{p,m}$. Mjerene vrijednosti $r_{p,m}$ se kreću u granicama od 0,04 za uzorak 3BFJ do 0,17 za uzorak 3BEJ. Za razliku od mjerenih, vrijednosti predviđene modelom se kreću u granicama od 0,21 za uzorak 1BFI do 0,75 za uzorak 1BEH i 1BEJ. Vremena trajanja lag faze se razlikuju u zavisnosti od vrste kvasca koja je dodana za pokretanje fermentacije, gdje se može vidjeti da je t_l kod uzoraka u koje je dodan kvasac F trajala najduže, pogotovo u uzorku u kom je dodana najveća količina ovog kvasca (1BFJ) gdje za vrijeme procesa proizvodnje medovine ne bi došlo do početka eksponencijalne faze jer je t_l 552,84 h što je veće od 504 h. Najkraće t_l je predviđeno za uzorak 1BGI gdje iznosi 96,62 h. Za uzorke sa H i I količinom dodanog kvasca, može se vidjeti da je kraće t_l kod uzoraka sa dodatkom kvasca G u odnosu na kvasac E, dok se pri koncentraciji J t_l vrijednost zanemarivo razlikuje unutar ova dva kvasca.

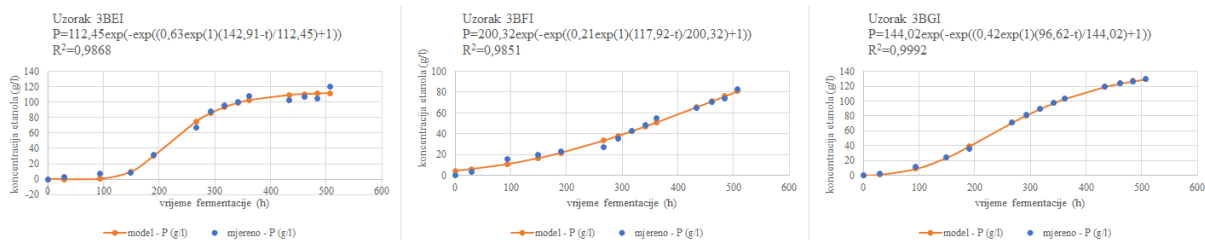
Tabela 4.50. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 3B

Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
3BEH	124,67	0,75	162,93
	131,77*	0,10*	-
3BFH	485,16	0,38	310,07
	123,42*	0,13*	-
3BGH	133,12	0,50	125,42
	127,87*	0,06*	-
3BEI	112,45	0,63	142,91
	119,61*	0,09*	-
3BFI	200,32	0,21	117,92
	82,72*	0,12*	-
3BGI	144,02	0,42	96,62
	130,05*	0,08*	-
3BEJ	159,28	0,75	96,78
	166,18*	0,17*	-
3BFJ	439,87	2,63	552,84
	77,72*	0,04*	-
3BGJ	153,65	0,65	97,91
	152,29*	0,07*	-

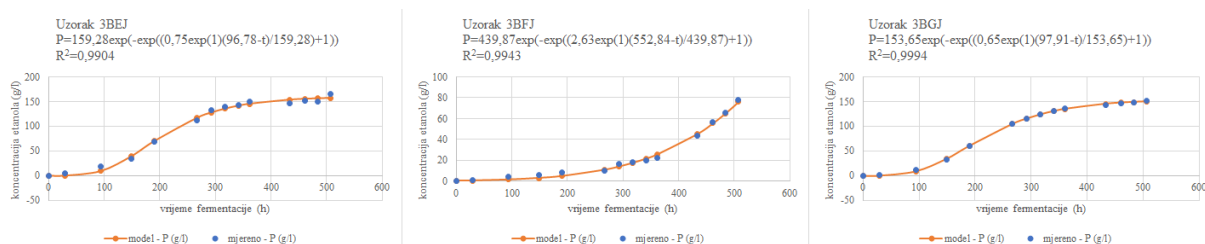
* mjerene vrijednosti



Slika 4.49. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3BEH, 3BFH i 3BGH



Slika 4.50. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3BEI, 3BFI i 3BGI

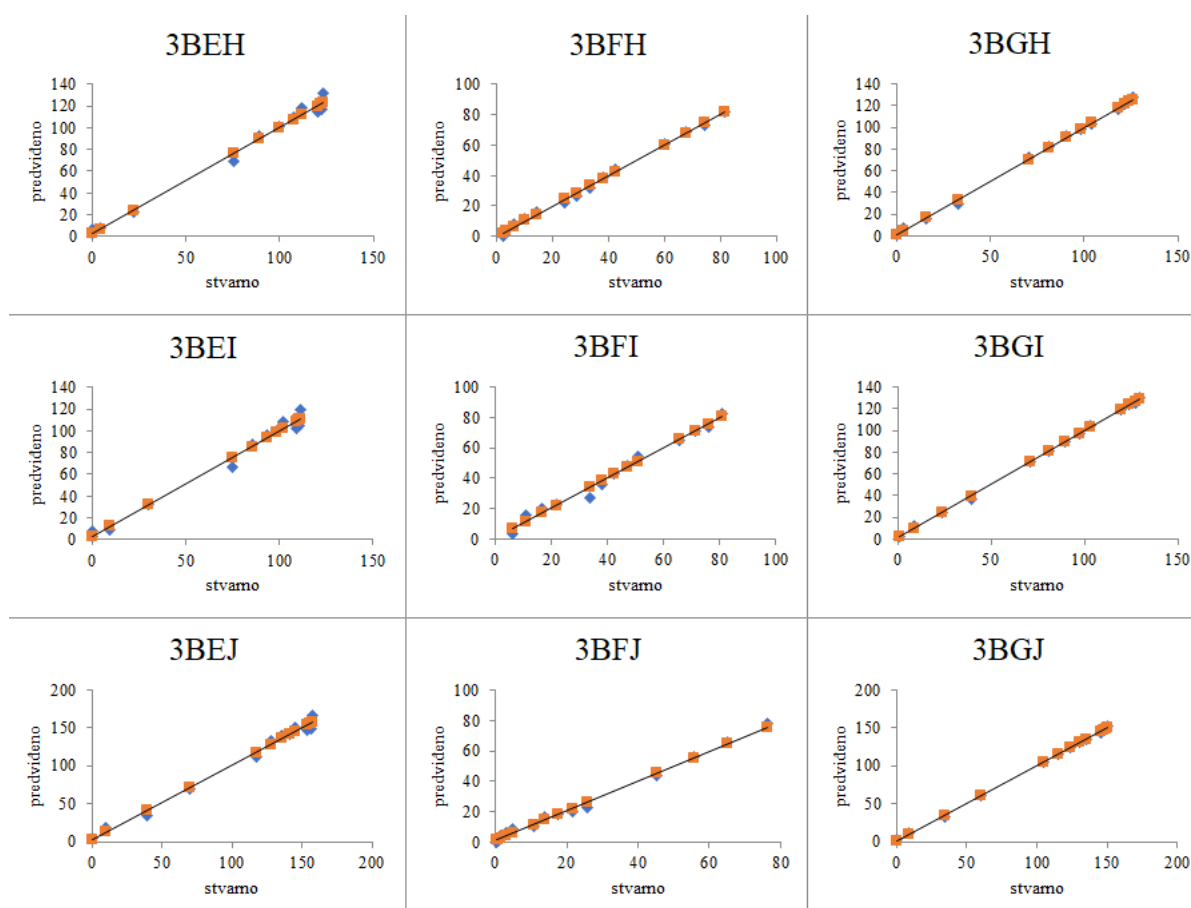


Slika 4.51. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3BEJ, 3BFJ i 3BGJ

Na Slikama 4.49, 4.50 i 4.51 se nalaze grafici na kojima su prikazane kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije za uzorke 3B, gdje su mjerene vrijednosti prikazane u obliku odgovarajućih simbola, dok su fitovane krive, tačnije modelom predviđene vrijednosti koncentracije etanola u funkciji vremena prikazane punim linijama. Na prikazanim graficima može se vidjeti da za sve uzorke postoji velika sličnost između krivih koje su utvrđene eksperimentalno i fitovanih krivih, odnosno da modelovane krive odgovaraju eksperimentalno mjenjenim vrijednostima koncentracije u cijelom mjenjenom intervalu koncentracija, na šta ukazuje i visoka vrijednost R^2 . Kod uzoraka sa dodatkom kvasca F u sve tri količine dodanog kvasca, može se primijetiti duže trajanje lag faze, te da kriva rasta nema specifičan izgled, gdje se ne može odrediti prelaz između lag i eksponencijalne faze. Razlog za ovo mogu da budu uslovi koji ne odgovaraju dodanoj vrsti kvasca.

Tabela 4.41. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 3B

Uzorak	F-vrijednost	p-vrijednost	R^2	R^2 -prilagođeni
3BEH	$1,37 \cdot 10^{-12}$	0,2610	0,9909	0,9901
3BFH	$4,64 \cdot 10^{-16}$	0,9270	0,9964	0,9961
3BGH	$8,10 \cdot 10^{-17}$	0,2369	0,9984	0,9983
3BEI	$1,07 \cdot 10^{-11}$	0,3419	0,9868	0,9856
3BFI	$2,12 \cdot 10^{-11}$	0,6673	0,9851	0,9837
3BGI	$2,15 \cdot 10^{-18}$	0,4104	0,9992	0,9991
3BEJ	$1,89 \cdot 10^{-12}$	0,3851	0,9904	0,9895
3BFJ	$8,07 \cdot 10^{-15}$	0,2168	0,9942	0,9938
3BGJ	$3,19 \cdot 10^{-19}$	0,2627	0,9994	0,9994



Slika 4.52. Line Fit Plot grafici za uzorke 3B (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

U Tabeli 4.41 su prikazani rezultati Fit statistike gdje se može vidjeti da je najniža F vrijednost u uzorku 3BGJ ($3,19 \cdot 10^{-19}$), dok je najviša vrijednost u uzorku 3BFI ($2,12 \cdot 10^{-11}$). Ovako niske F-vrijednosti ukazuju na statističku značajnost navedenih podataka. Važan parametar Fit statistike predstavlja i p-vrijednost, koja se za uzorke 3B kreće u granicama od 0,2168 za uzorak 3BFJ do 0,9270 za uzorak 3BFH. Može se vidjeti da su sve vrijednosti veće od 0,05 što ukazuje da navedena vrijednost nije statistički značajna.

U Tabeli 4.51 takođe su prikazane i vrijednosti R^2 i prilagođenog R^2 , gdje se može vidjeti da su navedene vrijednosti visoke što ukazuje na visoku vrijednost korelacije između eksperimentalno dobijenih podataka i modelovanih vrijednosti. Vrijednosti R^2 su se kretale u granicama od 0,9851 za uzorak 3BFI do 0,994 za uzorak 3BGJ. Prilagođene R^2 vrijednosti se nisu značajno razlikovale od R^2 , a kretale su se u granicama od 0,9873 za uzorak 3BFI do 0,9994 za uzorak 3BGJ. Takođe, može se vidjeti da je kod uzorka 3BGJ, vrijednost prilagođenog R^2 ostala ista kao i vrijednost R^2 , što ukazuje da povećanjem broja faktora u kojima se javljaju nezavisne varijable nije došlo do promjene ove vrijednosti.

Na Slici 4.52 su prikazani Line Fit Plot grafici za uzorke 3B, gdje se može vidjeti da pri poređenju stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom postoji velika sličnost, te da nema značajnijih odstupanja stvarnih vrijednosti od krive koja predstavlja modelovanu krivu, odnosno da su sve vrijednosti ravnomjerno raspoređene sa obe strane idealne prave. Na ovako

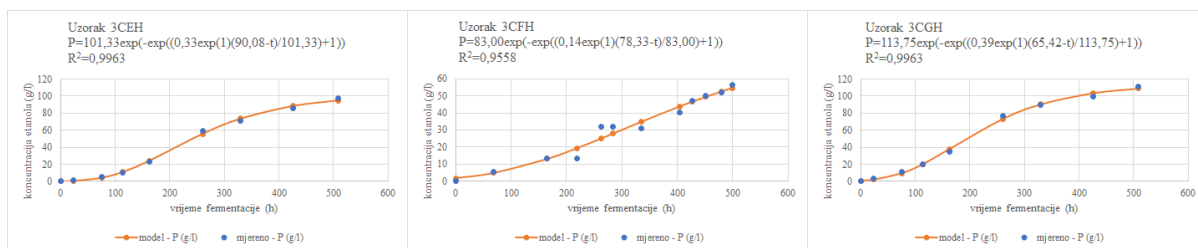
visoku vrijednost korelacije, pored grafika Line Fit Plot ukazuju i visoke vrijednosti R^2 prikazane u Tabeli 4.51.

Tabela 4.52. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 3C

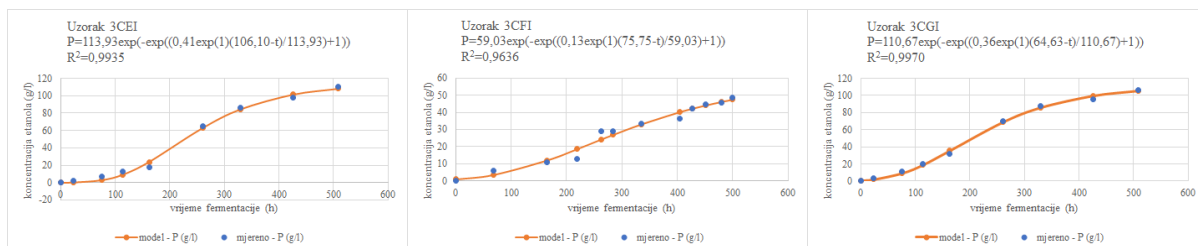
Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
3CEH	101,33	0,33	90,08
	97,35*	0,05*	-
3CFH	83,00	0,14	78,33
	56,83*	0,08*	-
3CGH	113,75	0,39	65,42
	111,40*	0,16*	-
3CEI	113,93	0,41	106,10
	110,12*	0,08*	-
3CFI	59,03	0,13	75,75
	48,43*	0,09*	-
3CGI	110,67	0,36	64,63
	106,21*	0,16*	-
3CEJ	115,77	0,45	88,66
	115,07*	0,12*	-
3CFJ	66,59	0,10	87,75
	39,43*	0,10*	-
3CGJ	111,38	0,42	86,95
	110,82*	0,13*	-

*mjerene vrijednosti

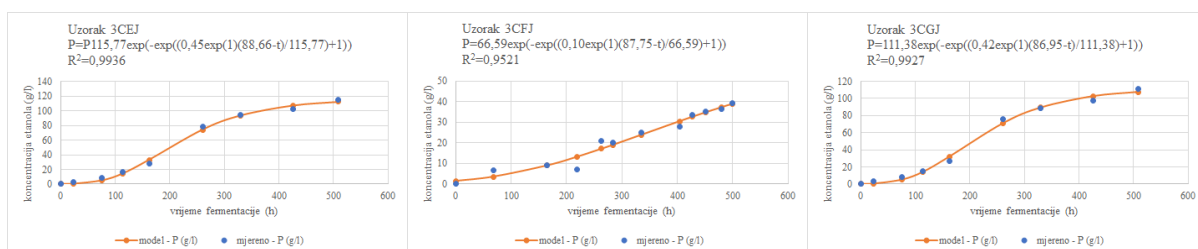
U Tabeli 4.52 su prikazani rezultati kinetičkih parametara razvijenih jednačina koji su poređeni sa parametrima izračunatim na osnovu eksperimentalnih podataka za uzorke koji su pripremljeni sa ultrazvučno tretiranim medljikovcem i dodatkom 10 % voćnog soka od aronije uz varijaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (uzorci 3C). Najniža izmjerena vrijednost P_m je 39,43 u uzorku 3CFJ, dok je najviša 115,07 u uzorku 3CEJ. U najvećem broju uzoraka može se primijetiti da ne postoje značajna odstupanja između P_m vrijednosti predviđenih modelom i izračunatih iz eksperimentalnih podataka. Za uzorke u koje je dodan kvasac F može se primijetiti da su vrijednosti P_m niže u odnosu na druga dva dodana kvasca (E i G), te da postoje veća odstupanja u vrijednostima P_m predviđenih modelom i vrijednosti izračunatih iz eksperimentalnih podataka. Upoređivanjem vrijednosti za $r_{p,m}$ za uzorke 3C koji su prikazani u Tabeli 4.52, može se vidjeti da su vrijednosti predviđene modelom značajno veće u odnosu na mjerene. Najniža mjerena vrijednost $r_{p,m}$ iznosi 0,05 g/Lh za uzorak 3CEH, a najviša 0,16 g/Lh za uzorke 3CGH i 3CGI. Vremena trajanja lag faze se kreću u granicama od 64,63 h za uzorak 3CGI do 106,10 h za uzorak 3CEI. Za razliku od ostalih uzoraka, može se primijetiti da je kod uzoraka 3C najduže trajanje t_l primijećeno za uzorke sa dodatkom kvasca E, nešto kraće za uzorke sa dodatkom kvasca F, a najkraće za uzorke sa dodatkom kvasca G, za razliku od ostalih grupa uzoraka u kojima je najduže vrijeme t_l primijećeno za uzorke sa dodatkom kvasca F.



Slika 4.53. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3CEH, 3CFH i 3CGH.



Slika 4.54. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3CEI, 3CFI i 3CGI.



Slika 4.55. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3CEJ, 3CFJ i 3CGJ.

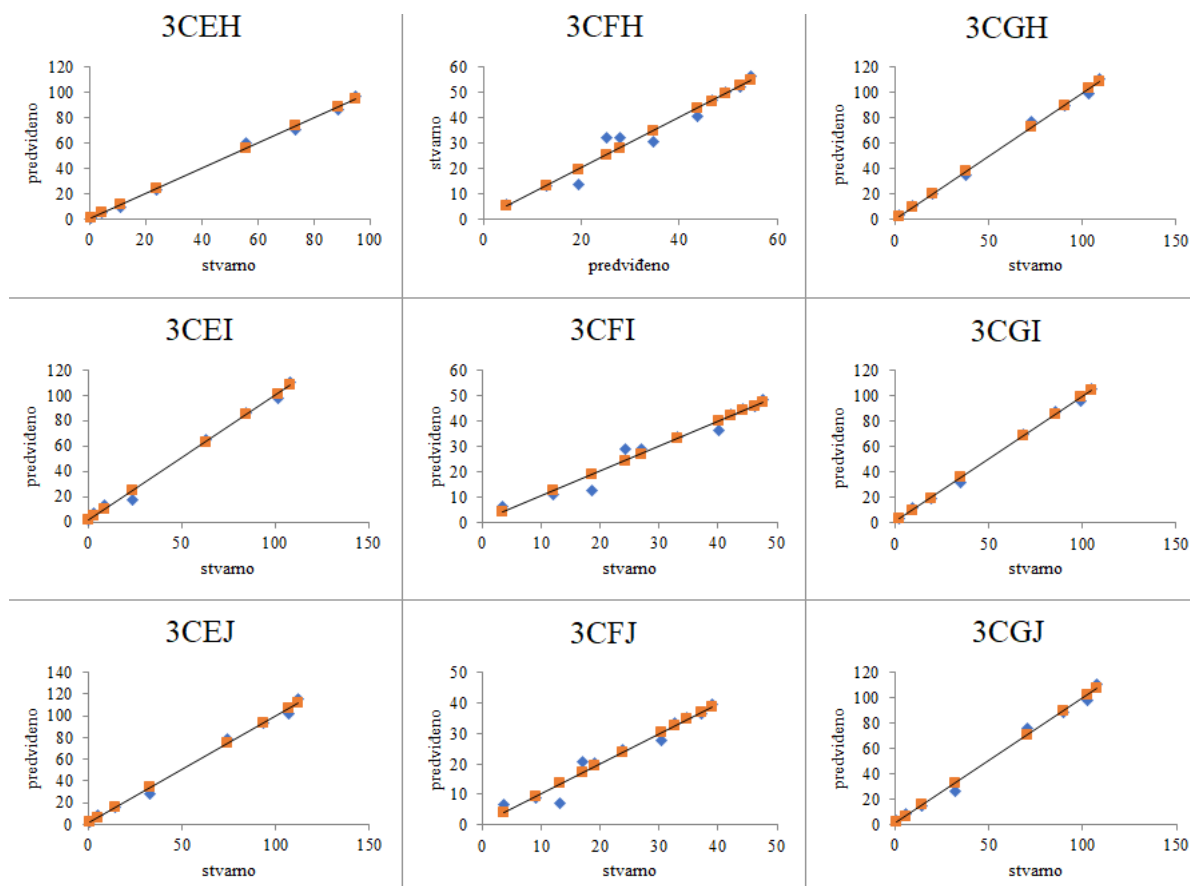
Na Slikama 4.53, 4.54 i 4.55 se nalaze grafici na kojima su prikazane kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije za uzorke 3C, gdje se mogu vidjeti rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu, na osnovu kojih se može primijetiti da postoji velika sličnost između krivih koje su utvrđene eksperimentalno i fitovanih krivih, te da ne postoje veća odstupanja. Visoka vrijednost korelacije navedenih krivih se može potvrditi i visokim vrijednostima R^2 prikazanih u Tabeli 4.53. Grafici prikazani na Slikama 4.53, 4.54 i 4.55 se mogu povezati sa rezultatima u Tabeli 4.52, gdje se za uzorke sa dodatkom kvasca F može vidjeti da je dostignuta najmanja koncentracija etanola, dok je kod uzoraka sa dodatkom kvasca E i G postignuta veća koncentracija etanola. Takođe, za uzorke sa dodatkom kvasca F može se primijetiti da se ne može uočiti prelaz lag faze na eksponencijalnu fazu, što nije slučaj kod uzoraka sa dodatkom drugih kvasaca.

U Tabeli 4.53 su prikazane F-vrijednosti i p-vrijednosti za uzorke 3C, gdje se može vidjeti da je najmanja F-vrijednost izmjerena u uzorku 3CGI ($8,71 \cdot 10^{-9}$), dok je najviša vrijednost izmjerena u uzorku 3CFJ ($3,05 \cdot 10^{-7}$). F-vrijednosti za sve uzorke ukazuju da su

navedeni rezultati statistički značajni jer su manje od 0,001, dok se za p-vrijednost ne može reći da postoji statistička značajnost, jer su p-vrijednosti za navedene uzorke veće od 0,05, a može se vidjeti da se one kreću od 0,5147 za uzorak 3CEI do 0,9862 za uzorak 3CEH.

Tabela 4.53. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 3C

Uzorak	F-vrijednost	P-vrijednost	R ²	R ² -prilagođeni
3CEH	$1,54 \cdot 10^{-8}$	0,9862	0,9963	0,9957
3CFH	$2,11 \cdot 10^{-7}$	0,9187	0,9558	0,9509
3CGH	$1,59 \cdot 10^{-8}$	0,7185	0,9963	0,9957
3CEI	$8,70 \cdot 10^{-8}$	0,5147	0,9935	0,9924
3CFI	$8,77 \cdot 10^{-8}$	0,7748	0,9636	0,9596
3CGI	$8,71 \cdot 10^{-9}$	0,6257	0,9970	0,9965
3CEJ	$8,26 \cdot 10^{-8}$	0,5702	0,9936	0,9925
3CFJ	$3,05 \cdot 10^{-7}$	0,7292	0,9521	0,9467
3CGJ	$1,24 \cdot 10^{-7}$	0,5925	0,9926	0,9914



Slika 4.56. Line Fit Plot grafici za uzorke 3C (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

U Tabeli 4.53 prikazani su rezultati analize varijanse (ANOVA) za uzorke 3C, gdje se može vidjeti da se vrijednosti R² kreću u granicama od 0,9521 za uzorak 3CFJ do 0,9970 za uzorak 3CGI. Ovako visoke vrijednosti R² ukazuju da za navedene uzorke postoji prihvatljivo

slaganje između eksperimentalno dobijenih podataka i modelom predviđenih. Pored R^2 , vrijednosti prilagođenog R^2 su takođe visoke i kreću se u granicama od 0,9467 za uzorak 3CFJ do 0,9965 za uzorak 3CGI, čime se dodatno potvrđuje visoka vrijednost korelacije. Na osnovu ovako dobijenih rezultata može se zaključiti da su svi faktori statistički značajni jer su vrijednosti R^2 izuzetno bliske vrijednostima prilagođenog R^2 . Poređenjem navedenih rezultata sa graficima koji su prikazani na Slici 4.56 izvršena je validacija razvijenih modela.

Na Slici 4.56 prikazani su grafici Line Fit Plot za uzorke 3C kojima se vrši poređenje stvarnih vrijednosti i vrijednosti predviđenih modelom, gdje se može vidjeti da su one približno jednake, odnosno da su pojedinačne vrijednosti nasumično raspoređene sa obe strane idealne prave, što ukazuje na visoku vrijednost korelacije. Najveća odstupanja se mogu primijetiti kod uzoraka sa dodatkom kvasca F, gdje se pojedine vrijednosti više udaljavaju od idealne prave, što je potvrđeno vrijednostima R^2 , koje su niže nego kod uzoraka sa dodatkom kvasca E i G.

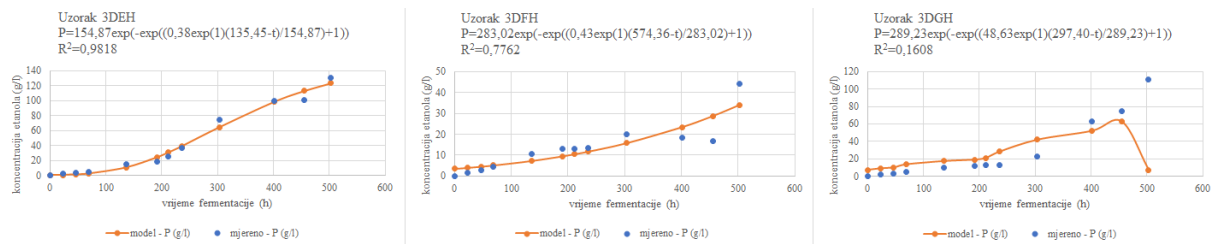
Tabela 4.54. Kinetički parametri razvijenih matematičkih modela i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke 3D

Uzorak	P_m (g-kumulativna masa)	$r_{p,m}$ (g/Lh)	t_l (h)
3DEH	154,87	0,38	135,45
	130,47*	0,10*	-
3DFH	283,02	0,43	574,36
	44,10*	0,07*	-
3DGH	289,23	48,63	297,40
	110,87*	0,10*	-
3DEI	108,49	0,42	140,05
	112,99*	0,10*	-
3DFI	21,69	0,08	12,58
	35,48*	0,06*	-
3DGI	371,79	0,43	252,66
	110,76*	0,08*	-
3DEJ	117,95	0,50	111,26
	125,82*	0,11*	-
3DFJ	712,40	16,12	528,55
	44,10*	0,12*	-
3DGJ	535,89	14,56	543,05
	110,87*	0,14*	-

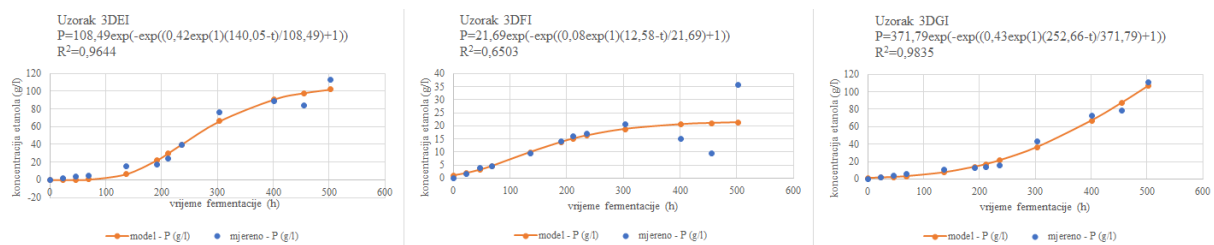
*mjerene vrijednosti

U Tabeli 4.54 se nalaze rezultati kinetičkih parametara razvijenih jednačina i odgovarajući eksperimentalni podaci za uzorke koji su pripremljeni sa ultrazvučno tretiranim medljikovcem i dodatkom 20 % voćnog soka od aronije, uz varijaciju tri vrste i tri količine dodanog kvasca (uzorci 3D). Mjerene P_m vrijednosti se kreću u granicama od 35,48 za uzorak 3DFI do 130,47 za uzorak 3DEH. Za najveći broj uzoraka se može vidjeti da postoje značajna odstupanja između P_m vrijednosti određenih eksperimentalno i predviđenih modelom. Najniža vrijednost $r_{p,m}$ je 0,06 g/Lh za uzorak 3DFI do 0,14 g/Lh za uzorak 3DGJ. Takođe, i za vrijednosti $r_{p,m}$ se može vidjeti da u najvećem broju 3D uzoraka postoje značajna odstupanja između eksperimentalno dobijenih i modelom predviđenih vrijednosti. Vremena lag faze su

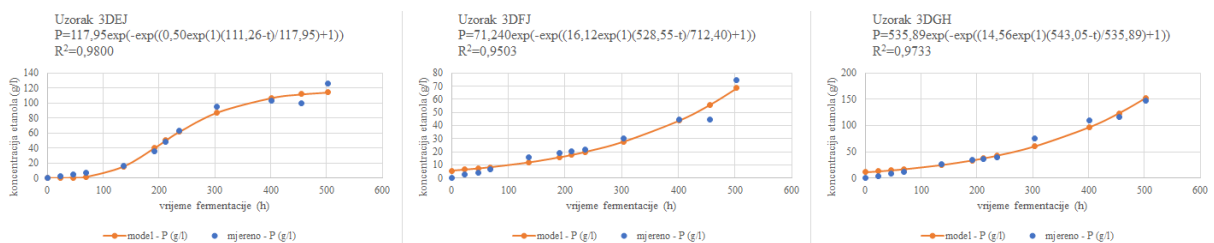
predviđena modelom i kretala su se u velikom opsegu. Najniža vrijednost t_1 je predviđena u uzorku 3DFI (12,58 h), a najviša u uzorku 3DFH (574,36). Visoke vrijednosti t_1 (> 504 h) ukazuju da lag faza ne bi počela u vremenu predviđenom za proizvodnju medovine.



Slika 4.57. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3DEH, 3DFH i 3DGH



Slika 4.58. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3DEI, 3DFI i 3DGI

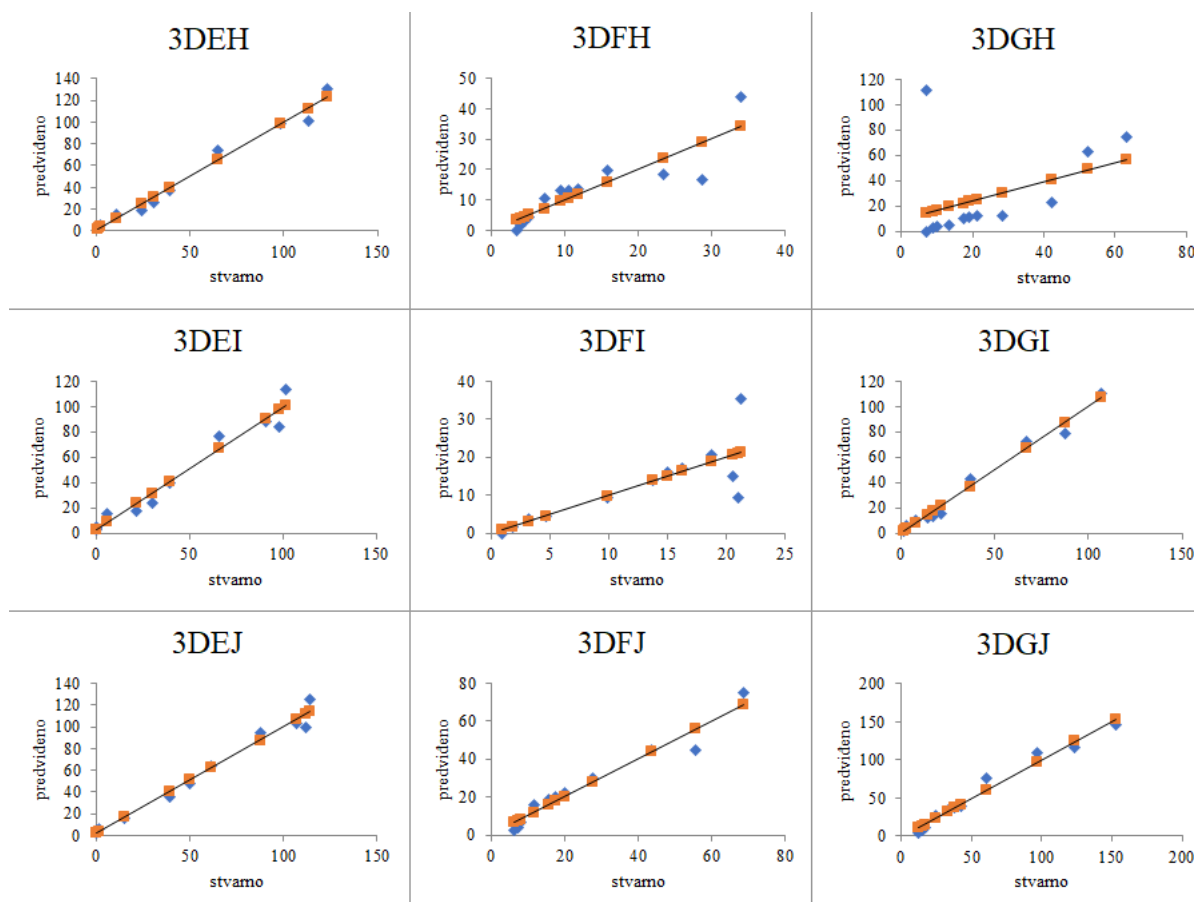


Slika 4.59. Kinetika proizvodnje etanola i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu (simbol-eksperimentalni podaci, puna linija-modelovana kriva) za uzorke 3DEJ, 3DFJ i 3DGJ

Na Slikama 4.57, 4.58 i 4.59 su prikazani grafici kinetike proizvodnje etanola tokom procesa fermentacije i rezultati uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu jednačinu za uzorke 3D. Na prikazanim graficima se može vidjeti da kod najvećeg broja uzoraka dolazi do primjetnih odstupanja eksperimentalnih podataka od fitovane krive, što se uočava sa simbolima plave boje koji odstupaju od pune linije kojom su prikazane modelom predviđene vrijednosti. Navedeni grafici su u skladu sa rezultatima prikazanim u Tabeli 4.54 gdje se može vidjeti da se mjerene vrijednosti P_m i $r_{p,m}$ značajno razlikuju u odnosu na vrijednosti predviđene modelom. Razlog za ovo mogu biti nepogodni uslovi u rastvoru za fermentaciju koji ne pogoduju odabranoj vrsti kvasca.

Tabela 4.55. Fit statistika i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 3D

Uzorak	F-vrijednost	p-vrijednost	R ²	R ² -prilagođeni
3DEH	$3,87 \cdot 10^{-9}$	0,6516	0,9818	0,9798
3DFH	$1,50 \cdot 10^{-4}$	0,9418	0,7762	0,7538
3DGH	$1,97 \cdot 10^{-2}$	0,5998	0,1608	0,0769
3DEI	$7,97 \cdot 10^{-8}$	0,4794	0,9644	0,9604
3DFI	$1,50 \cdot 10^{-3}$	0,9441	0,6503	0,6153
3DGI	$2,50 \cdot 10^{-9}$	0,8165	0,9835	0,9817
3DEJ	$5,93 \cdot 10^{-9}$	0,4720	0,9800	0,9778
3DFJ	$3,60 \cdot 10^{-7}$	0,9335	0,9503	0,9447
3DGJ	$2,17 \cdot 10^{-8}$	0,6942	0,9733	0,9704



Slika 4.60. Line Fit Plot grafici za uzorke 3D (narandžasti simboli-modelom predviđene vrijednosti, plavi simboli eksperimentalno izmjerene vrijednosti)

U Tabeli 4.55 su prikazani rezultati Fit statistike i ANOVA za kvadratne modele za uzorke 3D. Može se vidjeti da se F-vrijednosti kreću u granicama od $2,50 \cdot 10^{-9}$ za uzorak 3DGI do $1,97 \cdot 10^{-2}$ za uzorak 3DGH. Za najveći broj 3D uzoraka se može reći da navedene F-vrijednosti ukazuju na statistički značajne rezultate jer su manje od 0,001, osim za uzorak 3DGH, gdje je ova vrijednosti veća od 0,001. p-vrijednosti, kao i kod ostalih uzoraka, ne ukazuju na statističku značajnost jer su veće od 0,05, a kreću se u granicama od 0,4720 za uzorak 3DEJ do 0,9441 za uzorak 3DFI. Vrijednosti R² i prilagođenog R² se takođe nalaze u Tabeli 4.55. R² vrijednosti za uzorke 3D se kreću u granicama od 0,1608 za uzorak 3DGH do

0,9835 za uzorak 3DGI. Vrijednosti prilagođenog R^2 se kreću u granicama od 0,0769 za uzorak 3DGH do 0,9817 za uzorak 3DGI. Niske vrijednosti R^2 i prilagođenog R^2 ukazuju da postoje značajna odstupanja između vrijednosti predviđenih modelom i eksperimentalno dobijenih vrijednosti.

Navedena odstupanja se mogu vidjeti i na Slici 4.60 gdje su prikazani grafici Line Fit Plot za uzorke 3D u kojima je izvršeno poređenje stvarnih i modelom predviđenih vrijednosti, gdje se može vidjeti da kod najvećeg broja uzoraka dolazi do odstupanja eksperimentalno dobijenih vrijednosti od modelom predviđenih, te da su eksperimentalno dobijene vrijednosti raspoređene neravnomjerno sa obe strane prave. Navedeni grafici su u skladu sa rezultatima R^2 .

Optimizacija procesa fermentacije predstavlja kritičnu fazu planiranja eksperimenta, jer fermentacije najčešće odlikuje nelinearni tok i dinamičke osobine. Kako bi se primijenila metodologija matematičkih modela potreban je veći broj eksperimenata (Srimena i sar., 2014), uz varijaciju nekoliko ulaznih faktora. Tok fermentacije je praćen promjenom mase fermentacionih boca, koja predstavlja procjenu proizvodnje CO_2 . Na isti način su tok fermentacije pratili i Pereira i sar. (2015), Czabaj i sar. (2017) i Chittarini i sar. (2020). Dinamika procesa fermentacije predstavlja jedan od ključnih parametara u procesu proizvodnje medovine, jer kontrola toka fermentacije i određivanje dužine trajanja može da utiče na kvalitet medovine (Kawa-Rygielska i sar., 2018). Pereira i sar. (2012) navode da proces fermentacije medovine može da traje nekoliko mjeseci, u zavisnosti od vrste korištenog meda, vrste kvasca, kao i od sastava rastvora pripremljenog za fermentaciju. Kawa-Rygielska i sar. (2018) u svom eksperimentu su vrijeme fermentacije ograničili na 16 dana, a Mendes-Fereira i sar. (2010) i Pereira i sar. (2012) na 11 dana. Na osnovu preliminarnih istraživanja koja su urađena kako bi se ispitalo djelovanje kvasaca u rastvorima pripremljenim za fermentaciju medovine, moglo se zaključiti da lag faza za navedene kvasce može da traje i do nekoliko dana, te je iz tog razloga vrijeme fermentacije produženo u odnosu na literaturne podatke koji su navedeni u dostupnoj literaturi. Trajanje fermentacije je određeno na 21 dan, kako bi za vrijeme tog perioda u svim uzorcima došlo do pokretanja burne fermentacije. Pored navedenog, Pereira i sar. (2012) su nakon 11 dana fermentacije ustanovili da je u medovini ostala veća količina šećera koje kvasac nije iskoristio, te da je proces fermentacije mogao da traje duže, što je predstavljalo dodatni razlog za produženje trajanja fermentacije. Lag faza za kvasac koji navode Pereira i sar. (2012) i Pereira i sar. (2015) je trajala maksimalno 24 h, a u nekim uzorcima je počela odmah po inokulaciji, što ukazuje na brzo prilagođavanje kvasca na uslove koji se nalaze u rastvoru meda i vode, što se preliminarnim rezultatima nije pokazalo za kvasce koji su korišteni u ovom eksperimentu, što je kasnije eksperimentom i potvrđeno. Gomes i sar. (2015) navode da su pri proizvodnji medovine koristili kvasac kod kog je lag faza trajala 10 h, a eksponencijalna 45 h, što ukazuje na značajno smanjenje procesa proizvodnje medovine. Morales i sar. (2013) navode da dugotrajna fermentacija može da dovede do autolize kvasaca, što ima uticaj na kvalitet, odnosno senzorna svojstva medovine.

Lag faza predstavlja period prilagođavanja kvasca na uslove koji su prisutni u rastvoru, nakon koje slijedi eksponencijalna faza. Gomes i sar. (2015) navode da proizvodnja etanola započinje u eksponencijalnoj fazi, ali se nastavlja i u stacionarnoj fazi. Na osnovu svih prethodno navedenih rezultata može se vidjeti da se vremena lag faze za različite uzorke razlikuju u zavisnosti od vrste i količine dodanog kvasca. U najvećem broju uzoraka se može vidjeti da je vrijeme lag faze najkraće trajalo u uzorcima u koje je dodan kvasac Fermol Lager

(G), te da su kod pojedinih uzoraka sa dodatkom ovog kvasca lag faze trajale kraće od 2 dana. Takođe, u najvećem broju uzoraka dodatak ovog kvasca u većim količinama je doveo do kraćeg trajanja lag faze, odnosno za određene uzorke lag faza je najkraće trajala u uzorcima u koje je dodana količina kvasca G od 600 mg/L (J), zatim u uzorcima u koje je dodana količina kvasca G od 300 mg/L (I), a najduže u uzorcima u koje je dodana količina kvasca G od 150 mg/L (H). Do sličnih zaključaka se može doći posmatranjem kvasca Fermol Associates (E), gdje se takođe može vidjeti da je u najvećem broju uzoraka sa povećanjem količine dodanog kvasca E došlo do skraćivanja vremena lag faze unutar istih polaznih rastvora za fermentaciju. Pereira i sar. (2012) navode da se ubrzanje procesa fermentacije, odnosno skraćenje trajanja fermentacije može postići dodatkom većeg broja ćelija kvasca, što u ovom eksperimentu nije potvrđeno za kvasac F, dok djelimično jeste za kvasac G i E. Nedostatak dodatka većih količina kvasca može da dovede do stvaranja nepoželjnog ukusa u finalnoj medovini (Pereira i sar., 2012). Ovakav zaključak se ne može ustanoviti kod uzoraka sa dodatkom kvasca Spiriferm (F), jer je u najvećem broju uzoraka vrijeme trajanja lag faze bilo duže od 6 dana, a u pojedinim uzorcima fermentacija nije pokrenuta ni tokom 21 dana. Usporene fermentacije koje odlikuju duže vrijeme trajanja lag faze, mogu biti posljedica vrste kvasca koja nije u mogućnosti da se prilagodi stresnim uslovima, tačnije rastvorima koji sadrže veću količinu šećera, visok osmotski pritisak i sl. Slična tvrdnja se može pronaći i u radu Chen i sar. (2013) koji kao razlog usporene fermentacije navode korištenje neodgovarajuće vrste kvasca. Odabir odgovarajuće vrste kvasca je neophodan jer različite vrste kvasca imaju različitu otpornost na sadržaj kiselina u rastvoru i sadržaj etanola (Morales i sar., 2013). Adamenko i sar. (2018) navode da ne postoje značajne razlike u dinamici fermentacije za vrste kvasaca koje su koristili u radu, a slično navode i Pereira i sar. (2012).

Tok fermentacije, pored vrste kvasca, može da zavisi i od vrste i hemijskog sastava meda koji se koristi, od prisustva esencijalnih hranljivih materija, sadržaja mineralnih materija, pH vrijednosti i puferskog kapaciteta rastvora (Pereira i sar., 2013). Zbog navedenih razloga, poželjno je da se koriste kvasci vrste *Saccharomyces cerevisiae* jer su prilagođeni za razmnožavanje pri visokom osmotskom pritisku (Gangl i sar., 2018). Ova vrsta kvasca se koristi pri proizvodnji vina, a polazni rastvori za proizvodnju vina i medovine su slični u pogledu sadržaja šećera, azota i pH vrijednosti (Chittarini i sar. 2020). Kao razlog usporene fermentacije može da se navede i da se vrsta kvasca može razlikovati u pogledu korištenja šećera za svoj metabolizam, u zavisnosti od toga da li prvo koriste glukozu ili fruktozu (Gangl i sar., 2018).

Brzu fermentaciju omogućava i prisustvo specifičnih hranljivih sastojaka kao što su azot, minerali i vitamini. Pereira i sar. (2015) navode da Mg, Ca i Zn utiču na stopu konverzije šećera i predstavljaju kofaktore neophodne za neke od metaboličkih puteva u procesu fermentacije. Pri pokretanju fermentacije, sadržaj azota je podešen u svim rastvorima u jednakoj količini, te usporena fermentacija u pojedinim uzorcima ne bi trebala da potiče od nedovoljne količine mineralnih materija.

Pereira i sar. (2019) su eksperimentom potvrdili da proizvodnja medovine ne zavisi samo od dodataka različitih aditiva u medovini, nego da veliki uticaj ima med koji se koristi. Bolje rezultate u ovom eksperimentu su pokazale medovine u kojima je korištena tamna u odnosu na svijetlu vrstu meda. Kao razlog navode veći sadržaj mineralnih materija prisutnih u tamnim vrstama meda i višu pH vrijednost.

Veliki broj autora kao razlog ubrzanja procesa fermentacije navodi dodatak voća i voćnih sokova. Sroka i sar. (2013) navode da su dodatkom grožđa u polazne rastvore u količini od 5 g/l doveli do značajnog povećanja količine etanola i najveće promjene u masi boca boca tokom fermentacije, dok je dodatak manjih količina grožđa bio sličan kontrolnom uzorku. Adamenko i sar. (2018) su ispitivali dodatak soka od drenjine i zaključili da je došlo do značajnog uticaja na dinamiku fermentacije. Oni navode da sok od trešnje takođe može da dovede do ubrzanja procesa fermentacije, ali u manjoj mjeri u odnosu na sok od drenjina. Kawa-Rygielska i sar. (2018) su ispitivali dodatak soka od aronije, soka od maslačka i dodatak sjemenki od grožđa pri proizvodnji medovine, gdje su ustanovili da su sok od aronije i sjemenke od grožđa dovele do ubrzavanja procesa fermentacije, ali da sok od maslačka nije imao značajan uticaj na brzinu fermentacije u poređenju sa kontrolnim uzorkom. Chittarini i sar. (2020) su u svom eksperimentu koristili dodatak crne ribizle, a Amorium i sar. (2018) pulpu od acerole, čime su zaključili da je dodatak navedenih vrsta voća doveo do ubrzavanja procesa fermentacije jer navedene komponente sadrže veće količine ugljenih hidrata, vlakana, minerala, karotenoida, vitamina i sumpornih jedinjenja.

Iako veliki broj naučnih radova ukazuje na činjenicu da je došlo do ubrzanja procesa fermentacije u slučajevima dodatka voćnih sokova i voća, ne postoji jedinstven zaključak koji bi se mogao donijeti za sve prethodno navedene uzorke. Ono što se na osnovu gore navedenih rezultata može vidjeti je da je u jednom dijelu uzoraka poređenjem medovina unutar iste vrste i iste količine kvasca, uz variranje količine soka, došlo do ubrzane fermentacije pri povećanju soka od aronije. Međutim, za pojedine uzorke može se ustanoviti da je najveća količina dodanog soka od 20 % (uzorci D), dovela do potpunog zaustavljanja procesa fermentacije, odnosno da je fermentacija pokrenuta nakon dužeg vremena ili uopšte nije pokrenuta. Navedena činjenica može da bude povezana sa vrstom kvasca kojoj je dodatak veće količine soka od aronije doveo do stvaranja stresnih uslova u rastvorima za fermentaciju. Ovo se najčešće može primjetiti kod uzoraka sa dodatkom kvasca F.

Na osnovu svih prethodno navedenih rezultata može se vidjeti da je poređenjem tri korištene vrste kvasca unutar iste količine dodanog kvasca, za isti polazni rastvor za fermentaciju u najvećem broju slučajeva potencijalno maksimalna koncentracija etanola postignuta sa dodatkom kvasca Fermol Lager (G), iako su dobri rezultati postignuti i sa kvascem Fermol Associates (E). Ukoliko se na isti način uporede vremena trajanja lag faze, u najvećem broju slučajeva najkraće vrijeme prilagođavanja je potrebno kvascu Fermol Lager (G). Ovaj podatak govori da se kvasac Fermol Lager lako prilagođava na uslove fermentacije u rastvorima koji sadrže razblažen med i sok od aronije. Na osnovu svega navedenog, za detaljnu analizu medovine odabran je kvasac Fermol Lager.

4.4.2. Rezultati analiza medovine

Kako se kao najpogodnija vrsta kvasca za proizvodnju ove vrste medovine pokazao kvasac Fermol Lager (G), u ovom Poglavlju se nalaze rezultati koji se odnose na fizičko-hemijska, antioksidativna, antimikrobna i senzorna svojstva medovine koja je proizvedena djelovanjem ove vrste kvasca. Rezultati navedenih analiza za kvasce Fermol Associates (E) i Spirifer (F) su tabelarno prikazana u Poglavlju 7.

Na osnovu dobijenih rezultata fizičko-hemijskih svojstava za sve tri vrste kvasaca može se vidjeti da su rezultati pH vrijednosti, sadržaja isparljivih kiselina i sadržaja metanola

relativno slični za sve tri vrste kvasca. Najveća odstupanja za pojedine uzorke se mogu vidjeti kod sadržaja suve materije nakon završetka fermentacije i sadržaja etanola. Više vrijednosti sadržaja suve materije i nizak sadržaj etanola se mogu primjetiti kod jednog broja uzoraka F, gdje je proces fermentacije bio otežan ili fermentacije nije ni pokrenuta.

Međusobnim poređenjem rezultata antioksidativnih i antimikrobnih svojstava medovina koje su proizvedene sa različitim vrstama kvasaca, može se primjetiti da ne postoje značajne razlike u dobijenim vrijednostima. Kod svih uzoraka je primjetno da je sa povećanjem količine dodanog soka od aronije u polazne rastvore došlo do poboljšanja antioksidativnih svojstava.

Rezultati senzorne analize dobijenih medovina pokazuju da su kod najvećeg broja uzoraka pojedinačni parametri najbolje ocijenjeni u medovinama koje su proizvedene sa kvascima E i G, dok su medovine proizvedene sa kvascem F ocijenjene nešto niže.

4.4.2.1. Rezultati analiza fizičko-hemijskih svojstava medovine

Proizvodnja medovine bez i sa dodatkom soka od aronije u količinama 5, 10 i 20 % i dodatkom kvasca Fermol Lager u količinama 150, 300 i 600 mg/L opisano je u poglavlju 3. Rezultati fizičko-hemijskih analiza proizvedenih medovina prikazane su u Tabelama 4.56, 4.57, 4.58 i 4.59, gdje se mogu vidjeti pH vrijednost, sadržaj isparljivih kiselina, suve materije, etanola i metanola.

Tabela 4.56. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina bez dodatka voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1AGH	3,61 ^{bc} ± 0,02	0,27 ^{bc} ± 0,05	8,10 ^{ab} ± 0,09	8,65 ^{ab} ± 0,35	0,0013 ^a ± 0,0001
1AGI	3,54 ^a ± 0,01	0,29 ^{cd} ± 0,03	7,93 ^a ± 0,31	9,20 ^{abc} ± 0,28	0,0017 ^a ± 0,0005
1AGJ	3,56 ^{ab} ± 0,02	0,34 ^d ± 0,04	8,15 ^{ab} ± 0,25	9,13 ^{abc} ± 0,53	0,0016 ^a ± 0,0003
2AGH	3,66 ^{cd} ± 0,07	0,24 ^{ab} ± 0,00	8,47 ^c ± 0,05	10,01 ^c ± 0,73	0,0016 ^a ± 0,0003
2AGI	3,67 ^d ± 0,05	0,22 ^a ± 0,03	8,43 ^c ± 0,10	9,95 ^c ± 1,61	0,0017 ^a ± 0,0005
2AGJ	3,66 ^{cd} ± 0,02	0,21 ^a ± 0,03	8,27 ^{bc} ± 0,05	9,99 ^c ± 0,77	0,0014 ^a ± 0,0001
3AGH	3,71 ^d ± 0,05	0,20 ^a ± 0,02	8,47 ^c ± 0,05	9,79 ^{bc} ± 0,72	0,0016 ^b ± 0,0005
3AGI	3,82 ^e ± 0,00	0,24 ^{ab} ± 0,03	8,50 ^c ± 0,18	8,73 ^{ab} ± 0,39	0,0016 ^b ± 0,0001
3AGJ	3,80 ^e ± 0,06	0,20 ^a ± 0,03	8,47 ^c ± 0,14	8,56 ^a ± 0,57	0,0016 ^b ± 0,0001

^{a,b,c,...e} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

pH vrijednosti kod uzoraka koji su proizvedeni bez dodatka soka od aronije su se kretale u granicama od 3,54 u uzorku 1AGI do 3,82 u uzorku 3AGI. Uzorci sa dodatkom 5 % soka od aronije su imali vrijednosti pH od 3,69 u uzorku 1BGH do 3,85 u uzorku 3BGH, sa dodatkom 10 % soka od aronije od 3,62 u uzorku 3CGH do 3,85 u uzorku 2CGI, a sa dodatkom 20 % soka od aronije od 3,70 u uzorku 3DGH do 3,80 u uzorku 1DGJ. Na osnovu svih navedenih vrijednosti u Tabelama 4.56, 4.57, 4.58 i 4.59 i poređenjem sa pH vrijednostima polaznih rastvora prikazanih u Tabeli 4.29, može se vidjeti da je kod svih uzoraka došlo do smanjenja pH vrijednosti nakon završetka alkoholne fermentacije. Pad pH vrijednosti može biti posljedica

nastanka kiselina koje predstavljaju nusproizvode ovog procesa. Smanjenje pH vrijednosti se objašnjava povećanjem kiselosti zbog apsorpcije jona, sekrecije protona tokom transporta hranljivih materija, proizvodnje organskih kiselina ali i ugljen dioksida (Almeida i sar., 2020). Ovakav pad pH vrijednosti tokom alkoholne fermentacije je poželjan jer dovodi do zaustavljanja rasta i razvoja nepoželjnih mikroorganizama (Sroka i Tuszyński, 2007). Trend promjene pH vrijednosti može da bude u zavisnosti od kiselina koje potiču iz voćnog soka, a pad pH vrijednosti može biti i posljedica metaboličke aktivnosti kvasaca (Mohammed i sar., 2018). Pereira i sar. (2015) navode pH vrijednosti medovine u granicama od 3,52 do 3,74, a Pereira i sar. (2019) navode od 3,46 do 3,53. Poređenjem rezultata u navedenim radovima sa rezultatima do kojih se došlo u ovoj doktorskoj disertaciji, može se uočiti da su pH vrijednosti relativno slične.

Tabela 4.57. Rezultati fizičko-hemijske analize medovine sa dodatkom 5 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1BGH	3,69 ^a ± 0,01	0,21 ^d ± 0,03	11,50 ^b ± 1,71	11,39 ^d ± 0,14	0,0019 ^b ± 0,0004
1BGI	3,72 ^b ± 0,02	0,24 ^c ± 0,00	9,48 ^b ± 0,36	11,15 ^{cd} ± 0,34	0,0009 ^{ab} ± 0,0011
1BGJ	3,72 ^b ± 0,00	0,23 ^{abc} ± 0,02	9,02 ^b ± 0,34	10,80 ^{cd} ± 0,40	0,0003 ^a ± 0,0001
2BGH	3,72 ^b ± 0,01	0,20 ^a ± 0,03	8,00 ^b ± 0,09	10,83 ^{cd} ± 0,26	0,0016 ^b ± 0,0001
2BGI	3,72 ^b ± 0,02	0,24 ^a ± 0,05	8,23 ^b ± 0,05	10,67 ^c ± 0,49	0,0017 ^b ± 0,0003
2BGJ	3,71 ^b ± 0,01	0,22 ^{ab} ± 0,03	8,30 ^b ± 0,00	10,44 ^{bc} ± 0,21	0,0014 ^{ab} ± 0,0010
3BGH	3,85 ^d ± 0,01	0,08 ^{bc} ± 0,02	9,30 ^a ± 0,00	10,76 ^{cd} ± 0,87	0,0016 ^c ± 0,0015
3BGI	3,82 ^c ± 0,01	0,12 ^c ± 0,00	9,37 ^a ± 0,21	9,91 ^{ab} ± 0,54	0,0015 ^c ± 0,0009
3BGJ	3,83 ^c ± 0,01	0,12 ^{bc} ± 0,00	9,27 ^a ± 0,05	9,38 ^a ± 0,35	0,0015 ^c ± 0,0000

^{a,b,c} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)

Tokom procesa fermentacije nastaju organske kiseline, najčešće sirćetna i jantarna, čime dolazi do smanjenja pH vrijednosti i do povećanja sadržaja nedisosovanih masnih kiselina, što može biti uzrok usporavanja ili zaustavljanja fermentacije (Šmorgovičová i sar., 2012, Chen i sar., 2013). Sirćetna kiselina nastaje tokom procesa fermentacije djelovanjem ćelija kvasaca, ali može da nastane i djelovanjem bakterija mliječne kiseline tokom malolaktičke fermentacije ili kao proizvod djelovanja bakterija sirćetne kiseline (Vilela i sar., 2013). Kao razlog nastanka većih količina sirćetne kiseline navode se visok osmotski pritisak i neodgovarajući uslovi fermentacije (Sroka i sar., 2013), a najčešće izvor i količina ugljenih hidrata, pH vrijednost, sadržaj SO₂, sadržaj azota i vrsta kvasca (Akalin i sar., 2017; Czabaj i sar., 2017). Kiselost medovine može da potiče iz meda, ali i od dodanog voća ili kiselina dodanih koje se koriste za regulaciju pH vrijednosti prije početka fermentacije (Chittarini i sar., 2020). Međutim, ne može se uočiti da je sa povećanjem količine dodanog soka došlo do povećanja sadržaja isparljivih kiselina. Visok sadržaj sirćetne kiseline u finalnom proizvodu može da ukazuje na mikrobiološko kvarenje proizvoda (Chittarini i sar., 2020). Sadržaj isparljivih kiselina je izražen kao sirćetna kiselina, a za uzorke A se kretao od 0,20 g/L u uzorcima 3AGH i 3AGJ do

0,29 g/L u uzorku 1AGI. Za uzorke B se kretao od 0,08 g/L za uzorak 3BGH do 0,24 g/L za uzorke 1BGI i 2BGI, za uzorke C od 0,11 g/L za uzorak 3CGI do 0,21 g/L za uzorke 1CGJ i 2CGH, a za uzorke D od 0,14 g/L u uzorku 1DGH do 0,23 g/L u uzorku 3DGH. Chittarini i sar. (2020) navode da sadržaj sirćetne kiseline na kraju fermentacije iznosi između 0,20 i 0,40 g/L, što ukazuje na slične rezultate sa rezultatima prikazanim u Tabelama 4.56, 4.57, 4.58 i 4.59. Sadržaj isparljivih kiselina može da utiče na senzorna svojstva proizvoda, a smatra se da sadržaj sirćetne kiseline iznad 0,8 g/L može da dovede do nastanka nepoželjnog ukusa i arome (Vilela i sar., 2013), kao i da utiče na boju i nijansu medovine (Akalin i sar., 2017).

Sadržaj suve materije u polaznim rastvorima za fermentaciju se kretao od 18,00 % u uzorku sa dodatkom 20 % soka od aronije do 18,50 % u uzorku bez dodatka soka od aronije. Nakon završetka fermentacije, u svim uzorcima je došlo do značajnog pada ove vrijednosti. U Tabelama 4.57, 4.58, 4.59 i 4.60 može se vidjeti da se kod uzoraka A sadržaj suve materije nakon završetka fermentacije kretao od 7,93 % u uzorku 1AGI do 8,50 % u uzorku 3AGI. Kod uzoraka B sadržaj suve materije se kretao od 8,00 % u uzorku 2BGH do 11,50 % u uzorku 1BGH, kod uzoraka C od 8,57 % u uzorku 2CGI do 9,03 % u uzorcima 3CGH i 3CGJ, a kod uzoraka D od 7,80 % u uzorku 2DGJ do 10,00 % u uzorku 3DGJ. Savić i sar. (2021) u svom radu navode da se sadržaj suve materije u medovinama bez i sa dodatkom soka od borovnice na kraju fermentacije kretao od 3,85 do 4,88 %, što predstavlja značajno niže vrijednosti u odnosu na vrijednosti prikazane u Tabelama 4.57, 4.58, 4.59 i 4.60. Dobijeni rezultati mogu da ukazuju da je u medovinama zastupljena veća količina rezidualnih šećera koji ne učestvuju u procesu fermentacije. Pereira i sar. (2013) navode da ovakav sadržaj suve materije može da se objasni prisustvom šećera koji se nalaze u obliku disaharida i oligosaharida koje kvasac ne može da fermentiše. Detaljnijom analizom, Pereira i sar. (2015) navode da nefermentabilne šećere u medovini najčešće čine trehaloza, izomaltoza, saharoza i melecitoza.

Tabela 4.58. Rezultati fizičko-hemijske analize medovine sa dodatkom 10 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1CGH	3,66 ^b ± 0,01	0,19 ^d ± 0,03	8,58 ^a ± 0,08	11,98 ^c ± 0,19	0,0008 ^d ± 0,0001
1CGI	3,69 ^c ± 0,01	0,18 ^{cd} ± 0,00	8,62 ^a ± 0,10	11,72 ^c ± 0,31	0,0008 ^d ± 0,0001
1CGJ	3,73 ^d ± 0,01	0,21 ^d ± 0,00	8,62 ^a ± 0,12	11,66 ^c ± 0,16	0,0008 ^d ± 0,0000
2CGH	3,81 ^e ± 0,01	0,21 ^d ± 0,03	8,67 ^a ± 0,05	11,38 ^c ± 0,52	0,0003 ^c ± 0,0000
2CGI	3,85 ^f ± 0,02	0,15 ^{bc} ± 0,03	8,57 ^a ± 0,05	11,82 ^c ± 0,23	0,0002 ^b ± 0,0001
2CGJ	3,84 ^f ± 0,02	0,14 ^{ab} ± 0,02	8,62 ^a ± 0,08	12,37 ^c ± 0,67	0,0001 ^a ± 0,0001
3CGH	3,62 ^a ± 0,01	0,15 ^{bc} ± 0,03	9,03 ^b ± 0,05	9,96 ^b ± 1,87	0,0016 ^c ± 0,0001
3CGI	3,67 ^b ± 0,03	0,11 ^a ± 0,03	9,00 ^b ± 0,18	8,43 ^a ± 0,15	0,0015 ^c ± 0,0000
3CGJ	3,66 ^b ± 0,04	0,14 ^{ab} ± 0,02	9,03 ^b ± 0,14	10,12 ^b ± 1,02	0,0018 ^f ± 0,0001

^{a,b,c} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

Glavni proizvod alkoholne fermentacije je etanol, koji predstavlja jedan od značajnijih parametara koji utiče na kvalitet vina. Kod uzoraka A najmanji sadržaj etanola je izmjeren u uzorku 3AGJ (8,56 vol. %), dok je najveći sadržaj izmjeren u uzorku 2AGH (10,01 vol. %).

Sadržaj etanola kod uzoraka B se kretao od 9,38 vol. % u uzorku 3BGJ do 11,39 vol. % u uzorku 1BGH. Kod uzoraka C ove vrijednosti su se kretale od 8,43 vol. % u uzorku 3CGI do 12,37 vol. % u uzorku 2CGJ, a kod uzoraka D od 8,33 vol. % u uzorku 1DGI do 14,81 vol. % u uzorku 3DGI. Na osnovu svih navedenih rezultata može se vidjeti da se sadržaj etanola značajno razlikuje između pojedinačnih uzoraka. Švecová i sar. (2015) navode sadržaj etanola od 16-18 vol. %, dok Czabaj i sar. (2017) od 11,98 do 16,53 vol. %, što predstavlja veće vrijednosti u odnosu na vrijednosti dobijene u ovoj doktorskoj disertaciji. Gangl i sar. (2018) navode da sadržaj etanola u medovinama koje su proizveli iznose 4,8 vol. % što predstavlja značajno niže vrijednosti u odnosu na vrijednosti prikazane u tabelama. Mnogi autori navode da na količinu etanola koji nastane tokom fermentacije utiče dodatak voća ili voćnih sokova, odnosno da dodatkom voća dolazi do povećanja sadržaja etanola (Sroka i sar., 2013; Adamenko i sar., 2018). Kod najvećeg broja uzoraka se ne može utvrditi da je sa povećanjem količine soka došlo do povećanja sadržaja etanola. Takođe, kod najvećeg broja uzoraka ne postoji korelacija između sadržaja suve materije i količine etanola koja je nastala, iako Hernández i sar. (2015) i Šarba (2015) navode da je stopa potrošnje šećera upravo proporcionalna količini etanola koju kvasac proizvede. Pereira i sar. (2012) kao razlog navedenog odstupanja navode količinu nefermentabilnih šećera koji u medovini zaostaju nakon fermentacije. Czabaj i sar. (2017) navode da na količinu etanola može uticati vrsta meda, te da medljikovac bolje fermentiše od ostalih vrsta meda, što objašnjava visokom električnom provodljivošću (iznad 0,8 mS/cm), a ujedno i visokim puferskim kapacitetom i sadržajem mineralnih materija.

Tabela 4.59. Rezultati fizičko-hemijske analize medovine sa dodatkom 20 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1DGH	3,77 ^{cd} ± 0,03	0,14 ^a ± 0,02	8,70 ^c ± 0,28	8,61 ^a ± 0,15	0,0043 ^d ± 0,0007
1DGI	3,78 ^{cd} ± 0,00	0,15 ^{ab} ± 0,03	8,60 ^{bc} ± 0,00	8,33 ^a ± 0,39	0,0028 ^c ± 0,0021
1DGJ	3,80 ^d ± 0,00	0,16 ^{abc} ± 0,03	8,75 ^c ± 0,08	9,03 ^a ± 0,39	0,0061 ^e ± 0,0017
2DGH	3,77 ^{cd} ± 0,01	0,18 ^{bcd} ± 0,03	8,23 ^b ± 0,23	12,72 ^b ± 0,79	0,0028 ^c ± 0,0005
2DGI	3,74 ^{bc} ± 0,03	0,17 ^{abcd} ± 0,02	8,27 ^b ± 0,10	12,03 ^b ± 0,61	0,0023 ^c ± 0,0001
2DGJ	3,72 ^{ab} ± 0,03	0,19 ^{cde} ± 0,02	7,80 ^a ± 0,00	11,75 ^b ± 0,57	0,0023 ^c ± 0,0001
3DGH	3,70 ^a ± 0,03	0,23 ^f ± 0,02	9,13 ^d ± 0,40	11,00 ^b ± 0,16	0,0016 ^{bc} ± 0,0010
3DGI	3,72 ^{ab} ± 0,04	0,20 ^{def} ± 0,02	9,90 ^e ± 0,39	14,81 ^c ± 3,61	0,0001 ^a ± 0,0000
3DGJ	3,78 ^{cd} ± 0,02	0,21 ^{ef} ± 0,03	10,00 ^e ± 0,15	11,81 ^b ± 0,92	0,0006 ^{ab} ± 0,0000

^{a,b,c...e} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

Pored etanola, određen je i sadržaj metanola, koji je kod većine uzoraka imao niske vrijednosti. Kod uzoraka A, kretao se u granicama od 0,0013 vol. % u uzorku 1AGH do 0,0017 vol. % u uzorcima 1AGI i 2AGI, kod uzoraka B od 0,0003 vol. % u uzorku 1BGJ do 0,0019 vol. % u uzorku 1BGH, kod uzoraka C od 0,0001 vol. % u uzorku 2CGJ do 0,0018 vol. % u uzorku 3CGJ, a u uzorcima D od 0,0001 vol. % u uzorku 3DGI do 0,0061 vol. % u uzorku 1DGJ. Na osnovu svih navedenih rezultata, primjetne veće količine se mogu uočiti kod pojedinih uzoraka u kojima je dodana najveća količina aronije, što može da se objasni

sadržajem pektina koji se nalaze u polaznim rastvorima sa 20 % soka od aronije. Pektini koji potiču iz aronije, mogu biti uzrok povećanog sadržaja metanola, što u svom radu navodi Miljić (2015).

4.4.2.2. Rezultati analiza antioksidativnih svojstava medovine

U Tabelama 4.60, 4.61, 4.62 i 4.63 prikazani su rezultati antioksidativnih svojstava medovina pripremljenih bez i sa dodatkom soka od aronije (sadržaj ukupnih fenola, sadržaj flavonoida i rezultati FRAP, DPPH i ABTS testa). Sadržaj biološki aktivnih jedinjenja u medovini, kao i antioksidativna svojstva medovine zavise od vrste meda, temperaturnog tretmana rastvora, uslova fermentacije, vrste dodanih sastojaka (voće, začini i sl.) (Adamenko i sar., 2018), hemijskog sastava sirovina, tehnološkog procesa proizvodnje, a posebno fermentacije i odležavanja (Kawa-Rygielska i sar., 2018). Šarba (2015) navodi da dodatak voća ili voćnih sokova u medovini dovodi do povećanja sadržaja ukupnih fenola, flavona i ukupnog antioksidativnog kapaciteta dobijenog naptika. Brojne naučne studije ukazuju da med u svom sastavu sadrži enzimske i neenzimske antioksidanse, prvenstveno glukoza oksidazu, fenolne kiseline, flavonoide, aminokiseline, proteine i karotenoide koji sveukupno mogu da doprinesu ukupnom antioksidativnom kapacitetu medovine.

Tabela 4.60. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine bez dodatka voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1AGH	312,75 ^b ± 1,61	177,13 ^b ± 4,46	1,99 ^{bc} ± 0,01	42,54 ^{de} ± 0,42	11,78 ^c ± 0,51
1AGI	322,28 ^c ± 1,80	188,67 ^c ± 13,7	2,02 ^{cd} ± 0,09	39,52 ^c ± 0,71	11,31 ^{bc} ± 0,38
1AGJ	297,61 ^a ± 3,39	156,33 ^a ± 11,99	1,97 ^{bc} ± 0,00	43,59 ^e ± 0,90	10,40 ^{ab} ± 0,20
2AGH	329,55 ^d ± 2,42	191,07 ^c ± 1,76	1,99 ^{bc} ± 0,05	34,16 ^a ± 0,77	10,73 ^{ab} ± 3,99
2AGI	331,15 ^d ± 6,38	189,40 ^c ± 4,94	1,88 ^a ± 0,05	37,20 ^b ± 2,77	11,14 ^{abc} ± 0,89
2AGJ	331,21 ^d ± 1,40	187,07 ^c ± 4,58	2,09 ^d ± 0,05	39,20 ^c ± 0,63	10,26 ^a ± 0,48
3AGH	400,81 ^e ± 9,80	215,40 ^d ± 7,18	2,04 ^{cd} ± 0,05	46,83 ^f ± 1,90	11,08 ^{abc} ± 0,46
3AGI	401,15 ^e ± 1,85	216,20 ^d ± 4,14	2,00 ^{bc} ± 0,05	43,52 ^e ± 0,42	12,85 ^d ± 0,71
3AGJ	399,95 ^e ± 0,74	215,67 ^d ± 1,70	1,93 ^{ab} ± 0,01	41,39 ^d ± 1,16	10,67 ^{ab} ± 0,08

^{a,b,c...f} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

Fenolne kiseline su primarni antioksidansi koji imaju ulogu uklanjanja slobodnih radikala, čime se prekidaju procesi oksidacije u organizmu (Akalin i sar., 2017). Sadržaj ukupnih fenola u uzorcima A se kretao od 297,61 mg GAE/L u uzorku 1AGJ do 401,15 mg GAE/L u uzorku 3AGI, u uzorcima B od 359,21 mg GAE/L u uzorku 1BGI do 483,66 mg GAE/L u uzorku 2BGJ, u uzorcima C od 466,68 mg GAE/L u uzorku 1CGH do 564,61 mg GAE/L u uzorku 2CGH, a u uzorcima D od 644,16 mg GAE/L u uzorku 3DGH do 785,76 mg GAE/L u uzorku 2DGI. Chittarini i sar. (2020) navode sadržaj ukupnih fenola 54,91 mg GAE/L u kontrolnoj medovini, a 304,44 mg GAE/L u medovini sa dodatkom soka od crne ribizle, dok

Kawa-Rygielska i sar. (2018) navode od 119,8 mg GAE/L u kontrolnoj do 156,6 mg GAE/L u medovini sa dodatkom soka od aronije. Rezultati navedenih istraživanja ukazuju na relativno slične rezultate sa rezultatima dobijenim u ovoj doktorskoj disertaciji. Czabaj i sar. (2017) u medovinama bez dodatka voćnih sokova navode sadržaj ukupnih fenola od 236,68 mg GAE/L do 303,02 mg GAE/L, što je u skladu sa dobijenim rezultatima. Oni još navode da vrsta kvasca nema uticaj na sadržaj ukupnih fenola, a trenutno se ne mogu pronaći rezultati o uticaju količine dodanog kvasca na sadržaj ukupnih fenola, flavonoida, ali i na antioksidativna svojstva medovine. Na osnovu dobijenih rezultata može se vidjeti da je sa povećanjem količine dodanog soka od aronije došlo do povećanja sadržaja ukupnih fenola, što su u svom radu potvrdili Švecová i sar. (2015) gdje je došlo do povećanja sadržaja ukupnih fenola sa dodatkom soka od crne ribizle. Do sličnih rezultata su došli i Adamenko i sar. (2018) koji su koristili sok od drenjine, kao i Kawa-Rygielska i sar. (2018) koja još navodi da plodovi aronije predstavljaju jedan od najbogatijih izvora fenolnih jedinjenja koje karakteriše visoka antioksidativna aktivnost. Fenolna jedinjenja utiču na senzorna svojstva medovine, najviše na gorčinu, ali djeluju i kao prirodni konzervansi (Kahoun i sar., 2008). Etanol koji nastaje tokom procesa fermentacije pomaže u očuvanju i ekstrakciji fenolnih jedinjenja prirodno prisutnih u medu, što se posebno odnosi na fenolne kiseline i flavonoide, a ujedno etanol olakšava i rastvaranje i apsorpciju fenolnih jedinjenja (Czabaj i sar., 2017).

Tabela 4.61. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 5 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1BGH	391,21 ^c ± 6,18	232,93 ^c ± 5,10	3,37 ^e ± 0,01	157,13 ^a ± 13,19	6,74 ^{bc} ± 0,47
1BGI	359,21 ^a ± 4,10	194,67 ^{ab} ± 4,94	3,31 ^e ± 0,02	169,62 ^a ± 11,05	6,79 ^{bc} ± 0,37
1BGJ	371,61 ^b ± 7,57	200,93 ^{ab} ± 5,99	3,27 ^{de} ± 0,02	191,16 ^b ± 15,04	5,99 ^{ab} ± 1,59
2BGH	469,28 ^d ± 2,84	202,53 ^{ab} ± 18,03	3,11 ^{bc} ± 0,02	237,63 ^{cd} ± 4,72	6,43 ^{bc} ± 0,44
2BGI	464,61 ^d ± 11,44	203,87 ^{ab} ± 37,09	3,33 ^e ± 0,04	229,66 ^c ± 10,36	6,31 ^{abc} ± 0,55
2BGJ	482,88 ^e ± 1,01	220,07 ^{bc} ± 3,65	3,15 ^{cd} ± 0,13	251,44 ^d ± 12,10	6,54 ^{abc} ± 0,22
3BGH	387,41 ^c ± 4,26	212,23 ^{bc} ± 5,28	2,98 ^b ± 0,04	294,36 ^{ef} ± 7,70	7,85 ^d ± 0,23
3BGI	384,75 ^c ± 2,63	202,33 ^{ab} ± 6,44	3,03 ^{bc} ± 0,22	280,09 ^e ± 4,01	5,56 ^a ± 0,23
3BGJ	375,55 ^b ± 5,52	185,53 ^a ± 3,82	2,63 ^a ± 0,01	300,70 ^f ± 10,76	7,01 ^{cd} ± 0,32

a,b,c...f različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

Od polifenolnih jedinjenja najzastupljeniji su flavonoidi, tanini i fenolne kiseline, koji predstavljaju prirodne antioksidanse važne za ljudski organizam zbog sposobnosti inhibiranja slobodnih radikala koji mogu dovesti do oštećenja ćelija i stvaranja hroničnih oboljenja (Kawa-Rygielska i sar., 2018). Pored inhibiranja slobodnih radikala, flavonoidi imaju ulogu i helatnih metalnih katalizatora, koje im daju i primarne i sekundarne antioksidativne funkcije. Takođe, sa drugim antioksidansima djeluju sinergistički, čime kompleksnije djeluju na ljudski organizam (Akalin i sar., 2017). Dezmirean i sar. (2012) na osnovu poređenja sadržaja flavonoida i DPPH u medovinama, zaključuju da su za antioksidativno djelovanje odgovorni

flavonoidi. Sadržaj flavonoida u uzorcima A se kretao od 156,33 mg GAE/L u uzorku 1AGJ do 216,20 mg GAE/L u uzorku 3AGI, u uzorcima B od 185,53 mg GAE/L u uzorku 3BGJ do 232,93 mg GAE/L u uzorku 1BGH, u uzorcima C od 293,00 mg GAE/L za uzorak 1CGH do 280,33 mg GAE/L u uzorku 3CGH, a u uzorcima D od 393,41 mg GAE/L u uzorku 2DGH do 490,61 mg GAE/L u uzorku 1DGI. Može se primjetiti da je sa povećanjem količine soka od aronije došlo do povećanja sadržaja flavonoida, što je u skladu sa povećanjem sadržaja ukupnih fenola. Na osnovu navedenih rezultata za sadržaj flavonoida u medovinama, može se uočiti da je kod najvećeg broja uzoraka sadržaj flavonoida u medovinama veći nego u polaznim rastvorima, što nije u skladu sa rezultatima Dezmirean i sar. (2012) koji navode da je sadržaj flavonoida uvijek manji u fermentisanim proizvodima.

FRAP vrijednosti za uzorke A se kreću od 1,88 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 2AGI do 2,09 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 2AGJ. Kod uzoraka B ove vrijednosti se kreću od 2,63 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 3BGJ do 3,37 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 1BGH, za uzorke C od 3,84 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 3CGI do 4,91 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 1CGJ, a za uzorke D od 5,27 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 1DGH do 7,58 mmol Fe²⁺/mL u uzorku 3DGI. Na osnovu navedenih rezultata može se primijetiti da je sa povećanjem količine dodanog soka od aronije došlo do povećanja vrijednosti FRAP, što je u skladu sa povećanjem sadržaja ukupnih fenola i flavonoida. Navedeni rezultati se razlikuju od rezultata u radu Adamenko i sar. (2018) koji navode da dodatak voćnog soka nije doveo do značajnijih razlika u FRAP vrijednostima. Može se primijetiti da postoje značajne razlike u vrijednostima FRAP između polaznog meda i medovine, gdje se uočavaju veće FRAP vrijednosti kod meda u odnosu na medovinu, na šta ukazuje i Dezmirean i sar. (2012). Navedena tvrdnja može da se objasni razblaženjem meda sa vodom tokom pripreme rastvora za fermentaciju, čime je smanjen početni sadržaj ukupnih fenola i flavonoida. Dezmirean i sar. (2012) navode da su FRAP vrijednosti u korelaciji sa sadržajem flavonoida, što je prikazano u Tabeli 4.65, gdje se može vidjeti da postoji korelacija između navedenih vrijednosti.

Tabela 4.62. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 10 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (μg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1CGH	466,68 ^a ± 3,94	293,00 ^a ± 2,74	4,49 ^{cd} ± 0,06	362,33 ^{bc} ± 14,30	4,30 ^{ab} ± 0,25
1CGI	486,88 ^{ab} ± 3,29	308,13 ^{ab} ± 4,30	4,53 ^{cd} ± 0,04	390,01 ^f ± 12,67	3,99 ^a ± 0,24
1CGJ	499,88 ^{bc} ± 6,07	316,93 ^{bc} ± 1,42	4,91 ^e ± 0,03	387,37 ^{cd} ± 17,38	4,64 ^{bc} ± 0,30
2CGH	564,61 ^d ± 6,29	351,50 ^e ± 11,13	4,40 ^c ± 0,02	368,96 ^{bc} ± 8,40	4,23 ^{ab} ± 0,42
2CGI	551,21 ^d ± 8,30	321,80 ^{bc} ± 9,56	4,49 ^{cd} ± 0,02	405,80 ^{de} ± 10,83	3,93 ^a ± 0,24
2CGJ	561,95 ^d ± 2,74	351,20 ^e ± 1,42	4,57 ^d ± 0,02	418,58 ^e ± 6,79	4,71 ^c ± 0,14
3CGH	560,88 ^d ± 20,49	380,33 ^f ± 18,05	4,43 ^{cd} ± 0,10	322,11 ^a ± 4,68	5,48 ^d ± 0,11
3CGI	515,61 ^c ± 33,58	330,80 ^c ± 29,45	3,84 ^a ± 0,19	342,73 ^{ab} ± 14,56	5,56 ^e ± 0,23
3CGJ	501,48 ^{bc} ± 5,90	305,27 ^{ab} ± 4,00	4,10 ^b ± 0,09	362,08 ^{bc} ± 38,52	7,01 ^{de} ± 0,32

^{a,b,c,...f} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima (p<0,05)

DPPH vrijednosti za uzorke A se kreću od 34,16 μg TE/mL u uzorku 2AGH do 46,83 μg TE/mL u uzorku 3AGH, za uzorke B od 157,13 μg TE/mL u uzorku 1BGH do 300,70 μg

TE/mL u uzorku 3BGJ, za uzorke C od 322,11 $\mu\text{g TE/mL}$ u uzorku 3CGH do 418,58 $\mu\text{g TE/mL}$ u uzorku 2CGJ, a za uzorke D od 513,25 $\mu\text{g TE/mL}$ u uzorku 1DGI do 668,33 $\mu\text{g TE/mL}$ u uzorku 3DGJ. Na osnovu navedenih rezultata može se primijetiti da postoji značajna razlika između uzoraka bez i sa dodatkom soka od aronije, pri čemu je sa porastom količine dodanog soka od aronije došlo do porasta vrijednosti DPPH. Slične rezultate navode i Adamenko i sar. (2018) gdje su medovine sa dodatkom soka od drenjine pokazale najjača antioksidativna svojstva mjerena DPPH testom, kao i Kawa-Rygielska i sar. (2018) gdje je medovina sa dodatkom soka od aronije i sjemenki grožđa imala značajno veću DPPH vrijednost u odnosu na kontrolne medovine.

Vrijednosti ABTS kod uzoraka A se kreću od 10,26 mg TE/mL u uzorku 2AGJ do 12,85 mg TE/mL u uzorku 3AGI, za uzorke B od 5,56 mg TE/mL u uzorku 3BGI do 7,85 mg TE/mL u uzorku 3BGH, za uzorke C od 3,93 mg TE/mL u uzorku 2CGI do 7,01 mg TE/mL u uzorku 3BGJ, a za uzorke D od 2,58 mg TE/mL u uzorku 2DGH do 5,12 mg TE/mL u uzorku 1DGI. Određivanje antioksidativnih svojstava ABTS testom podrazumijeva metodu IC₅₀, te samim tim više vrijednosti ABTS ukazuju na slabija antioksidativna svojstva i obrnuto. Na osnovu navedenog, može se vidjeti da je povećanje dodatka soka od aronije dovelo do nižih vrijednosti ABTS, što ukazuje da je dodatak soka poboljšao antioksidativna svojstva medovine, što se može povezati sa povećanim sadržajem fenola i flavonoida koji su postignuti dodatkom soka. Slične rezultate navode i Kawa-Rygielska i sar. (2018) gdje je kontrolna medovina imala vrijednost ABTS 0,29 $\mu\text{mol TE/ml}$, a nakon dodatka soka od aronije 0,89 $\mu\text{mol TE/ml}$.

Tabela 4.63. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 20 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH ($\mu\text{g TE/mL}$)	ABTS (mg TE/mL)
1DGH	689,36 ^{bc} ± 9,52	474,88 ^e ± 11,05	5,27 ^a ± 0,05	577,42 ^b ± 15,46	3,77 ^c ± 0,75
1DGI	715,62 ^d ± 13,71	490,61 ^e ± 13,12	5,72 ^c ± 0,05	513,25 ^a ± 21,65	5,12 ^d ± 0,29
1DGJ	705,76 ^{cd} ± 37,83	471,61 ^{de} ± 37,91	5,98 ^d ± 0,02	559,23 ^b ± 21,88	5,06 ^d ± 0,55
2DGH	760,43 ^e ± 8,85	393,41 ^a ± 6,74	6,04 ^d ± 0,05	578,90 ^b ± 4,95	2,58 ^a ± 0,06
2DGI	785,76 ^f ± 2,02	420,48 ^b ± 1,04	6,76 ^e ± 0,02	514,23 ^a ± 11,42	2,84 ^{ab} ± 0,16
2DGJ	674,96 ^b ± 7,75	431,48 ^{bc} ± 4,62	5,50 ^b ± 0,11	621,82 ^c ± 6,06	3,07 ^{abc} ± 1,04
3DGH	644,16 ^a ± 7,33	446,88 ^c ± 2,88	6,66 ^e ± 0,09	636,88 ^{cd} ± 9,17	4,32 ^{bc} ± 0,03
3DGI	672,20 ^b ± 8,09	434,75 ^{bc} ± 7,59	7,58 ^g ± 0,10	666,26 ^d ± 65,13	3,64 ^{bc} ± 0,13
3DGJ	679,63 ^b ± 10,88	449,35 ^{cd} ± 10,66	7,12 ^f ± 0,03	668,33 ^d ± 11,34	3,96 ^{bc} ± 0,36

^{a,b,c,...g} različita slova u okviru iste kolone označavaju statistički značajne razlike među vrijednostima ($p < 0,05$)

U Tabeli 4.64 je prikazana korelacija između sadržaja ukupnih fenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti mjerene FRAP, DPPH i ABTS testovima za analizirane medovine. Regresiona analiza je pokazala da je sadržaj ukupnih fenola u jakoj korelaciji sa sadržajem flavonoida (0,946), FRAP (0,921) i DPPH rezultatima (0,910), dok je u negativnoj korelaciji sa ABTS (-0,795). Za razliku od ostalih rezultata antioksidativnih svojstava, niže vrijednosti ABTS ukazuju na veću antioksidativnu vrijednost, što opravdava negativnu korelaciju navedenih parametara sa vrijednostima ABTS. Sadržaj flavonoida je u jakoj korelaciji sa FRAP (0,917) i sa DPPH (0,906) vrijednostima, dok se za ABTS ponovo pojavljuje negativna

vrijednost (-0,744). Jaka korelacija se može uočiti i između FRAP i DPPH (0,958) vrijednosti, dok je korelacija FRAP i ABTS negativna (-0,857), kao i DPPH i ABTS (-0,891). Takođe, za sve parametre za koje postoji pozitivna korelacija može se primjetiti da su p vrijednosti manje od 0,05 što ukazuje na visoku statističku korelaciju. Akalin i sar. (2017) navode da sadržaj ukupnih fenola ima dobru korelaciju sa antioksidativnim kapacitetom mjerenim različitim testovima, što je potvrđeno i u ovoj doktorskoj disertaciji.

Tabela 4.64. Korelacija (Pearson-ov koeficijent korelacije – r) između antioksidativnih svojstava medovine

Parametar	Sadržaj ukupnih fenola	Sadržaj flavonoida	FRAP	DPPH	ABTS
Sadržaj ukupnih fenola	-	0,946*	0,921*	0,910*	-0,795
Sadržaj flavonoida	-	-	0,917*	0,906*	-0,744
FRAP	-	-	-	0,958*	-0,857
DPPH	-	-	-	-	-0,891

*p < 0,05

4.4.2.3. Rezultati antimikrobne analize medovine

U Tabelama 4.65, 4.66, 4.67 i 4.68 prikazani su rezultati testiranja antibakterijske aktivnosti medovina, primjenom „agar wells“ i „agar dilution“ metoda za određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) i minimalne baktericidne koncentracije (MBC) u medovinama bez i sa dodatkom različitih količina soka od aronije. Na osnovu dobijenih rezultata može se primjetiti da primjenom metode „agar wells“, medovine nisu pokazale inhibični efekat na testirane bakterije. Nedostatak navedene metode je prilično dugo vrijeme inkubacije potrebno da se otkrije zona inhibicije koja može dovesti do isparavanja isparljivih ili degradacije termički nestabilnih agenasa, kao i mala količina medovine koja se koristi za ispitivanje (30 µl), što je vjerovatno uzrokovalo izostanak antibakterijskog dejstva testiranih medovina. Takođe, nije moguće kvantitativno odrediti količinu antimikrobnog agensa difundovanog u agarni medijum, zbog gradijenta i matrične mreže agara koji se koristi za analizu (Balouiri i sar., 2016). Kako je agar vodeni preparat, nepolarna jedinjenja se neće difundovati kao polarna jedinjenja. Eloff i sar. (2017) su pokazali da jedinjenja srednjeg polariteta imaju najveću antimikrobnu aktivnost. Metoda „agar dilution“ bi mogla biti korisna sa jednim jedinjenjem poznatog polariteta, pa čak i u tom slučaju ne može biti sigurno da će rezultati biti.

Kako je jedan od ciljeva doktorske disertacije da se ispita uticaj dodatka soka od aronije na poboljšanje antimikrobnih svojstava medovine, izvršeno je poređenje rezultata uzoraka kod kojih je za proizvodnju medovine korišten jednako tretiran medljikovac uz varijaciju količine soka od aronije. Kod uzoraka sa temperaturno obrađenim medljikovcem (oznaka 1) može se primjetiti da za bakteriju *S. aureus*, iste MIC vrijednosti imaju uzorak A i C, dok bolju MBC vrijednosti ima uzorak A. Za bakteriju *B. cereus* iste MIC vrijednosti imaju uzorci A, C i D, dok je najbolja MBC vrijednost kod uzorka A. Za bakteriju *E. coli* najbolje vrijednosti MIC i MBC imaju uzorci A i D, dok je za bakteriju *P. aeruginosa* najbolje vrijednosti MIC pokazuju

A, C i D, a najbolju MBC vrijednost uzorak D. Kod uzoraka sa medljikovcem tretiranim UV zračenjem (oznaka 2) za bakterije *E. coli* i *P. aeruginosa* iste vrijednosti MIC i MBC su pokazali uzorci B, C i D, dok je uzorak A za *E. coli*, pokazao više vrijednosti i MIC i MBC, a za *P. aeruginosa* je pokazao iste vrijednosti MIC, ali nešto više vrijednosti MBC. Za bakteriju *S. aureus*, najbolje MIC vrijednosti su pokazali uzorci B, C, D, a najbolje MBC vrijednosti B i C. Za bakteriju *B. cereus*, iste vrijednosti MIC su pokazali B, C i D uzorci, dok je uzorak C pokazao najbolju MBC vrijednost. Kod uzoraka ultrazvučno tretiranim medljikovcem (oznaka 3) za bakteriju *E. coli*, sve četiri uzorka su pokazala istu MIC vrijednost, a najbolju MBC vrijednost je pokazao uzorak C. Za *S. aureus* najbolje MIC i MBC vrijednost je pokazao uzorak C. Za *B. cereus*, MIC vrijednosti su iste kod sve četiri uzorka, a bolje MBC vrijednosti su pokazali uzorci B, C i D u odnosu na A. Za bakteriju *P. aeruginosa*, sve četiri uzorka su pokazali iste MIC vrijednosti, dok su bolje MBC vrijednosti pokazali uzorci C i D.

Uzimajući u obzir navedene rezultate može se vidjeti da je sveukupno, u najvećem broju slučajeva, uzorak C (sa dodatkom 10 % soka od aronije) pokazao najbolju antimikrobnu aktivnost, zatim uzorci B i D, dok je uzorak A najbolju antimikrobnu aktivnost pokazao u uzorcima sa oznakom 1. Navedeni rezultati ukazuju da postoji uticaj količine dodanog soka na antimikrobno dejstvo medovine. Dobijeni rezultati su djelimično u skladu sa rezultatima mjerenja antioksidativnih svojstava, gdje je ustanovljeno da dodatak soka od aronije ima pozitivan uticaj na antioksidativna svojstva medovine. U dostupnoj literaturi se ne može pronaći mnogo podataka o antimikrobnom dejstvu medovina, ali su dostupni podaci o antimikrobnom dejstvu sličnih proizvoda, kao što su pivo, vino i srodni proizvodi. Kod ovih proizvoda testiran je uticaj raznih faktora, kao što su: vrsta i količina upotrijebljenih sirovina, količina alkohola, kiselost, sadržaj fenolnih jedinjenja i drugo. U literaturi se može naći dosta podataka o antimikrobnom dejstvu meda i aronije, sirovina koje su korištene u ovom radu. U radu Stojković i sar. (2021) testirano je antibakterijsko dejstvo medljikovca, obrađenog raznim tretmanima, na četiri bakterije koje su korištene i u ovom radu. U ovom radu se pokazalo da su G (-) bakterije jače inhibirane nego G (+) bakterije što nije u skladu sa rezultatima mnogih autora (Molan, 1992; Bogdanov, 1997). Na osnovu tog se može zaključiti da se antimikrobna svojstva medljikovca mogu pripisati individualnim i sinergijskim uticajima različitih faktora, a ne isključivo sadržaju fenola. Na antimikrobnu aktivnost meda utiče veliki broj različitih faktora: visok osmotski pritisak, aktivitet vode, pH vrijednost, proizvodnja H₂O₂, metilglioksala, antimikrobni peptid pčelinji defensin-1, lizozom, fenolne kiseline, flavonoidi i drugo (Molan, 1992; Leyva-Jiménez i sar., 2019). Peroksidna aktivnost meda može biti uništena djelovanjem temperature, svjetlošću i dugotrajnim skladištenjem meda, a antimikrobno djelovanje meda i medovine se može objasniti kombinovanim djelovanjem neperoksida (visoka koncentracija fenola i flavonoida) i peroksidnom antimikrobnom aktivnosti, niskom pH vrijednošću, visokim sadržajem šećera i drugo. Fikselova i sar. (2014) su proučavali antimikrobnu aktivnost određenog broja meda i otkrili da su najosjetljiviji sojevi bakterija *E. coli* i *P. aeruginosa*, dok je *B. cereus* najotporniji. Suprotno od navedenog, Srećković i sar. (2019) su ustanovili da je medljikovac bio efikasniji protiv G (+) bakterija u odnosu na G (-) bakterije. Fiš i sar. (2014) su ispitali uticaj temperature na antibakterijsku aktivnost meda i utvrdili su da niže temperature (30 i 50 °C) nemaju nikakvog uticaja na njegova antibakterijska svojstva, dok je antibakterijska aktivnost smanjena na temperaturi od 70 °C.

Sadržaj alkohola u medovinama, koji je bio djelimično ujednačen, nije imao uticaja na antibakterijska svojstva medovina, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima povezanim sa vinom, u kojima se sadržaj alkohola kretao od 10 do 13 % v/v, gdje je ustanovljeno da je on prenizak da bi se ispoljilo baktericidni efekat (Vaquero i sar., 2007; Radovanović i sar., 2009). Radovanović i sar. (2009) i Vulić i sar. (2013) su ustanovili da kombinacija organskih kiselina (mliječna, jabučna i tartarna) i etanol doprinose jačem antimikrobnom dejstvu vina. Međutim, uloga fenolnih jedinjenja nije potpuno jasna, jer se u literaturi mogu naći različita mišljenja. Sheth i sar. (1988) i Arima i sar. (2002) u svojim radovima sugerišu da sastojci kao što su flavonoidi (kvercetin i kvercetin-3-glukozid) i monomerni antocijani mogu da se koriste kao biohemijski markeri koji doprinose antimikrobnoj aktivnosti crvenih vina. Međutim, Boban i sar. (2010) u cilju otkrivanja uloge polifenola, pH vrijednosti, etanola i drugih komponenti vina, testirali su antimikrobna dejstva netretiranih vina u poređenju sa antimikrobnim dejstvom vina bez fenola, dealkoholizovanog vina i niske pH vrijednosti u različitim kombinacijama. Zaključili su da se antibakterijska aktivnost uzoraka ne može povezati sa ukupnim sadržajem fenola i rezervatola, sadržajem etanola ili pH vrijednošću. Nakon netretiranog vina, vino bez fenola je imalo najjače antimikrobno dejstvo protiv *Salmonella enterica* i *E. coli*, pa su autori zaključili da su nefenolni sastojci vina odgovorni za veći dio njegovog antimikrobnog djelovanja. Krisch i sar. (2008) su testirali antibakterijsko djelovanje ekstrakata i sokova velikog broja različitih voćnih vrsta i ustanovili da su sokovi i ekstrakti imali nisku pH vrijednost koja se kretala od 2,8 do 5,5, koja je poticala od slabih organskih i fenolnih kiselina u nedisosovanoj formi, za koje se smatra da mogu da stupe u interakciju sa ćelijskim membranama i prodru u ćelije uzrokujući zakiseljavanje citoplazme. Međutim, u njihovom eksperimentu postojala je samo slaba korelacija između kiselosti uzoraka i njihovog antibakterijskog dejstva. Prilikom pripreme medovine, med je razrijeđen u odnosu 1:3, čime je smanjena početna koncentracija meda u uzorku, a nakon toga je pasterizovan, što bi moglo imati uticaja na antimikrobna svojstva medovine. Osim toga, sok od aronije je takođe pasterizovan, što je moglo da smanji antimikrobna svojstva, bez obzira što su antioksidativna svojstva ostala sačuvana. Za objašnjenje mehanizma antimikrobnog djelovanja različitih jedinjenja medovine, neophodno je dalje istraživanje, ali se može zaključiti da se antimikrobna aktivnost kompleksnog rastvora kao što je medovina zasniva na više od jednog jedinjenja.

Tabela 4.65. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama bez dodatka soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1AGH	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1AGI	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1AGJ	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2AGH	MIC % (v/v)	40	40	40	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2AGI	MIC % (v/v)	40	40	40	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2AGJ	MIC % (v/v)	40	40	40	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA	NA
3AGH	MIC % (v/v)	40	40	40	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3AGI	MIC % (v/v)	40	40	40	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3AGJ	MIC % (v/v)	40	40	40	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	>40	40
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA – nema aktivnosti

Tabela 4.66. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 5 % soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
1BGH	MIC % (v/v)	40	>40	40	
	MBC % (v/v)	>40	>40	40	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
1BGI	MIC % (v/v)	40	>40	40	
	MBC % (v/v)	>40	>40	40	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
1BGJ	MIC % (v/v)	40	>40	40	
	MBC % (v/v)	>40	>40	40	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
2BGH	MIC % (v/v)	30	30	30	
	MBC % (v/v)	40	30	>40	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
2BGI	MIC % (v/v)	30	30	30	
	MBC % (v/v)	40	30	>40	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
2BGJ	MIC % (v/v)	30	30	30	
	MBC % (v/v)	40	30	>40	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
3BGH	MIC % (v/v)	40	40	30	
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
3BGI	MIC % (v/v)	40	40	30	
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	
3BGJ	MIC % (v/v)	40	40	30	
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	
	Ampicillin 10 mg (mm)	16.00±4.39	33.00±2.16	NA	10.88±2.53
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37.00±3.37	29.25±2.99	33.33±0.58	27.38±3.54
	Erytromycin 15 mg (mm)	10.75±1.50	27.75±2.99	NA	24.5±2.52
	Gentamicin 10 mg (mm)	25.50±1.29	29.75±1.90	21.33±1.53	24±2.53

NA – nema aktivnosti

Tabela 4.67. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 10 % soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1CGH	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1CGI	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1CGJ	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2CGH	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	30	40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2CGI	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	30	40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2CGJ	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	30	40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3CGH	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3CGI	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3CGJ	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA – nema aktivnosti

Tabela 4.68. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 20 % soka od aronije sa dodatkom kvasca G

Uzorak		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004
1DGH	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
1DGI	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
1DGJ	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
2DGH	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
2DGI	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	40
2DGJ	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	40
3DGH	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	40	30	30	30
	MBC % (v/v)	>40	30	>40	30
3DGI	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	40	30	30	30
	MBC % (v/v)	>40	30	>40	30
3DGJ	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	40	30	30	30
	MBC % (v/v)	>40	30	>40	30
Ampicillin 10 mg (mm)		16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
Ciprofloxacin 5 mg (mm)		37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
Erytromycin 15 mg (mm)		10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
Gentamicin 10 mg (mm)		25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA – nema aktivnosti

4.4.2.4. Rezultati analiza senzornih svojstava medovine

Proizvodnja medovine sa dodatkom soka od aronije obavljena je sa ciljem stvaranja novog prehrambenog proizvoda sa poboljšanim funkcionalnim karakteristikama. Hemijska analiza proizvoda ne može u potpunosti da definiše kvalitet datog proizvoda, te se veoma često primjenjuju i subjektivne metode ocjenjivanja kao što je senzorna analiza, jer prihvatljivost nekog prehrambenog proizvoda na tržištu od strane potrošača prvenstveno zavisi od senzornih svojstava tog proizvoda. Iz tog razloga izvršena je senzorna analiza proizvedenih medovina, u kojoj je učestvovalo pet obučanih ocjenjivača. Ocjenjivani su izgled, aroma odnosno buke, kiselost, izbalansiranost, ukus, punoća ukusa, osjećaj u ustima i cjelokupni utisak. Rezultati senzorne analize prikazani su u Tabelama 4.69-4.76. Benes i sar. (2015) navode da dodatak voća ili začina tokom proizvodnje medovine utiče na senzorna svojstva, te su iz tog razloga pri tumačenju rezultata poređene medovine koje su sadržavale istu količinu dodanog soka od aronije.

Tabela 4.69. Rezultati senzorne analize za medovine bez dodatka soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1AGH	0,40 ± 0,10	4,50 ± 0,50	0,60 ± 0,10	1,00 ± 0,50
1AGI	0,50 ± 0,00	4,50 ± 0,00	0,60 ± 0,00	1,08 ± 0,14
1AGJ	0,43 ± 0,06	4,73 ± 0,25	0,67 ± 0,06	1,08 ± 0,14
2AGH	0,43 ± 0,06	4,58 ± 0,38	0,57 ± 0,06	1,17 ± 0,29
2AGI	0,47 ± 0,06	4,33 ± 0,14	0,57 ± 0,06	1,17 ± 0,14
2AGJ	0,43 ± 0,06	4,63 ± 0,12	0,70 ± 0,00	1,17 ± 0,14
3AGH	1,75 ± 0,00	3,00 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00
3AGI	1,75 ± 0,00	3,00 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,75 ± 0,00
3AGJ	1,75 ± 0,00	3,50 ± 0,00	0,90 ± 0,00	1,75 ± 0,00

O senzornim svojstvima medovine postoji mali broj istraživanja, ali se smatra da najveći uticaj na senzorna svojstva imaju sadržaj šećera i etanola (Gomes i sar., 2015). Pored njih, važan uticaj na senzorna svojstva imaju organske kiseline i jedinjenja koja u svom sastavu sadrže sumpor (Chittarini i sar., 2020). Senzorna svojstva mogu da zavise i od razblaženja meda sa vodom, vrste meda, vrste korištenog kvasca tokom fermentacije i temperature fermentacije (Benes i sar., 2015).

Senzorna svojstva medovine potiču od zajedničkog efekta isparljivih jedinjenja (alkoholi, estri, karbonilna jedinjenja, isparljivi fenoli, isparljive masne kiseline, terpeni i sl.) i neisparljivih jedinjenja (Senn, 2020). Tokom alkoholne fermentacije, kvasac proizvodi različite metaboličke produkte koji utiču najvećim dijelom na ukus alkoholnog pića, iako kod medovine najvećim dijelom potiče od vrste meda koji je korišten. Većina nusproizvoda se sintetiše u uslovima kada je prisutna veća količina šećera i drugih hranljivih materija koje kvasac koristi (Chittarini i sar., 2020). Medovina dobrog kvaliteta je najčešće žuta, slatka, gazirana i mutna zbog prisutnog kvasca (Bahiru i sar. 2001). Nedostaci senzornih svojstava najčešće nastaju

usljed promjena izazvanih nepoželjnim hemikalijama, interakcijama između hemijskih jedinjenja i od sirovina korištenih tokom proizvodnje (Šarba, 2015).

Tabela 4.70. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 5 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1BGH	1,90 ± 0,00	5,15 ± 0,13	0,75 ± 0,00	0,97 ± 0,06
1BGI	1,90 ± 0,00	4,42 ± 0,38	0,75 ± 0,00	0,93 ± 0,12
1BGJ	1,90 ± 0,00	4,83 ± 0,14	0,75 ± 0,00	0,97 ± 0,06
2BGH	1,90 ± 0,00	5,23 ± 0,03	0,63 ± 0,06	1,00 ± 0,00
2BGI	1,90 ± 0,00	4,58 ± 0,14	0,70 ± 0,00	0,87 ± 0,15
2BGJ	1,90 ± 0,00	4,75 ± 0,00	0,75 ± 0,00	0,93 ± 0,06
3BGH	1,90 ± 0,00	5,00 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,00 ± 0,00
3BGI	1,90 ± 0,00	4,00 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,00 ± 0,00
3BGJ	1,90 ± 0,00	4,92 ± 0,14	0,75 ± 0,00	1,00 ± 0,00

Izgled medovine je ocijenjen na skali od 0 do 2, a podrazumijevao je ocijenjivanje boje i bistrine medovine. Najveći broj uzoraka A je ocijenjen od 0,40 do 0,50, izuzev uzoraka 3A koji su ocijenjeni sa 1,75. Kod svih A uzoraka je preovladavala zlatno žuta boja, uz primjetne čestice mutnoće kod uzoraka ocijenjenih sa nižim ocjenama. Svi uzorci sa oznakom B su ocijenjeni sa 1,90, jer su bili značajno bistriji u odnosu na uzorke A. Kod uzoraka B je preovladavala zlatno žuta boja sa primjetnim primjesama crvenkastih nijansi. Uzorci 2C su ocijenjeni sa 0,40 i 0,42, dok su svi ostali uzorci C ocijenjeni sa 2,0 što predstavlja maksimalnu ocjenu za boju. Ove uzorke je karakterisala potpuno bistra medovina sa narandžasto crvenkastom bojom. Uzorci D su ocijenjeni od 1,00 (2DGH, 2DGI, 3DGH, 3DGI) do 1,45 (2DGJ, 3DGJ). Kod uzoraka D su primjetne čestice mutnoće, a boja je bila crvenkasta sa primjesama narandžastih tonova. Na osnovu navedenih rezultata može se primjetiti da je kod najvećeg broja uzoraka medovina djelimično zamućena. Pascoal i sar. (2017) navode da se u medovini mogu primjetiti čestice koje su porijeklom iz meda, poput zrna polena ili od ostatka hranljivih materija koje se dodaju tokom fermentacije koje se koriste kao pomoćno sredstvo. Zamućenje medovine može da se pripíše flokulaciji kvasca tokom procesa fermentacije ili mrtvim ćelijama kvasca po završetku proizvodnje (Pascoal i sar., 2017; Almeida i sar., 2020) ili dodatku azota koji dovodi do zamućenja polaznog rastvora za fermentaciju, a zatim i medovine (Almeida i sar., 2020). Iz navedenih razloga, nakon završetka fermentacije preporučuje se dodatak sredstava za bistrenje, a zatim i filtriranje.

Aroma i buke predstavljaju jedan od najvažnijih senzornih svojstava, te su ocijenjeni na skali od 0-6. Kod uzoraka A, aroma je ocijenjena od 3,00 u uzorcima 3AGH i 3AGI do 4,73 u uzorcima 1AGJ. Uzorci B su ocijenjeni od 4,00 u uzorku 3BGI do 5,23 u uzorku 2BGH. Kod uzoraka C ocjene su se kretale od 3,25 u uzorku 3CGH do 5,00 u uzorku 2CGJ, a kod uzoraka D od 3,33 za uzorke 2CGI, 3DGH i 3DGI do 3,53 za uzorke 2DGJ i 3DGJ. Na osnovu navedenih rezultata može se vidjeti da su najviše ocjene dobili uzorci B u koje je dodano 5 % soka od aronije. Na aromu medovine mogu da utiču med, kvasac korišten tokom fermentacije i uslovi fermentacije (Pereira i sar., 2019). Gangl i sar. (2018) navode da vrsta kvasca koja se

koristi dovodi do stvaranja karakterističnog ukusa, mirisa i arome medovine. Jedinjenja u medu koja su odgovorna za percepciju arome i osjećaja u ustima koji igra ulogu u kvalitetu alkoholnih pića su najčešće isparljiva aromatična jedinjenja (Pereira i sar., 2019), a to su najčešće viši alkoholi, esteri, isparljive kiseline i aldehidi koji nastaju tokom alkoholne fermentacije. Acetaldehid predstavlja jedinjenje koje je često zastupljeno u medovinama koji daje svjež, orašast miris i aromu, koji pri većim koncentracijama može da bude neprijatan, dok voćni i slatkasti miris potiče od estera (Mendes-Fereira i sar., 2010; Benes i sar., 2015). Tokom ocjenjivanja medovina, u najvećem broju uzoraka se osjetila aroma i miris meda, postojale su izvjesne razlike kod uzoraka u koje je dodana aronija, te je aromatski profil bio drugačiji u odnosu na kontrolni uzorak, što tvrde i Chittarini i sar. (2020) gdje je dodatak crne ribizle značajno uticao na aromatski profil medovine.

Tabela 4.71. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 10 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1CGH	2,00 ± 0,00	3,33 ± 0,14	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
1CGI	2,00 ± 0,00	3,67 ± 0,29	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
1CGJ	2,00 ± 0,00	4,33 ± 0,29	0,77 ± 0,03	1,50 ± 0,00
2CGH	0,40 ± 0,10	4,00 ± 0,50	0,60 ± 0,10	1,10 ± 0,10
2CGI	0,42 ± 0,10	4,33 ± 0,38	0,70 ± 0,00	0,90 ± 0,17
2CGJ	0,40 ± 0,10	5,00 ± 0,00	0,92 ± 0,10	1,87 ± 0,12
3CGH	2,00 ± 0,00	3,25 ± 0,25	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
3CGI	2,00 ± 0,00	3,50 ± 0,50	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
3CGJ	2,00 ± 0,00	4,33 ± 0,29	0,75 ± 0,00	1,50 ± 0,00

Tabela 4.72. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 20 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1DGH	1,07 ± 0,06	3,42 ± 0,14	0,65 ± 0,05	1,43 ± 0,06
1DGI	1,23 ± 0,25	3,50 ± 0,00	0,52 ± 0,13	1,10 ± 0,00
1DGJ	1,43 ± 0,12	3,50 ± 0,00	0,60 ± 0,10	1,30 ± 0,10
2DGH	1,00 ± 0,00	3,50 ± 0,00	0,53 ± 0,06	1,43 ± 0,06
2DGI	1,00 ± 0,00	3,33 ± 0,29	0,45 ± 0,18	1,03 ± 0,06
2DGJ	1,45 ± 0,18	3,53 ± 0,06	0,68 ± 0,08	1,40 ± 0,10
3DGH	1,00 ± 0,00	3,33 ± 0,29	0,60 ± 0,10	1,40 ± 0,10
3DGI	1,00 ± 0,00	3,33 ± 0,29	0,45 ± 0,18	1,03 ± 0,06
3DGJ	1,45 ± 0,18	3,53 ± 0,06	0,65 ± 0,09	1,37 ± 0,15

Kiselost medovine je ocijenjena na skali od 0 do 2. Kod uzoraka A kiselost je ocijenjena od 0,50 u uzorku 3AGH do 0,90 u uzorku 3AGJ. Najveći broj uzoraka B je ocijenjen sa 0,75, izuzev 2BGH koji je ocijenjen sa 0,63 i 2BGI koji je ocijenjen sa 0,70. Najmanje ocijenjen uzorak C je 2CGH (0,60), dok su uzorci 1CGH, 1CGI, 3CGH i 3CGI ocijenjeni sa 1,00. Od svih navedenih uzoraka, uzorci D su ocijenjeni sa najnižim ocjenama koje su se kretale od 0,45 za uzorke 2DGI i 3DGI do 0,68 u uzorku 2DGJ. Balogu i Towobola (2017) navode da su sve

medovine analizirane u njihovom radu ocijenjene kao kisele, na šta je ukazivala i vrijednost titracione kiselosti. Niska pH vrijednost medovina koje su prikazane u poglavlju 4.4.2. ukazuju da su sve proizvedene medovine kisele, iako je kod većeg broja uzoraka kiselost bila primjetna jednako kao i slatkast ukus koji bi mogao poticati od meda, na šta ukazuju i ocjene izbalansiranosti koje predstavljaju odnos slasti i kiselosti, a koje su ocijenjene na skali od 0 do 2. Kod uzoraka A ocjene za izbalansiranost se kreću od 0,50 u uzorku 3AGH do 1,75 u uzorcima 3AGI i 3AGJ. Uzorci B su imali relativno slične ocjene izbalansiranosti koje se kreću od 0,93 za uzorke 1BGI i 2BGJ do 1,75 za uzorke 2BGH, 3BGH, 3BGI i 3BGJ. Uzorci C su ocijenjeni od 0,90 u uzorku 2CGI do 2,00 u uzorcima 1CGH, 1CGI, 3CGH i 3CGI, ujedno maksimalna ocjena. Uzorci D su ocijenjeni od 1,03 za uzorke 2DGI i 3DGI do 1,43 za uzorke 1DGH i 2DGH.

Tabela 4.73. Rezultati senzorne analize za medovine bez dodatka soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1AGH	2,00 ± 0,00	0,70 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,25 ± 0,05
1AGI	2,00 ± 0,00	0,70 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,25 ± 0,05
1AGJ	2,00 ± 0,00	0,70 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,30 ± 0,00
2AGH	2,00 ± 0,00	0,72 ± 0,03	1,00 ± 0,00	2,25 ± 0,05
2AGI	2,00 ± 0,00	0,70 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,22 ± 0,03
2AGJ	2,00 ± 0,00	0,73 ± 0,06	1,00 ± 0,00	2,33 ± 0,15
3AGH	1,50 ± 0,00	0,58 ± 0,14	1,50 ± 0,00	1,25 ± 0,00
3AGI	2,50 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,75 ± 0,00	1,50 ± 0,00
3AGJ	2,75 ± 0,00	0,90 ± 0,00	1,75 ± 0,00	2,25 ± 0,25

Tabela 4.74. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 5 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1BGH	1,82 ± 0,16	0,75 ± 0,00	1,25 ± 0,00	2,00 ± 0,00
1BGI	1,90 ± 0,10	0,75 ± 0,00	1,33 ± 0,14	2,00 ± 0,00
1BGJ	1,75 ± 0,25	0,58 ± 0,14	0,75 ± 0,00	1,58 ± 0,14
2BGH	1,80 ± 0,09	0,75 ± 0,00	1,23 ± 0,03	2,03 ± 0,06
2BGI	1,93 ± 0,06	0,70 ± 0,00	1,33 ± 0,14	1,97 ± 0,06
2BGJ	1,92 ± 0,14	0,58 ± 0,14	1,25 ± 0,00	1,67 ± 0,14
3BGH	2,00 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,33 ± 0,14	2,00 ± 0,00
3BGI	2,00 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,42 ± 0,14	2,00 ± 0,00
3BGJ	1,75 ± 0,25	0,50 ± 0,00	0,83 ± 0,14	1,50 ± 0,00

Ukus je ocijenjen na skali od 0-3, a na osnovu rezultata navedenih u Tabelama 4.70-4.77 može se vidjeti da je većina uzoraka dobila visoke ocjene. Uzorci A su ocijenjeni od 1,50 (3AGH) do 2,75 (3AGJ). Uzorci B su ocijenjeni od 1,75 (1BGJ, 3BGJ) do 2,00 (3BGH, 3BGI). Uzorci C su ocijenjeni od 1,93 (2CGH) do 3,00 (1CGI, 3CGI) što predstavlja maksimalne moguće ocjene, a uzorci D su ocijenjeni od 1,65 (1DGI) do 2,00 (2DGH, 3DGH). Vidrih i Hribar (2007) navode da ukus, kao i miris medovine najčešće potiču od ukusa i mirisa meda

koji se koriste. Kod ocjenjivanja ukusa medovine, smatra se da ocjenjivači više cijene slatkaste medovine (Gomes i sar., 2015), te da se medovine na osnovu slasti mogu svrstavati u kategorije slatkih, poluslatkih i suvih medovina (Balogu i Towobola, 2017). Visoka slast medovine potiče od velike količine šećera koja zaostane nakon fermentacije (Demewez i sar. 2012, Šmorgovičova i sar., 2012, Gomes i sar., 2015). Povećanje slasti u vinima može da se postigne povećanjem meda u odnosu na vodu tokom pripreme polaznih rastvora za fermentaciju (Balogu i Towobola, 2017). Najveći broj medovina je imao visoku slast, dok su se oporost i astrignecija primjetili samo u uzorcima koji sadrže 20 % soka od aronije, te se navedena oporost pripisuje aroniji. Pored aronije koja je dodana, na opor i pomalo gorak ukus može da utiče količina etanola koja je nastala (Senn, 2020) ali i vrsta kvasca. *S. cerevisie* daje izraženu oporost, visoku kiselost i izraženu trpkost finalnog proizvoda (Šarba, 2015).

Tabela 4.75. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 10 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1CGH	2,50 ± 0,25	0,85 ± 0,09	1,75 ± 0,00	2,00 ± 0,00
1CGI	3,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,67 ± 0,14	2,42 ± 0,14
1CGJ	2,25 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,75 ± 0,00	2,17 ± 0,29
2CGH	1,93 ± 0,12	0,53 ± 0,06	1,53 ± 0,06	2,23 ± 0,06
2CGI	2,00 ± 0,00	0,77 ± 0,06	1,43 ± 0,12	2,27 ± 0,06
2CGJ	2,23 ± 0,12	0,73 ± 0,12	1,60 ± 0,00	2,43 ± 0,06
3CGH	2,50 ± 0,25	0,85 ± 0,09	1,67 ± 0,14	2,00 ± 0,00
3CGI	3,00 ± 0,00	0,97 ± 0,06	1,75 ± 0,00	2,50 ± 0,00
3CGJ	2,33 ± 0,14	1,00 ± 0,00	1,67 ± 0,14	2,08 ± 0,38

Kod ukusa medovine, važnu ulogu ima i punoća ukusa koja je ocijenjena na skali od 0 do 1. Uzorci A su ocijenjeni od 0,58 za uzorak 3AGH do 0,90 za uzorak 3AGJ. Uzorci B su ocijenjeni od 0,50 za uzorak 3BGJ do 0,75 za uzorke 1BGH, 1BGI, 2BGH, 3BGH i 3BGI. Uzorci C su ocijenjeni od 0,53 za uzorak 2CGH do 1,00 za uzorke 1CGI, 1CGJ i 3CGJ, a uzorci D su ocijenjeni od 0,65 za uzorak 1DGI do 0,75 za uzorak 1DGJ. Osjećaj koji ostaje u ustima nakon konzumiranja medovine je ocijenjen na skali od 0 do 2. Najveći broj uzoraka A je ocijenjen sa 1, osim uzoraka 1AGH koji je ocijenjen sa 1,50 i 1AGI i 1AGJ koji su ocijenjeni sa 1,42. Uzorci B su ocijenjeni od 0,75 za uzorak 1BGJ do 1,42 za uzorak 3BGI. Kod uzoraka C, ocjene su se kretale od 1,43 u uzorku 2CGI do 1,75 u uzorcima 1CGH, 1CGJ i 3CGI, a kod uzoraka D ocjene su se kretale od 1,00 u uzorcima 2DGI i 3DGI do 1,47 u uzorku 2DGH.

Ukupni utisak je ocijenjen na skali od 0 do 3. Kod uzoraka A ocjene su se kretale od 1,25 u uzorku 3AGH do 2,33 u uzorku 2AGJ, kod uzoraka B od 1,50 u uzorku 3BGJ do 2,03 u uzorku 2BGH. Kod uzoraka C su zabilježene najveće ocjene koje se kreću od 2,00 u uzorcima 1CGH i 3CGH do 2,50 u uzorku 3CGI, a uzorci D su ocijenjeni od 1,67 u uzorku 1DGI do 1,90 u uzorcima 2DGH i 3DGH. Na osnovu navedenih rezultata može se vidjeti da su najveće ocjene za ukupni utisak dobili uzorci C u koje je dodano 10 % soka od aronije.

Tabela 4.76. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 20 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca G

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1DGH	1,83 ± 0,29	0,73 ± 0,03	1,37 ± 0,12	1,83 ± 0,06
1DGI	1,65 ± 0,13	0,65 ± 0,13	1,13 ± 0,12	1,67 ± 0,06
1DGJ	1,80 ± 0,00	0,75 ± 0,05	1,25 ± 0,05	1,70 ± 0,10
2DGH	2,00 ± 0,00	0,73 ± 0,03	1,47 ± 0,06	1,90 ± 0,10
2DGI	1,72 ± 0,03	0,68 ± 0,16	1,00 ± 0,00	1,70 ± 0,10
2DGJ	1,80 ± 0,00	0,73 ± 0,03	1,27 ± 0,03	1,87 ± 0,12
3DGH	2,00 ± 0,00	0,72 ± 0,03	1,40 ± 0,10	1,90 ± 0,10
3DGI	1,72 ± 0,03	0,68 ± 0,16	1,00 ± 0,00	1,70 ± 0,10
3DGJ	1,87 ± 0,12	0,72 ± 0,03	1,28 ± 0,03	1,80 ± 0,20

5. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata izvedeni su sljedeći zaključci:

- Hladno cijedeni sok od aronije je pokazao izražena antioksidativna i antimikrobna svojstva na osnovu čega se može zaključiti da on predstavlja dobru polaznu sirovinu za dobijanje medovine čime se teže poboljšati funkcionalne karakteristike finalnog proizvoda.
- Analizom fizičko-hemijskih svojstava tri odabrane vrste meda (cvjetni med, šumski med, medljikovac) utvrđeno je da su vrijednosti analiziranih parametara u skladu sa važećim Pravilnikom, izuzev vrijednosti električne provodljivosti u šumskom medu koja se može objasniti višim sadržajem pepela.
- Primjenom kvalitativnih testova utvrđeno je da su sve tri vrste meda dobijene prirodnim putem bez tragova falsifikovanja.
- Analizom antioksidativnih svojstava tri odabrane vrste meda utvrđeno je da na osnovu sadržaja ukupnih fenola, sadržaja flavonoida, FRAP, DPPH i ABTS testova najbolju antioksidativnu aktivnost pokazao uzorak medljikovca, zatim šumskog meda, dok je najnižu pokazao uzorak cvjetnog meda.
- Analizom mikrobiološkog statusa meda utvrđeno je da su sva tri meda odgovarajućeg mikrobiološkog kvaliteta bez tragova kontaminacije, uz činjenicu da nije detektovana nijedna vrsta ispitivanih mikroorganizama.
- Analizom antimikrobnih svojstava utvrđeno je da je u pogledu MIC i MBC vrijednosti za bakterije *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* i *P. aeruginosa* najbolje rezultate pokazao šumski med, neznatno slabiji rezultati dobijeni za uzorak medljikovca, dok je najslabije rezultate pokazao cvjetni med.
- Najviše vrijednosti sadržaja mineralnih materija (izuzev za Zn i Al), koje mogu da igraju važnu ulogu u toku alkoholne fermentacije, su dobijeni za uzorke medljikovca i šumskog meda, dok je niže vrijednosti imao uzorak cvjetnog meda.
- Nakon izvršenih analiza tri vrste meda, zbog izraženih antioksidativnih i antimikrobnih svojstava, visokog sadržaja mineralnih materija, kao i fizičko-hemijskih svojstava koji su u skladu sa važećim regulativama, kao najpogodnija vrsta za nastavak eksperimenta odabran je uzorak medljikovca.
- Tretmani medljikovca koji su podrazumijevali tri temperaturna tretmana, tri tretmana UV zračenjem i devet ultrazvučnih tretmana su imali za cilj da se ispita njihov uticaj na funkcionalna svojstva sirovine. Na osnovu rezultata provedenih analiza potvrđeno je da je došlo do značajnijih promjena u svim parametrima fizičko-hemijske analize.
- Analizom antioksidativnih svojstava medljikovca nakon izvršenih tretmana uočeno je da su pojedinačni tretmani različito uticali na antioksidativna svojstva koja su izražena kao sadržaj ukupnih fenola i flavonoida, FRAP, DPPH i ABTS testovi, te da su pojedinačni tretmani doveli do povećanja ali i do smanjenja vrijednosti navedenih parametara. Postoji značajna pozitivna linearna korelacija između sadržaja ukupnih fenola i flavonoida sa testovima FRAP i DPPH, a negativna sa ABTS testovima, što ukazuje na zavisnost navedenih testova od fenolnih jedinjenja prisutnih u medljikovcu. U pogledu HPLC analize, od korištenih 10 standarda detektovani su katehin, malvidin

i galna kiselina. Kod najvećeg broja uzoraka je izmjereno povećanje sadržaja ovih jedinjenja u tretiranim uzorcima u odnosu na netretirani medljikovac.

- Analizom antimikrobnih svojstava medljikovca nakon primjene temperaturnih tretmana, tretmana UV zračenjem i ultrazvučnih tretmana uočeno je da je za pojedine uzorke došlo do povećanja, ali i do smanjenja ovih svojstava u pogledu MIC i MBC vrijednosti za bakterije *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* i *P. aeruginosa*.
- Primjena tretmana je dovela do značajnih razlika između tretiranih i netretiranog medljikovca u pogledu senzornih svojstava, što je izraženo kroz ocjenu razlike u boji, konzistenciji i teksturi, mirisu, ukusu i aromi, ali i cjelokupnom utisku.
- Nakon izvršenih tretmana medljikovca primjenjena je optimizacija pomoću RSM metode, koja je za cilj imala poređenje parametara antioksidativnih svojstava unutar tri grupe tretmana (temperaturni, ultrazvučni i djelovanje UV zraka). Na osnovu dobijenih vrijednosti F, p, Adjusted R² i Predicted R² kao optimalni tretman iz grupe temperaturnih tretmana odabran je tretman na temperaturi 65 °C u trajanju od 10 min, iz grupe tretmana UV zracima na 254 nm odabran je tretman trajanja 120 s, a iz grupe ultrazvučnih tretmana odabran je tretman pri 60 °C u trajanju od 1 min.
- U rastvore koji su pripremljeni razblaživanjem tretiranog medljikovca sa vodom dodan je hladno cijeđeni sok od aronije u količinama od 0, 5, 10 i 20 % (v/v). Analizom fizičko-hemijskih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju utvrđeno je da je sa povećanjem količine dodanog soka došlo do pada pH vrijednosti i sadržaja suve materije, kao i do povećanja kiselosti i sadržaja YAN.
- Analizom antioksidativnih svojstava polaznih rastvora potvrđeno je da je sa povećanjem količine hladno cijeđenog soka od aronije došlo do poboljšanja antioksidativnih svojstava koja su rezultovala povećanjem sadržaja ukupnih fenola i flavonoida, povećanjem FRAP i DPPH, a smanjenjem ABTS vijednosti. U pogledu antimikrobnih svojstava polaznih rastvora za fermentaciju može se zaključiti da ona u najvećem dijelu zavise od antimikrobnih svojstava, nezavisno od količine dodanog soka.
- Ispitivanjem mogućnosti primjene različitih kvasaca u fermentaciji medovine, ustanovljeno je postojanje statistički značajne razlike u pogledu fermentativnih karakteristika različitih komercijalnih sojeva pod primijenjenim eksperimentalnim uslovima. Optimizacija procesa proizvodnje medovine je izvršena sa ciljem praćenja kinetike proizvodnje etanola i dobijanje rezultata uklapanja eksperimentalnih podataka u modifikovanu Gompertz-ovu krivu. Rezultati optimizacije ukazuju na podatke o trajanju lag faze tokom procesa alkoholne fermentacije, na osnovu čega je uočeno da lag faza zavisi od vrste i količine dodanog kvasca, te da je u najvećem broju slučajeva ova faza fermentacije najkraće trajala u uzorcima u koje je dodan kvasac Fermol Lager (G), zatim Fermol Associates (E), a najduže za kvasac Spiriferum za koji u pojedinim uzorcima eksponencijalna faza nije postignuta ni nakon 21 dan. Takođe kod većeg broja uzoraka u koje su dodani kvasci G i E je uočeno da je veća količina kvasca dovela do bržeg početka eksponencijalne faze, što se ne može primjetiti kod uzoraka sa dodatkom kvasca F. U najvećem broju uzoraka maksimalna koncentracija etanola je postignuta u uzorcima sa dodatkom kvasca G. U pogledu dodatka soka od aronije s ciljem postizanja veće brzine alkoholne fermentacije ne može se donijeti jedinstven zaključak, jer je ova konstatacija potvrđena samo za jedan dio uzoraka koji su imali istu vrstu i količinu kvasca.

- Sadržaj suve materije u polaznim rastvorima za fermentaciju se kretao od 18,00 % do 18,50 %, a nakon završetka fermentacije u granicama od 7,80 % do 11,50 %, što ukazuje da je veći dio suve materije iskorišten u fermentaciji, dok ostatak suve materije može da bude posljedica prisustva nefermentabilnih šećera u medu. Sadržaj etanola u medovinama se kretao od 8,16 vol. % do 14,81 vol. %. Pored sadržaja suve materije i sadržaja etanola uočeno je da je pH vrijednost u medovinama neznatno niža od pH vrijednosti u polaznim rastvorima za fermentaciju, što je vjerovatno posljedica proizvodnje kiselina tokom alkoholne fermentacije.
- Ukoliko se uporede antioksidativna svojstva polaznih rastvora za fermentaciju i medovina, može se primjetiti da je kod najvećeg broja uzoraka sadržaj ukupnih fenola i flavonoida veći u medovinama nego u polaznim rastvorima za fermentaciju, kao i da su vrijednosti FRAP i DPPH više, a vrijednosti ABTS niže, što ukazuje na poboljšanje funkcionalnih svojstava medovine kao finalnog proizvoda, odnosno ukazuje na mogućnost postojanja uticaja procesa fermentacije i proizvoda koji nastaju u toku fermentacije na antioksidativna svojstva medovine.
- Proizvedene medovine pokazuju značajnu antimikrobnu aktivnost na bakterije *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* i *P. aeruginosa*. Može se zaključiti da ne postoje značajne razlike u rezultatima antimikrobnih svojstava u pogledu količine dodanog soka od aronije, kao i vrste i količine upotrijebljenog komercijalnog kvasca.
- Senzornom analizom je ustanovljeno da postoje značajne razlike u medovinama koje sadrže različite količine soka od aronije, te da se te razlike ogledaju u svim analiziranim svojstvima. Na osnovu ispitanih parametara, najbolje prosječne ocjene su uočene u uzorcima u koje je dodano 10 % soka od aronije.

6. LITERATURA

- Absec, A., Basić, I. (2003): Biotehnološka proizvodnja medice. *Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Živilska tehnologija*
- Acquarone, C., Buera, P., Elizalde, B. (2007): Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry* 101 (2) 695-703. doi:10.1016/j.foodchem.2006.01.058
- Adadi, P., Obeng, A. K. (2017): Assessment of bacterial quality of honey produced in Tamale metropolis (Ghana). *Journal of Food and Drug Analysis* 25, 369-373.
- Adam, L., Versini, G. (1996): A study on the possibilities to lower the content of methyl-alcohol in eaux-de-vie de fruits. *European Commission, Directorate-General XII Science, Research and Development, Brussels, Belgium*
- Adamenko, K., Kawa-Rygielska, J., Kucharska, A. Z., Piórecki, N. (2018): Characteristics of Biologically Active Compounds in Corelian Cherry Meads. *Molecules* 23. doi:10.3390/molecules23082024
- Adams, S. L., Niesen, G. V., Ky, L., Seagram, J. E. (1963): Honey beverage and process for making it. *United States Patent Office*
- Adriana, C., Cornelia, P. (2011): The effect of thermal tratament on fresh monofloral honey types from bihor county. *Analele Universităţii din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie si Tehnologii de Industrie Alimentară*
- Adžić, D. (2014): Optimiziranje procesa konvekcijskog sušenja hrastvog drveta premazanog zaštitnim sredstvom „čuvar fronta“. *Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek, diplomski rad*
- Akalin, H., Bayram, M., Anli, R. E. (2017): Determination of some individual phenolic compounds and antioxidant capacity of mead produced from different types of honey. *Journal of the Institute of Brewing* 123, 167-174. doi:10.1002/jib.396
- Albaridi, N. A. (2019): Antibacterial Potency of Honey. *International Journal of Microbiology*. doi.org/10.1155/2019/2464507
- Almeida, E. L. M., Silva, G. M., Vassalli, I. A., Silva, M. S., Santana, W. C., Silva, P. H. A., Eller, M. R. (2020): Effects of nitrogen supplementation on *Saccharomyces cerevisiae* JP14 fermentation for mead production. *Food Science and Technology* 40 (1) 336-343, doi:10.1590/fst.11219
- Almeida-Muradian, L. B., Stramm, K. M., Horita, A., Barth, O. M., Freitas, A. S., Estevinho, L. M. (2013): Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. *Internatonal Journal of Food Science and Technology* 48, 1698-1706. doi:10.1111/ijfs.12140
- Altun, S. K., Dinç, H., Paksoy, N., Temamoğullari, 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*. doi:10.1155/2017/6391454
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., Battino, M. (2010): Antioxidant and antimicrobial

capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology* (48) 2490-2499. doi:10.1016/j.fct.2010.06.021

- Alvarez-Suarez, J. M., Gasparrini, M., Forbes-Hernández, T. Y., Mazzoni, L., Giampieri, F. (2014): Review: The Composition and Biological Activity of Honey: A Focus on Manuka Honey. *Foods* (3) 420-432; doi:10.3390/foods3030420
- Alves, A., Ramos, A., Gonçalves, M. M., Bernardo, M., Mendes, B. (2013): Antioxidant activity, quality parameters and mineral content of portugese monofloral honeys. *Journal of Food Composition Analysis* 30, 130-138, doi: 10.1016/j.jfca.2013.02.009
- Alzahrani, H. A., Boukraa, L., Bellik, Y., Abdellah, F., Bakhotmah, B. A., Kolayli, S., Sahin, H. (2012): Evaluation of the antioxidant activity of three varieties of honey from different botanical and geographical origins. *Global Journal of Health Science* 4 (6) 191-196, doi:10.5539/gjhs.v4n6p191.
- Amorium, T. S., Lopes, S. B., Bispo, J. A. C., Bonafe, C. F. S., Carvalho, G. B. M., Martínez, E. A. (2018): Influence of acerola pulp concentration on mead production by *Saccharomyces cerevisiae* AWRI 796. *LWT-Food Science and Technology*. doi:10.1016/j.lwt.2018.07.009
- Anacleto, A. D., Marchini, L. C. (2004): Composição físico química de amostras de méis de *Apis mellifera* L. provenientes do Cerrado Paulista. *Boletim de Indústria Animal* 61 (2) 161-172
- Arima, H., Ashida, H., Danno, G. (2002): Rutin-enhanced antibacterial activities of flavonoids against *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 65 (5) 1009-1014, doi:10.1271/bbb.66.1009
- Bahiru, B., Mehari, T., Ashenafi, M. (2001): Chemical and nutritional properties of 'tej', an indigenous Ethiopian honey wine: variations within and between production units. *The Journal of Food Technology in Africa* 6, 104-108, doi:10.4314/jfta.v6i3.19299
- Balogu, T. V., Towobola, O. (2017): Production and Quality Analysis of Wine from Honey and Coconut Milk Blend Using *Saccharomyces cerevisiae*. *Fermentation* 3 (16). doi:10.3390/fermentation3020016
- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S. K. (2016): Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2) 71-79, doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005
- Barbosa, C., Falco, V., Mendes-Faia, A., Mendes-Ferreira, A. (2009): Nitrogen addition influences formation of aroma compounds, volatile acidity and ethanol in nitrogen deficient media fermented by *Saccharomyces cerevisiae* wine strains. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 108 (2) 99-104. doi: 10.1016/j.jbiosc.2009.02.017
- Bardy, J., Slevin, N. J., Mais, K. L., Molassiotis, A. (2008): A systematic review of honey uses and its potential value within oncology care. *Journal of Clinical Nursing* 17, 2604-2623
- Basmaci, İ. (2010): Effect of Ultrasound and High Hydrostatic Pressure (HHP) on liquefaction and quality parameters of selected honey varieties. *The graduate school of natural and applied sciences of Middle East Technical University*.

- Bataraga, A., Valkovska, V. (2020): Phytochemical Profile of Chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Key Engineering Materials* 850, 184-189. doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.850.184
- Bénes, I., Furdíková, K., Šmorgovičová, D. (2015): Influence of *Saccharomyces cerevisiae* Strain on the Profile of Volatile Organic Compounds of Blossom Honey Med. *Czech Journal of Food Science* 33 (4) 334-339. doi:10.17221/48/2015-CJFS
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996): Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239 (1) 70-76. doi:10.1006/abio.1996.0292
- Bertonecelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M., Golob, T. (2007): Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry* 105, 822-828.
- Bilić, D. P. (2017): Utjecaj načina ekstrakcije na prinos bioaktivnih spojeva iz praha aronije (*Aronia melanocarpa* L.). *Univerzitet u Zagrebu, Agronomski fakultet, diplomski rad*
- Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., Robinson, R. K. (2000): Existing and potential applications of the ultraviolet light in the food industry – A critical review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80 (6) 637-645. doi:10.1002/(SICI)1097-0010(20000501)80:6<637::AID-JSFA603>3.0.CO;2-1
- Błaszczak, W., Amarowicz, R., Górecki, A. R. (2017): Antioxidant capacity, phenolic composition and microbial stability of aronia juice subjected to high hydrostatic pressure processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 39, 141-147. doi: 10.1016/j.ifset.2016.12.005
- Blidi, S., Gotsiou, P., Loupassaki, S., Grigorakis, S., Calokerinos, A. C. (2017): Effect of Thermal Treatment on the Quality of Honey Samples from Crete. *Food Science and Engineering* 1 (1). doi.org/10.22606/afse.2017.11001
- Boban, N., Tonkic, M., Budimir, D., Modun, D., Sutlovic, D., Punda-Polic, V., Boban, M. (2010): Antimicrobial effects of Wine: Separating the Role of Polyphenols, pH, Ethanol and Other Wine Components. *Journal of Food Science* 75 (5). doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01622.x
- Bogdanov, S. (1997): Antibacterial substances in honey. *Swiss Bee Research Center* 8, 1-10.
- Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., Odo, L. P., Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Piro, R., Flamini, C., Morlot, M., Lhereiter, J., Borneck, R., Marioleas, P., Tsigouri, A., Karkvliet, J., Ortiz, A., Ivanov, T., Darcy, B., Mossel, B., Vit, P. (2000): Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Honey Commission. *Swiss Bee Research Centre*
- Bogdanov, S., Ruoff, K., Oddo, P. L. (2004): Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie* 35, 4-17. doi:10.1051/apido:2004047
- Bogdanov, S., Haldimann, M., Luginbühl, W., Gallmann, P. (2007): Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 46 (4) 269-275.

- Bolling, B. W., Taheri, R., Pei, R., Kranz, S., Yu, M., Durocher, S. N., Brand, M. H. (2015): Harvest date affects aronia juice polyphenols, sugars and antioxidant activity, but not antocyanin stability. *Food Chemistry* 187, 189-196.
- Boncheva, M., Turnovska, T. (2014): Administration of bioflavonoides improves plasma levels of adipocyte hormones. *Acta Medica Bulgarica*
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995): Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technologie* 30 (7) 748-753. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Bräunlich, M., Økstad, O. A., Sliemstad, R., Wangensteen, H., Malterud, K. E., Barsett, H. (2013): Effects of *Aronia melanocarpa* Constituents on Biofilm Formation of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. *Molecules* 18. doi:10.3390/molecules181214989
- Buba, F., Gidado, A., Shugaba, A. (2013): Physicochemical and Microbiological Properties of Honey from North East Nigeria. *Biochemistry & Analytical Biochemistry* 2 (142). doi:10.4172/2161-1009.1000142
- Bucekova, M., Buriova, M., Pekarik, L., Majtan, V., Majtan, J. (2018): Phytochemicals-mediated production of hydrogen peroxide is crucial for high antibacterial activity of honeydew honey. *Scientific Reports* 8, 1-9, 9061. doi.org/10.1038/s41598-018-27449-3
- Bueno-Costa, F. M., Zambiasi, R. C., Bohmer, B. W., Chaves, F. C., da Silva, W. P., Zanusso, J. T., Dutra, I. (2016): Antibacterial and antioxidant activity of honeys from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *LWT-Food Science and Technology* 65, 333-340. doi:10.1016/j.lwt.2015.08.018
- Bujan, F. (2016): Primjena metode odzivnih površina u optimizaciji parametara procesa biološke obrade otpadnih voda u bioreaktoru s mikrobnim biofilmom. *Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, diplomski rad*
- Catania, P., Vallone, M., Planeta, D., Pipitone, F. (2010): Analysis of the filtration efficiency of white wines using different filter aids. *Journal of Agricultural Engineering* 41 (1) 7-11. doi:10.4081/jae.2010.1.7
- Chaikham, P., Prangthip, P. (2015): Alteration of antioxidative properties of longan flower-honey after high pressure, ultra-sonic and thermal processing. *Food Bioscience* 10, 1-7. doi: 10/1016/j.fbio.2015.01.002
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., Rakariyatham, N. (2005): Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry* 92, 491-497. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.07.035
- Chen, C. H., Wu, L. Y., Lo, D., Wu, M. C. (2013): Physicochemical property changes during the fermentation of longan (*Dimocarpus longan*) mead and its aroma composition using multiple yeast inoculations. *Journal of the Institute of Brewing* 119, 303-308.
- Chitarrini, G., Debiasi, L., Stuffer, M., Ueberegger, E., Zehetner, E., Jeager, H., Robatscher, P., Conterno, L. (2020): Volatile Profile of Mead Fermenting Blossom Honey and Honeydew Honey with or without *Ribes nigrum*. *Molecules* 25. doi:10.3390/molecules25081818
- Choudhary, R., Bandla, S. (2012): Ultraviolet Pasteurization for Food Industry. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering* 2 (1) 12-15. doi: 10.5923/j.food.20120201.03

- Chowdhury, S., Yusof, F., Sulaiman, N., Faruck, O. M., Sidek, S. N. (2016): Modelling and Optimization of Process Parameters for Silver Nanoparticles Synthesis: A Comparison Between Response Surface Methodology and Artificial Neural Network. *International Conference Biotechnology Engineering, Malaysia*
- Chua, L. S., Lee, J. Y., Chan, G. F. (2013): Honey protein extraction and determination by mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405, 3063-3074.
- Chua, L. S., Adnan, N. A. (2014): Biochemical and nutritional components of selected honey samples. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 13 (2) 169-179.
- Chua, L. S., Adnan, N. A., Abdul-Rahaman, N. L., Sarmidi, M. R. (2014): Effect of thermal treatment on the biochemical composition of tropical honey samples. *International Food Research Journal* 21 (2) 773-778.
- Ciocoiu, M., Badescu, L., Miron, A., Badescu, M. (2013): The Involvement of a Polyphenol-Rich Extract of Black Chokeberry in Oxidative Stress on Experimental Arterial Hypertension. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi.org/10.1155/2013/912769
- Ciric, J., Sando, D., Spiric, D., Janjic, J., Boskovic, M., Glisic, M., Baltic, M. Z. (2018): Characterisation of Bosnia and Herzegovina honeys according to their physico-chemical properties during 2016-2017. *Meat technology* 59 (1) 46-53. doi.org/10.18485/meattech.2018.59.1.6
- Cisowska, A., Wojnicz, D., Hendrich, A. B. (2011): Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Natural Product Communications* 6 (1) 149-156.
- Codex Alimentarius Commission. Revised codex standard for honey. Codex Stan. 2001, 12, 1-8.
- Conforti, P. A., Lupano, C. E., Malacalza, N. H., Arias, V., Castells, C. B. (2006): Crystallization of honey at -20 °C. *International Journal of Food Properties* 9, 99-107. doi:10.1080/10942910500473962
- Coolborn, A. F., Adetoun, L. H. (2016): Physicochemical analysis and mineral contents of honey from farmers in Western States of Nigeria. *Journal of Natural Sciences Research* 6 (19).
- Cooper, R. A., Molan, P. C., Harding, K. G. (2002): The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *Journal of Applied Microbiology* 93, 857-863.
- Corona, A., Pupillo, M., Trotta, A., Quaglio, P. (2001): Antimicrobial effect of alcoholic solutions on food-borne pathogens. *Journal of Food Chemistry* 60, 315-318.
- Cristina, Ş. A., Mărghitaş, L. A., Adrian, T. (2014): UV sterilization of honey. *Anele Universităţii din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie și Tehnologii de Industrie Alimentară Vol. XIII/B*
- Csapó, J., Prokisch, J., Albert, C., Sipos, P. (2019): Effect of UV light on food quality and safety. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria* 12, 21-41. doi:10.2478/ausal-2019-0002
- Çubukçu, H. C., Kiliçaslan, N. S. D., Durak, İ. (2019): Different effects of heating and freezing treatments on the antioxidant properties of broccoli, cauliflower, garlic and onion. An experimental in vitro study. *Sao Paulo Medical Journal* 137 (5). doi: 10.1590/1516-3180.2019.004406082019

- Cuenca, M., Fuenmayor, C., Benedetti, S., Buratti, S. (2015): Mead Fermentation Process Monitoring by Using Analytical Semiobjective Techniques. *Chemical Engineering Transactions* 43. doi:10.3303/CET1543006
- Cuenca, M., Ciesa, F., Romano, A., Robatscher, P., Scampicchio, M., Biasioli, F. (2016): Mead fermentation monitoring by proton transfer reaction mass spectrometry and medium infrared probe. *European Food Research and Technology* 242, 1755-1762. doi: 10/1007/s00217-016-2675-3
- Czabaj, S., Kawa-Rygielska, J., Kucharska, A. Z., Kliks, J. (2017): Effects of Mead Wort Heat Treatment on the Mead Fermentation Process and Antioxidant Activity. *Molecules* 22. doi:10.3390/molecules22050803
- Čunović, I. (2017): Hipoglikemijski učinak *Betule pendule*, Roth. (Betulaceae) na aktivnost piruvat kinaze u HepG2 stanicama u hiperglikemijskim uvjetima. *Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, diplomski rad*
- D'Arcy, B. R. (2007): High-power Ultrasound to Control of Honey Crystallisation. *Rural Industries Research and Development Corporation*
- 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. doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051
- Demewez, M. H., Hulugeze, G. S., Getenet, B. G. (2012): Effect of improved preparation methods on physicochemical characteristics and consumer acceptability of honey wine (mead). *Africal Journal of Food Science and Technology* 3 (9) 227-235.
- Denev, P. N., Kratchanov, C. G., Ciz, M., Lojek, A., Kratchanova, M. G. (2012): Bioavailability and Antioxidant Activity of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Polyphenols: *in vitro* and *in vivo* Evidences and Possible Mechanisms of Action: A Review. *Food Science and Food Safety* 11. doi:10.1111/j.1541-4337.2012.00198.x
- Denev, P., Kratchanova, M., Petrova, I., Klisurova, D., Georgiev, Y., Ognyanov, M., Yanakieva, I. (2018): Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) Fruits and Functional Drinks Differ Significantly in Their Chemical Composition and Antioxidant Activity. *Hindawi Journal of Chemistry*. doi:10.1155/2018/9574587
- Denev, P., Číž, M., Kratchanova, M., Blazheva, D. (2019): Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols reveal different antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities. *Food Chemistry* 284, 108-117. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.108
- Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution (2000) European Committee for Antibacterial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID).
- Dezmirean, G. I., Mărghițaș, L. A., Bobiș, O., Dezmirean, D. S., Bonta, V., Erler, S. (2012): Botanical Origin Causes Changes in Nutritional Profile and Antioxidant Activity of Fermented Products Obtained from Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60, 8028-8035. doi.org/10.1021/jf3022282
- Dhahir, S. A., Hemed, A. H. (2015): Determination of Heavy Metals and Trace Element Levels in Honey Samples From Different Regions of Iraq and Compared with Other Kind. *American Journal of Applied Chemistry* 3 (3) 83-92. doi:10.11648/j.ajac.20150303.11

- Dobrowolska-Iwanek, J. (2015): Simple Method for Determination of Short-Chain Organic Acid in Mead. *Food Analytical Methods* 8, 2356-2359. doi:10.1007/s12161-015-0127-5
- Dodić, M. J., Vučurović, D. G., Dodić, S. N., Grahovac, J. A., Popov, S. D., Nedeljković, N. M. (2012): Kinetic modelling of batch ethanol production from sugar beet raw juice. *Applied Energy* 99, 192–197. doi: 10.1016/j.apenergy.2012.05.016
- Dugalić-Vrندیć, N., Pešić-Mikulec, D., Baltić, M. (2005): Delovanje prirodne aktivnosti meda na neke vrste mikroorganizama. *Veterinarski glasnik* 59, 275-281.
- Džugan, M., Grabek-Lejko, D., Sidor, E., Tomczyk, M. (2021): The impact of ultrasound decrystallization on enzymatic, antioxidant and antibacterial properties of honey. doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102709
- Efenberger-Szmechtyk, M., Nowak, A., Czyżowska, A., Kucharska, A. Z., Fecka, I. (2020): Composition and Antibacterial Activity of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot, *Cornus mas* L. and *Chaenomeles superba* Lindl. Leaf Extracts. *Molecules* 25. doi:10.3390/molecules25092011
- Eloff, J. N., Angeh, I. E., McGaw, L. J. (2017): Solvent-solvent fractionation can increase the antifungal activity of a *Melianthus comosus* (*Melianthaceae*) acetone extract to yield a potentially useful commercial antifungal product. *Industrial Crops and Products* 110, 103-112
- Eloff, J. N. (2019): Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC Complementary and Alternative Medicine*
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., Wahab, M. S. A. (2012): Review: Fructose Might Contribute to the Hypoglycemic Effect of Honey. *Molecules* 17, 1900-1915. doi:10.3390/molecules17021900
- Eschriche, I., Visquert, M., Carot, J. M., Doménech, E., Fito, P. (2008): Effect of Honey Thermal Conditions on Hydroxymethylfurfural Content Prior to Pasteurization. *Food Science and Technology International* 14, 29-35. doi:10.1177/1082013208094580
- Eshete, Y., Eshete, T. (2019): A Review on the Effect of Processing Temperature and Time duration on Commercial Honey Quality. *Madridge Journal of Food Technology* 4 (1) 159-163. doi:10.18689/mjft-1000124
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, E. (2008): Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal Honey. *Food and Chemical Technology* 46, 3774-3779.
- Fallico, B., Zappalá, M., Arena, E., Antonella, V. (2004): Effects of conditioning of HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry* 85 (2) 305-313. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.07.010
- Fallico, B., Arena, E., Zappala, M. (2008): Degradation of 5-Hydroxymethylfurfural in Honey. *Journal of Food Science* 73 (9). doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00946.x
- Fauzi, N. A. M. (2014): Quality Improvement of Manuka Honey Through the Application of High Pressure Processing. *University of Auckland, Philosophy in Chemical and Materials Engineering*
- Fikselová, M., Kačáinová, M., Hleba, L. (2014): Antimicrobial and antioxidant activity of natural honeys of different origin. *Animal Science and Biotechnologies* 47 (2) 218-224.

- Fiț, N. I., Chirilă, F., Nadăș, G., Negrea, O., Bobiș, O., Mărghitaș, L. (2014): Assessment of the Antimicrobial Effect of Honey, Treated By Heat and Ultraviolet Radiation. *Veterinary Medicine* 71 (2). doi:10.15835/buasvmnc-vm:10738
- Flanjak, I., Primorac, Lj., Bilić, B., Novak, M., Stokanović, M. C., Kenjeric, D. (2016): Evaluation of 5-(hydroxymethyl)furan-2-carbaldehyde (HMF) content in honey: comparison of chromatographic and spectrophotometric method. *Josip Juraj Strossmayer, University of Osijek, Faculty of Food Technology*.
- 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) 99-106.
- Gangl, H., Lopandic, K., Tscheik, G., Mandl, S., Leitner, G., Wechselberger, K., Batusic, M., Tiefenbrunner, W. (2018): Fermentation characteristics of mead and wine generated by yeasts isolated from beehives of two Austrian regions. doi.org/10.1101/300780
- Giorgiana, S. O., Marghitas, L. A., Bobis, O., Popescu, O., Bonta, V., Maghearm O., Dezmirean, D. (2008): Correlation between the phenolic content and antioxidant capacity of declared honeydew honeys produced in Transylvania. *Bulletin UASVM Animalc Science and Biotechnologies* 65 (1-2).
- Gleiter, R. A., Horn, H., Isengard, H. D. (2006): Influence of Type and State of Crystallisation on the Water Activity of Honey. *Food Chemistry* 96, 441-445.
- Gobin, I., Vučković, D., Lušić, D. (2014): Antibakterijska svojstva meda. *Medicina fluminensis* 50 (2) 150-157.
- Gomes, S., Dias, L. G., Moreira, L. L., Rodrigues, P., Estevinho, L. (2009): Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and chemical toxicology*, doi: 10.1016/j.fct.2009.11.029
- Gomes, T., Barradas, C., Dias, T., Verdial, J., Morais, J. S., Ramalhosa, E., Estevinho, L. M. (2013): Optimization of mead production using Response Surface Methodology. *Food and Chemical Toxicology* 59, 680-686. doi:10.1016/j.fct.2013.06.034
- Gomes, T., Dias, T., Cadavez, V., Verdial, J., Morais, J. S., Ramalhosa, E., Estevinho, L. M. (2015): Influence of Sweetness and Ethanol Content on Mead Acceptability. *Polish Journal of Food and Nutrition Science* 65 (2) 137-142. doi:10.1515/pjfn-2015-0006
- Gonnet, M., Lavie, P., Louveaux, J. (1964): La pasteurisation des miels. *Annales Abeilles* 7 (2) 81-102.
- Gradvol, V., Atlaban, N., Lenart, L., Pavlović, H. (2015): Microbiological quality and inhibitory potential of selected Croatian apiary honeys. *Croatian Journal of Food Science and Technology* 7 (2) 40-46. doi:10.17508.CJFST.2015.7.2.07.
- Grujić, S. (2015): Senzorna ocjena kvaliteta i prihvatljivosti prehrambenih proizvoda. *Tehnološki fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci*
- Gupta, J. K., Sharma, R. (2009): Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines: A review. *Natural Product Radiance* 8 (4) 345-355.
- Halouzka, R., Tarkowski, P., Zeljković, S. Č. (2016): Characterisation of Phenolics and other Quality Parameters of Different Types of Honey. *Czech Journal of Food Sciences*. doi:10.17221/321/2015-CJFS

- Hasan, S. H. (2013): Effect of Storage and Processing Temperatures on Honey Quality. *Journal of Babylon University* 21 (6).
- Hernández, C. Y., Serrato, J. C., Quicazan, M. C. (2015): Evaluation of Physicochemical and Sensory Aspects of Mead, Produced by Different Nitrogen Sources and Commercial Yeast. *Chemical Engineering Transactions* 43. doi:10.3303/CET1543001
- <https://biomed.ba/blog/aronija/>
- Hussein, S. Z., Yusoff, K. M., Makpol, S., Yusof, Y. A. M. (2011): Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Molecules* 16, 6378-6395. doi:10.3390/molecules16086378
- Iglesias, A., Pascoal, A., Choupina, A. B., Carvalho, C. A., Feás, X., Estevinho, L. M. (2014): Developments in the Fermentation Process and Quality Improvement Strategies for Mead Production. *Molecules* 19, 12577-12590. doi:10.3390/molecules190812577
- Ioannou, I., Chekir, L., Ghoul, M. (2020): Effect of Heat Treatment and Light Exposure on the Antioxidant Activity of Flavonoids. *Processes* 8, 1078. doi:10.3390/pr8091078
- Islam, M. S., Patras, A., Pokharel, B., Wu, Y., Vergne, M. J., Shade, L., Xiao, H., Sanges, M. (2016): UV-C irradiation as an alternative disinfection technique: Study of its effect on polyphenols and antioxidant activity of apple juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 34, 344-351. doi: 10.1016/j.ifset.2016.02.009
- Jakobek, L., Šeruga, M., Medvidović-Kosanović, M., Novak, I. (2007): Antioxidant activity and polyphenols of Aronia in comparison to other berry species. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72, 301-306.
- James, S. J., James, C. (2014): Chilling and Freezing of Foods. *Food Processing: Principles and Applications*, Second Edition.
- Janghu, S., Bera, M. B., Nanda, V., Rawson, A. (2017): Study on Power Ultrasound Optimization and Its Comparison with Conventional Thermal Processing for Treatment of Raw Honey. *Food Technology and Biotechnology* 55 (4) 570-579. doi:10.17113/ftb.55.04.17.5263
- Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Dereń, M., Kafarski, P. (2012): Phenolic compounds and abscisic acid as potential markers for the floral origin of two Polish unifloral honey. *Food Chemistry* 131 (4) 1149-1156. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.09.083
- Jerković, I., Marijanović, Z. (2010): Oak (*Quercus frainetto* Ten.) Honeydew Honey- Approach to Screening of Volatile Organic Composition and Antioxidant Capacity (DPPH and FRAP assay). *Molecules* 15, 3744-3756. doi:10.3390/molecules15053744
- Jojriš, N. P. (1974): Pčele i medicina. *Nolit, Beograd*.
- Jokić, A. (2010): Modelovanje „cross-flow“ mikrofiltracije supsenzija kvasca primenom koncepta neuronskih mreža i postupka odzivne površine. *Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, doktorska disertacija*
- Jovanović, N. (2015): Antimikrobna i antioksidativna aktivnost različitih uzoraka meda iz okoline Niša. *Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, departman za biologiju i ekologiju, master rad*
- Jurikova, T., Mlcek, J., Skrovankova, S., Sumczynski, D., Sochor, J., Hlavacova, I., Snopek, L., Orsavova, J. (2017): Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases. *Molecules* 22, 944. doi:10.3390/molecules22060944

- Kabbani, D., Sepulcre, F., Gastón, E., Wedekind, J. (2011): High-Power Ultrasound Assisted Pasteurisation of Honey.
- Kačániová, M., Vukovic, N., Bobková, A., Fikselová, M., Rovná, K., Haščík, P., Čuboň, J., Hleba, L., Bobko, M. (2011): Antimicrobial and antiradical activity of Slovakian honeydew honey samples. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1 (3) 354-368.
- Kahoun, D., Řezková, S., Veškrnová, K., Královský, J., Holčápek, M. (2008): Determination of phenolic compounds and hydroxymethylfurfural in meads using high performance liquid chromatography with coulometric-array and UV detection. *Journal of Chromatography A* 1202, 19-33. doi: 10/1016/j.chroma.2008.06.016
- Kalogereas S. A. (1955): Preliminary report on the effect of ultrasonic waves on the crystallization of honey. *Science* 121, 339-340. doi:10.1126/science.121.3140.339
- Kawa-Rygielska, J., Adamenko, K., Kucharska, A. Z., Szatkowska, K. (2018): Fruit and herbal meads – chemical composition and antioxidant properties. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2019.01.040
- Kędzierska.Matysek, M., Florek, M., Wolanciuk, A., Skąlecki, P. (2016): Effect of freezing and room temperatures storage for 18 months on quality of raw rapeseed honey (*Brassica napus*). *Journal of Food Science Technology*. doi:10.1007/s13197-016-2313-x
- Kempka, A. P., Frühauf, M., Pagliarini, M. A., Matiello, J. A., Fachinello, F., Prestes, R. C. (2015): Influence of the addition of pollen and brewer`s yeast on growth of *Saccharomyces cerevisiae* in honey-must. *International Food Research Journal* 22 (3) 1288-1292.
- Khuri, A. I. (2017). A general overview of response surface methodology. *Biometrics and Biostatistics International Journal* 5 (3) 87-93. doi:10.15406/bbij.2017.05.00133
- Kirs, E., Pall, R., Martverk, K., Laos, K. (2011): Physicochemical and melissopalynological characterization of Estonian summer honeys. *Procedia Food Science*, 616-624. doi:10.1016/j.profoo.2011.09.093
- Koutchma, T. (2008): UV Light for Processing Foods. *The Journal of the International Ozone Association*, 93-98. doi:10.1080/01919510701816346
- Kováčik, J., Grúz, J., Biba, O., Hedbavni, J. (2016): Content of metals and metabolites in honey originated from the vicinity of industrial town Košice (eastern Slovakia). *Environmental Science and Pollution Research* 23, 5. doi:10.1007/s11356-015-5627-8
- Kowalski, S., Lukasiewicz, M., Bednarz, S., Panuś, M. (2012): Diastase Number Changes During Thermal and Microwave Processing of Honey. *Czech Journal of Food Sciences* 30 (1) 21-26.
- Krisch, J., Galgoczy, L., Tölgyesi, M., Papp, T., Vágvölgyi, C. (2008): Effect of fruit juices and pomace extracts on the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Acta Biologica Szegediensis* 52 (2) 267-279.
- Kukurová, K., Karovičová, J., Kohajdová, Z., Bíliková, K. (2008): Authentication of honey by multivariate analysis of its physico-chemical parameters. *Journal of Food and Nutrition Research* 47 (4) 170-180.
- Kulling, S. E., Rawel, H. M. (2008): Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A Review on the Characteristics Components and Potential Health Effects. *Planta Medica* 74, 1625-1634.
- Kwakman, P. H., Te Velde, A. A., De Boer, L., Vandenbroucke-Grauls, C. M., Zaat, S. A. (2010): How honey kills bacteria. *FASEB Journal* 24 (7) 2576-2582.

- Lachman, J., Orsák, M., Hejtmánková, A., Kovárová, E. (2010): Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. *LWT – Food Science and Technology* 43 (1) 52-58.
- Lakićević, S. (2019): Kinetika alkoholne fermentacije i karakterizacija vina dobijenog od šire sa dodatkom lekovitog bilja. *Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu, doktorska disertacija*
- Lazarević, K. B. (2016): Klasifikacija meda sa teritorije Republike Srbije prema botaničkom i regionalnom poreklu primenom multivarijantne hemometrijske analize. *Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, doktorska disertacija*
- Lazarević, K. B., Jovetić M. S., Tešić, Ž. Lj. (2017): Physicochemical Parameters as a Tool for the Assessment of Origin of Honey. *Journal of AOAC International* 100 (4). doi:10.5740/jaoacint.17-0143
- Leyva-Jiménez, F. J., Lozano-Sánchez, J., Borrás, I., Cádiz-Gurrea, M. L., Mahmoodi-Khaledi, E. (2019): Potential antimicrobial activity of honey phenolic compounds against Gram positive and Gram negative bacteria. *LWT – Food Science and Technology* 101, 236-245. doi:10.1016/j.lwt.2018.11.015
- Liberato, M C. T. C., Morais, S. M., Magalhães, I. L., Cavalcanti, D. B., Silva, M. M. O. (2013): Physicochemical properties and mineral and protein content of honey samples from Ceará State, Northeastern Brazil. *Food Science and Technology* 33 (1)
- Liebl, D. E. (1977): Method of preserving honey. *US Patent* No 4050952, 1p
- Liepiņa, I., Nikolajeva, V., Jākobsone, I. (2013): Antimicrobial activity of extracts from fruits of *Aronia melanocarpa* and *Sorbus aucuparia*. *Environmental and Experimental Biology* 11, 195-199.
- Liu, C., Cai, L., Lu, X., Han, X., Ying, T. (2012): Effect of Postharvest UV-C Irradiation on Phenolic Compound Content and Antioxidant Activity of Tomato Fruit During Storage. *Journal of Integrative Agriculture* 11 (1) 159-165.
- López-Rubira, V., Conesa, A., Allende, A., Artés, F. (2005): Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. *Postharvest Biology and Technology* 37, 174-185. doi:10.1016/j.postharvbio.2005.04.003
- Lusby, P. E., Coombes, A. L., Wilkinson, J. M. (2005): Bactericidal activity of different honeys opportunistic human pathogen. *Lancet Infectious Diseases*, 9, 312-323.
- Mahnot, M. K., Saikia, S., Mahanta, C. L. (2019): Quality characterization and effect of sonication time on bioactive properties of honey from North East India. *Journal of Food Science and Technology* 56, 724-736. doi: 10.1007/s13197-018-3531-1
- Majtan, J., Majtan, V. (2010): Is manuka honey the best type of honey for wound care?. *Journal of Hospital Infection* 73, 305-306. doi:10.1016/j.jhin.2009.08.010
- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M. C., Lerici, C. R. (2001): Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology* 11, 340-346.
- Marghitas, L. A., Dezmirean, D. S., Pocol, C. B., Ilea, M., Bobis, O., Gergen, I. (2010): The Development of a Biochemical Profile of Acacia Honey by Identifying Biochemical

Determinants of its Quality. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 38 (2) 84-90.

- Marinova, M., Gurgulova, K., Kalinova, G., Daskalov, H. (2015): Content of some heavy metals in Bulgarian honeydew honey. *Trakia Journal of Science* 13 (2) 296-302. doi:10.15547/tjs.2015.s.02.064
- Martínez, A. M., Vivas, G. J., Quicazán, M. C. (2016): Evaluation of Alcoholic Fermentation During the Production of Mead Using Immobilized Cells Kappa-Carrageenan. *Chemical Engineering Transactions* 49, 19-24. doi:10.3303/CET1649004
- Masalha, M., Abu-Lafi, S., Abu-Farich, B., Rayan, M., Issa, N., Zeidan, M., Rayan, A. (2018): A New Approach for Indexing Honey for Its Health/Medicinal Benefits: Visualization of the Concept by Indexing Based on Antioxidant and Antibacterial Activities. *Medicines* 5 (135). doi:10.3390/medicines5040135
- Mavric, E., Wittmann, S., Barth, G., Henle, T. (2008): Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituents of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Molecular Nutrition and Food Research* 52 (4) 483-489.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito M., Millogo, J., Nacoulma, O. G. (2005): Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry* 91, 571-577. doi:10.1016/j.foodchem.2004.10.006
- Mendes-Ferreira, A., Cosme, F., Barbosa, C., Falco, V., Inês, A. Mendes-Faia, A. (2010): Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. *International Journal of Food Microbiology* 144, 193-198. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.016
- Mercier, J. (1997): Role of phytoalexins and other antimicrobial compounds from fruits and vegetables in postharvest disease resistance. *Photochemistry of fruit and vegetables*, 221-241.
- Mikulić-Petkovsek, M., Slatnar, A., Bizjak, J., Stampar, F., Veberic, R. (2012): HPLC-MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. *Food Chemistry*, 135, 2138-2146.
- Miljić, U. (2015): Proizvodnja i ocena kvaliteta voćnog vina od sorti domaće šljive (*Prunus domestica* L.). *Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, doktorska disertacija*
- Mohammed, S. S. D., Yohanna, B., Wartu, J. R., Abubakar, N. L., Bello, S. (2018): Wine Produced from Fermentation of Honey Slurry and Dates Palm Fruit Juices Blend Using *Saccharomyces cerevisiae* Isolated From Palm Wine. *International Journal of Biology* 10, (3).
- Mohaptra, D. P., Thakur, V., Brar, S. K. (2011): Antibacterial efficacy of raw and processed honey. *Biotechnology Research International*. doi:10.4601/2011/917505
- Molan, P. C. (1992): The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity Variation in antibacterial activity. *Bee World* 73 (2) 59-76.
- Molan, P. C. (2001): Potential of honey in the treatment of wounds and burns. *American Journal of Clinical Dermatology* 2, 13-19.

- Moliné, M. P., Fernández, N. J., Medici, S. K., Fasce, D., Gende, L. B. (2015): Effect of Microwave Treatment on Microbial Contamination of Honeys and on Their Physicochemical and Thermal Properties. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 65 (2) 119-126. doi:10.1515/pjfn-2015-0031
- Montenegro, G., Mejías, E. (2013): Biological applications of honeys produced by *Apis mellifera*. *Biological Research* 46, 341-345.
- Monurizzaman, M., Khalil, M. I., Sulaiman, S. A., Gan, S. H. (2012): Advances in the analytical methods determining the antioxidant properties of honey: a review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 9 (1) 36-42. doi:10.4314/ajtcam.v9i1.5
- Morales, E. M., Alcarde, V. E., Angelis, D. F: (2013): Mead features fermented by *Saccharomyces cerevisiae* (lalvin k1-1116). *African Journal of Biotechnology* 12 (2) 199-204. doi:10.5897/AJB12.2147
- Nakai, S., Li-Chan C. Y. E., Dou, J. (2006): Experimental Design and Response-Surface Methodology. doi:10.1201/9781420015072.ch9
- Navrátil, M., Štrudík, E., Gemeiner, P. (2001): Batch and continuous mead production with pectate immobilised ethanol-tolerant yeast. *Biotechnology Letters* 23, 977-982.
- Neri, L., Faieta, M., Mattia, C. D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., Pittia, P. (2020): Antioxidant Activity in Frozen Plant Foods: Effect of Cryoprotectants, Freezing Process and Frozen Storage. *Foods* 9. doi:10.3390/foods9121886
- Ngoi, V. (2016): Effect of processing treatment on antioxidant, physicochemical and enzymatic properties of honey (*Trigona* spp.). *Universiti Tunku Abdul Rahman, Faculty of Science*.
- Noori, S. A. W., Faiza, S. A. W., Mohammed, A., Amjed, A., Khelod, Y. S., Ahmad, A. A. G. (2014): Effects of natural honey on polymicrobial culture of various human pathogens. *Archives of Medical Science* 10 (2) 246-250.
- Nunta, R., Intipunya, P. (2013): Effects of melting methods on properties of crystallized sunflower honey. *Proceedings of the 13th ASeam Food Conference, 9-11, Singapore*
- Ochmian, I., Grajkowski, J., Smolik, M. (2012): Comparison of some morphological features, quality and chemical content of four cultivars of chokeberry fruits (*Aronia melanocarpa*). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 40, 253-260.
- Oddo, L. P., Piro, R. (2004): Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* 35, 38-81. doi:10.1051/apido:2004049
- OIV-MA-AS313-02, R2015 *Compendium of international methods of analysis*, OIV, 2015
- Olaoye, O. S., Kolawole, O. S. (2013): Modeling of the Kinetics of Ethanol Formation from Glucose Biomass in Batch Culture with a Non Structured Model. *International Journal of Engineering Research and Applications (IJERA)* 3 (4) 562-565.
- Oliveira, R. G., Jain, S., Luna, A. C., Freitas, L. S., Araujo, L. D. (2017): Screening for quality indicators and phenolic compounds of biotechnological interest in honey samples from six species of stingless bees (Hymenoptera: Apidae). *Food Science and Technology* 37 (4) 552-557. doi:10.1590/1678-457x.25716
- Önür, İ., Misra, N. N., Barba, F. J., Putnik, P., Lorenzo, J. M., Gökmen, V., Alpas, H. (2018): Effects of ultrasound and high pressure on physicochemical properties and HMF

formation in Turkish honey types. *Journal of Food Engineering* 219, 129-136. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.019

- Ordóñez, A. A. L., Gómez, J. D., Vattuone, M. A., Isla, M. I. (2006): Antioxidant activities of *sechium edule* (Jacq.) swart extract. *Food Chemistry* 97, 452-458. doi:10.1016/j.foodchem.2005.05.024
- Papuga, S., Savić, A., Kisin, Z. (2018): Matematičko modelovanje proizvodnje etanola u toku fermentacije medovine. *Glasnik hemičara, tehnologa i ekologa Republike Srpske* 14, 15-22.
- Parker, P., Byrne, R. C., Hemsworth, B. (2016): Relationships between polyphenols and antioxidant activity of honey produced by *Apis mellifera* and stingless bees (Meliponini). *International Journal of Medicinal Plants Research* 5 (4) 234-243.
- Pascoal, A., Oliviera, J. M., Pereira, A. P., Féas, X., Anjos, O., Estevinho, L. M. (2017): Influence of fining agents on the sensorial characteristics and volatile composition of mead. *Journal of the Institute of Brewing*. doi:10.1002/jib.445
- Pereira, A. P., Mendes-Ferreira, A., Oliviera, J. M., Estevinho, L. M., Mendes-Faia, A. (2012): High-cell-density fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* for the optimization of mead production. *Food Microbiology* 33, 114-123. doi:10.1016/j.fm.2012.09.006
- Pereira, A. P. R. (2015): Optimization of mead production: design of different strategies for improvement of alcoholic fermentation. *Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro*.
- Pereira, A. P., Mendes-Ferreira, A., Estevinho, L. M., Mendes-Faia, A. (2015): Improvement of mead fermentation by honey-must supplementation. *Journal of the Institute of Brewing* 121, 405-410. doi:10.1002/jib.239
- Pereira, A. P., Mendes-Ferreira, A., Dias, L. G., Oliviera, J. M., Estevinho, L. M., Mendes-Faia, A. (2019): Volatile Composition and Sensory Properties of Mead. *Microorganisms* 7, 404. doi:10.3390/microorganisms7100404
- Piana, M. L., Oddo, L. P., Bentabol, A., Bruneau, E., Bogdanov, S., Declerck, C. G. (2004): Sensory analysis applied to honey: state of the art. *Apidologie* 35, 26-37. doi:10.1051/apido:2004048
- Pico, Y (2013): Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry* 43, 84-99. doi: 10.1016/j.trac.2012.12.005
- Piekut, J., Baranowska, E. (2001): Storage of natural bee honeys: descriptive sheets. *Apidologie* 35 (1) 38-81. doi:10.1051/apido:2004049
- Pontis, J. A., Costa, L. A. M. A., Silva, S. J. R., Flach, A. (2014): Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Science and Technology* 34 (1) 69-73.
- Pravilnik o analitičkim metodama za jaka alkoholna i alkoholna pića (Sl. glasnik BiH 50/11)
- Pravilnik o kvalitetu meda i drugih proizvoda pčela (Sl. glasnik Republike Srbije 101/15)
- Pravilnik o medu i drugim pčelinjim proizvodima BiH (Sl. glasnik Bosne i Hercegovine 37/09)
- Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i vršenja hemijskih i fizičkih analiza radi kontrole kvaliteta proizvoda od voća i povrća (Sl. list SFRJ 29/83)
- Pravilnik o postupku i metodama senzornog ocenjivanja vina, načinu obuke i provere stručne osposobljenosti senzornih ocenjivača (Sl. glasnik RS 93/15).

- Prica, N., Živkov-Baloš, M., Jakšić, S., Mihaljev, Ž., Kartalović, B., Babić, J., Savić, S. (2014): Moisture and acidity as indicators of the quality of honey originating from Vojvodina region. *Arhiv veterinarske medicine* 7 (2) 99-109.
- Quintero-Lira, A., Ángeles Santos, A., Aguirre-Álvarez, G., Reyes-Munguía, A., Almaraz-Buendía, I., Campos-Montiel, R. G. (2016): Effects of liquefying crystallized honey by ultrasound on crystal size, 5-hydroxymethylfurfural, colour, phenolic compounds and antioxidant activity. *European Food Research and Technology*. doi:10.1007/s00217-016-2775-0
- Radovanović, A., Radovanović, B., Jovančićević, B. (2009): Free radical scavenging and antibacterial activities of southern Serbian red wines. *Food Chemistry* 117 (2) 326-331.
- Rahima, D. K. (2013): Ultrasound-assisted Liquefaction of Honey. *Universitat Politècnica de Catalunya, doktorska disertacija*
- Rahman, M. S., Velez-Ruiz, J. F. (1999): Food Preservation by Freezing. *Handbook of Food Preservation, Second Edition*
- Rahman, A. A., Fauzi, A. M., Razali, F. (2018): Optimization of Double Boiling Condition for Kelulut Honey Processing Using Response Surface Methodology. *Chemical Engineering Transactions* 63, 763-768. doi:10.3303/CET1863128
- Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, A. P., Dias, T., Estevinho, L. M. (2011): Mead Production: Tradition Versus Modernity. *Food and Nutrition Research* 63. doi:10.1016/B978-0-12-384927-4.0004-X
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999): Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26 (9-10) 1231-1237. doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Rehman, S., Khan, Z. F., Maqbool, T. (2008): Physical and spectroscopic characterization of Pakistani honey. *Ciencia e Investigación Agraria* 35 (2) 199-204.
- Ribeiro, G. P., Villas-Bôas, J. K., Spinosa, W. A., Prudencio, S. H. (2017): Influence of freezing, pasteurization and maturation on Tiúba honey quality. *LWT- Food Science and Technology* 90, 607-612. doi:10.1016/j.lwt.2017.12.072
- Rockland, L. B., Beuchat, L. R. (1987): Water Activity: Theory and Applications to Food. *Institute of Food Technologists (USA)*
- Sahinler, N., Gul, A. (2005): Effect of Heating and Storage on Honey Hydroxy Methylfurfural and Diastase Activity. *Journal of Food Technology* 3 (2) 152-157.
- Salazar, L. N., de Freitas, A. B. B., da Luz, M. V., Bersch, P., Salazar, R. F. S. (2017): Physicochemical characterization of honey from different regions in Rio Grande do Sul State labeled with different inspection service stamps. *Ciência e Natura* 39 (3) 656-665.
- Šarba, A. C. (2015): Obtaining different types of wine products from honey. *University of Agricultural science and veterinary medicine, Cluj-Napoca, doktorska disertacija*
- Savatović, S. M., Dimitrijević, D. J., Djilas, S. M., Čandanović-Brunet, J. M., Četković, G. S., Tumbas, V. T., Štajner, D. I. (2011): Antioxidant activity of three different Serbian floral honeys. *APTEFF* 42. doi:10.2298/APT1142145S
- Savić, A., Velemir, A., Papuga, S., Stojković, M. (2021): Influence of blackberry juice addition on mead fermentation and quality. *Foods and Raw Materials* 9 (1) 146-152. doi:10.21603/2308-4057-2021-1-146-152

- Schramm, K. (2003): The compleat Meadmaker. *Brewers Publications*
- Scripcă, L. A., Amariei, S. (2021): The Use of Ultrasound for Preventing Honey Crystallization. *Foods* 10, 773. doi.org/10.3390/foods10040773
- Senn, K. (2020): A need for mead: Sensory and chemical analysis of traditional american meads. *University of California, Davis*.
- Sereia, M. J., Perdoncini, M. R. F. G., Março, P. H., Parpinelli, R. S., de Lima, E. G., Anjo, F. A. (2017): Techniques for the Evaluation of Microbiological Quality in Honey. Chapter 12. doi.org/10.5772/67086
- Sertić, A. (2015): Metode dizajniranja eksperimentalnog postupka. *Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, diplomski rad*
- Sheth, N. K., Wisniewski, T. R., Franson, T. R. (1988): Survival of enteric pathogens in common beverages an in vitro study. *Americal Journal of Gastroenterology* 83, 658-660.
- Shubham, V., Kumar, V. (2018): Ultra Violet Irradiation and its applicatons in Food Processing Industries: A Review. *Internatiional Journal of Trend in Research and Development* 5 (1).
- Sidor, A., Gramza-Michałowska, A. (2019): Black Chokeberry *Aronia Melanocarpa* L. – A Qualitative Composition, Phenolic Profile and Antioxidant Potential. *Molecules* 24, 3710. doi:10.3390/molecules24203710
- Silici, S., Karaman, K. (2014): Chemometric approaches for the characterization of Turkish Rhododendron and Honeydew Honeys depending on amino acid composition. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 37 (6) 864-877. doi:10.1080/10826076.2012.758149
- Snowdon, J. A., Cliver, D. O. (1996): Review article: Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology* (31) 1-26.
- Socha, R., Pająk, P., Fortuna, T., Buksa, K. (2015): Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Polish Meads. *International Journal of Food Properties* 18 (12) 2713-2725. doi:10.1080/10942912.2015.1004588
- Solayman, M., Islam, M. A., Paul, S., Ali, Y., Khalil, I. M., Alam, N., Gan, S. H. (2016): Physicochemical Properties, Minerals, Trace Elements, and Heavy Metals in Honey of Different Origins: A Comperhensive Review. *Comperhensive Reviews in Food Science and Foot Safety* 15. doi:10.1111/1541-4337.12182
- Sosnowska, D., Podsędek, A., Kucharska, A. Z., Redzyna, M., Opchowska, M., Koziołkiewicz, M. (2016): Comprasion of in vitro anti-lipase and antioxidant activities, and composition of commercial chokeberry juices. *European Food Research and Technology* 242, 505-515.
- Srećković, N., Mihailovic, V., Katanić Stanković, J. S. (2019): Physico-chemical, antioxidant and antimicrobial properties of three different types of honey from Central Serbia. *Kragujevac Journal of Science*. doi:10.5937/KgJSci1941053
- Srimachai, T., Nuithitikul, K., O-thong, S., Kongjan, P., Panpong, K. (2015): Optimization and Kinetic Modeling of Ethanol Production from Oil Palm Frond Juice in Batch Fermentation. *Energy Procedia* 79, 111-118. doi:10.1016/j.egypro.2015.11.490

- Srimeena, N., Gunasekaran, S., Murugesan, R. (2014): Optimization of fermentation conditions for producing Indian rock bee (*Apis dorsata*) mead using response surface methodology. *Journal of Applied and Natural Science* 6 (2) 366-370.
- Srimeena, N., Gunasekaran, S., Murugesan, R. (2016): Optimizing Process Conditions for Stingless Bee (*Melipona irridipennis*) Mead Dermentation Using Plackett-Burman Design and Response Surface Methodology. *Asian Journal of Chemistry* 28 (1) 143-150.
- Sroka, P., Tuszyński, T. (2007): Changes in organic acid contents during mead wort fermentation. *Food Chemistry* 104, 1250-1257. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.01.046
- Sroka, P., Satora, P., Tarko, T., Duda-Chodak, A., Kępska, K. (2013): Immobilization of yeast on grapes for mead production. *Potravinárstvo* 7.
- Stojković, M., Cvetković, D., Savić, A., Topalić-Trivunović, Lj., Velemir, A., Papuga, S., Žabić, M. (2021): Changes in the physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of honeydew honey subjected to heat and ultrasound pretreatments. *Journal of Food Science and Technology*. doi:10.1007/s13197-020-04762-2
- Strong, G., Ruud, S., England, K., Schramm, K., Stock, C., Bakulić, P., Zapolski, M. (2016): BJCP Mead Exam Study Guide. *Beer Judge Certification Program*.
- Subramanian, R., Hebbar, H. U., Rastogi, N. K. (2007): Processing of honey: a review. *International Journal of Food Properties* 10, 127-143. doi:10.1080/10942910600981708
- Šarić, G., Marković, K., Vukičević, D., Lež, E., Hruškar, M., Vahčić, N. (2013): Changes of Antioxidant Activity in Honey after Heat Treatment. *Czech Journal of Food Science* 31 (6) 601-606.
- Šmorgoričová, D., Nádaský, P., Tandlich, R., Wilhelmi, B. S., Cambray, G. (2012): Analytical and Aroma Profiles of Slovak and South African Meads. *Czech Journal of Food Science* 30 (3) 241-246.
- Šnebergová, J., Cižková, H., Neradová, E., Kapci, B., Rajchl, A., Voldřich, M. (2014): Variability of Characteristic Componentes of Aronia. *Czech Journal od Food Sciences* 32 (1) 25-30.
- Švecová, B., Bordovská, M., Kalvachová, D., Hájek, T. (2015): Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic compounds content. *Journal of Food Composition and Analysis* 38, 80-88. doi.org/10.1016/j.fca.2014.11.002
- Tarapatsky, M., Sowa, P., Zaguła, G., Dżugan, M., Puchalski, C. (2021): Assessment of the Botanical Origin of Polish Honeys Based on Physicochemical Properties and Bioactive Components with Chemometric Analysis. *Molecules* 26, 4801. doi:10.3390/molecules26164801
- Teramoto, Y., Sato, R., Ueda, S. (2005): Characteristics of fermentation yeast isolated from traditional Ethiopian honey wine, *ogol*. *African Journal of Biotechnology* 4 (2) 160-163.
- Tezcan, F., Kolayli, S., Ulusoy, H. S. E., Erim, F. B. (2011): Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys. *Journal of Food and Nutrition Research* 50 (1) 33-40.
- Thrasyvoulou, A., Manikis, J., Tselios, D. (1994): Liquefying crystallized honey with ultrasonic waves. *Apidologie* 25, 297-302.
- Tolić, M. T., Krbavčić, I. P., Vujević, P., Milinović, B., Jurčević, I. L., Vahčić, N. (2017): Effects of Weather Conditions on Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Juice of

Chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.). *Poland Journal of Food Nutrition Science* 67 (1) 67-74. doi:10.1515/pjfn.2016-0009

- Tolić, M. T., Marković, K., Vahčić, N., Samarin, I. R., Mačković, N., Krbavčić, I. P. (2018): Polyphenolic profile of fresh chokeberry and chokeberry products. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* 13 (3-4) 147-153.
- Tosi, E., Ciappini, M., Ré, E., Lucero, H. (2002): Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry* 77, 71-74. doi:10.1016/S0308-8146(01)00325-9
- Tosi, E. A., Ré, E., Lucero, H., Bulacio, L. (2004): Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *LWT-Food Science and Technology*. doi:10.1016/j.lwt.2004.02.005
- Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., Ré, E. (2008): Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry* 106, 883-887. doi:10.1016/j.foodchem.2007.04.025
- Trenka, M., Nawirska-Olszańska, A., Oziembłowski, M. (2020): Analysis of Selected Properties of Fruits of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) from Organic and Conventional Cultivation. *Applied Sciences* 10, 9096. doi:10.3390/app10249096
- Turhan, I., Tetik, N., Karhan, M., Gurel, F., Tavukcuoglu, H. R. (2008): Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT – Food Science and Technology* 41, 1369-1399. doi:10.1016/j.lwt.2007.09.008
- Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S., Velioglu, Y. S. (2005): Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry* 95 (4) 653-657.
- Valcheva-Kuzmanova, S. V., Belcheva, A. (2006): Current knowledge of *Aronia melanocarpa* as a medicinal plant. *Folia Medica* 48, 11-17.
- Vargas, P., Gulling, R. (1999): Making Wild Wines & Meads. *Storey Publishing*
- Vaquero, R., Alberto, M. J., Nadra, M. R., Nadra, M. C. M. (2007): Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*
- Vidrih, R., Hribar, J. (2007): Studies on the sensory properties of mead and the formation of aroma compounds related to the type of honey. *Acta Alimentaria* 36 (2) 151-162, doi:10.1556/AAlim.36.2007.2.2
- Vilela, A., Schuller, D., Mendes-Faia, A., Côte-Real, M. (2013): Reduction of volatile acidity of acidic wines by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*. doi:10.1007/s00253-013-4719-y
- Vorlová, L., Přidal, A. (2002): Invertase and diastase activity in honeys of Czech provenience. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Brunensis* 5, 57-66.
- Vorlová, L., Kapříšková, R., Chabinioková, I., Kalábová, K., Brázdová, Z. (2005): The antimicrobial activity of honeys produced in the Czech Republic. *Czech Journal of Animal Science* 50 (8) 376-384.
- Vulić, J. J., Čebović, T. N., Čandanović, V. M., Četković, G. S., Djilas, S. M., Čandanović-Brunet, J. M., Velićanski, A. S., Cvetković, D. D., Tumbas, V. T. (2013): Antiradical, antimicrobial and cytotoxic activities of commercial beetroot pomace. *Food and Function* 713-721.

- Wang, M. L., Choong, N. W., Su, M. H., Lee, J. (2003): A rapid method for determination of ethanol in alcoholic beverages using capillary gas chromatography *Food Drug Analysis* 11, 133-140. doi:10.38212/2224-6614.2710
- Weise, M. E., Eberly, B., Person, D. A. (1995): Wine as a digestive aid: comparative antimicrobial effects of bismuth salicylate and red and white wine. *BMJ* 311, 1657-1660.
- White, J. W., Subers, M. H., Schepartz, A. I. (1963): The identification of inihbine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. *Biochimica et Biophysica Acta* 73 (1) 57-70. doi:10.1016/0926-6569(63)90108-1
- Wilczyńska, A. (2010): Phenolic content and antioxidant activity of different types of polish honey – A short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 60 (4) 309-313.
- Wilkes, K., Howard, L. R., Brownmiller, C., Prior, R. L. (2014): Changes in chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) polyphenols during juice processing and storage. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 62, 4018-4025.
- Wolfe, K., Liu, R. H. (2003): Apple peels as a value added food ingredient. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 51 (6) 1676-1683. doi:10.1021/jf0207
- Zappalà, M., Fallico, B., Arena, E., Verzera, A. (2005): Methods for the determination of HMF in honey: a comparision. *Food Control*. doi: 10.1016/j.foodcont.2004.03.006
- Zhu, Y., Zhang, J., Wei, Y., Hao, J., Lei, Y., Zhao, W., Xiao, Y., Sun, A. (2020): The polyphenol-rich extract from chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) modulates gut microbiota and improves lipid metabolism in diet-induced obese rats. *Nutrition and Metabolism*. doi:10.1186/s12986-020-00473-9

7. PRILOG

Tabela 7.1. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina bez dodatka voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1AEH	3,95 ± 0,02	0,22 ± 0,06	8,10 ± 0,09	9,01 ± 0,70	0,0023 ± 0,0001
1AEI	3,51 ± 0,02	0,23 ± 0,05	7,75 ± 0,08	9,26 ± 0,13	0,0018 ± 0,0004
1AEJ	3,44 ± 0,02	0,42 ± 0,00	7,58 ± 0,13	8,96 ± 0,07	0,0018 ± 0,0001
2AEH	3,59 ± 0,04	0,36 ± 0,00	8,23 ± 0,08	10,28 ± 0,21	0,0010 ± 0,0008
2AEI	3,62 ± 0,01	0,34 ± 0,03	8,30 ± 0,00	10,06 ± 0,16	0,0019 ± 0,0001
2AEJ	3,58 ± 0,03	0,34 ± 0,02	8,30 ± 0,00	9,81 ± 0,28	0,0021 ± 0,0001
3AEH	3,71 ± 0,04	0,39 ± 0,03	8,73 ± 0,05	9,53 ± 2,33	0,0169 ± 0,0003
3AEI	3,66 ± 0,01	0,36 ± 0,03	8,77 ± 0,05	9,48 ± 0,24	0,0170 ± 0,0001
3AEJ	3,72 ± 0,05	0,38 ± 0,03	8,67 ± 0,05	8,29 ± 0,20	0,0169 ± 0,0001

Tabela 7.2. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina bez dodatka voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1AFH	3,49 ± 0,01	0,19 ± 0,03	8,10 ± 0,13	9,27 ± 0,17	0,0011 ± 0,0004
1AFI	3,34 ± 0,07	0,19 ± 0,03	8,05 ± 0,10	9,54 ± 1,08	0,0011 ± 0,0007
1AFJ	3,36 ± 0,08	0,20 ± 0,08	7,90 ± 0,18	9,05 ± 0,13	0,0013 ± 0,0007
2AFH	3,46 ± 0,01	0,34 ± 0,02	8,93 ± 0,05	7,91 ± 1,04	0,0014 ± 0,0004
2AFI	3,52 ± 0,16	0,23 ± 0,04	8,43 ± 0,15	9,89 ± 0,21	0,0011 ± 0,0007
2AFJ	3,59 ± 0,03	0,32 ± 0,02	8,30 ± 0,09	10,02 ± 0,35	0,0018 ± 0,0001
3AFH	3,38 ± 0,06	0,21 ± 0,00	9,33 ± 0,69	6,85 ± 0,13	0,0162 ± 0,0001
3AFI	3,53 ± 0,05	0,22 ± 0,02	10,17 ± 0,31	7,45 ± 0,22	0,0163 ± 0,0004
3AFJ	3,63 ± 0,03	0,29 ± 0,02	8,63 ± 0,05	8,45 ± 0,11	0,0171 ± 0,0001

Tabela 7.3. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina sa dodatkom 5 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1BEH	3,66 ± 0,01	0,32 ± 0,02	10,13 ± 0,76	10,49 ± 0,23	0,0013 ± 0,0012
1BEI	3,63 ± 0,03	0,30 ± 0,00	9,20 ± 0,63	9,92 ± 0,85	0,0020 ± 0,0002
1BEJ	3,61 ± 0,06	0,28 ± 0,03	9,35 ± 1,03	10,64 ± 0,19	0,0010 ± 0,0010
2BEH	3,67 ± 0,05	0,43 ± 0,02	8,13 ± 0,10	10,20 ± 0,28	0,0030 ± 0,0009
2BEI	3,67 ± 0,03	0,43 ± 0,02	8,30 ± 0,00	10,25 ± 0,07	0,0026 ± 0,0004
2BEJ	3,71 ± 0,03	0,52 ± 0,02	8,10 ± 0,09	10,46 ± 0,26	0,0020 ± 0,0015
3BEH	3,74 ± 0,03	0,27 ± 0,00	8,50 ± 0,00	11,54 ± 2,69	0,0160 ± 0,0006
3BEI	3,71 ± 0,00	0,27 ± 0,03	8,50 ± 0,00	10,06 ± 1,16	0,0156 ± 0,0000
3BEJ	3,70 ± 0,02	0,32 ± 0,02	8,50 ± 0,00	8,13 ± 0,08	0,0155 ± 0,0001

Tabela 7.4. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina sa dodatkom 5 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1BFH	3,44 ± 0,02	0,16 ± 0,02	8,87 ± 0,05	9,55 ± 0,06	0,0016 ± 0,0001
1BFI	3,57 ± 0,05	0,20 ± 0,03	8,70 ± 0,00	9,37 ± 0,33	0,0015 ± 0,0009
1BFJ	3,60 ± 0,02	0,26 ± 0,06	12,50 ± 0,78	11,18 ± 0,31	0,0017 ± 0,0005
2BFH	3,53 ± 0,11	0,38 ± 0,02	8,80 ± 0,32	9,84 ± 0,12	0,0004 ± 0,0001
2BFI	3,69 ± 0,06	0,33 ± 0,03	8,60 ± 0,32	11,26 ± 0,99	0,0004 ± 0,0000
2BFJ	3,61 ± 0,05	0,32 ± 0,03	9,10 ± 0,15	9,62 ± 0,32	0,0003 ± 0,0000
3BFH	3,64 ± 0,01	0,14 ± 0,02	8,80 ± 0,09	9,39 ± 0,17	0,0184 ± 0,0019
3BFI	3,62 ± 0,05	0,14 ± 0,02	10,35 ± 1,51	6,24 ± 0,49	0,0165 ± 0,0006
3BFJ	3,67 ± 0,04	0,16 ± 0,02	11,17 ± 1,57	7,96 ± 1,46	0,0161 ± 0,0006

Tabela 7.5. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina sa dodatkom 10 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1CEH	3,50 ± 0,03	0,29 ± 0,06	8,62 ± 0,23	12,02 ± 0,92	0,0008 ± 0,0002
1CEI	3,60 ± 0,04	0,33 ± 0,06	8,33 ± 0,10	10,63 ± 0,25	0,0007 ± 0,0000
1CEJ	3,62 ± 0,02	0,29 ± 0,03	8,42 ± 0,04	11,10 ± 0,66	0,0010 ± 0,0005
2CEH	3,58 ± 0,02	0,35 ± 0,02	8,02 ± 0,04	11,72 ± 0,04	0,0033 ± 0,0003
2CEI	3,74 ± 0,03	0,41 ± 0,04	8,40 ± 0,00	10,86 ± 0,27	0,0011 ± 0,0008
2CEJ	3,87 ± 0,02	0,40 ± 0,03	8,42 ± 0,04	10,83 ± 0,26	0,0024 ± 0,0018
3CEH	3,67 ± 0,03	0,23 ± 0,02	8,97 ± 0,14	8,57 ± 0,34	0,0156 ± 0,0000
3CEI	3,62 ± 0,03	0,28 ± 0,06	9,07 ± 0,05	8,78 ± 0,72	0,0156 ± 0,0001
3CEJ	3,70 ± 0,03	0,25 ± 0,02	9,07 ± 0,29	8,42 ± 0,24	0,0156 ± 0,0000

Tabela 7.6. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina sa dodatkom 10 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1CFH	3,65 ± 0,01	0,25 ± 0,03	8,70 ± 0,18	10,39 ± 0,06	0,0007 ± 0,0000
1CFI	3,52 ± 0,07	0,26 ± 0,03	9,02 ± 0,18	10,36 ± 0,24	0,0004 ± 0,0002
1CFJ	3,52 ± 0,08	0,27 ± 0,00	9,10 ± 0,28	10,19 ± 0,56	0,0008 ± 0,0001
2CFH	3,54 ± 0,01	0,24 ± 0,00	7,35 ± 0,05	11,33 ± 1,78	0,0033 ± 0,0016
2CFI	3,47 ± 0,03	0,27 ± 0,03	7,80 ± 0,09	11,89 ± 0,24	0,0024 ± 0,0000
2CFJ	3,48 ± 0,03	0,27 ± 0,03	8,00 ± 0,00	10,48 ± 1,54	0,0020 ± 0,0015
3CFH	3,98 ± 0,00	0,14 ± 0,02	17,20 ± 0,27	0,73 ± 0,43	0,0003 ± 0,0000
3CFI	4,03 ± 0,01	0,09 ± 0,00	16,30 ± 0,54	0,77 ± 0,44	0,0003 ± 0,0000
3CFJ	4,00 ± 0,01	0,18 ± 0,05	16,27 ± 0,83	3,28 ± 2,90	0,0003 ± 0,0002

Tabela 7.7. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina sa dodatkom 20 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1DEH	3,67 ± 0,01	0,25 ± 0,04	8,93 ± 0,10	8,82 ± 0,13	0,0052 ± 0,0009
1DEI	3,68 ± 0,03	0,25 ± 0,04	8,80 ± 0,00	8,43 ± 0,25	0,0053 ± 0,0002
1DEJ	3,73 ± 0,05	0,23 ± 0,02	9,67 ± 0,64	8,78 ± 0,31	0,0075 ± 0,0028
2DEH	3,78 ± 0,01	0,40 ± 0,02	8,50 ± 0,00	12,03 ± 0,28	0,0028 ± 0,0005
2DEI	3,75 ± 0,05	0,41 ± 0,04	8,50 ± 0,00	11,51 ± 0,29	0,0027 ± 0,0004
2DEJ	3,71 ± 0,04	0,40 ± 0,06	8,40 ± 0,09	11,42 ± 0,51	0,0028 ± 0,0007
3DEH	3,77 ± 0,05	0,23 ± 0,02	10,12 ± 0,35	12,17 ± 0,80	0,0016 ± 0,0010
3DEI	3,81 ± 0,04	0,20 ± 0,02	9,73 ± 0,05	12,31 ± 0,06	0,0001 ± 0,0000
3DEJ	3,79 ± 0,01	0,21 ± 0,03	9,77 ± 0,10	9,08 ± 1,07	0,0006 ± 0,0000

Tabela 7.8. Rezultati fizičko-hemijske analize medovina sa dodatkom 20 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	pH	Sadržaj isparljivih kiselina (g/L)	Sadržaj suve materije (%)	Sadržaj etanola (vol. %)	Sadržaj metanola (vol. %)
1DFH	3,98 ± 0,01	0,18 ± 0,00	10,67 ± 0,05	9,04 ± 0,29	0,0054 ± 0,0004
1DFI	3,95 ± 0,03	0,19 ± 0,02	10,53 ± 0,05	9,63 ± 0,37	0,0053 ± 0,0001
1DFJ	3,85 ± 0,01	0,21 ± 0,00	10,43 ± 0,05	9,10 ± 0,19	0,0058 ± 0,0004
2DFH	3,63 ± 0,06	0,39 ± 0,03	8,30 ± 0,00	12,08 ± 0,59	0,0019 ± 0,0009
2DFI	3,70 ± 0,04	0,30 ± 0,03	8,07 ± 0,26	11,37 ± 0,40	0,0022 ± 0,0003
2DFJ	3,67 ± 0,08	0,29 ± 0,02	8,07 ± 0,21	11,90 ± 0,32	0,0024 ± 0,0000
3DFH	3,86 ± 0,01	0,12 ± 0,00	17,83 ± 0,10	0,53 ± 0,04	0,0002 ± 0,0001
3DFI	3,89 ± 0,03	0,13 ± 0,02	18,00 ± 0,00	0,59 ± 0,07	0,0003 ± 0,0000
3DFJ	3,78 ± 0,13	0,28 ± 0,04	15,03 ± 4,44	4,52 ± 4,08	0,0003 ± 0,0001

Tabela 7.9. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine bez dodatka voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1AEH	277,21 ± 2,90	174,20±4,03	1,76±0,003	44,18 ± 0,19	11,74 ± 0,27
1AEI	285,08 ± 3,58	178,23 ± 7,49	1,78 ± 0,005	43,75 ± 0,88	11,39 ± 0,31
1AEJ	303,08 ± 3,88	189,77 ± 9,89	1,85 ± 0,007	43,06 ± 0,89	8,92 ± 0,20
2AEH	336,35 ± 3,09	193,47 ± 1,58	1,83 ± 0,01	32,17 ± 0,4	10,13 ± 0,32
2AEI	356,48 ± 10,46	218,80 ± 11,04	1,81 ± 0,02	31,38 ± 0,38	10,92 ± 0,62
2AEJ	352,35 ± 2,19	211,40 ± 2,71	1,93 ± 0,02	36,11 ± 0,23	9,16 ± 1,92
3AEH	375,68 ± 4,22	189,87 ± 3,57	1,98 ± 0,01	42,27 ± 1,69	12,43 ± 0,77
3AEI	379,28 ± 5,13	197,80 ± 6,55	2,02 ± 0,03	47,07 ± 1,12	13,28 ± 0,66
3AEJ	381,74 ± 3,97	185,60 ± 3,15	1,92 ± 0,02	47,85 ± 0,24	16,22 ± 0,60

Tabela 7.10. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine bez dodatka voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1AFH	312,01 ± 2,61	166,87 ± 2,13	1,92 ± 0,01	39,58 ± 0,32	10,37 ± 0,52
1AFI	317,01 ± 10,83	163,20 ± 11,74	2,01 ± 0,01	39,76 ± 0,43	11,21 ± 0,44
1AFJ	301,213 ± 3,37	169,00 ± 7,32	1,88 ± 0,04	40,02 ± 1,72	8,78 ± 0,65
2AFH	384,01 ± 1,37	229,66 ± 2,66	1,98 ± 0,03	40,27 ± 0,90	9,84 ± 1,41
2AFI	362,48 ± 2,99	210,93 ± 2,73	1,99 ± 0,12	36,68 ± 0,78	14,81 ± 3,87
2AFJ	354,88 ± 1,24	202,86 ± 2,07	1,85 ± 0,02	38,70 ± 0,64	13,04 ± 2,78
3AFH	388,28 ± 3,87	195,47 ± 3,57	1,89 ± 0,03	49,12 ± 0,41	11,62 ± 0,17
3AFI	467,41 ± 8,34	250,53 ± 6,76	2,08 ± 0,01	49,58 ± 0,72	10,63 ± 1,08
3AFJ	424,54 ± 8,12	224,00 ± 7,42	1,97 ± 0,04	49,83 ± 0,49	10,71 ± 0,04

Tabela 7.11. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 5 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1BEH	379,75 ± 1,80	206,13 ± 2,19	3,16 ± 0,04	180,39 ± 6,74	8,36 ± 0,23
1BEI	381,55 ± 2,77	215,33 ± 3,12	3,14 ± 0,10	164,26 ± 3,57	9,40 ± 0,63
1BEJ	380,55 ± 2,31	223,07 ± 1,61	3,13 ± 0,07	163,51 ± 0,91	8,82 ± 0,59
2BEH	457,61 ± 0,99	229,27 ± 1,09	2,79 ± 0,02	201,32 ± 0,03	6,67 ± 0,58
2BEI	446,88 ± 3,24	215,47 ± 2,88	2,86 ± 0,02	201,21 ± 0,02	7,57 ± 0,40
2BEJ	460,48 ± 6,13	224,93 ± 5,65	2,99 ± 0,05	201,20 ± 0,02	9,16 ± 0,75
3BEH	389,95 ± 1,73	223,40 ± 9,94	2,64 ± 0,01	173,40 ± 6,74	7,60 ± 0,31
3BEI	372,01 ± 3,08	206,53 ± 1,37	2,99 ± 0,10	205,72 ± 3,57	5,93 ± 0,12
3BEJ	393,15 ± 16,19	220,60 ± 14,53	2,88 ± 0,07	164,17 ± 0,91	7,18 ± 0,64

Tabela 7.12. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 5 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1BFH	380,41 ± 2,12	263,73 ± 5,87	3,16 ± 0,06	267,87 ± 7,17	7,57 ± 0,31
1BFI	397,88 ± 3,97	296,80 ± 4,12	3,03 ± 0,01	192,52 ± 8,67	7,45 ± 0,32
1BFJ	390,41 ± 1,57	281,60 ± 1,64	3,19 ± 0,14	174,89 ± 13,9	4,35 ± 0,10
2BFH	526,61 ± 2,79	305,67 ± 2,90	3,10 ± 0,01	205,28 ± 6,16	7,30 ± 0,67
2BFI	538,95 ± 3,19	301,27 ± 10,97	3,13 ± 0,02	213,14 ± 5,02	8,76 ± 0,51
2BFJ	504,54 ± 4,49	275,87 ± 0,96	3,22 ± 0,02	243,84 ± 12,67	7,19 ± 0,08
3BFH	408,68 ± 17,48	252,27 ± 13,53	3,06 ± 0,06	350,46 ± 11,01	7,66 ± 0,50
3BFI	420,75 ± 2,42	254,00 ± 8,04	2,89 ± 0,06	350,46 ± 4,50	7,92 ± 0,36
3BFJ	409,61 ± 23,58	228,67 ± 24,56	2,98 ± 0,11	375,37 ± 17,58	7,38 ± 0,22

Tabela 7.13. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 10 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1CEH	470,68 ± 0,61	297,40 ± 3,34	4,13 ± 0,00	394,44 ± 22,54	4,86 ± 0,20
1CEI	437,01 ± 1,03	268,67 ± 7,30	4,11 ± 0,02	326,54 ± 12,67	5,18 ± 0,36
1CEJ	469,01 ± 1,92	300,27 ± 2,07	4,23 ± 0,03	399,85 ± 32,63	4,89 ± 0,15
2CEH	537,15 ± 4,02	315,47 ± 3,18	3,83 ± 0,02	507,31 ± 15,72	5,00 ± 0,20
2CEI	524,81 ± 0,53	286,67 ± 1,88	3,97 ± 0,02	458,18 ± 7,16	5,20 ± 0,36
2CEJ	539,68 ± 3,50	314,40 ± 6,84	4,06 ± 0,05	483,95 ± 6,10	4,81 ± 0,16
3CEH	509,28 ± 1,99	341,40 ± 21,90	4,09 ± 0,05	394,17 ± 20,06	5,23 ± 0,06
3CEI	563,81 ± 1,15	383,40 ± 9,86	4,14 ± 0,05	326,56 ± 5,15	6,10 ± 0,06
3CEJ	560,61 ± 4,15	374,93 ± 6,59	4,03 ± 0,01	308,27 ± 26,00	5,74 ± 0,67

Tabela 7.14. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 10 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1CFH	506,48 ± 10,98	317,00 ± 5,47	3,89 ± 0,08	354,71 ± 13,33	4,43 ± 0,17
1CFI	510,21 ± 9,88	304,80 ± 1,15	3,85 ± 0,01	376,31 ± 8,49	4,64 ± 0,03
1CFJ	513,08 ± 9,51	322,20 ± 1,91	4,09 ± 0,14	343,35 ± 12,23	4,82 ± 0,26
2CFH	526,35 ± 3,72	302,07 ± 1,61	3,24 ± 0,04	406,43 ± 22,50	5,37 ± 0,13
2CFI	540,15 ± 13,62	316,73 ± 11,76	3,39 ± 0,02	465,73 ± 23,41	6,04 ± 0,06
2CFJ	521,55 ± 14,37	313,80 ± 14,87	3,45 ± 0,02	440,42 ± 41,51	5,95 ± 0,62
3CFH	527,95 ± 1,85	323,83 ± 1,23	3,61 ± 0,02	335,39 ± 4,84	5,23 ± 0,13
3CFI	535,75 ± 2,79	329,53 ± 1,69	3,71 ± 0,02	388,51 ± 6,93	5,96 ± 0,05
3CFJ	530,21 ± 2,69	326,73 ± 0,64	3,99 ± 0,05	409,21 ± 7,85	5,74 ± 0,65

Tabela 7.15. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 20 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1DEH	828,56 ± 9,82	611,41 ± 1,53	5,83 ± 0,16	626,29 ± 34,46	4,96 ± 0,54
1DEI	835,36 ± 18,78	613,28 ± 8,97	6,02 ± 0,17	639,91 ± 22,79	4,95 ± 0,14
1DEJ	831,76 ± 5,96	588,98 ± 24,02	6,17 ± 0,09	656,61 ± 30,90	3,69 ± 0,04
2DEH	812,16 ± 2,48	545,41 ± 1,51	5,94 ± 0,03	608,80 ± 5,76	6,78 ± 0,28
2DEI	814,69 ± 6,68	553,48 ± 2,46	5,85 ± 0,04	645,04 ± 9,02	4,29 ± 0,55
2DEJ	747,89 ± 6,06	478,88 ± 9,42	6,31 ± 0,21	646,68 ± 11,46	4,26 ± 0,09
3DEH	713,89 ± 12,87	481,55 ± 2,87	7,09 ± 0,01	659,39 ± 18,29	4,12 ± 0,03
3DEI	727,49 ± 8,46	491,81 ± 6,81	7,05 ± 0,45	657,56 ± 9,75	3,59 ± 0,13
3DEJ	706,96 ± 8,22	466,21 ± 8,54	6,97 ± 0,05	686,44 ± 37,59	3,74 ± 0,37

Tabela 7.16. Rezultati antioksidativnih svojstava medovine sa dodatkom 20 % voćnog soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/L)	Sadržaj flavonoida (mg GAE/L)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /mL)	DPPH (µg TE/mL)	ABTS (mg TE/mL)
1DFH	764,96 ± 9,91	481,81 ± 2,11	5,73 ± 0,03	648,11 ± 21,36	2,79 ± 0,05
1DFI	778,16 ± 6,35	487,08 ± 1,65	5,84 ± 0,04	685,63 ± 12,33	2,83 ± 0,16
1DFJ	787,093 ± 3,23	493,88 ± 3,41	5,98 ± 0,05	689,06 ± 32,53	3,19 ± 0,21
2DFH	647,76 ± 9,86	404,48 ± 7,00	4,64 ± 0,27	536,39 ± 4,27	4,39 ± 0,21
2DFI	685,22 ± 4,74	431,35 ± 1,37	5,00 ± 0,12	507,52 ± 10,11	2,24 ± 0,14
2DFJ	670,83 ± 2,51	419,21 ± 6,71	5,23 ± 0,13	515,28 ± 7,36	3,77 ± 0,37
3DFH	741,49 ± 13,65	556,68 ± 0,83	4,21 ± 0,09	531,42 ± 37,57	3,46 ± 0,45
3DFI	736,96 ± 1,89	550,21 ± 2,33	4,62 ± 0,02	597,06 ± 23,23	3,39 ± 0,10
3DFJ	724,16 ± 6,36	535,68 ± 5,44	4,92 ± 0,14	617,21 ± 60,60	3,52 ± 0,12

Tabela 7.17. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama bez dodatka soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145
1AEH	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40
1AEI	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40
1AEJ	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40
2AEH	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	40	30
	MBC % (v/v)	40	>40	30
2AEI	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	40	30
	MBC % (v/v)	40	>40	30
2AEJ	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	40	30
	MBC % (v/v)	40	>40	30
3AEH	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30
3AEI	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30
3AEJ	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30
Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
Ciprofloxacilin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA – nema aktivnosti

Tabela 7.18. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama bez dodatka soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1AFH	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1AFI	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1AFJ	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2AFH	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2AFI	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2AFJ	MIC % (v/v)	40	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA	NA
3AFH	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3AFI	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3AFJ	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA – nema aktivnosti

Tabela 7.19. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 5 % soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1BEH	MIC % (v/v)	30	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1BEI	MIC % (v/v)	30	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1BEJ	MIC % (v/v)	30	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2BEH	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2BEI	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2BEJ	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA	NA
3BEH	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3BEI	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3BEJ	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	30
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA-nema aktivnosti

Tabela 7.20. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 5 % soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1BFH	MIC % (v/v)	30	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1BFI	MIC % (v/v)	30	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1BFJ	MIC % (v/v)	30	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2BFH	MIC % (v/v)	30	<20	40	30
	MBC % (v/v)	30	>40	40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2BFI	MIC % (v/v)	30	<20	40	30
	MBC % (v/v)	30	>40	40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2BFJ	MIC % (v/v)	30	<20	40	30
	MBC % (v/v)	30	>40	40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA	NA
3BFH	MIC % (v/v)	30	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3BFI	MIC % (v/v)	30	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3BFJ	MIC % (v/v)	30	40	30	30
	MBC % (v/v)	40	40	>40	30
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA-nema aktivnosti

Tabela 7.21. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 10 % soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
1CEH	MIC % (v/v)	30	40	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
1CEI	MIC % (v/v)	30	40	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
1CEJ	MIC % (v/v)	30	40	30
	MBC % (v/v)	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
2CEH	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
2CEI	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
2CEJ	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA
3CEH	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
3CEI	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
3CEJ	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53

NA-nema aktivnosti

Tabela 7.22. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 10 % soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1CFH	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1CFI	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1CFJ	MIC % (v/v)	30	30	30	30
	MBC % (v/v)	40	>40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2CFH	MIC % (v/v)	30	30	<20	<20
	MBC % (v/v)	40	30	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2CFI	MIC % (v/v)	30	30	<20	<20
	MBC % (v/v)	40	30	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2CFJ	MIC % (v/v)	30	30	<20	<20
	MBC % (v/v)	40	30	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA	NA
3CFH	MIC % (v/v)	>40	40	40	40
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	>40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3CFI	MIC % (v/v)	>40	40	40	40
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	>40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3CFJ	MIC % (v/v)	>40	40	40	40
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	>40
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA-nema aktivnosti

Tabela 7.23. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 20 % soka od aronije sa dodatkom kvasca E

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
1DEH	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
1DEI	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
1DEJ	MIC % (v/v)	30	30	30
	MBC % (v/v)	>40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
2DEH	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
2DEI	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
2DEJ	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	>40	30
	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA
3DEH	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
3DEI	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA
3DEJ	MIC % (v/v)	30	30	<20
	MBC % (v/v)	40	30	30
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53

NA-nema aktivnosti

Tabela 7.24. Antimikrobna aktivnost medovina i diskova sa antibioticima (prečnik inhibicione zone), minimalna inhibitorna (MIC) i minimalne baktericidne (MBC) koncentracija medovina na rast bakterijskih kultura u medovinama sa dodatkom 20 % soka od aronije sa dodatkom kvasca F

Uzorak	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1DFH	MIC % (v/v)	>40	40	30	30
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1DFI	MIC % (v/v)	>40	40	30	30
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
1DFJ	MIC % (v/v)	>40	40	30	30
	MBC % (v/v)	>40	40	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2DFH	MIC % (v/v)	30	30	<20	<20
	MBC % (v/v)	40	30	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2DFI	MIC % (v/v)	30	30	<20	<20
	MBC % (v/v)	40	30	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
2DFJ	MIC % (v/v)	30	30	<20	<20
	MBC % (v/v)	40	30	>40	40
	Difuzija diska (mm)	NA	*NA	NA	NA
3DFH	MIC % (v/v)	>40	>40	40	40
	MBC % (v/v)	>40	>40	>40	>40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3DFI	MIC % (v/v)	>40	>40	40	40
	MBC % (v/v)	>40	>40	>40	>40
	Difuzija diska (mm)	NA	NA	NA	NA
3DFJ	MIC % (v/v)	>40	>40	40	40
	MBC % (v/v)	>40	>40	>40	>40
	Ampicillin 10 mg (mm)	16,00 ± 4,39	33,00 ± 2,16	NA	10,88 ± 2,53
	Ciprofloxacin 5 mg (mm)	37,00 ± 3,37	29,25 ± 2,99	33,33 ± 0,58	27,38 ± 3,54
	Erytromycin 15 mg (mm)	10,75 ± 1,50	27,75 ± 2,99	NA	24,50 ± 2,52
	Gentamicin 10 mg (mm)	25,50 ± 1,29	29,75 ± 1,90	21,33 ± 1,53	24,00 ± 2,53

NA-nema aktivnosti

Tabela 7.25. Rezultati senzorne analize za medovine bez dodatka soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1AEH	0,40 ± 0,10	2,50 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,25
1AEI	0,50 ± 0,00	2,50 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,53 ± 0,06
1AEJ	0,47 ± 0,06	2,50 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,57 ± 0,06
2AEH	0,40 ± 0,00	2,50 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,14
2AEI	0,50 ± 0,00	2,42 ± 0,14	0,00 ± 0,00	0,53 ± 0,06
2AEJ	0,47 ± 0,06	2,33 ± 0,14	0,00 ± 0,00	0,53 ± 0,06
3AEH	1,50 ± 0,00	3,75 ± 0,25	0,00 ± 0,00	0,50 ± 0,00
3AEI	1,50 ± 0,00	4,75 ± 0,25	0,75 ± 0,00	1,50 ± 0,00
3AEJ	1,50 ± 0,00	5,17 ± 0,29	0,50 ± 0,00	1,00 ± 0,00

Tabela 7.26. Rezultati senzorne analize za medovine bez dodatka soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1AFH	0,40 ± 0,10	4,75 ± 0,25	0,23 ± 0,03	0,50 ± 0,00
1AFI	0,50 ± 0,00	4,50 ± 0,00	0,27 ± 0,03	0,50 ± 0,00
1AFJ	0,50 ± 0,00	4,75 ± 0,25	0,27 ± 0,03	0,50 ± 0,00
2AFH	0,47 ± 0,06	4,67 ± 0,14	0,25 ± 0,00	0,47 ± 0,06
2AFI	0,50 ± 0,00	4,50 ± 0,00	0,28 ± 0,03	0,47 ± 0,06
2AFJ	0,50 ± 0,00	4,67 ± 0,29	0,25 ± 0,00	0,57 ± 0,06
3AFH	1,50 ± 0,00	5,25 ± 0,25	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
3AFI	1,50 ± 0,00	2,00 ± 0,00	0,58 ± 0,14	1,00 ± 0,00
3AFJ	1,50 ± 0,00	1,50 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,25

Tabela 7.27. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 5 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1BEH	1,90 ± 0,00	5,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
1BEI	1,90 ± 0,00	4,58 ± 0,38	0,53 ± 0,06	1,42 ± 0,14
1BEJ	1,90 ± 0,00	4,08 ± 0,14	0,60 ± 0,10	1,35 ± 0,13
2BEH	1,90 ± 0,00	5,00 ± 0,25	0,57 ± 0,06	1,50 ± 0,00
2BEI	1,90 ± 0,00	4,67 ± 0,29	0,50 ± 0,00	1,50 ± 0,00
2BEJ	1,90 ± 0,00	4,17 ± 0,14	0,63 ± 0,06	1,33 ± 0,14
3BEH	1,90 ± 0,00	5,08 ± 0,14	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
3BEI	1,90 ± 0,00	4,50 ± 0,50	0,50 ± 0,00	1,33 ± 0,14
3BEJ	1,90 ± 0,00	4,00 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,50 ± 0,00

Tabela 7.28. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 5 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1BFH	1,90 ± 0,00	4,33 ± 0,14	0,50 ± 0,00	0,38 ± 0,13
1BFI	1,90 ± 0,00	4,83 ± 0,14	0,60 ± 0,00	0,40 ± 0,10
1BFJ	1,90 ± 0,00	5,15 ± 0,13	0,60 ± 0,00	0,43 ± 0,12
2BFH	1,90 ± 0,00	4,25 ± 0,00	0,57 ± 0,06	0,40 ± 0,10
2BFI	1,90 ± 0,00	4,75 ± 0,00	0,68 ± 0,08	0,47 ± 0,06
2BFJ	1,90 ± 0,00	5,25 ± 0,00	0,63 ± 0,06	0,50 ± 0,00
3BFH	1,90 ± 0,00	4,25 ± 0,25	0,00 ± 0,00	0,33 ± 0,14
3BFI	1,90 ± 0,00	4,83 ± 0,14	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,14
3BFJ	1,50 ± 0,00	5,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,14

Tabela 7.29. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 10 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1CEH	2,00 ± 0,00	5,33 ± 0,29	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
1CEI	2,00 ± 0,00	5,25 ± 0,00	0,95 ± 0,00	1,67 ± 0,14
1CEJ	2,00 ± 0,00	5,17 ± 0,14	0,93 ± 0,06	1,93 ± 0,06
2CEH	2,00 ± 0,00	5,50 ± 0,00	0,95 ± 0,05	1,97 ± 0,06
2CEI	2,00 ± 0,00	5,08 ± 0,14	0,92 ± 0,03	1,73 ± 0,03
2CEJ	2,00 ± 0,00	5,23 ± 0,03	0,93 ± 0,06	1,90 ± 0,10
3CEH	2,00 ± 0,00	5,42 ± 0,14	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
3CEI	2,00 ± 0,00	5,17 ± 0,14	0,93 ± 0,03	1,75 ± 0,00
3CEJ	2,00 ± 0,00	5,17 ± 0,14	0,97 ± 0,06	1,97 ± 0,06

Tabela 7.30. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 10 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1CFH	2,00 ± 0,00	4,93 ± 0,06	0,30 ± 0,00	0,63 ± 0,06
1CFI	2,00 ± 0,00	4,87 ± 0,06	0,30 ± 0,00	0,70 ± 0,10
1CFJ	2,00 ± 0,00	4,90 ± 0,10	0,30 ± 0,00	0,67 ± 0,06
2CFH	0,70 ± 0,10	4,97 ± 0,06	0,30 ± 0,00	0,67 ± 0,06
2CFI	0,77 ± 0,06	4,87 ± 0,06	0,30 ± 0,00	0,73 ± 0,06
2CFJ	0,70 ± 0,10	4,90 ± 0,10	0,30 ± 0,00	0,70 ± 0,10
3CFH	0,70 ± 0,10	4,90 ± 0,10	0,30 ± 0,00	0,70 ± 0,10
3CFI	0,70 ± 0,10	4,90 ± 0,10	0,30 ± 0,00	0,70 ± 0,10
3CFJ	0,70 ± 0,10	4,90 ± 0,10	0,30 ± 0,00	0,70 ± 0,10

Tabela 7.31. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 20 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1DEH	1,67 ± 0,14	5,08 ± 0,14	0,97 ± 0,06	1,87 ± 0,12
1DEI	1,83 ± 0,29	3,92 ± 0,14	1,50 ± 0,00	1,97 ± 0,06
1DEJ	1,58 ± 0,14	4,00 ± 0,43	1,67 ± 0,29	1,95 ± 0,05
2DEH	1,92 ± 0,14	5,33 ± 0,29	0,97 ± 0,06	1,90 ± 0,10
2DEI	1,83 ± 0,29	4,00 ± 0,00	1,50 ± 0,00	1,97 ± 0,06
2DEJ	1,67 ± 0,29	4,00 ± 0,50	1,50 ± 0,50	1,93 ± 0,06
3DEH	1,75 ± 0,25	5,17 ± 0,29	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
3DEI	1,83 ± 0,29	4,00 ± 0,00	1,33 ± 0,29	2,00 ± 0,00
3DEJ	1,78 ± 0,29	4,25 ± 0,00	1,25 ± 0,29	2,00 ± 0,00

Tabela 7.32. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 20 % soka od aronije (izgled, aroma/buke, kiselost i izbalansiranost) sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Izgled (0-2)	Aroma/buke (0-6)	Kiselost (0-2)	Izbalansiranost (0-2)
1DFH	0,90 ± 0,00	5,25 ± 0,25	0,57 ± 0,06	1,40 ± 0,10
1DFI	0,90 ± 0,00	5,25 ± 0,25	0,20 ± 0,00	0,53 ± 0,25
1DFJ	0,90 ± 0,00	5,50 ± 0,00	0,40 ± 0,00	1,07 ± 0,12
2DFH	1,00 ± 0,00	3,37 ± 0,15	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,00
2DFI	2,00 ± 0,00	3,50 ± 0,50	0,32 ± 0,16	0,22 ± 0,03
2DFJ	1,25 ± 0,25	4,17 ± 0,29	0,67 ± 0,14	1,00 ± 0,17
3DFH	1,00 ± 0,00	3,37 ± 0,15	0,07 ± 0,06	0,07 ± 0,06
3DFI	2,00 ± 0,00	3,50 ± 0,50	0,20 ± 0,00	0,20 ± 0,00
3DFJ	1,25 ± 0,25	4,17 ± 0,29	0,58 ± 0,14	0,93 ± 0,25

Tabela 7.33. Rezultati senzorne analize za medovine bez dodatka soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1AEH	1,00 ± 0,00	0,40 ± 0,10	0,50 ± 0,00	1,50 ± 0,00
1AEI	0,10 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,50 ± 0,00
1AEJ	1,00 ± 0,00	0,50 ± 0,01	0,50 ± 0,00	1,50 ± 0,00
2AEH	0,97 ± 0,06	0,43 ± 0,12	0,57 ± 0,12	1,67 ± 0,14
2AEI	1,07 ± 0,12	0,43 ± 0,06	0,47 ± 0,06	1,62 ± 0,13
2AEJ	1,00 ± 0,00	0,53 ± 0,06	0,57 ± 0,06	1,50 ± 0,00
3AEH	2,00 ± 0,00	0,67 ± 0,14	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
3AEI	2,50 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,50 ± 0,00
3AEJ	2,17 ± 0,29	0,60 ± 0,00	1,50 ± 0,00	1,75 ± 0,00

Tabela 7.34. Rezultati senzorne analize za medovine bez dodatka soka od aronije ((punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1AFH	1,50 ± 0,00	0,27 ± 0,06	0,92 ± 0,14	1,87 ± 0,15
1AFI	1,50 ± 0,00	0,30 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,77 ± 0,12
1AFJ	1,50 ± 0,00	0,30 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,10
2AFH	1,53 ± 0,06	0,30 ± 0,00	0,83 ± 0,14	1,83 ± 0,12
2AFI	1,42 ± 0,14	0,27 ± 0,03	1,00 ± 0,00	1,83 ± 0,12
2AFJ	1,58 ± 0,14	0,33 ± 0,06	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,10
3AFH	1,25 ± 0,25	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,00 ± 0,00
3AFI	1,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,50 ± 0,00
3AFJ	1,00 ± 0,00	0,33 ± 0,14	0,25 ± 0,00	0,75 ± 0,00

Tabela 7.35. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 5 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1BEH	2,97 ± 0,06	1,10 ± 0,10	2,08 ± 0,14	3,00 ± 0,00
1BEI	2,00 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,70 ± 0,05	2,08 ± 0,14
1BEJ	1,83 ± 0,29	1,75 ± 0,00	1,83 ± 0,29	2,25 ± 0,25
2BEH	2,73 ± 0,06	1,07 ± 0,15	2,08 ± 0,14	3,00 ± 0,00
2BEI	2,00 ± 0,10	0,90 ± 0,00	1,70 ± 0,05	2,17 ± 0,14
2BEJ	1,75 ± 0,25	1,65 ± 0,13	1,75 ± 0,25	2,25 ± 0,25
3BEH	3,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00
3BEI	2,00 ± 0,00	0,75 ± 0,00	1,75 ± 0,00	2,00 ± 0,00
3BEJ	2,00 ± 0,00	1,75 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,50 ± 0,00

Tabela 7.36. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 5 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1BFH	1,00 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,17 ± 0,14
1BFI	1,17 ± 0,29	0,92 ± 0,14	0,53 ± 0,06	1,17 ± 0,14
1BFJ	1,25 ± 0,25	1,00 ± 0,00	0,53 ± 0,06	1,25 ± 0,00
2BFH	1,13 ± 0,12	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,08 ± 0,14
2BFI	1,33 ± 0,29	0,93 ± 0,06	0,57 ± 0,06	1,25 ± 0,00
2BFJ	1,17 ± 0,14	1,08 ± 0,14	0,50 ± 0,00	1,17 ± 0,14
3BFH	1,00 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,17 ± 0,14
3BFI	1,00 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,17 ± 0,14
3BFJ	1,00 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,50 ± 0,00	1,17 ± 0,14

Tabela 7.37. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 10 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1CEH	3,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,50 ± 0,50	3,00 ± 0,00
1CEI	2,67 ± 0,14	0,97 ± 0,06	2,67 ± 0,29	2,58 ± 0,14
1CEJ	2,58 ± 0,14	0,97 ± 0,06	1,90 ± 0,10	2,67 ± 0,14
2CEH	2,92 ± 0,14	0,97 ± 0,06	2,33 ± 0,58	2,92 ± 0,14
2CEI	2,67 ± 0,14	0,97 ± 0,06	2,50 ± 0,00	2,67 ± 0,14
2CEJ	2,58 ± 0,14	0,97 ± 0,06	1,83 ± 0,06	2,67 ± 0,14
3CEH	3,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,33 ± 0,58	2,92 ± 0,14
3CEI	2,75 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,50 ± 0,50	2,67 ± 0,14
3CEJ	2,58 ± 0,14	1,00 ± 0,00	1,90 ± 0,01	2,67 ± 0,14

Tabela 7.38. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 10 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1CFH	1,63 ± 0,15	0,70 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,87 ± 0,12
1CFI	1,70 ± 0,10	0,70 ± 0,10	1,00 ± 0,00	1,83 ± 0,06
1CFJ	1,63 ± 0,15	0,73 ± 0,06	1,07 ± 0,12	1,80 ± 0,00
2CFH	1,70 ± 0,10	0,70 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,00
2CFI	1,70 ± 0,00	0,70 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,00
2CFJ	1,70 ± 0,10	0,77 ± 0,06	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,00
3CFH	1,63 ± 0,15	0,73 ± 0,06	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,00
3CFI	1,63 ± 0,15	0,73 ± 0,06	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,00
3CFJ	1,63 ± 0,15	0,77 ± 0,06	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,00

Tabela 7.39. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 20 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca E

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1DEH	2,83 ± 0,14	0,97 ± 0,06	1,97 ± 0,06	2,92 ± 0,03
1DEI	2,72 ± 0,20	0,97 ± 0,06	1,85 ± 0,15	2,75 ± 0,05
1DEJ	2,95 ± 0,05	0,92 ± 0,08	1,87 ± 0,12	2,67 ± 0,12
2DEH	2,92 ± 0,14	0,97 ± 0,06	1,90 ± 0,10	2,87 ± 0,06
2DEI	2,67 ± 0,29	1,00 ± 0,00	1,83 ± 0,15	2,70 ± 0,00
2DEJ	2,92 ± 0,14	1,00 ± 0,00	1,90 ± 0,10	2,73 ± 0,06
3DEH	3,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,87 ± 0,06
3DEI	3,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,93 ± 0,12	2,70 ± 0,10
3DEJ	3,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,93 ± 0,12	2,70 ± 0,10

Tabela 7.40. Rezultati senzorne analize za medovine sa dodatkom 20 % soka od aronije (punoća, ukus, osjećaj u ustima i ukupni utisak) sa dodatkom kvasca F

Uzorak	Ukus (0-3)	Punoća (0-1)	Osjećaj u ustima (0-2)	Ukupni utisak (0-3)
1DFH	2,37 ± 0,15	0,73 ± 0,06	1,60 ± 0,10	2,23 ± 0,06
1DFI	0,60 ± 0,10	0,60 ± 0,10	1,07 ± 0,12	1,70 ± 0,10
1DFJ	1,25 ± 0,25	0,67 ± 0,06	1,50 ± 0,00	2,00 ± 0,00
2DFH	0,75 ± 0,25	0,10 ± 0,00	0,33 ± 0,29	0,50 ± 0,00
2DFI	0,67 ± 0,29	0,20 ± 0,00	0,33 ± 0,15	0,50 ± 0,10
2DFJ	1,63 ± 0,15	0,58 ± 0,14	1,10 ± 0,10	1,50 ± 0,00
3DFH	0,33 ± 0,58	0,07 ± 0,06	0,17 ± 0,29	0,40 ± 0,17
3DFI	0,50 ± 0,50	0,17 ± 0,06	0,23 ± 0,25	0,43 ± 0,15
3DFJ	1,60 ± 0,17	0,50 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,50 ± 0,00

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укорицити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
Оптимизација процеса производње медовине уз додаток воћног сока од ароније као производа побољшаних функционалних својстава
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
а) Технолошки факултет Бања Лука, Универзитет у Бањој Луци, Лабораторија за анализу намирница, Лабораторија за микробиологију, Лабораторија за инструменталне методе анализе б) Пољопривредни факултет Бањ Лука, Универзитет у Бањој Луци, Лабораторија за екотоксикологију и аналитику пестицида
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Докторске академске студије, смјер Биотехнологија
1. Опис података
<p><i>1.1 Врста студије</i></p> <p><i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i></p> <p>Докторска дисертација се бави оптимизацијом процеса производње медовине, која подразумијева одређивање врсте меда, третмана меда, врсте и количине доданог квасца и количине доданог сока од ароније, са циљем побољшања функционалних својстава медовине као финалног производа.</p> <p>1.2 Врсте података</p> <p>а) квантитативни б) квалитативни</p> <p>1.3. Начин прикупљања података</p> <p>а) анкете, упитници, тестови б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи в) генотипови: навести врсту г) административни подаци: навести врсту д) узорци ткива: навести врсту ђ) снимци, фотографије: .jpg формат фотографија узорака током рада е) текст: научно-релевантна литература, дискусија резултата ж) мапа: навести врсту з) остало: експериментални резултати добијени у лабораторијским условима</p> <p>1.3 Формат података, употребљене скале, количина података</p> <p>1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:</p> <p>а) Excel фајл, датотека .xlsx б) SPSS фајл, датотека .sav</p>

- c) PDF фајл, датотека **.pdf**
- d) Текст фајл, датотека **.doc**
- e) JPG фајл, датотека **.jpg**
- f) Остало, датотека _____

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

- a) број варијабли: **5**
- б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.): **3 врсте меда, 15 третмана меда, 3 врсте квасца, три количине доданог квасца, три количине доданог сока од ароније, велики број мјерења**

1.3.3. Поновљена мерења

- a) **да**
- б) **не**

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

- a) временски размак између поновљених мера је **од неколико минута до неколико дана**
- б) варијабле које се више пута мере односе се на **све експерименталне анализе**
- в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

- a) **Да**
- б) **Не**

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

- a) експеримент, навести тип **физичко-хемијске, микробиолошке, инструменталне и сензорне анализе, структурна карактеризација сировина, кинетичка испитивања, биотехнолошка оптимизација**
- б) корелационо истраживање, **Pearson-ов коефицијент, анализа стандардне оцјене, кинетичко моделовање, Gompertz-ов модел, вишекритеријски оптимизација**
- ц) анализа текста: **прикупљање података из литературе и упоређивање са експерименталним резултатима**
- д) остало, навести шта

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

- a) Да ли матрица садржи недостајуће податке? **Да Не**

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? _____
 - б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не
 - в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података
-

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Контрола квалитета података је извршена одређивањем поновљивости добијених резултата

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса података у матрицу је извршена упоређивањем експерименталних резултата са литературним подацима

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у **НардУс – Националном репозиторијуму дисертација у Србији и у репозиторијуму Информационог система научне делатности Универзитета у Новом Саду**

3.1.2. URL адреса <https://nardus.mpn.gov.rs/>

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- а) **Да**
- б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? **Неограничено**

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да **Не**

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да **Не**

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да **Не**

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да **Не**

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
 - б) Подаци су анонимизирани
 - ц) Остало, навести шта
-
-

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

а) јавно доступни

б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Маја Стојковић (маја.milijas@tf.unibl.org)

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Маја Стојковић (маја.milijas@tf.unibl.org)

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Маја Стојковић (маја.milijas@tf.unibl.org)