Fitokemijske karakteristike i primjena meda u farmakognoziji

Aljinović, Dajana

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:159975

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO TEHNOLOŠKI FAKULTET
I
MEDICINSKI FAKULTET

Dajana Aljinović

FITOKEMIJSKE KARAKTERISTIKE I PRIMJENA MEDA U FARMAKOGNOZIJI

Diplomski rad

Akademska godina: 2014./2015.

Mentor:

Prof. dr. sc. Igor Jerković

Split, rujan 2015.

Zahvaljujem se prof. dr. sc. Igoru Jerkoviću na pomoći i korisnim savjetima koji su mi uvelike olakšali uspješnu izradu diplomskog rada.

Zahvaljujem se svojoj obitelji koja mi je pružila veliku potporu, razumijevanje i pomoć tijekom studiranja.

Zahvaljujem se svojim prijateljima koji su bili uz mene i bez kojih ovo petogodišnje putovanje ne bi prošlo tako lako i zabavno.

Zahvaljujem se Hrvatskoj zakladi za znanost koja je financirala ovaj rad projektom HRZZ-IP-11-2013-8547.



SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Povijest meda u medicini 2
1.2. Apiterapija 4
1.2.1. Pčelinji proizvodi 4
1.2.2. Definicija meda 7
1.3. Vrste meda 7
1.4. Kemijski sastav meda 9
1.4.1. Ugljikohidrati 10
1.4.2. Voda 11
1.4.3. Proteini i aminokiseline 11
1.4.4. Enzimi 12
1.4.5. Vitamini 12
1.4.7. Organske kiseline 14
1.4.8. 5-Hidroksimetilfurfural 15
1.4.9. Toksične komponente i kontaminacija 15
1.5. Fizikalna svojstva meda 16
1.6. Organoleptička svojstva meda 18
2. CILJ ISTRAŽIVANJA 20
3. MATERIJALI I METODE 22
3.1. Metode određivanja botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda 23
3.1.1. Klasične metode 23
3.1.2. Suvremene metode 24
3.1.2.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti 25
3.1.2.2. Vezani sustav plinska kromatografija - spektrometrija masa 27
3.2. Metode određivanja antimikrobnog djelovanja 28
3.3. Metode određivanja antioksidacijskih svojstava meda 30
3.3.1. DPPH - metoda 30
3.3.2. FRAP - metoda 31
3.3.3. ABTS - metoda 31
4. REZULTATI 33
4.1. Fitokemikalije 34

4.1.1. Antioksidansi 34
4.1.2. Flavonoidi 34
4.2. Cvjetni markeri u medu - fitokemikalije kao markeri 36
4.2.1. Hlapljive tvari 37
4.2.2. Fenolni spojevi 37
4.2.3. Ugljikohidrati 38
4.2.4. Aminokiseline i proteini 38
4.2.5. Ostali markeri 39
4.3. Biološki učinci i terapijska primjena meda 39
4.3.1. Antimikrobni učinak 39
4.3.2. Imunostimulacijsko djelovanje 41
4.3.3. Zacjeljivanje rana 41
4.3.3.1. Dostupni preparati na tržištu 42
4.3.4. Primjena u gastroenterologiji 43
4.3.4.1. Med kao prebiotik 43
4.3.4.2. Ulkusi i gastritisi 43
4.3.4.3. Laksativni učinci i konstipacija 43
4.3.4.4. Akutni gastroenteritis kod djece 44
4.3.4.5. Intoksikacija alkoholom 44
4.3.4.6. Hepatitis 44
4.3.5. Utjecaj meda na sportske rezultate 44
4.3.6. Primjena meda kod dijabetičara 45
4.3.7. Kardiovaskularno zdravlje 45
4.3.8. Oralno zdravlje 46
4.3.9. Primjena meda u oftalmologiji 46
4.3.10. Primjena meda u onkologiji 46
4.3.11. Kašalj 47
4.3.12. Gripa i prehlada 47
4.3.13. Ostale potencijalne primjene meda 47
5. RASPRAVA 49
5.1. Botaničko i zemljopisno podrijetlo meda 50
5.2. Antimikrobno djelovanje 50
5.3. Antioksidacijska svojstva meda 51

5.4. Fitokemikalije 51
5.4.1. Antioksidansi 51
5.4.2. Flavonoidi 54
5.5. Cvjetni markeri u medu - fitokemikalije kao markeri 55
5.5.1. Hlapljive tvari 55
5.5.2. Fenolni spojevi 55
5.6. Biološki učini i terapijska primjena meda 56
5.6.1. Mehanizam antimikrobnog djelovanja 56
5.6.2. Mehanizam djelovanja antioksidansa 58
5.6.3. Mehanizam djelovanja meda kod zacjeljivanja rana 58
5.6.4. Pretpostavljeni mehanizmi djelovanja meda kod različitih indikacija 60
6. ZAKLJUČCI 62
7. POPIS CITIRANE LITERATURE 66
8. SAŽETAK 74
9. SUMMARY 76

1. UVOD

1.1. Povijest meda u medicini

Med je prirodni zaslađivač poznat u cijelom svijetu. Osim kao prirodno sladilo, već od davnih vremena med je prepoznat kao ljekovito sredstvo. Prvi slikovni zapisi na kojima su prizori sakupljanja meda sačuvani su crtežima otkrivenim na stijenama špilja koje se nalaze blizu Valencije u Španjolskoj, a potječu oko 7000 godina prije Krista. Postoje slike na nekoliko lokacija iz kamenog doba koje potječu oko 6000 godina pr. n. e., što znači da je čovječanstvo upoznato s medom barem 8000 - 9000 godina. Od tada su med i drugi pčelinji proizvodi pratili čovjeka kroz povijest kao vjerski simbol, hrana i lijek.

Med se spominje u drevnim tekstovima, kao što su sumeranske glinene ploče (6200. god. pr. n. e.), egipatski papirusi (1900. - 1250. god. pr. n .e.), indijske Vede stare oko 5000 godina, Kuran, Talmud, Stari i Novi zavjet Biblije, svete knjige Indije, Kine, Perzije i Egipta. Ljekovita svojstva meda je spominjao i Hipokrat, najpoznatiji antički grčki liječnik (460. - 375. god. pr. n. e).[1, 2]

Med se koristio u mnogim drevnim civilizacijama za različite indikacije, a smatra se da je prva indikacija bila uporaba meda kod zacjeljivanja rana. U pismima starih Sumerana (2000 god. pr. n. e.) postoje recepti za primjenu meda kod rana.

U starom Egiptu med je imao važnu ulogu o čemu svjedoče pisani tragovi i slike na zidovima u hramovima i grobnicama. Staroegipatska medicina koristila je med na mnoge načine, vjerujući da je to Božji dar koji liječi sve bolesti. U zemlji faraona med se koristio u ishrani, medicini, kozmetici, magijskim i religijskim ceremonijama te za mumificiranje.[3] Poznato je da je krema za lice koju je rabila Kleopatra sadržavala med. U starom Egiptu, u Eber papirusima se spominje primjena meda kod sprječavanja gubitka kose, a u Smith papirusima primjena meda za zacjeljivanje rana.

U kineskoj medicini je Shen Nang, otac kineske medicine, 2000 godina pr. n. e. spominjao med kao lijek. Prema kineskoj medicini, med ima uravnotežen karakter (ni ying, ni yang) i djeluje u skladu s načelima elemenata Zemlje ulazeći u pluća, slezenu i debelo crijevo. Med se koristio u kombinaciji s pčelinjim otrovom, propolisom, matičnom mliječi, peludi i drugim ljekovitim biljem. U Kini je med poznat pod imenom Feng Mi. Ljekarnik Li Shizhen iz dinastije Ming je napisao: "Med može rastjerati patogene toplinom, ukloniti toksine, ublažiti bolove i spriječiti dehidraciju. Li Shizhen je pokazao da redovito konzumiranje meda pomaže kod oslabljenog vida, prevenira konstipaciju i pomaže kod kroničnog kašlja.[4]

U indijskoj Ayurveda medicini, med je poznat pod imenom Madhu i jedan je od najvažnijih lijekova. Koristi se za zacjeljivanje i čišćenje rana, za različite interne i eksterne infekcije, bolesti oka, protiv kašlja, žeđi, štucanja, kod krvi u pljuvački, za liječenje gube, dijabetesa, protiv povraćanja, proljeva i astme. Također se koristi kao prirodan konzervans i zaslađivač u brojnim Ayurveda preparatima te se kombinira zajedno s drugim lijekovima zbog sinergijskog učinka i za ublažavanje nuspojava drugih lijekova. Prema Ayurvedi med se konzumira uvijek hladan, nikad zagrijan jer može biti toksičan.[4]

U antičkoj Grčkoj se smatralo da med može produljiti život. Grčki mislioci kao što su Homer, Pitagora, Ovid, Demokrit, Hipokrat i Aristotel su smatrali da med može sačuvati zdravlje i snagu.[4]

Med je najčešće korištena tvar u rimskoj farmakopeji. Plinije je napisao da je med dobar za probleme u usnoj šupljini, za liječenje pneumonije, pleuritisa te kod posljedica ugriza zmije.[1]

Stare Maye su koristile med za liječenje katarakte.[1]



Slika 1. Grobnica Pabasa, 26. dinastija, 760. - 656. god. pr. n. e.



Slika 2. *Materia medica* (Dioskardid- priprema meda za medicinske svrhe), arapski prijevod 1224. god.

1.2. Apiterapija

U zemljama EU prihvaćena je definicija po kojoj je apiterapija primjena pčelinjih proizvoda u ishrani i očuvanju zdravlja, prevenciji bolesti i pomoć organizmu da što prije ozdravi. Nije priznata kao znanstvena disciplina, već spada u alternativne metode.[5] Pčelinji proizvodi su registrirani kao hrana, dodatci prehrani, medicinski proizvodi i prirodni lijekovi.

Kod primjene apiterapije, od posebne važnosti je utvrditi potencijalnu alergijsku reakciju na pčelinje proizvode kako bi se izbjegle neželjene posljedice.

Iako se med već od davnina koristio u medicinske svrhe, apiterapija se razvila tijekom 20. stoljeća. Početkom 20. stoljeća, pčelinje su proizvode proučavali mnogi liječnici u Europi i SAD-u. Istraživanja su se održala sve do pojave antibiotika kad su antibiotici gotovo u potpunosti istisnuli med u liječenju inficiranih rana.

Pčelinji proizvodi korišteni u apiterapiji su matična mliječ, propolis, pelud, pčelinji otrov, pčelinji vosak i med.

U apiterapiji se preporuča sve pčelinje proizvode, posebice matičnu mliječ, otopiti u ustima pod jezikom. Na taj način organizam u potpunosti apsorbira aktivne tvari i temeljito ih iskorištava.

1.2.1. Pčelinji proizvodi



Slika 3. Pčelinji proizvodi

Matična mliječ (Gelee royal) je izlučevina mandibularnih i hipofaringealnih žlijezda medonosnih pčela, a proizvode je mlade pčele radilice kao hranu za matice i ličinke. Mliječ je bijele do blijedožute boje koja potječe od pigmenta cvjetnog praška. Karakteristične je konzistencije, arome i okusa (kiselkast i blago ljut).

Najveći dio je voda (65-70%), a sadrži još 14-19% bjelančevina (albumini, globulini, glikoproteini, lipoproteini, aminokiseline), 9-18% šećera (glukoza, fruktoza, male količine maltoze, izomaltoze, riboze, trehaloze, neotrehaloze te gentibioze), 1,5-7% lipida (steroli, glicerol, vosak, neutralne masti, fosfolipidi), 0,7-1,19% mineralnih tvari (K, Na, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn, Si, Cr, Ni, Ag, Co, Al, As, Hg, Bi, Au, S, P), vitamine (B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, inozitol, vitamin E, D, A, K, C), enzime (invertaza, amilaza, katalaza, kisela fosfataza i drugi), neurotransmitere acetilkolin i kolin (jedini prirodni izvor acetilkolina u čistom obliku) te spolne hormone (estradiol, progesteron i testosteron).[6] Sadrži i jedinstvenu, samo u matičnoj mliječi prisutnu, nezasićenu masnu kiselinu 10-HDA (10-hidroksidec-2-enska kiselina) koja posjeduje jako protuupalno djelovanje. Obično je ima oko 1,5-2,0%, a služi kao parametar za određivanje kvalitete matične mliječi.

Dokazani učinci matične mliječi su**:** antibakterijski i antiviralni učinak**,** antialergijsko djelovanje, estrogeni učinak, snižavanje arterijskog tlaka, poboljšavanje pamćenje zbog acetilkolina, imunomodulirajuće djelovanje, antitumorska aktivnost te utjecaj na odgađanje procesa starenja.[7]

Propolis (grč. „pro“-pred i „polis“-grad) je smolasta, ljepljiva smjesa koju pčele prikupljaju s populjaka stabala, biljnih sokova ili drugih biljnih izvora. Propolis je žutozelene do smeđe i tamnocrvene boje, ljepljiv, zagrijavanjem omekša, a poslije hlađenja postaje krhak. Specifična je mirisa i gorkastog okusa.

Glavne ljekovite tvari u propolisu su: 55% smole (potječu s pupoljaka ili oštećenih dijelova biljaka, dok ostalo u procesu prerade dodaju pčele), 30% voska, isparljivi spojevi oko 10%, oko 5% cvjetnog praha, brojni vitamini i minerali, organske kiseline, polifenoli i flavonoidi (galangin, kvercetin, krizin, kemferol, apigenin, pinocembrin i pinobanksin).[6]

Najznačajniji biološki učinci propolisa su antibakterijski, anitiviralni, antimikotski učinci, protuupalno djelovanje te snažno antioksidacijsko djelovanje. Ujedno, propolis djeluje i kao prirodni anestetik, imunostimulans te posjeduje antitumorska svojstva.

Pelud (polen, cvjetni prah) je muška spolna stanica kod biljaka. Pčele sakupljaju pelud i unose je u košnicu za vlastitu prehranu, a usput u prirodi vrše veoma važnu ulogu oprašivanja. Pelud je neophodna za prehranu pčela jer niti jedna prirodna namirnica nema tako široki spektar hranjivih tvari. Sadrži vodu (20-30%), bjelančevine u najvećem postotku (7-40%), masti (1-5%), ugljikohidrate (20-40%), vitamine (B_1, B_2, B_3, B_5, B_6, E, A, C i D), minerale (1-7%: željezo, bakar, cink, mangan, srebro, molibden, krom, barij, stroncij i fosfor), polifenole (i do 17% rutina) , enzime, nukleinske kiseline, lecitin, hormone (fitosterole) i druge tvari.[6]

Ako gledamo kroz mikroskop, pelud uzet s tijela pčele ili iz meda, po njihovoj veličini i obliku, možemo odrediti koje je cvjetove posjetila pčela, odnosno botaničko podrijetlo meda.

Konzumacija peludi se preporuča za povećavanje apetita i metabolizma (anoreksija), kod kroničnih crijevnih bolesti, masnoća u krvi, ateroskleroze, psihičkih bolesti, kod anemija (uzrokuje brzo povećanje eritrocita i hemoglobina), čira na želucu i dvanaesniku, prostatitisa, za jačanje imuniteta te kod rekovalescenata.

Pčelinji otrov (apitoksin) proizvode mlade pčele u prva dva-tri tjedna života, dok je sadržaj otrova kod starijih pčela mnogo manji. Otrov je izlučevina žalčanog sustava pčele, a nalazi na zatku pčela gdje ostaje do kraja njenog životnog ciklusa ili do trenutka kada se pčela brani ispuštanjem otrova, a nalazi se u vrlo malim količinama (temeljeno na suhoj tvari, jedna pčela proizvede u prosjeku samo 0,15 mg otrova).

Pčelinji je otrov gusta, bezbojna tekućina, karakteristična medna mirisa te ljuta okusa. pH vrijednost se kreće između 4,5 i 5,5. U sastavu dominira melitin (oko 50%), biološki aktivan peptid koji je najvažnija aktivna tvar. Ostatak se sastoji od 3% apamina (biološki aktivan peptid) te još dva bazična polipeptida. U sastav ulaze i hijaluronidaza, 14% fosfolipaze A te oko 1% histamina. Hijaluronidaza otapa vezivno tkivo čime omogućuje bolje prodiranje otrova u organizam žrtve, dok fosfolipaza A izaziva razaranje fosfolipidne membrane eritrocita i smanjuje sposobnost zgrušavanja krvi.

Djelovanje pčelinjeg otrova na organizam je različito. Ono ovisi o broju i mjestu uboda kao i o individualnoj osjetljivosti organizma. Pokusima na životinjama je potvrđeno pozitivno djelovanje u liječenju zglobnih upala. Dokazano je bakteriostatsko i baktericidno djelovanje otrova na Gram pozitivne bakterije. Preparati sa pčelinjim otrovom su normirani na jedinice

pčelinjeg otrova (H. Wagner, 1999.). Ti se preparati rabe lokalno u obliku intrakutanih injekcija u reumom zahvaćene mišiće i protiv bolesti zglobova.[6]

Pčelinji vosak je proizvod voštanih žlijezda pčela radilica koji one koriste za izgradnju saća. Kompleksna je smjesa lipida i ugljikovodika.[8] Dobiva se taljenjem saća pčela radilica. Zbog polena i smole žute je, a ponekad i zelene boje - žuti vosak (Cera flava). Pročišćen adsorpcijom boja ili obrađen sredstvima za izbjeljivanje, bijele je boje - bijeli vosak (Cera alba). Pri bijeljenju se odstranjuje i miris.[9]

1.2.2. Definicija meda

Monografija MEL - MED je u malom broju farmakopeja. Za farmaceutske svrhe rabi se uglavnom *mel depuratum* - pročišćeni med. Iz njega su posebnim postupkom uklonjeni pelud, proteini, vosak i drugi čvrsti sastojci.[6]

Prema Europskoj farmakopeiji 6.0 med se definira kao proizvod pčela koji od nektara biljaka ili izlučevina živih dijelova biljaka pčele (*Apis mellifera* L.) sakupljaju, preinačuju dodajući im vlastite specifične tvari, odlažu, isušuju, pohranjuju i ostavljaju u saće da sazrije.

Prema Pravilniku o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda, med je sladak, gust, viskozni, tekući ili kristaliziran proizvod što ga medonosne pčele proizvode od nektara cvjetova medonosnih biljaka ili od medne rose, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari i odlažu u stanice saća da sazrije.

1.3. Vrste meda

Različite vrste meda razlikuju se po svom sastavu u ovisnosti o biljnom i zemljopisnom podrijetlu, klimatskim uvjetima, pasmini pčela te vještini samog pčelara (način dorade i skladištenje meda).

Prema podrijetlu medonosnih biljaka ili medne rose, med se razvrstava na:

- nektarni med (cvjetni med)
- medljikovac (medun)

Nektarni med je proizvod što ga pčele proizvode od nektara, slatke tekućine koju izlučuju biljne žlijezde nektarije, medonosnih biljaka različitih vrsta (lipa, bagrem, kadulja, livadno bilje i dr.), a može biti monoflorni i poliflorni. Po kemijskom sastavu nektar je vodena otopina različitih šećera s najviše saharoze, glukoze i fruktoze. Neke vrste meda sadrže u malim količinama i određene oligosaharide (rafinoza, melebioza, melecitoza i dr.). Uz šećere, nektar sadrži i određene količine dušikovih i fosfornih spojeva, organskih kiselina, vitamina (naročito vitamina C), pigmenata, aromatičnih spojeva, mineralnih tvari, enzima (invertaza, kisela fosfataza) i aminokiselina.[10,11,12]

Monoflorni (sortni, uniflorni) med je onaj koji u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 45% peludnih zrnaca iste biljne vrste s izuzecima pitomog kestena (*Castanea sativa* L.) gdje udio peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu iznosi najmanje 85%, lucerne (*Medicago sp*.) 30%, ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.) 30%, lipe (*Tilia sp*.) 25%, kadulje (*Salvia sp*.) 20%, bagrema (*Robinia pseudacacia* L.) 20% i lavande (*Lavandula sp*.) 20%. Apsolutni uniflorni med ne postoji jer pčele nikada ne posjećuju samo jednu biljnu vrstu, pa čak i ako ona dominira na tom području. Uniflorni medovi se svrstavaju u vrijedniju kategoriju te time postižu više cijenu od poliflornih.[8]

Poliflorni med je mješavina meda različitih vrsta, npr. livadni ili voćni med.[8]

Med medljikovac je med što ga pčele proizvode od medne rose (medljike), slatke tvari koja se javlja na listovima i ostalim dijelovima crnogoričnog (jela, smreka, bor ili ariš) i bjelogoričnog drveća (hrast, bukva ili lipa). Ona je izlučevina kukaca iz reda jednakokrilaca (*Homoptera*) od kojih su za pčelarstvo najznačajnije lisne i štitaste uši, što znači da je pojava medljike izravna posljedica prisutnosti biljnih ušiju u šumama. One na biljkama sišu sokove kroz tanko i dugačko rilo koje uvuku kroz biljno tkivo, sve do sitastih cijevi kojima kolaju biljni sokovi koje iskorištavaju te više ili manje prerađene izlučuju kroz analni otvor u obliku sitnih kapljica medljike koja se gomila na biljci ili pada na zemlju ili travu.[10,11,12] Ti sokovi sadrže 10 - 30% suhe tvari od čega veći dio otpada na ugljikohidrate (5 - 20%), dok ostatak čini pepeo (1 - 3%), bjelančevine (0,03 - 3%), organske kiseline, vitamini i enzimi. Uz to medljika sadrži stanice algi i gljiva.

Medljikovac se od nektarnog meda razlučuje metodom električne vodljivosti, koja mora biti veća od 1,00 mS/cm.[8] U odnosu na nektarni med, medljikovac ima veću obojanost, veći

sadržaj mineralnih tvari te veću količinu oligosaharida, naročito melecitoze. Također je manje sladak od nektarnog meda, ima manje organskih kiselina te veću pH vrijednost.[10]

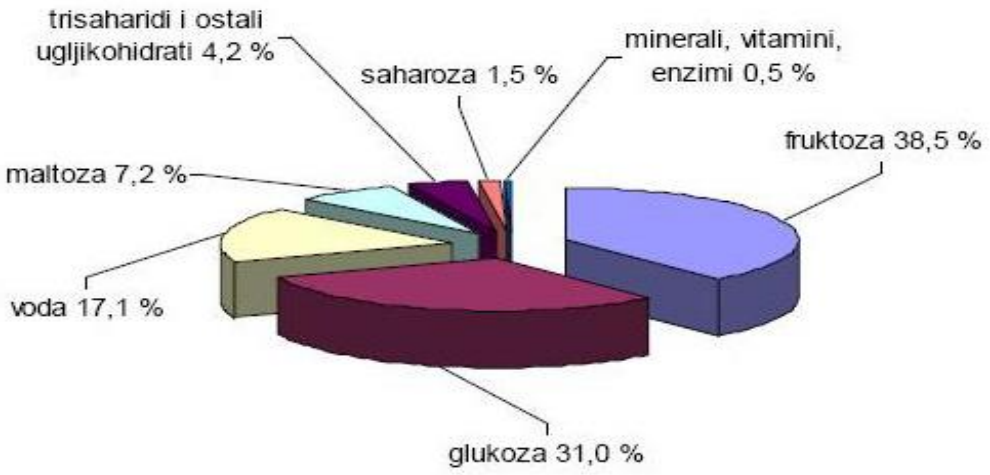
Postoji i tzv. miješani med koji je mješavina nektarnog meda i meda medljikovca.[8]

Podjela meda prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja:

- **med u saću**
- **cijeđeni med**- dobiven istjecanjem (cijeđenjem) iz saća, bez ikakve mehaničke obrade
- **vrcani med** - dobiven vrcanjem (u centrifugi) saća bez legla
- **prešani med** - dobiven hladnim gnječenjem saća bez legla
- **topljeni med**- dobiven zagrijavanjem (ali ne više od 40 °C) drobljenog saća
- **kremasti med**- dobiven kontroliranom kristalizacijom tekućeg meda (to je 100% prirodni med, bez dodataka stranih tvari; kremasta konzistencija se postiže jednostavnim miješanjem, čime su očuvana sva prirodna svojstva).
- **filtrirani med** (uklanjanje peludi)
- **industrijski med ili med za preradu**
- **ekspresni med** – poznat je u zapadnim zemljama i u zemljama EU. Dobiva se hranjenjem pčela šećernim sirupom. Proizvodnja ekspresnog meda u Hrvatskoj nije dopuštena.

1.4. Kemijski sastav meda

Med predstavlja složenu smjesu više od 70 različitih tvari. Neke od njih u med dodaju pčele, neke potječu od medonosnih biljaka, a neke nastaju tijekom zrenja meda u saću.[13] Unatoč razvoju različitih analitičkih metoda, sastav meda do danas nije u potpunosti razjašnjen što otežava patvorenje meda te tako on zadržava svojstva prirodne namirnice, proizvedene isključivo od pčela. Možda najvažnije svojstvo kojim se može opisati kemijski sastav meda je varijabilnost i jedinstvenost jer ne postoje dva uzorka meda koja su u potpunosti identična. Prosječan kemijski sastav meda prikazan je na slici 4.



Slika 4. Prosječni kemijski sastav meda

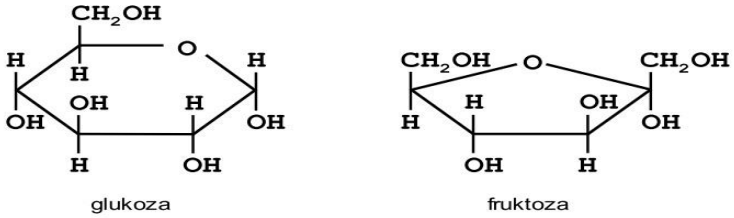
1.4.1. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda i njihov udio iznosi 73-83%, što med čini prezasićenom otopinom šećera u kojoj je udio vode oko 1,72%. Najzastupljeniji su fruktoza, s udjelom od 33,3-40,0% i glukoza s udjelom od 25,2-35,3%.[11] Prosječan omjer fruktoze i glukoze je 1,2:1. Ova dva monosaharida čine prosječno 88-95% ukupnih ugljikohidrata, daju medu slatkoću, energetsku vrijednost te najviše utječu na njegova fizikalna svojstva kao što su viskoznost, gustoća, ljepljivost, sklonost kristalizaciji, higroskopnost te mikrobiološka aktivnost. Omjer fruktoze i glukoze (F/G) karakterističan je za pojedine vrste meda i u većini je slučajeva veći od 1,0.[13] Kao bogati fruktozom ističu se med od bagrema i kestena (F/G 1,5-1,7), dok su jedni od rijetkih vrsta meda s većim udjelom glukoze, med uljane repice i maslačka.

Disaharidi, trisaharidi i oligosaharidi su prisutni u manjem udjelu. Od disaharida, pronađeni su: saharoza (0,4-10,1%), maltoza (0,5-2,8 %), izomaltoza (0,5-1,5%), nigeroza (0,2-1,0%), turanoza (0,5-1,5%), kobioza, laminoriboza, α- i β-trehaloza (<0,5%), gentiobioza, maltuloza i izomaltuloza melibioza (<0,5%), a od oligosaharida: erloza (<3,5%), melecitoza (1,4 - 11,0%), α- i β-izomaltozilglukoza, maltotrioza, kestoza, panoza, centoza, izopanoza i rafinoza (<1%) te izomaltotetroza i izomaltopentoza.[14] Većina ovih ugljikohidrata ne nalazi se u nektaru, već u medu nastaju djelovanjem pčelinjih enzima ili organskih kiselina.

Postoji razlika u sastavu ugljikohidrata između medljike i nektarnog meda. Medljika ima veću koncentraciju oligosaharida, i to najvećim dijelom trisaharida melecitoze i rafinoze, koji se uobičajno ne nalaze u nektarnom medu.[15]

Kalorijska vrijednost meda je oko 20% manja u odnosu na istu količinu kristalnog bijelog šećera (med 320kcal/100g, kristalni bijeli šećer 400kcal/100g) i med je 1,5 puta slađi od saharoze (potrebna je manja količina za zaslađivanje), pa na dijetetskoj razini to predstavlja uštedu kalorija.



Slika 5. Najzastupljeniji ugljikohidrati u medu

1.4.2. Voda

Voda je drugi najzastupljeniji sastojak meda i njen se udio u medu kreće između 15 i 23%. [13] Udio vode značajno utječe na neka fizikalna svojstva meda (kristalizacija, viskoznost ili specifična težina), a ovisi o klimatskim uvjetima, pasmini pčela, snazi pčelinje zajednice, vlažnosti, temperaturi zraka u košnici, uvjetima pri preradi i čuvanju, kao i o botaničkom podrijetlu meda. Zbog higroskopnosti meda količina vode u njemu nije stalna veličina, već se za vrijeme čuvanja, u ovisnosti o vlažnosti zraka, mijenja.

Udio vode je najvažniji parametar kakvoće meda budući da određuje stabilnost meda i otpornost na mikrobiološko kvarenje (fermentaciju) tijekom čuvanja.[16]

1.4.3. Proteini i aminokiseline

Proteini i aminokiseline u medu su životinjskog (od pčela) i biljnog (iz peludi) podrijetla. Mogu biti u obliku otopine aminokiselina ili u obliku koloida, čestica proteina koje lebde u medu, a utječu na formiranje nekih svojstava meda poput stvaranja pjene i zračnih mjehurića, tamnjenje, zamućenje ili kristalizaciju meda.[17] Udio proteina u medu kreće se od 0-1,7%, dok medljikovac sadrži više proteina od nektarnog meda.

Iako je udio ukupnih proteina u medu mali, med sadrži širok spektar od otprilike osamnaest esencijalnih i neesencijalnih aminokiselina koje variraju ovisno o biljnoj vrsti. Prolin potječe od pčela te je najzastupljenija aminokiselina sa udjelom od 80-90%. Ostale aminokiseline prisutne u medu su lizin, histidin, arginin, asparaginska kiselina, treonin, serin, glutaminska kiselina, glicin, alanin, cistein, valin, metionin, izoleucin, leucin, tirozin, fenilalanin i triptofan.[11]

1.4.4. Enzimi

Med, iako u malom udjelu, sadrži brojne enzime, uključujući invertazu, dijastazu (amilaza), glukoza oksidazu, katalazu, kiselu fosfatazu, peroksidazu, polifenoloksidazu, esterazu, inulazu i proteolitičke enzime.[11] Neki enzimi potječu od pčela koje one dodaju u med prilikom prerade nektara, a ostali potječu iz peluda, nektara ili čak ponekad iz kvasaca i bakterija prisutnih u medu. Najmanje devet šećera u medu nastaje preko α-glukozidaze i β-glukozidaze, što je vrlo važno za antibakterijska svojstva meda.
Enzimi su vrlo značajne komponente meda budući da se njihova aktivnost smatra pokazateljem kakvoće, stupnja zagrijavanja, trajnosti te čuvanja meda (Tablica 1.).

1.4.5. Vitamini

Med sadrži vitamine, ali zbog malih količina ne smatra se značajnim izvorom za ljudski organizam. Kako su nektar, a naročito pelud, glavni izvori vitamina u medu, zastupljenost pojedinih vitamina ponajviše ovisi o botaničkom podrijetlu meda. U medu se nalaze vitamini topljivi u vodi (vitamini B skupine: tiamin, riboflavin, nikotinamid, piridoksin, pantotenska kiselina, biotin, folna kiselina i vitamin C).[11] Najviše vitamina C sadrži pelud pelina. Vitamin C se tijekom obrade meda gubi, pa se uglavnom može naći u saću. U nekim vrstama meda (livadni med) mogu se pronaći određene količine vitamina topljivih u mastima: vitamin E, vitamini A i K [18] (koji su u med vjerojatno dospjeli putem peludi). Ako se med filtrira, pri čemu se uklanja pelud, količina vitamina se znatno smanjuje.

Tablica 1. Enzimi prisutni u medu

NAZIV ENZIMA	REAKCIJA KOJU KATALIZIRA
Dijastaza (α- i β-amilaza)	Razgrađuje škrob na manje ugljikohidrate (dekstrine, oligo-, di- i monosaharide). Potječe od pčela i peludi. Sadržaj dijastaze varira prema biljnom izvoru. Dulji period skladištenja, izloženost visokim temperaturama te pH izvan optimalnih vrijednosti (pH=5,3-5,6), inaktivirat će dijastazu (dobar pokazatelj eventualne patvorenosti meda).
Invertaza (α-glukozidaza)	Katalizira hidrolizu saharoze na glukozu i fruktozu. Potječe od pčela. Invertaza ima vrlo bitnu ulogu u dozrijevanju meda te je vrlo osjetljiva na temperaturu. Aktivnost invertaze se smatra najboljim mjerilom svježine i stupnja zagrijavanja meda.[19]
Glukoza oksidaza	U nektar je izlučuju pčele, a katalizira reakciju oksidacije glukoze u glukonsku kiselinu i vodikov peroksid. Nastajanje vodikovog peroksida tijekom sazrijevanja meda sprječava kvarenje meda. Sama reakcija odvija se vrlo sporo u zrelom medu, tako da najveći dio tih produkata nastaje tijekom stvaranja i dozrijevanja meda. Aktivnost glukoza oksidaze različita je u različitim vrstama meda i obično je veća u medljikovcu u odnosu na nektarni med.[20]
Katalaza	Enzim koji razgrađuje vodikov peroksid na vodu i kisik. Potječe uglavnom iz peluda. Količina vodikovog peroksida u medu uvjetovana je omjerom glukoza oksidaze i katalaze. Količina katalaze i glukoza oksidaze tako izravno utječe na antibakterijski potencijal meda.[21]
Proteaza	Hidrolizira proteine i polipeptide na manje peptide.
Kisela fosfataza	Hidrolizira estere fosforne kiseline.
Esteraza	Hidrolizira esterske veze.
β-glukozidaza	Prevodi β-glukane u oligosaharide i glukozu.

1.4.6. Minerali

Mineralne tvari u medu količinski su slabo zastupljene, prosječno 0,1-0,2% u nektarnom medu i do 1,5% u medljikovcu, izraženo kao udio pepela.[11] Udio mineralnih tvari u medu ponajviše ovisi o njegovom botaničkom podrijetlu, ali također i o klimatskim uvjetima i sastavu tla na kojem je rasla medonosna biljka. Prevladavaju K, Na, Ca, P, S, Cl, Mg, Fe i Al, a u malim količinama prisutni su još i Cu, Mn, Cr, Zn, Pb, As, Ti, Se i dr. Najzastupljeniji je kalij koji čini ¼ do ½ ukupnog udjela mineralnih tvari, a zajedno s natrijem, kalcijem i fosforom najmanje 50% .[11] Udio metala u medu se koristi kao pokazatelj stupnja onečišćenja okoliša. Od 1970. godine med se smatra indikatorom stanja okoliša.[22] Tamnije vrste meda općenito su bogatije mineralnim tvarima.

Vrijednosti u hrvatskom i europskom pravilniku dozvoljavaju maksimalno 0,6% pepela, dok je za medljikovac granica nešto viša i iznosi 1,2%.[8] Ove vrijednosti su propisane, stoga što, povećan udio pepela može biti znak patvorenja meda šećernom melasom.

1.4.7. Organske kiseline

Organske kiseline medu daju blagi kiselkast okus te doprinose njegovom antimikrobnom učinku (niska pH vrijednost inhibira rast mikroorganizama). Zbog povezanosti udjela kiselina u medu sa fermentacijskim procesima, okusom i mirisom (mnoge organske kiseline u medu se nalaze u obliku estera te tako uvelike utječu na miris i okus) te baktericidnim svojstvima meda, ukupna kiselost je važan pokazatelj kakvoće meda. Ona se kreće od 8,7-59,5 meq/kg**,** prosječno 29,1, a osim što ovisi o vrsti meda, povezana je i sa uvjetima skladištenja i temperaturnom obradom meda. pH vrijednost meda kreće se od 3,2 do 6,5.[23]

Najzastupljenija organska kiselina je glukonska kiselina koja u medu nastaje iz glukoze djelovanjem enzima glukoza oksidaze. Dokazano je da povećava apsorpciju kalcija.[24] Ostale prisutne organske kiseline su: mravlja, oksalna, maslačna, octena, limunska, vinska, jabučna, piroglutaminska, mliječna, benzojeva, maleinska,valerijanska, jantarna, pirogrožđana, α-ketoglutarna, glikolna ili 2,3-fosfogliceratna. Prema literaturnim podacima, udio organskih kiselina u medu kreće se u rasponu od 0,17 do 1,17%, prosječno 0,57%.[11, 25]

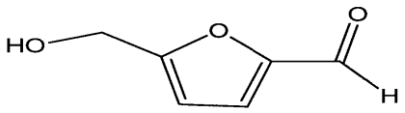
Bagremov, kestenov i livadni med karakterizira mala količina organskih kiselina dok tamniji medovi imaju veću kiselost. Previsoka kiselost meda uglavnom znači da je med neko vrijeme

fermentirao što je rezultiralo pretvorbom alkohola kao produkta fermentacije u organsku kiselinu.[23]

1.4.8. 5-Hidroksimetilfurfural

5-HMF je ciklički aldehid koji nastaje dehidratacijom fruktoze i glukoze u kiselom mediju, a može nastati i Maillardovim reakcijama. 5-HMF se dalje razlaže na levulinsku i mravlju kiselinu. Brzina same reakcije je veća pri povišenoj temperaturi, a porast brzine proporcionalan je porastu temperature.[26] 5-HMF ukazuje na dugotrajnost čuvanja, toplinsku obradu i patvorenost. U svježem medu nije prisutan. Pojava i udio 5-HMF-a u medu ovise i o vrsti meda, njegovoj pH-vrijednosti, udjelu kiselina i vlage te o izloženosti svjetlosti.[27]

Prema Europskoj farmakopeji 6.0, 5-HMF-a može biti maksimalno 80 ppm, izračunato prema suhoj čvrstoj tvari, a izračunava se prema izrazu: $(A_1 - A_2)$ x D x 149,7; gdje je A_1 apsorbancija pri 284 nm, A_2 apsorbancija pri 336 nm, a D je faktor razrjeđenja (ako se razrjeđenje vršilo).



Slika 6. 5-HMF

1.4.9. Toksične komponente i kontaminacija

Najveći broj prirodnih toksina je biljnog podrijetla. Dvije su grupe biljnih toksičnih komponenata značajne: određeni diterpeni i piranozoidni alkaloidi. Biljke iz porodice *Ericacea* sadrže diterpenoide. Piranozoidni alkaloidi pronađeni su u više vrsta meda.

Med zagađen bakterijskim sporama *Clostridium botulinum* može rezultirati botulizmom te smrću novorođenčadi. Zabilježeni su slučajevi kada je do trovanja došlo upotrebom meda koji je sadržavao veće koncentracije kardiotoničnih glikozida, podrijetlom iz cvijetova oleandra *(Nerium oleander)* i planinskog lovora *(Kalmia latifolia).*[28]

1.5. Fizikalna svojstva meda

U fizikalna svojstva meda ubrajaju se kristalizacija, viskoznost, higroskopnost, električna vodljivost, optička svojstva, indeks refrakcije i specifična masa, te su usko povezana sa kemijskim sastavom meda. Pojedini sastojci meda utječu na određeno svojstvo ili istovremeno na nekoliko njih. Tako, na primjer, o udjelu vode ovisi viskoznost, indeks refrakcije i specifična masa. Optička aktivnost je povezana sa sastavom i udjelom pojedinih ugljikohidrata, a električna vodljivost ovisi prije svega o udjelu mineralnih tvari.[29]

Viskoznost

Viskoznost označava stupanj tekućeg stanja meda. Na viskoznost utječe više faktora od kojih su najznačajniji udio vode i temperatura. Porastom temperature viskoznost meda se smanjuje, a taj utjecaj najizraženiji je na temperaturi ispod 15 ºC.[30] Ostali faktori koji utječu na viskoznost su medonosno bilje od kojeg potječe nektar, broj i veličina kristala u medu te sastav ugljikohidrata (veći udio di- i trisaharida doprinosi većoj viskoznosti).

Kristalizacija

Med je prezasićena otopina glukoze i spontano prelazi u stanje ravnoteže kristalizacijom suvišne količine glukoze u otopini.[11] Glukoza gubi vodu i prelazi u kristalni oblik. Voda, koja je prije bila vezana na glukozu, postaje slobodna tako da se povećava sadržaj vode u nekristaliziranim dijelovima meda. Zbog toga med postaje skloniji fermentaciji i kvarenju. Fruktoza ostaje u tekućem stanju i čini tanak sloj oko kristala glukoze. Med mijenja boju, postaje svijetliji, više nije proziran, a mijenja i okus. Najbrže kristalizira med medljikovac, med suncokreta i maslačka. [17]

Brzina kristalizacije ovisi o omjeru glukoze i fruktoze, o udjelu minerala, organskih kiselina, proteina, temperaturi skladištenja i vlažnosti zraka. Inicijatori kristalizacije su i pelud, prašina, vosak i potresanje meda. Najpovoljnija temperatura za kristalizaciju je od 10 do 20 °C, idealno 11-15 °C, a ispod 5 °C i iznad 27 °C nema kristalizacije. Čuvanjem meda na temperaturi nižoj od 11 °C (dobro zatvorenog da ne dođe do apsorpcije vode) može se spriječiti kristalizacija.

Higroskopnost meda

Higroskopnost je svojstvo meda da u ovisnosti o relativnoj vlažnosti zraka i udjelu vode na sebe privlači ili otpušta vodu. Proces je uvjetovan velikom količinom šećera. Taj proces traje do nastanka ravnoteže (58% vlažnosti zraka i 17,4% vode u medu).

Fruktoza je higroskopnija od glukoze i drugih šećera pa visok udio fruktoze med čini higroskopnijim. Čuvanjem meda u vlažnim prostorijama izaziva povećavanje masenog udjela vode, te kao posljedica nastaje med podložniji fermentaciji i kvarenju. Ovo svojstvo može biti od koristi u nekim industrijama gdje se med koristi kao sredstvo za zadržavanje vlažnosti proizvoda (npr. prehrambena i kozmetička industrija).

Električna vodljivost

Električna vodljivost je fizikalno svojstvo koje ovisi o udjelu mineralnih tvari i kiselina u medu; što je udio veći, veća je i električna vodljivost meda. Postoji linearan odnos između udjela pepela i električne vodljivosti: C=0,14+1,74A, gdje je C - električna vodljivost u mS/cm, a A - udio pepela u g/100 g.[29]

Prema zakonskoj regulativi, kako hrvatskoj tako i europskoj, nektarni i miješani med moraju imati električnu vodljivost manju od 0,8 mS/cm, a medljikovac i med kestena veću od 0,8 mS/cm. Iznimke su medovi eukaliptusa, vrijeska i lipe, zbog prirodno velikih varijacija u električnoj vodljivosti. Električna vodljivost služi kao dobar kriterij za određivanje botaničkog podrijetla meda odnosno za razlikovanje nektarnog meda od medljikovca.

Optička aktivnost meda

Optička aktivnost meda je funkcija udjela pojedinih ugljikohidrata u medu. Vodena otopina meda je optički aktivna, tj. ima sposobnost zakretanja ravnine polarizirane svjetlosti. Fruktoza zakreće ravninu polarizirane svjetlosti ulijevo, a glukoza, svi disaharidi, trisaharidi i viši oligosaharidi udesno.[11] Nektarni med zbog većeg udjela fruktoze zakreće svjetlost u lijevo, odnosno pokazuje negativnu optičku aktivnost dok medljikovac zbog većeg udjela oligosaharida, ponajviše melecitoze i erloze, zakreće svjetlost udesno, tj. pokazuje pozitivnu optičku aktivnost.

Indeks refrakcije

Indeks refrakcije služi za određivanje udjela vode, odnosno topljive suhe tvari u medu. Mjerenje se provodi refraktometrom koji radi na principu loma svjetlosti koja prolazi kroz otopinu. Mjerenje se provodi najčešće pri 20 °C.[29] Prema Europskoj farmakopeji 6.0, minimalan indeks refrakcije meda je 1,487.

Specifična masa

Specifična masa predstavlja omjer mase meda prema masi iste količine vode i ovisi prvenstveno o udjelu vode u medu. Tako med s 15% vode pri 20 °C ima specifičnu masu 1,4350, s 18% vode ta vrijednost iznosi 1,4171, a s 21% vode specifična masa iznosi 1,397. Specifična masa kvalitetnih vrsta meda veća je od 1,42.[29]

Toplinske karakteristike

Specifična toplina meda varira od 0,56 do 0,73 cal/g/°C u skladu sa sastavom i stanjem kristalizacije. Toplinska provodljivost varira od 118 do 143 x 10^{-3} cal/cm^2/sec/°C. Zbog toga treba izračunati iznos topline, hlađenja i miješanja neophodnog za obradu određene količine meda, npr. prije i poslije filtracije ili pasterizacije. Relativno niska toplinska provodljivost spojena s visokom viskoznošću dovodi do brzog pregrijavanja i zbog toga postoji potreba za pažljivim miješanjem i zagrijavanjem samo u vodenim kupeljima.[30]

Površinska napetost

Mala površinska napetost meda čini ga izvrsnim sredstvom koje zadržava vlažnost u kozmetičkim proizvodima. Površinska napetost ovisi o podrijetlu meda, a povezana je vjerojatno s koloidnim česticama. Zajedno s velikom viskoznošću odgovorna je za stvaranje pjene u medu.[29]

1.6. Organoleptička svojstva meda

Boja, okus i miris su najvažnija organoleptička svojstva meda i najviše ovise o biljnom podrijetlu meda te o uvjetima prerade i čuvanja, a njihova analiza ima značajnu ulogu u definiranju ukupnih svojstava meda. Budući da za neke vrste meda fizikalno-kemijske analize

ne osiguravaju dovoljno karakterističnih vrijednosti, organoleptička analiza je neizostavna u procjeni kakvoće meda.

Boja meda može biti različita, od svijetložute, žute, smeđe do tamnosmeđe, u ovisnosti o botaničkom podrijetlu meda. Izrazito svijetle boje, skoro bijelo-zelenkaste je bagremov med, a tamnosmeđe boje je kestenov med. Boja ostalih medova kreće se između te dvije krajnosti. Med postaje svjetliji poslije kristalizacije (jer su kristali glukoze bijeli), ali potamni tijekom čuvanja. Intenzivnije potamni ako se čuva pri višoj temperaturi.

Boja je određena i kemijskim sastavom, tj. udjelom karotenoida: karoten i ksantofil (žuta boja), flavonoidi, klorofil, antocijani (ružičasta boja), tanini (tamna boja). Med postaje tamniji pri kondenzaciji proteina i aminokiselina s reducirajućim šećerima (Maillardove reakcije), pri čemu se stvaraju melanoidi kao i uslijed prisustva produkata dobivenih razgradnjom fruktoze. Osim toga, u Maillardove reakcije mogu ući i polifenoli, askorbinska kiselina te karbonilni spojevi koji se mogu naći u medu ovisno o njegovom botaničkom podrijetlu. Boja meda je povezana i sa količinom pepela, pogotovo željeza, bakra i mangana. Med tamnije boje sadrži više mineralnih tvari. Prozirnost i jasnoća ovisi o količini čestica kao što je pelud. Općenito proljetni je med svjetliji, a kasni ljetni tamniji.[29]

Ako se med drži u metalnoj posudi, promijenit će boju, tj. oksidirat će.

Okus i miris meda najviše ovise o sastavu hlapljivih tvari. Kod monoflornog meda, karakteristike okusa i arome svojstvene su određenoj biljnoj vrsti, dok poliflorni med ima neodređen okus i miris. Prepoznatljivost okusa čini slatkoća, koja ovisi o udjelu i omjeru glukoze, fruktoze, aminokiselina, isparljivih spojeva i organskih kiselina.

Aroma meda potječe od terpena, aromatičnih aldehida, diacetila, metilacetilkarbamata, hlapljivih i nehlapljivih kiselina. Svježi med je aromatičniji. Aroma slabi čim med kristalizira.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja je proučiti dostupnu literaturu i znanstvene radove o fitokemijskim karakteristikama i primjeni meda u farmakognoziji. Iz literaturnih podataka izdvojiti metode (klasične i suvremene) određivanja botaničkog podrijetla različitih vrsta meda, te metode određivanja antioksidacijske i antimikrobne aktivnosti. Ukratko prezentirati dobivene rezultate te se osvrnuti na biološke učinke i terapijsku primjenu meda. Kroz raspravu usporediti dobivene rezultate te mehanizme antioksidacijskog i antimikrobnog djelovanja meda.

3. MATERIJALI I METODE

Tijekom pisanja diplomskog rada proučavala sam rezultate znanstvenih radova dostupnih na web stranicama PubMed-a, Web of Science-a i Cochrane library-a uz ostalu dostupnu literaturu iz stručnih knjiga i časopisa.

3.1. Metode određivanja botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda

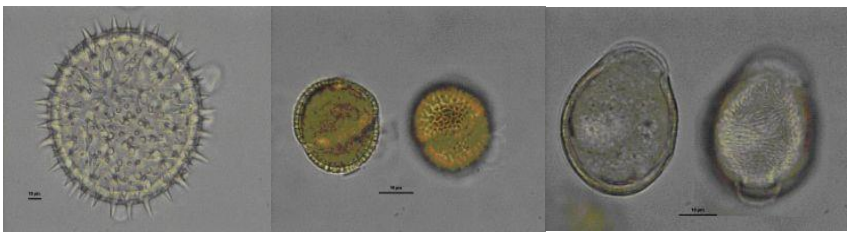
Udio nektara ili medljike pojedinih biljnih vrsta u medu se mijenja ovisno o tipu vegetacije, razdoblju cvatnje biljnih vrsta ili proizvodnji medljike od strane kukaca, kao i o vremenu kad je pčelar proizveo med. Apsolutni uniflorni med ne postoji. Zbog toga kemijski sastav i organoleptička svojstva između uzoraka meda značajno variraju.

3.1.1. Klasične metode

Botaničko i zemljopisno podrijetlo meda je bitno za pravilnu deklaraciju te određivanje cijene kako bi med bio prepoznat kao trgovačka marka (brand).

U većini europskih zemalja se provela ili se provodi zaštita zemljopisnog podrijetla prehrambenih proizvoda (time i meda) na temelju propisa Europske unije (CE 2081/92). Za zemljopisnu zaštitu meda je potrebno izvršiti preliminarna istraživanja definiranjem parametara: floristički uvjeti (prirodni uvjeti proizvodnog područja- geografski i klimatski), melisopalinološka analiza, fizikalno-kemijske analize meda te ekonomska i marketinška analiza.[32]

Melisopalinologija (peludna analiza) se zasniva na identifikaciji i kvantifikaciji peludnih zrnaca meda mikroskopskom analizom (ugl. svjetlosnim mikroskopom). Sva peludna zrnca u vidnom polju se prebroje i razvrstavaju prema biljnoj vrsti te se uspoređuju s referentnim preparatima. Biljna vrsta se određuje prema obliku, veličini zrnaca, građi i boji vanjske stijenke te prema obliku i broju pora klijanja.



Slika 7. Različita peludna zrnca

Najčešće korišteni parametri **fizikalno-kemijskih analiza** su električna vodljivost, optička aktivnost i sastav šećera (spektrom i postotkom pojedinih šećera omogućuje se utvrđivanje botaničkog podrijetla meda - razlučivanje meda medljikovca od nektarnog meda). U nekim se slučajevima odnos glukoze i fruktoze, te glukoze i vode u medu, također može koristiti kod utvrđivanja botaničkog podrijetla. Kao četvrti parametar karakterizacije botaničkog podrijetla, koristi se sadržaj dijastaze jer neke vrste meda prirodno imaju nizak ili visok sadržaj tog enzima.

Treća vrsta klasičnih metoda određivanja botaničkog i zemljopisnog podrijetla jest određivanje **organoleptičkih svojstava**, od kojih su najvažniji boja, okus i miris.

3.1.2. Suvremene metode

Istraživanja meda i potraga za što bržim i točnijim metodama za brzo rutinsko određivanje što više uzoraka, rezultirala su upotrebom novijih instrumentalnih tehnika. Novije tehnike koje se koriste su AAS (atomska apsorpcijska spektroskopija), HPLC (tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti), GC-MS (plinska kromatografija s masenim spektrometrom), TLC (tankoslojna kromatografija), NMR (nuklearna magnetska rezonancija), FT-IR (Furierova transformacija infracrvene spektroskopije), NIR (tehnike bliske infracrvene spektroskopije) i dr.[33]

Naziv **kromatografija** potječe od ruskog botaničara Cveta koji je 1906. godine uveo ovu tehniku za odjeljivanje boja. Kasnije se ime prenijelo na sve postupke odjeljivanja kod kojih se komponente smjese razdjeljuju između stacionarne i mobilne faze. Keulemans je dao općenitu definiciju za ovu tehniku: „Kromatografija je metoda odjeljivanja kojom se komponente razdjeljuju između dviju faza; jedna je stacionarna s velikom površinom, a druga je mobilna.“

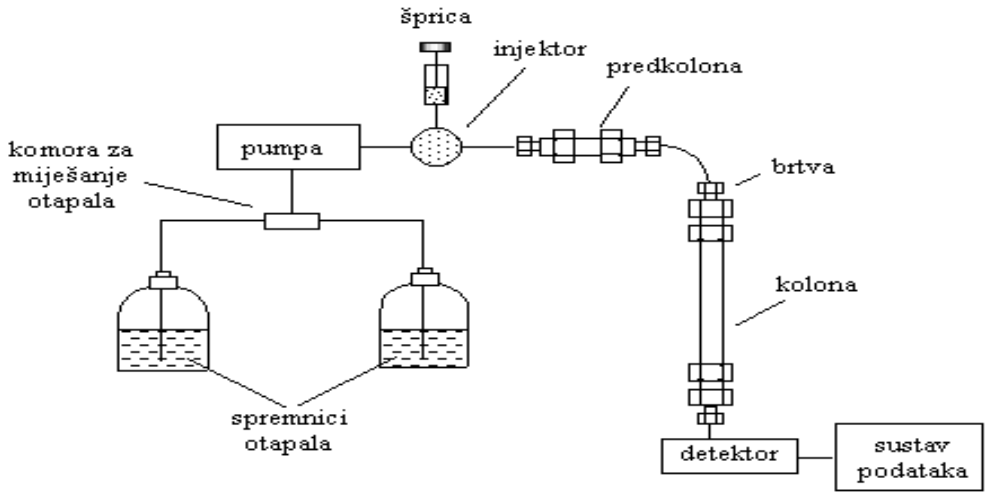
Stacionarna faza može biti krutina ili kapljevina, a mobilna kapljevina ili plin. Mobilna faza putuje preko ili uzduž stacionarne faze utjecajem kapilarnih sila, sile teže, razlike tlakova i sl. Kromatografski proces se temelji na uspostavljanju dinamičke ravnoteže nekog spoja između stacionarne i mobilne faze: u stacionarnoj fazi nalazi se dio tvari koji je u ravnoteži s dijelom u mobilnoj fazi. Zbog gibanja mobilne faze narušava se ravnoteža i molekule putuju u smjeru gibanja mobilne faze. Zbog specifične interakcije različitih spojeva sa stacionarnom i mobilnom fazom, različiti spojevi putuju različitim brzinama i tako se odjeljuju. Sam proces odjeljivanja zasniva se na sljedećim načelima: adsorpciji, razdjeljenju, difuziji, ionskoj

izmjeni, kiralnosti i dr. Velika moć razlučivanja kromatografskih metoda zasniva se na pojavi uzastopnog ponavljanja primarnog postupka razdjeljivanja neke tvari između mobilne i stacionarne faze. Budući se uspostavljanje ravnoteže neprestano ponavlja, to i male razlike u razdjeljivanju između stacionarne i mobilne faze dovode do dobrog odjeljivanja tvari. Na uspješnost kromatografije (osim prirode tvari, mobilne i stacionarne faze) utječu: brzina mobilne faze, temperatura sustava, omjer mase tvari koja se odjeljuje i stacionarne faze, veličina i oblik čestica sorbensa (stacionarna faza) i dr.[34]

3.1.2.1. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

HPLC (*High Performance Liquid Chromatography)* je vrsta tekućinske kromatografije koja se koristi za odjeljivanje tvari iz otopine. Sadašnju popularnost zahvaljuje dobroj separaciji različitih uzoraka, iznimnoj razdjelnoj snazi, brzini i vrlo niskom pragu detekcije koji se kreće u nanomolima.[35]

Osnovni dijelovi HPLC sustava su: kolona za odjeljivanje s punilima, pumpa koja pokreće mobilnu fazu kroz kolonu, spremnici mobilne faze, sustav za unošenje uzoraka (injektor), po mogućnosti predkolona, detektor s pisačem, integratorom i računalom. Shematski prikaz HPLC-a je dan na slici 8.



Slika 8. Shematski prikaz HPLC-a

U tekućinskoj kromatografiji pokretna faza je kapljevina, a nepokretnu fazu mogu činiti različiti sorbensi (čvrsta tvar ili kapljevina na inertnom nosaču).

Otapala koja se koriste kao pokretna faza trebaju biti visoke čistoće te se prije korištenja trebaju osloboditi otopljenih plinova i/ili suspendiranih čestica, obično korištenjem mikroporoznih filtera pod vakuumom ili primjenom ultrazvuka. Izbor pogodnog otapala, odnosno smjese otapala, provodi se s obzirom na sposobnost otapala da stvaraju vodikove veze (odjeljivanje hidrofilnih, odnosno hidrofobnih spojeva). Otapalo prolazi kroz kolonu pod visokim tlakom. Visoki tlak je omogućio uporabu kolona s mnogo manjim promjerom čestica stacionarne faze (3-5 μm), značajno je poboljšao razdjeljivanje komponenata uzorka te je skraćeno vrijeme analize.

Pumpa služi za injektiranje pokretne faze pod visokim tlakom (do 15 MPa) stalnom brzinom (0,1-10 cm^3min^{-1}) u kolonu. Uzorak se unosi „autosamplerom“ ili ručno mikrolitarskom špricom u sustav za injektiranje, tzv. petlju u kojoj se održava tlak. Prebacivanjem ventila, otapalo prolazi kroz injektor te nosi uzorak do kolone. Kratka predkolona ili predkolonski filter postavljaju se ispred analitičke kolone da bi je sačuvali od netopljivih i topljivih onečišćenja iz uzorka, npr. tvari koje se ireverzibilno vežu na stacionarnu fazu. Ova kolona je kraća od analitičke i obično punjena istim materijalom kao i analitička kolona. Analitička kolona je najčešće cijev izrađena od nehrđajućeg čelika, duljine 250 ili 150 mm, unutarnjeg promjera 4,6 mm, obično punjena česticama veličine 3,5 ili 5 mm.[36]

Najčešće korišteni detektori za HPLC su spektroskopski detektori (UV/VIS, maseni detektor (MS)) jer oni omogućavaju identifikaciju i detekciju, ali i određivanje farmaceutika u vrlo niskim koncentracijama u ppb, zatim detektori indeksa loma, fluorescentni detektori (FLD) i elektrokemijski detektori. Detektori prate značajke pokretne faze ili otopljene tvari. U prvom slučaju mjeri se indeks loma ili vodljivost pa je analit, odnosno otopljena tvar dokazan neizravno promjenom ovih veličina. U drugom slučaju prate se karakteristike otopljene tvari, kao što su apsorpcija u UV/VIS području, fluorescencija ili struja na elektrodi.

HPLC je separacijska tehnika koja odjeljuje i određuje tvari u smjesi. Omogućuje kvalitativnu i kvantitativnu analizu.

3.1.2.2. Vezani sustav plinska kromatografija - spektrometrija masa

Plinska kromatografija je uspješna metoda za separaciju i kvantifikaciju, ali nepouzdana za kvalitativno određivanje, gdje je spektrometrija masa gotovo savršena. Spregnuta tehnika GC-MS (Gas chromatography-Mass Spectrometry) omogućuje dobivanje velikog broja podataka uz korištenje minimalne količine uzorka. Sastoji se od dvije glavne jedinice, plinskog kromatografa (GC) i spektrometra masa (MS) kao detektora. Razlike u kemijskim svojstvima između različitih molekula smjese omogućuju razdvajanje molekula kako uzorak putuje kroz kolonu. Molekule trebaju različito vrijeme (retencijsko vrijeme ili vrijeme zadržavanja) za izlazak (eluiranje) iz GC-a što MS-u omogućuje da „hvata“, ionizira i detektira ionizirane molekule zasebno. Spektrometar masa može analizirati uzorak na dva načina: tzv. cjelokupna analiza (Full Scan ili Total Ion Chromatogram-TIC) kada analizator prati sve omjere mase i naboja (*m/z*), koristi se uglavnom za kvalitativne analize, ili tzv. selektivna analiza (Selective Ion Monitoring-SIM), kada analizator prati samo odabrane omjere mase i naboja (*m/z*). Dakle, za svaki odjeljeni spoj spreguta tehnika GC-MS daje dva važna podatka za identifikaciju spoja: vrijeme zadržavanja spoja na koloni i spektar masa. Dobiveni spektar masa se uspoređuje s računalnom bazom spektara masa te se određuje postotak slaganja na osnovu čega se može identificirati spoj.[35]

Ovom metodom analiziraju se spojevi koje je moguće dovesti u plinovito stanje pri temperaturama nižim od 400 °C, a da se pri tome ne raspadnu.

Prednost GC-MS u odnosu na tekućinsku kromatografiju su bogate biblioteke EI (Electron Ionisation) spektara koje se godinama nadopunjuju i olakšavaju identifikaciju nepoznatog analita.



Slika 9. GC-MS

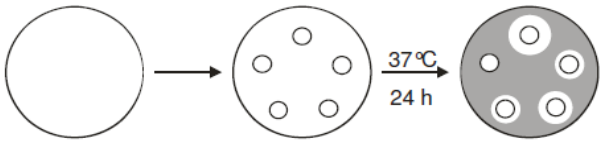
3.2. Metode određivanja antimikrobnog djelovanja

Originalna metoda mjerenja antimikrobne aktivnosti meda je bila određivanje tzv. inhibicijskog broja definiranog kao stupanj razrjeđenja u kojem će med još uvijek zadržati antibakterijski učinak. Danas se antimikrobna aktivnost meda računa kao MIK (eng. MIC, minimal inhibitory concentration), najmanja koncentracija tvari koja inhibira rast mikroorganizama (*in vitro*).

Antibiogram je postupak kojim se ispituje osjetljivost bakterija na antibiotike. Osjetljivost bakterija na antibiotike može se testirati difuzijskim (kvalitativna metoda) i dilucijskim (kvantitativna metoda) metodama te kombinacijama (E-test).

Danas postoje i automatizirani sustavi za istovremenu brzu identifikaciju bakterija i ispitivanje osjetljivosti na antibiotike; te molekularne metode za detekciju gena rezistencije na antibiotike.

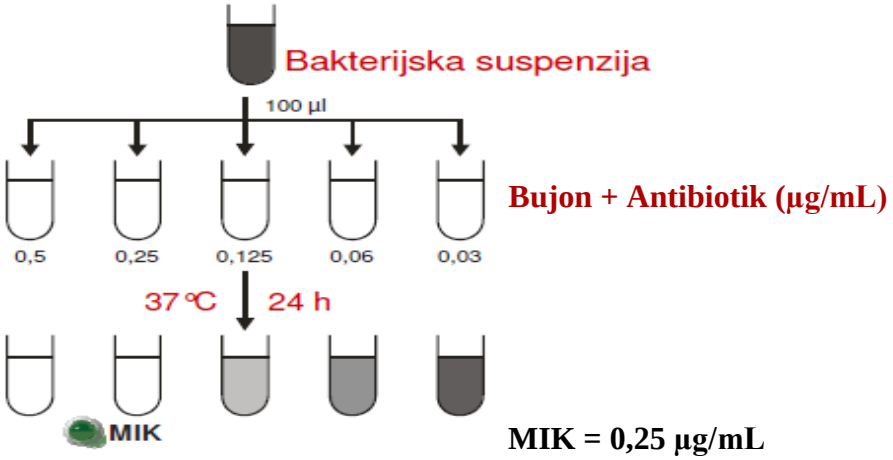
Difuzijska metoda se zasniva na principu difuzije antibiotika kroz čvrstu hranjivu podlogu (npr. agar) prethodno inokuliranu ispitivanom bakterijskom kulturom. Najčešće se izvodi kao disk-difuzija: papirnati disk natopljen standardiziranom količinom nekog antibiotika postavlja se na površinu krute podloge na koju se prethodno nasadi čista kultura ispitivane bakterije te se inkubira na temperaturi od 35 do 37 °C 12-24 sati. Antibiotik iz diska difundira u podlogu, te ako je djelotvoran, sprječava bakterije u rastu i bakterija poraste tek na određenoj udaljenosti od diska. Taj izostanak rasta se naziva inhibicijom. Veličina zone inhibicije, izražena u milimetrima, približno je u linearnom odnosu prema MIK-u. Veličine zona inhibicija se interpretiraju kao: soj je osjetljiv, umjereno osjetljiv i rezistentan.[37]



Slika 10. Difuzijska metoda

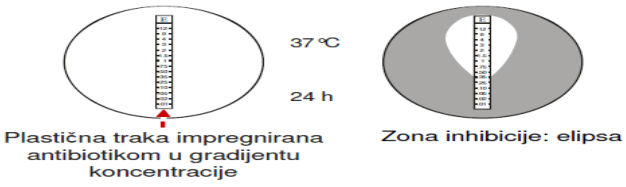
Metoda dilucije (razrjeđenja) određuju najnižu (minimalnu) koncentraciju antimikrobne tvari koja sprječava rast bakterija. Testiranje dilucijskom metodom može se raditi na tekućoj (bujon) ili krutoj (agar) podlozi, tako da se antimikrobna tvar serijski razrjeđuje (dvostruka razrjeđenja), inkorporira u bakteriološku podlogu i zatim se u ili na tako priređenu podlogu

nasađuje ispitivani soj bakterija. Nakon 18-24 sata promatra se je li se bujon zamutio, odnosno jesu li na krutoj podlozi narasle bakterije. Koncentracija antimikrobne tvari koja se nalazi u prvoj podlozi na kojoj nema porasta bakterija (bujon ostaje bistar), naziva se minimalnom inhibicijskom koncentracijom (MIK) i izražava se u g/mL. Ako se u dilucijskoj tehnici u bujonu nakon inkubacije od 18-24 sata podloge bez vidljiva porasta bakterija presade u krutu podlogu bez antibiotika, može se odrediti i minimalna baktericidna koncentracija (MBK), tj. ona najmanja koncentracija koja ubija bakterije; izražava se također u g/mL. MBK je u pravilu veća od MIK.[37]



Slika 11. Primjer određivanje minimalne inhibicijske koncentracije dilucijskom metodom

E-test predstavlja kombinaciju dilucijske i difuzijske metode: na posebnu traku je adsorbiran antibiotik u gradijentu koncentracije. Traka se položi na podlogu nasađenu kao za difuzijski test, antibiotik difundira s trake u različitoj količini, pa se stvara gradijent koncentracije u podlozi i prema veličini zone inhibicije rasta može se očitati MIK.[37]



Slika 12. Određivanje minimalne inhibicijske koncentracije metodom E- testa

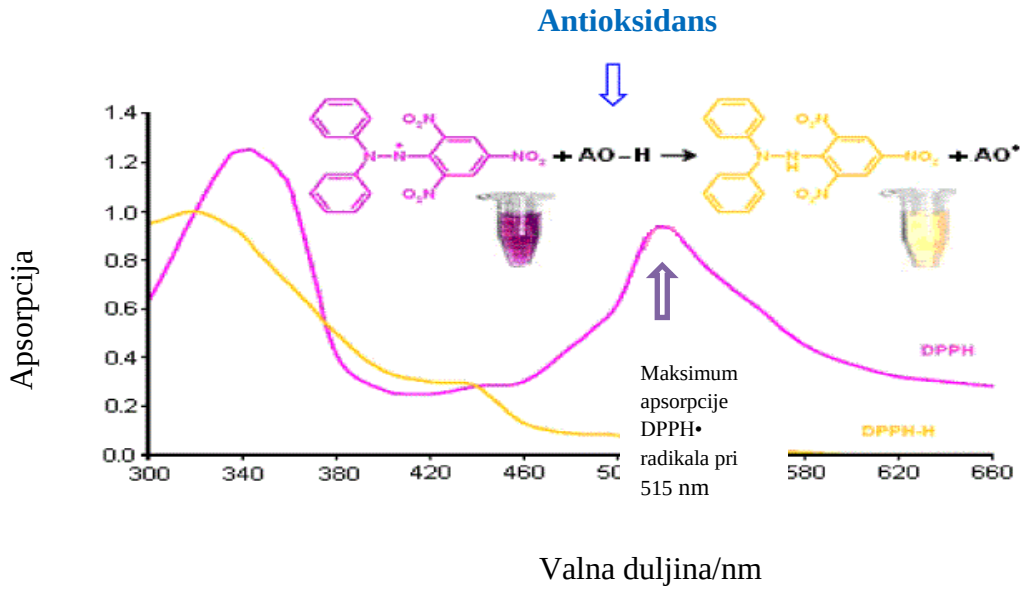
Agar-difuzijska metoda kojom se ispituje osjetljivost bakterije *S. aureus* na antimikrobne tvari trenutno je najčešće korištena metoda za procjenu antibakterijske aktivnosti meda.[38]

3.3. Metode određivanja antioksidacijskih svojstava meda

U istraživanjima antioksidacijske aktivnosti meda koriste se kombinacije analitičkih metoda kako bi dobiveni rezultati bili što potpuniji. U pokušaju standardizacije antioksidacijskih svojstava meda, Beretta i sur. primjenjuju kombinaciju spektrofotometrijskih i fluorimetrijskih metoda te kemometriju. [39]

3.3.1. DPPH - metoda

DPPH metoda je najčešće korištena *in vitro* metoda za efikasno određivanje antioksidacijske aktivnosti, koja se temelji na redukciji DPPH radikala (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) u metanolnoj otopini, koja je praćena kolorimetrijskom reakcijom. Otopina DPPH radikala ima ljubičastu boju. Na sobnoj temperaturi ovaj radikal je relativno stabilan te je njegov maksimum apsorpcije na 515 nm. U prisutnosti molekule antioksidansa (primanjem elektrona), radikal prelazi u neradikalni oblik koji daje žutu boju otopine. Nastali spoj ima smanjeni intezitet apsorpcije u vidljivom dijelu spektra (vrijednost reakcije može se izmjeriti spektrofotometrijski). [40]



Slika 13. Redukcija DPPH• uz pomoć antioksidansa

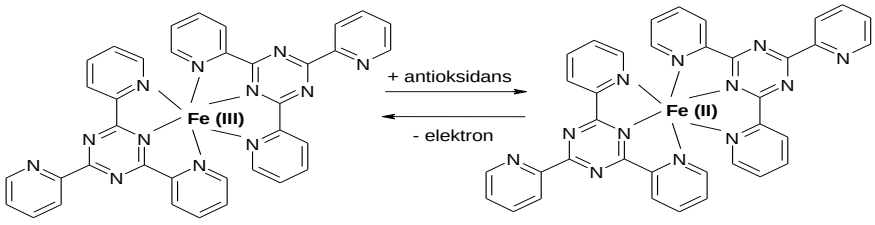
Antioksidacijska aktivnost uzorka se izračunava kao postotak gubitka signala (I%), prema sljedećoj jednadžbi:

$$I\% = \frac{AC_{(0)} - AA_{(t)}}{AC_{(0)}} \times 100$$

gdje je $AC_{(0)}$ apsorpcija otopine DPPH•, a $AA_{(t)}$ apsorpcija otopine radikala i uzorka meda u vremenu t.[41]

3.3.2. FRAP - metoda

FRAP (eng. Ferric reducing antioxidant power) metoda temelji se na sposobnosti ispitivane tvari, odnosno antioksidansa, da reducira željezo unutar spoja željezo-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) iz feri (Fe^{3+}) u fero (Fe^{2+}) oblik. Pri niskom pH razvija se intenzivno plavo obojen kompleksni spoj ferotripiridiltriazina čiji je apsorpcijski maksimum na 593 nm. Rezultati se izražavaju kao μmol Fe^{2+}/mL uzorka. [42]

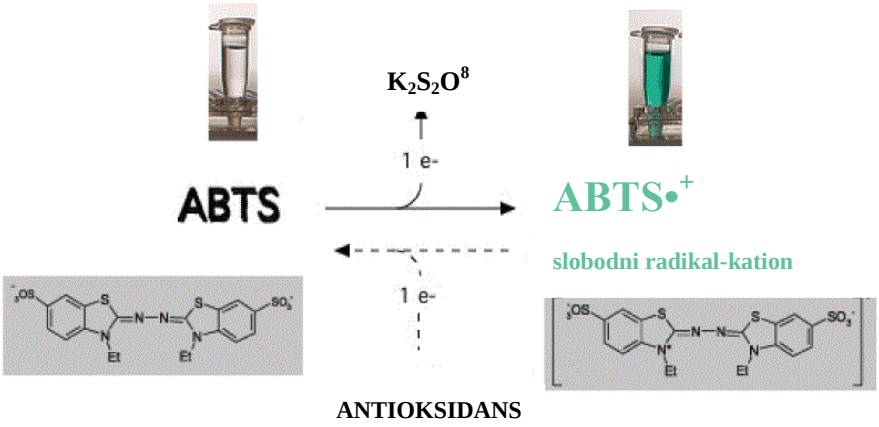


Slika 14. Reakcija redukcije željezo-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ)

3.3.3. ABTS - metoda

ABTS metoda se temelji na „gašenju“ plavo-zelenog ABTS radikal-kationa (radikal-kation 2,2'-azinodi(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline)) koji se formira bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a nekoliko sati prije analize. Reakcijom ABTS-a s kalijevim persulfatom ($K_2S_2O^8$) nastaje kromoforni $ABTS^{\bullet+}$ radikal koji daje plavo-zelenu boju otopine s maksimumom apsorpcije na valnim duljinama od 415, 645, 734 i 815 nm. Dodatkom antioksidanasa u pripremljenu otopinu oni reduciraju $ABTS^{\bullet+}$ u ABTS čime se gubi obojenje. Razina obezbojenja odražava postotak inhibicije $ABTS^{\bullet+}$ radikala i određuje se kao funkcija koncentracije i vremena te uspoređuje sa standardom ekvivalenta. Ova metoda je primjenjiva za antioksidanse topljive u vodi i one topljive u mastima, čiste tvari i ekstrakte

prehrambenih proizvoda.[43,9]



Slika 15. ABTS- metoda

4. REZULTATI

4.1. Fitokemikalije

Tijekom posljednjih nekoliko godina znanstvenici su otkrili prisutnost fitokemikalija u različitim vrstama hrane, uključujući i med. Fitokemikalije su kemijske tvari koje potječu iz biljaka s kojih pčele skupljaju nektar ili mednu rosu, a dokazano je kako mnoge od njih mogu povoljno utjecati na zdravlje.

4.1.1. Antioksidansi

Antioksidansi su velika skupina fitokemikalija koji djeluju kao hvatači slobodnih radikala te tako smanjuju rizik od oksidacijskog stresa stanica.

Antioksidansi prisutni u medu mogu biti enzimski (katalaza, glukoza oksidaza) i neenzimski (organske kiseline, produkti Maillardovih reakcija- reakcije između aminokiselina i reducirajućih šećera gdje dolazi do nastajanja melanoidnih pigmenata, aminokiseline, proteini, flavonoidi, fenoli, vitamin E, vitamin C, karoteonidi). Pri tom kao izvori neenzimskih antioksidansa služe mnoge fitokemikalije prisutne u medu.

Antioksidacijski kapacitet meda ovisi o botaničkom podrijetlu, klimatskim uvjetima, sastavu flore, procesiranju i skladištenju. Ujedno, antioksidacijska aktivnost meda je u pozitivnoj korelaciji s bojom meda i sadržajem vode. Tamniji medovi imaju više antioksidansa kao i oni sa većim sadržajem vode.[44] Zagrijavanjem se antioksidacijska aktivnost meda smanjuje dok aktivnost matične mliječi i propolisa ostaje nepromijenjena. Pri povišenoj temperaturi ne razgrađuju se samo vitamini (B1, B2, C), nego i druge antioksidacijske tvari.[29]

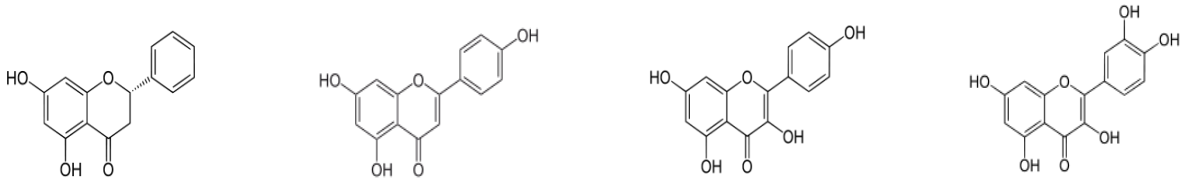
4.1.2. Flavonoidi

Flavonoidi su sekundarni metaboliti biljaka, tj. skupina polifenolnih spojeva (pigmenata) koji se nalaze u mnogim biljkama, koncentrirani u sjemenkama, koži ili kori voća, kori drveća, lišću i cvijeću. Velik broj ljekovitih biljaka sadrži flavonoide koji imaju izraženu antioksidacijsku i antiradikalnu aktivnost. Flavonoidima se pripisuju i mnoga terapijska djelovanja, kao što su antibakterijska, protuupalna, antialergijska, antimutagena, antiviralna i antikancerogena,[45] a znatno utječu na boju i okus hrane.

Tablica 2. Specifični flavonoidi i fenolne kiseline u određenim vrstama meda [46]

Vrsta meda	Flavonoidi i fenolne kiseline
Med eukaliptusa	miricetin, tricetin, kvercetin, luteolin, kvercetin-3-metileter, kemferol, pinocembrin, krizin, pinobanksin, genkvanin
Med od suncokreta	benzojeva kiselina, ferulinska kiselina, pinocembrin, krizin, galangin
Manuka med	miricetin, tricetin, kvercetin, luteolin, kemferol, kemferol-8-metileter, pinocembrin, krizin, galna kiselina, elaginska kiselina, kafeinska kiselina, *p*-kumarinska kiselina, ferulinska kiselina, siringinska kiselina, klorogenska kiselina
Med planike	homogentizinska kiselina
Med ružmarina	kamferid, kemferol, kvercetin-3',3' -dimetileter, kvercetin-7,3' -dimetileter, pinobanksin, pinocembrin, krizin, miricetin
Med citrusa, timijana, ružmarina i lavande	siringinska kiselina, *p*-kumarinska kiselina, kafeinska kiselina, cimetna kiselina, klorogenska kiselina, ferulinska kiselina, galna kiselina
Med lipe i vrijeska	galna kiselina, *p*-hidroksibenzojeva kiselina, vanilinska kiselina, kafeinska kiselina, siringinska kiselina, rutin, kvercetin, kemferol

Flavonoidi u medu i propolisu su identificirani kao flavanoni i flavanoni/flavanoli.[47] Flavonoidi prisutni najčešće u medu su pinocembrin, apigenin, kemferol, kvercetin, galangin, krizin, pinobanksin, luteolin i hesperitin. Najviše prisutan flavonoid (flavanon) je pinocembrin koji ima antibakterijski učinak, a nalazi se u koncentraciji između 200-300 μg / 100 g meda.[48]



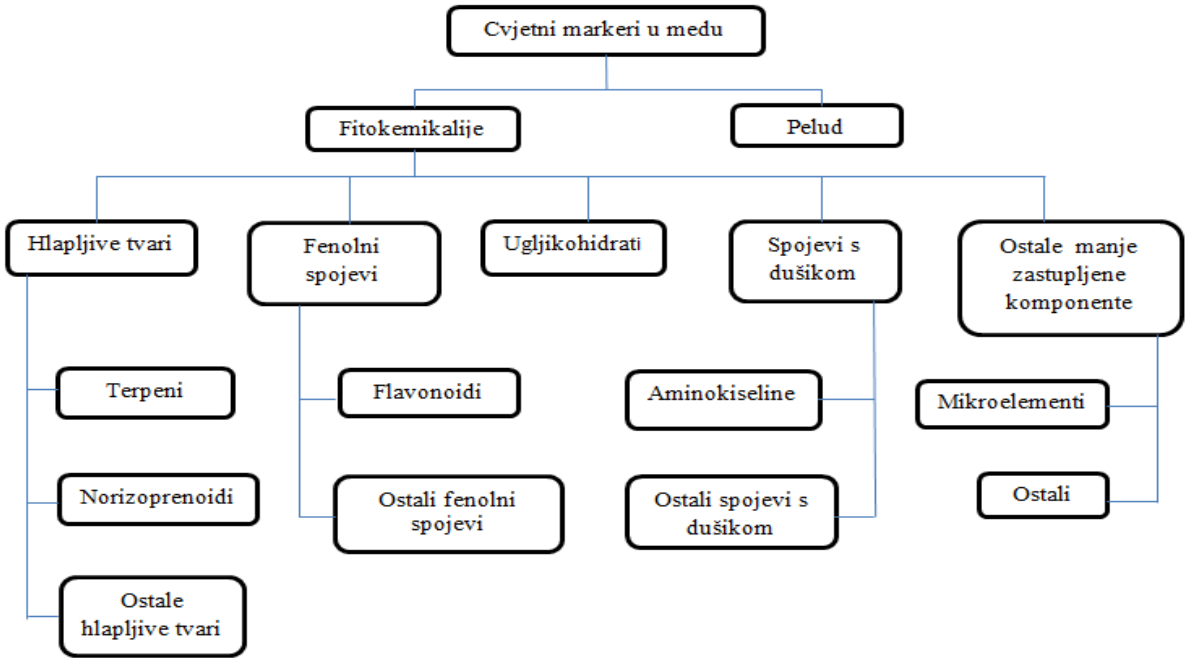
Pinocembrin Kemferol Kvercetin Apigenin

Slika 16. Neki od najčešćih flavonoida prisutnih u medu

Količina flavonoida u medu može iznositi i do 6000 μg/kg, dok je njihov udio puno veći u peludu (0.5%) i u propolisu (10%).[47] Različiti medovi imaju i različit profil flavonoida, ovisno o biljnom izvoru nektara. Općenito, više antioksidansa je pronađeno u tamnijim vrstama meda (imaju više fenola) i medovima bogatijim vodom.[49]

4.2. Cvjetni markeri u medu - fitokemikalije kao markeri

Na temelju analize sastojaka meda, nastoje se pronaći korisni kemijski markeri za identifikaciju meda, kao što su hlapljivi spojevi, fenolne kiseline, flavonoidi, ugljikohidrati i aminokiseline (Slika 17.).



Slika 17. Potencijalni cvjetni markeri u medu [33]

4.2.1. Hlapljive tvari

Hlapljive tvari se dijele u sedam velikih grupa: aldehidi i ketoni (formaldehid, acetaldehid, propilaldehid, aceton, metiletilketon i dr), kiseline, alkoholi (propanol, izopropanol, etanol, butanol, izobutanol, pentanol, fenoli i dr.), esteri (metilni i etilni esteri mravlje, octene, propionske, benzojeve i drugih kiselina), ugljikovodici i cikličke komponente.[33] Do sada je identificirano preko 600 organskih hlapljivih komponenti.[50] Neke od njih su furfural, 5-HMF, linalool oksid, metilfuran, oktan, acetilfuran, benzaldehid, α-pinen, fenol, β-pinen, kumarin i dr.

Za izolaciju hlapljivih tvari najčešće se koriste metode ekstrakcije, i to SPME (mikroekstrakcija na krutoj fazi), Likens-Nickerson (simultana destilacija-ekstrakcija), „purge and trap ekstrakcija“, ultrazvučna ekstrakcija otapalima i dr.[33] Plinska kromatografija (GC) kao zasebna tehnika ili spregnuta sa spektrometrijom masa (GC-MS) se sve više danas koristi za analizu isparljivih spojeva.

4.2.2. Fenolni spojevi

Polifenolni spojevi u medu se dijele u dvije velike skupine, flavonoidi i ostali fenolni spojevi. Med upravo zbog sadržaja raznolikih fenolnih spojeva predstavlja izvrstan i prirodan izvor antioksidansa. Glavne fitokemikalije meda su flavonoidi, a u medu su prisutni pinobanksin, pinocembrin, kvercetin, krizin, galangin, luteolin i kemferol. Od drugih fenolnih spojeva, ističu se fenolne kiseline poput galne, kumarinske, kafeinske, elaginske i ferulinske te njihovi esteri. Osim estera navedenih kiselina prisutni su i neki drugi kao npr. metil-vanilat, metil-siringat i metil-4-hidroksibenzoat koji su pronađeni u različitim vrstama meda poput bagremovog, kestenovog, jelinog, narančinog, suncokretovog i meda od uljane repice.

Aromatični karbonilni spojevi koji su odgovorni za snažan okus su proizvodi sekundarnih enzimskih reakcija fenolnih kiselina i prisutni su u manjim koncentracijama. U medu su detektirani: benzaldehid, fenilacetaldehid, acetofenon, *trans*-cimetni aldehid, 2-anisaldehid, 4-anisaldehid, vanilin i 3,4-dimetoksi-5-hidroksibenzaldehid. Udio fenolnih tvari u medu ovisi prvenstveno o njegovom botaničkom porijeklu.[29]

Najčešće korištena metoda izolacije fenolnih spojeva je ekstrakcija na čvrstoj fazi, SPE. Izbor ekstrakcijske metode također utječe na ishod izolacije, a zemljopisno podrijetlo uz vrstu

pčela, doprinos nektara ili medljike drugih biljnih vrsta i klimatske uvjete, značajno utječe na sastav fenolnih komponenti. Fenolne kiseline se uglavnom analiziraju GC-om i HPLC-om sa kulometrijskim detektorom. Koncentracija u medu je između 0,01 - 10 ppm (10-1000 μg $100g^{-1}$ meda).[51]

Tablica 3. Fenolne kiseline i flavonoidi identificirani u medu različitih cvjetova [52]

Fenolne kiseline	**Flavonoidi**
4-Dimetilaminobenzojeva kiselina	Apigenin
Kafeinska kiselina	Genistein
p-Kumarinska kiselina	Pinocembrin
Galna kiselina	Tricetin
Valerijanska (pentanska) kiselina	Krizin
Siringinska kiselina	Luteolin
Klorogenska kiselina	Kvercetin-3-metil-eter
	Kemferol
	Kemferol-8-OMe
	Kemferol-3-OMe
	Kvercetin
	Kvercetin-3-OMe
	Kvercetin-3,7-OMe
	Kvercetin-3,3'-OMe
	Kvercetin-7,3'-OMe
	Galangin
	Pinobanksin
	Mircetin
	Mircetin-3-OMe
	Mircetin-3,7,4',5'-OMe

4.2.3. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su glavne komponente meda. Najčešće se detektiraju kromatografskim metodama, kao što su GC, ionska kromatografija i HPLC.[47] Često se kod identifikacije različitih vrsta meda koristi omjer ugljikohidrata, aktivitet vode, električna vodljivost te količina ugljikohidrata. Ugljikohidrati su dobri indikatori za klasifikaciju i autentifikaciju uniflornog meda jedino kod uzoraka meda sa visokim postotkom dominantne biljne vrste.[33]

4.2.4. Aminokiseline i proteini

Analiza profila aminokiselina je prikladnija za određivanje botaničkog i zemljopisnog podrijetla u odnosu na proteine. Međutim, za pouzdanu identifikaciju meda određene regije,

potrebno je analizu aminokiselina kombinirati s drugim tehnikama jer značajan dio slobodnih aminokiselina u medu potječe od pčela što vodi do velike različitosti u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu aminokiselina unutar jedne vrste meda.
Aminokiseline arginin, triptofan i cistin su karakteristične za neke vrste meda. [47]

4.2.5. Ostali markeri

Ostali kemijski markeri koji se koriste kod karakterizacije meda su alifatski spojevi (za medljiku), kinurenska kiselina (za med od kestena), cikloheksa-1,3-dien-1-karboksilna kiselina (med od lipe). Određeni su pomoću NMR spektroskopije.[33]

Mikroelementi su se koristili prvenstveno za otkrivanje okolišnih kontaminacija u medu, ali u posljednje vrijeme razvitkom novih metoda i instrumenata visoke preciznosti za određivanje elementarnog sastava, naročito elemenata u tragovima, počeli su se koristiti kao markeri za identifikaciju meda. Međutim, mikroelemnte treba pažljivo razmotriti pri identifikaciji meda. Naime, neki minerali kao Na i K, biljnog su podrijetla, akumulirani u biljnoj stanici i ovise o sastavu enzima, dok neki metali, kao Pb i Cd, mogu biti prisutni u medljici zbog onečišćenja okoliša.[33]

4.3. Biološki učinci i terapijska primjena meda

4.3.1. Antimikrobni učinak

Sirovi med može sadržavati bakterijske spore, uglavnom apatogenih vrsta roda *Bacillus*, ali i spore *Clostridium botulinum*, koje mogu izazvati botulizam rana ili dojenački botulizam. Stoga tzv. **medicinski med**, koji je namijenjen kliničkoj uporabi, mora biti steriliziran kako bi se uništile sve potencijalno prisutne bakterijske spore. To se obično postiže pomoću gama-zračenja. Najpoznatiji medicinski med koji je odobren za kliničku primjenu je med Manuka®. Osim njega, antimikrobnim djelovanjem se ističe medun jele (*Abies alba* L.), poliflorni livadni med te uzorci uniflornog meda kestena (lat. *Castanea sativa* Mill.).[53] Zbog visokog osmotskog djelovanja, med u pravilu nije medij u kojem bakterije mogu preživjeti, stoga su i prilike za razvijanje rezistencije minimalne.

Tablica 4. Patogeni osjetljivi na med [54]

Bakterije osjetljive na med	**Infekcija**
Bacillus anthracis	antraks
Corynebacterium diphteriae	difterija
Escherichia coli	diareja, urinarna infekcija, infekcija rana, septikemija
Haemophilus influenzae	infekcije uha, meningitis, respiratorne infekcije, sinusitis
Klebsiella pneumoniae	pneumonija
Listeria monocytogenes	meningitis
Mycobacterium tuberculosis	tuberkuloza
Pasteurella multocida	infekcija nakon ugriza životinja
Proteus species	septikemija, urinarne infekcije, infekcije rana
Pseudomonas aeruginosa	urinarne infekcije, infekcije rana
Salmonella species	diareja
Salmonella cholerae-suis	septikemija
Salmonella typhi	tifus
Salmonella typhimurium	infekcija rana
Serratia marcescens	septikemija, infekcija rana
Shigella species	dizenterija
Staphylococcus aureus	absces, potkožni čirevi, impetigo, infekcija rana
Streptococcus faecalis	urinarne infekcije
Streptococcus mutains	zubni karijes
Streptococcus pneumoniae	infekcije uha, meningitis, pneumonija, sinusitis
Streptococcus pyogenes	infekcije uha, impetigo, reumatska vrućica, grlobolja, infekcije rana
Vibrio cholerae	kolera

Gljivice osjetljive na med
Aspergillus flavus
Aspergillus fumigatus
Aspergillus niger
Aspergillus parasiticus
Candida albicans
Candida psuedotropicalis
Candida reukaufi
Candida stellatoidea
Candida tropicalis
Penicillium spp
Penicillium chrysogenum
Saccharomyces spp

U kliničkim ispitivanjima je dokazano da med djeluje na inficirane rane koje su rezistentne na konvencionalne antibiotike i antiseptike. *In vitro* studijama je dokazano da med djeluje protiv multirezistentnih mikroorganizama kao što je MRSA (meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus*), VRE (vankomicin rezistentni enterokoki) i ostali multirezistentni Gram-negativni mirkoorganizmi, uključujući *Pseudomonas aeruginosa*.[55]
Pregled bakterija i gljivica osjetljivih na med je prikazan u Tablici 4.

4.3.2. Imunostimulacijsko djelovanje

Osim izravnog antimikrobnog djelovanja, med potpomaže borbu s infekcijama poticanjem rada imunološkog sustava. Pokazalo se aktivirajuće djelovanje meda na limfocite T i B koji posljedično aktiviraju neutrofile. Stimulacijom monocita pomoću meda *in vitro* dolazi do oslobađanja citokina TNF-α, IL-1 i IL-6 koji djeluju kao glasnici upale i aktiviraju mnoge aspekte imunološkog odgovora. Osiguravanjem zaliha glukoze med omogućava povećano stanično disanje makrofaga koji proizvode vodikov peroksid, a osiguravanjem supstrata za glikolizu makrofagima je omogućena proizvodnja energije čak i unutar oštećenih tkiva sa smanjenom opskrbom kisika. Postoje pretpostavke o ulozi kiselosti meda u potpomaganju fagocitoze jer fagocitne vakuole u makrofagima imaju kiseli pH pomoću kojeg se fagocitirane bakterije uništavaju.[56]

4.3.3. Zacjeljivanje rana

Med se za zacjeljivanje rana koristio od antičkih vremena. Danas znanstvena istraživanja potvrđuju učinkovitost meda kao promotora zacjeljivanja. Međutim, med za navedenu indikaciju mora biti medicinski ispravan, tj. mora biti filtriran, podvrgnut gama zračenju i proizveden pod pažljivo kontroliranim higijenskim uvjetima kojima se jamči proizvodnja standardiziranog meda.[57]

Mnoge vrste rana se uspješno tretiraju s medom: abrazije, abscesi, amputacije, dekubitusi, opekline, rane nakon carskog reza, cancrum, cervikalni ulkusi, chilblains lupus, ispucale bradavice, porezotine, dijabetičko stopalo, fistule, ulkusi nogu kod lepre, inficirane rane nakon traume, maligni ulkusi, ulkusi zbog srpaste anemije, kožni ulkusi, kirurške rane, tropički ulkusi, venski ulkusi, rane na abdomenu i perineumu.[5]

Nisu sve vrste meda jednako učinkovite kod zacjeljivanja rana. Medovi koji se najčešće koriste za navedenu indikaciju su kestenov med te manuka med koji ima najbolje djelovanje protiv virusa, gljivica i bakterija.

4.3.3.1. Dostupni preparati na tržištu

Preparati prisutni na tržištu su 100%-tni medicinski med kao oblog za rane, alginatna obloga s medom, hidrokoloidna obloga s medom, flaster s neutralnim nosačem etilvinilacetatom i čistim medom, sterilne kombinacije meda sa tvarima kao što su lanolin, suncokretovo ulje, cinkov oksid i drugo. Na hrvatskom tržištu su registrirani medicinski proizvodi: alginatna obloga s kestenovim medom i medicinski med u tubi (kestenov med).

Med je viskozan, a ako se stavi na ranu bogatu eksudatom, razrijedi se, što predstavlja poteškoće pri njegovoj aplikaciji. Korištenjem ispravnog vehikuluma te sekundarnih obloga može se zaobići taj problem. Kod tekućeg ili polučvrstog oblika meda, preporuča se direktna aplikacija na ranu ili na odgovarajuću oblogu. Alginatne obloge s medom se mogu koristiti za akutne i kronične rane uključujući i inficirane rane, dok se hidrokoloidna obloga s medom treba odabrati prema stupnju eksudata rane.[4]

Upotreba preparata na bazi meda je kontraindicirana kod preosjetljivosti na ubod pčela ili bilo koji pčelin prozvod. Kod nekih pacijenata može doći do prolazne žareće boli nakon aplikacije meda na ranu. Bol uglavnom nestaje nakon prvih nekoliko aplikacija pa su analgetici potrebni samo u rijetkim slučajevima kad bol ne prestaje.[4]



Slika 18. Neki od preparata meda za zacjeljivanje rana

4.3.4. Primjena u gastroenterologiji

4.3.4.1. Med kao prebiotik

Prebiotici su neprobavljivi sastojci hrane (vlakna) koji nakon interakcije s probioticima stimuliraju njihov rast i aktivnost. Najčešći prebiotici su oligosaharidi, kao što su fruktooligosaharidi (FOS), galaktooligosaharidi (GOS) i inulin. Ovisno o stupnju polimerizacije, med sadrži različite oligosaharide te tako potiče rast i aktivnost bifidobakterija. Umiješan u fermentirane mliječne proizvode sa bifidobakterijama, koristi se za poboljšavanje gastrointenstinalnog zdravlja.
Međutim, učinak meda kao prebiotika varira ovisno o biljnom podrijetlu. [58]

4.3.4.2. Ulkusi i gastritisi

Učinak meda kod gastrointenstinalnih (GIT) ulkusa i gastritisa se temelji na njegovom antibakterijskom i antiinflamatornom djelovanju uz mogućnost inhibiranja lučenja želučanog soka. Istraživanja su pokazala da topli med inhibira, dok hladni med potiče lučenje žučanog soka.[4] Također je dokazano da konzumacija toplog meda uz propolis pomaže u liječenju želučanih ulkusa.[59]
Konzumacijom meda maslačka, dokazano je smanjenje gastričnog soka za 56%.[60]

Dokazano je da je *Helicobacter pylori* osjetljiva na med zahvaljujući vodikovom peroksidu u koncentraciji od 20%, dok se djelotvornost neperoksidnih komponenti u kliničkim ispitivanjima na manuka medu nije pokazala.[61]

Neke studije su proučavale potencijalni sinergizam između raznih vrsta meda i antibiotika korištenih u terapiji eradikacije *H. pylori* (amoksicilin ili klaritromicin). Nije uočen sinergizam, ali se smatra da primjena meda uz trojnu terapiju može skratiti vrijeme infekcije.[62]

4.3.4.3. Laksativni učinci i konstipacija

Konzumacija meda u velikim količinama (50-100 g) može izazvati blaži laksativni učinak kod pojedinaca koji nedovoljno apsorbiraju fruktozu iz meda. Ovaj učinak se koristi u terapiji konstipacije u istočnoj Europi, Kini i u Bliskom istoku.[4] Međutim, med se ne smije davati djeci mlađoj od jedne godine zbog rizika od botulizma.

4.3.4.4. Akutni gastroenteritis kod djece

Osim antibakterijskog i protuupalnog učinka, med može potaknuti oporavak oštećene intenstinalne mukoze te stimulirati rast novog tkiva. Korištenjem 5% meda kao izvora glukoze u ORS-u (oralna rehidracijska otopina), skraćeno je vrijeme oporavka djece u odnosu na kontrolnu grupu koja je koristila standardnu terapiju kod bakterijskog gastroenteritisa.[4] Med nije pokazao veću učinkovitost kod viralnog gastroenteritisa.
Med kao izvor glukoze, omogućuje apsorpciju natrija i vode, a kao izvor fruktoze pospješuje apsorpciju vode bez povećavanja unosa natrija.

4.3.4.5. Intoksikacija alkoholom

Pozitivni učinci meda kod etanolne intoksikacije su dokazani ispitivanjima na ljudima. Med je smanjio koncentraciju etanola u krvi i ubrzao eliminaciju alkohola.[63]

Kontrolirana klinička studija je pokazala pozitivan utjecaj fruktoze kod alkoholne intoksikacije. Mali, ali značajan pad koncentracije etanola u krvi je zabilježen te je zaključeno da fruktoza može biti učinkovita u skraćivanju alkoholne intoksikacije.[64]

4.3.4.6. Hepatitis

Pozitivni učinci meda djeteline i uljane repice su dokazani kod hepatitisa A. Glavni učinci meda se pripisuju njegovim snažnim protuupalnim djelovanjem. Med je smanjio koncentraciju ALA (alanin aminotransferaza) 9-13 puta te produkciju bilirubina 2,1-2,6 puta.[60]

4.3.5. Utjecaj meda na sportske rezultate

Med je koncentrirani izvor monosaharida (fruktoza, glukoza) te ostalih di- ,tri- i oligosaharida koji predstavljaju značajan energetski izvor. Monosaharidi se lako apsorbiraju, dok se složeniji ugljikohidrati prvo cijepaju do monosaharida kako bi se mogli apsorbirati.
Fruktoza i galaktoza se mijenjaju u glukozu i u metaboličkim reakcijama stvaraju izvor energije ili se skladište u obliku glikogena, primarno u jeri i mišićima kao zaliha energije.

4.3.6. Primjena meda kod dijabetičara

Med je visokokalorična namirnica, bogata ugljikohidratima zbog čega se dugo nije preporučavala dijabetičarima. Međutim, u nekim istraživanjima je dokazano da je konzumacija meda kod dijabetes tipa II pomogla da se smanje komplikacije bolesti kao što su povišen krvni tlak, angina, dislipidemija, i to usprkos trajno povišenoj razini šećera u krvi.[65]

Glikemijski indeks (GI) je mjera koja označava brzinu i intenzitet povišenja razine glukoze u krvi nakon konzumiranja određene hrane. Hrana koja posjeduje nisku vrijednost glikemijskog indeksa uzrokuje mali porast glukoze u krvi i obrnuto. Ovisno o vrsti meda, glikemijski indeks meda iznosi od 32 do 85.[66] Prema znanstvenim istraživanjima bagremov med ima najmanji glikemijski indeks (32) i blagotvorno djeluje na održavanje ravnoteže razine glukoze u krvi, dok med timijana, kestena i vrijeska (također bogati fruktozom) mogu biti dobra alternativa.[4, 66]

Američko dijabetološko udruženje je 2002. godine istaklo da je bitna ukupna količina ugljikohidrata u obrocima, a ne vrsta ugljikohidrata. U skladu s tim, med bi se mogao koristiti kod dijabetičara kao dio ukupnih ugljikohidrata u individualnoj dijabetičkoj dijeti. U obzir treba uzeti i sve druge pozitivne učinke meda koje dijabetičarima mogu pomoći u regulaciji poremećenog metabolizma i u usporavanju komplikacija dijabetesa.

4.3.7. Kardiovaskularno zdravlje

U kliničkim ispitivanjima je dokazano da prirodni med reducira kardiovaskularne rizične čimbenike, i to naročito kod osoba s već prisutnim povišenim kardiovaskularnim rizikom, a da pri tome ne povećava tjelesnu masu kod pretilih osoba. Dokazano je da med smanjuje ukupni kolesterol, LDL kolesterol, trigliceride, koncentraciju glukoze i C- reaktivni protein, a podiže vrijednosti HDL lipoproteina.[67] Postoje dokazi da med smanjuje agregaciju trombocita i koagulaciju krvi.[68] Također je dokazano da med smanjuje tjelesnu masu, LDL i trigliceride dok HDL značajno raste kod ispitanika s diabetes mellitusom tipa 2.[69]

Med sadrži dušikove okside koji mogu imati protektivnu ulogu na kardiovaskularni sustav jer kao vazodilatatori reguliraju arterijski tlak. Tamniji i svježiji medovi sadržavaju više metabolita NO od svjetlijih i skladištenih, dok se zagrijavanjem gube NO metaboliti kod svih vrsta meda.[4]

4.3.8. Oralno zdravlje

Mnogo je rasprava o sigurnosti/štetnosti primjene meda na zube. U nekim istraživanjima je dokazan kariogeni učinak meda, dok su rezultati drugih studija pokazali rezultate o manjoj kariogenosti meda u odnosu na saharozu te čak i karioprotektivni učinak zbog antibakterijskog djelovanja meda. Dokazano je da manuka med zbog jakog antibakterijskog učinka sprječava stvaranje zubnog plaka te nastanak gingivitisa.[70]
Zabilježeno je da med za razliku od voćnih sokova (pH=3.5), ne izaziva eroziju zubne cakline, vjerojatno zbog sadržaja kalcija, fosfata i fluorida.[71]

Oralne lezije, kao što su aftozni stomatitis, rekurentni herpes labialis, rekurentni intraoralni herpes, atrofični/erozivni oralni lichen planus, oralna kandidijaza i oralna psorijaza mogu se uspješno liječiti medom.[72] Preporuča se da se med stavi direktno na leziju ili da se neko vrijeme drži i okreće kroz usnu šupljinu, a zbog sigurnosnih razloga se preporuča čišćenje zubiju nakon tretmana. Med djeluje protuupalno, smanjuje bol te skraćuje vrijeme trajanja oralnih lezija.

Manuka med i bagremov med pokazali su se učinkoviti u smanjenju zadaha iz usta. [73]

4.3.9. Primjena meda u oftalmologiji

Med se još od antičkih vremena koristio za liječenje različitih očnih bolesti. Prema izvještajima diljem svijeta (ugl. Indija, Rusija, Egipat), med se koristi kod blefaritisa (upala očnih kapaka), kataralnog konjuktivitisa, kornealnih očnih ulkusa, keratitisa (upala rožnice oka) te kod različitih stanja, npr. ozljeda rožnice, te kemijskih i toplinskih opeklina oka.[74]
Općenito, liječenje je uspješno u ostvarivanju remisije ili zaustavljanja progresije očne bolesti. Med se uglavnom aplicira u obliku masti.
Jedine prijavljene nuspojave su prolazno peckanje i crvenilo oka nakon aplikacije meda.[74]

4.3.10. Primjena meda u onkologiji

Postoje dokazi da med može ublažiti nuspojave onkoloških tretmana. Prva zabilježena primjena meda je bila nakon radikalnog odstranjivanja vulvarnog karcinoma gdje je med pomogao u bržem zacjeljivanju rana.[75] Postoje dokazi da je med značajno smanjio radijacijom inducirano oštećenje crijeva u tretmanu karcinoma maternice.[76] Ujedno, pokazano je da med

može biti učinkovit kod radijacijom izazvan mukozitisa (kod djece i odraslih), radioterapijom izazvane kožne reakcije, kemoterapijom izazvane kožne reakcije na nogama i rukama, da pomaže u održanju zdravlja usne šupljine te da je koristan za zacjeljivanje vanjskih kirurških rana.[77] Dokazano je da med kao suportivna terapija zajedno s kemoterapeuticima doprinosi boljoj učinkovitosti te smanjenju nuspojave kemoterapije kao što je mijelosupresija, neutropenija i dr. Tretman s medom je pokazao učinkovitost kod kemoterapijom inducirane febrilne neutropenije gdje je smanjio potrebu za faktorima stimulacije kolonija (CSF).[78] Topikalna aplikacija meda se preporuča kod kemoterapijom induciranog oralnog stomatitisa.

Medni oblozi pomažu kod pacijenata s kožnim tumorima nakon što uobičajeni pristupi, poput terapije zračenjem, nemaju učinka.[79]

4.3.11. Kašalj

Male doze meda, 1-2 kuhinjske žlice (ovisno od dobi: ½ kuhinjske žlice za 2-5 godina, 1 kuh. žlica za 6-11 godina te 2 kuh. žlice za 12-18 godina) su dokazano učinkovite kod kašlja te kod olakšavanja sna kod djece koja kašlju.[80] Ističe se heljdin med zbog jake antioksidacijske aktivnosti. Dokazano je da je med učinkovitiji od kemijskih sirupa protiv kašlja.[81]

4.3.12. Gripa i prehlada

Unos meda od 50 g/dan smanjuje duljinu trajanja prehlade za dva dana.[82] Ukrajinski istraživači su napravili dugoročnu studiju u kojoj su svi sudionici uzimali med tri puta dnevno, ukupno 40-45 g. Tijekom 20 godina trajanja eksperimenta, nijedan sudionik nije obolio od neke virusne bolesti, dok je kontrolna skupina oboljela od prehlade ili grlobolje 3-4 puta godišnje. Zaključeno je da dugoročno uzmimanje meda djeluje imunostimulacijski protiv infekcija.[83]

4.3.13. Ostale potencijalne primjene meda

Hipnotski učinak

- Med stabilizira razinu šećera u krvi i potiče otpušanje melatonina, hormona koji regulira cirkadijalni ritam.[84]

Alergijski rinitis

- Rezultati istraživanja u kojem je sudjelovao 21 pacijent su pokazali da korištenje meda u dozi od 10-20 g/dan u predvegetacijskoj sezoni (zima), može prevenirati ili smanjiti simptome alergijskog rinitisa. Međutim, potrebna su dodatna istraživanja da bi se dokazao ovaj učinak meda. [85]

Anemija

- Postoje rezultati kliničkih ispitivanja u kojem je zaključeno da je nakon tjedan dana uzimanja meda došlo do povećavanja hemoglobina kod starije novorođenčadi.[86] U istraživanjima na štakorima je potvrđeno da tamni medovi (npr. med vrijesa- *Calluna vulgaris* L.) mogu vratiti razinu hemoglobina na normalu.[87]

Kandidijaza

- *In vitro* istraživanjima je uočeno da se učinkovitost meda može usporediti s komercijalno dostupnim antimikoticima prema sposobnosti inhibiranja *Candide albicans*.[88]

Dermatofitoze

- Rezultati kliničkih istraživanja su pokazali da su livadni med s vodikovim peroksidom i manuka med s neperoksidnom aktivnošću inhibirali rast gljivica. Međutim, više meda je potrebno za inhibiciju gljivica nego bakterija.[74]

5. RASPRAVA

5.1. Botaničko i zemljopisno podrijetlo meda

Melisopalinologija (analiza peludi) zauzima značajno mjesto u provjeri kvalitete pčelinjih proizvoda te je uvrštena i u zakonsku regulativu. Harmonizirana metoda obuhvaća kvantitativnu i kvalitativnu analizu peludi. Kvalitativnom se peludnom analizom identificiraju peludna zrnca i elementi medljike određivanjem postotnog odnosa. Načelo analize temelji se na činjenici da se peludna zrnca morfološki razlikuju. Stoga se mikroskopskim pregledom ona mogu razvrstati do vrste, roda ili porodice. Kvantitativna analiza donosi procjenu totalnog volumena taloga i apsolutne količine elementa po jedinici mase. Ova procjena omogućava utvrđivanje načina dobivanja meda (vrcanje ili cijeđenje) i pomaže u točnijem interpretiranju rezultata.[32]

Analiza peludi se koristi za određivanje i provjeru botaničkog i zemljopisnog podrijetla meda. Botaničko podrijetlo meda odnosi se na peludni spektar biljnih vrsta kao izvora nektara, a geografsko podrijetlo na sastav peludnih zrnaca biljaka karakterističnih za određeno područje. Prema ovoj analizi, med se dijeli na uniflorni i poliflorni.

Međutim, postoje neka ograničenja ove metode: različite biljke proizvode različita peludna zrnca, udio peludi varira od sezone do sezone, stvaranje nektara se razlikuje između ženskog i muškog cvijeta, u mednom mjehuru se filtira nektar, pčele mogu doći u kontakt s peludi bez sakupljanja nektara, filtriranje meda prije prodaje, pelud može biti naknadno dodan.
Posebni problemi u ovoj metodi su povezani s potrebom za dobrim iskustvom i znanjem morfologije peludi i dostupnosti sveobuhvatne zbirke peludnih zrnaca.[33]

Za što kvalitetniju analizu kakvoće meda, neophodno je osim melisopalinološke, provesti i organoleptičku te fizikalno-kemijsku analizu jer je tek na temelju skupnih rezultata analiza moguće donijeti ispravnu odluku.

5.2. Antimikrobno djelovanje

Trenutno je najčešće korištena metoda za procjenu antibakterijske aktivnosti meda disk-difuzijska metoda. Međutim, ova metoda ipak posjeduje nekoliko ograničenja. Različite vrste bakterija različito su osjetljive na različite vrste meda. Nadalje, agar-difuzijskom metodom

aktivnost meda procjenjuje se prema veličini zone inhibicije rasta koja ne ovisi samo o antimikrobnoj aktivnosti, već i o brzini difuzije antibakterijskih komponenti kroz agar. Antibakterijska aktivnost meda, zbog spojeva relativno visoke molekulske mase koji su ograničeni u migraciji kroz agar, može posljedično biti pogrešno okarakterizirana kao niska aktivnost. Pomoću ove metode također nije moguće odrediti ima li određeni med i baktericidno djelovanje ili kvantificirati ga i odrediti kinetiku baktericidnog djelovanja toga meda.[89]

Navedena ograničenja nastoje se prevladati određivanjem minimalne inhibicijske koncentracije (MIK) i minimalne baktericidne koncentracije (MBK) meda dilucijskom metodom. Ovaj kvantitativni test koristi se i za karakterizaciju pojedinačnih komponenti meda koje imaju antibakterijsko djelovanje.

5.3. Antioksidacijska svojstva meda

Najčešće korištena metoda za određivanje antioksidacijskih svojstava meda je DPPH-test. Ispitivanje sposobnosti hvatanja DPPH• radikala preporučeno je raditi s koncentracijom DPPH• od 50 μM jer previše radikala uzrokuje pogreške u spektrofotometrijskom mjerenju. Ovisno o topljivosti ispitivane tvari i zbog osjetljivosti apsorbancije DPPH• na pH, otopina se može raditi s metanolom ili puferiranim metanolom. Test bi se trebao odvijati u tamnoj ili slabije osvijetljenoj prostoriji jer apsorpcija ovisi i o količini svjetlosti.[90]

5.4. Fitokemikalije

5.4.1. Antioksidansi

Antioksidansi mogu biti endogeni i egzogeni. Endogenim antioksidansima pripadaju enzimski (citokrom c, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, katalaza) i neenzimski antioksidansi (α-tokoferol, β-karoten, koenzim Q10- u membranama; i askorbat, transferin, bilirubin- izvan membrana). Egzogenim antioksidansima pripadaju hvatači slobodnih radikala („scavengers“) i prijelazni elementi (Se, Zn).[91]

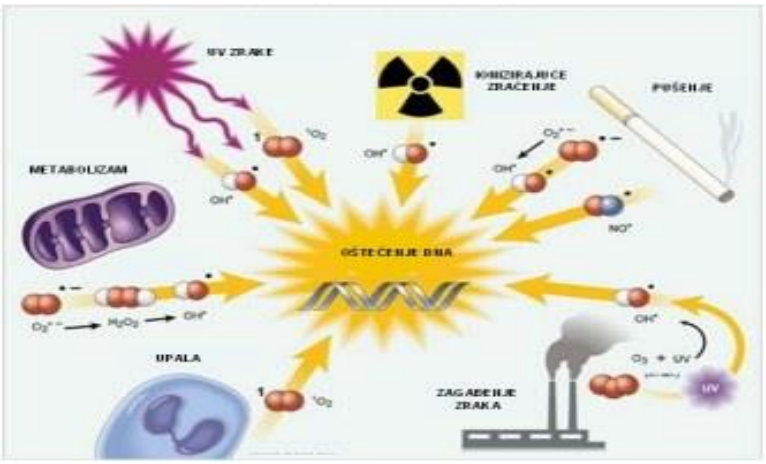
Organizam čovjeka posjeduje efikasne obrambene antioksidacijske sustave za zaštitu od slobodnih radikala i ostalih reaktivnih vrsta kisika. Enzimski antioksidansi prvi su obrambeni mehanizam protiv slobodnih radikala te ih neutraliziraju već pri njihovom nastanku. Međutim,

kako čovjek stari, tako se i produkcija tih enzima smanjuje te se nameće potreba za konzumacijom hrane bogate antioksidansima, među kojom se svakako nalazi i med. Zabilježeno je da antioksidansi prisutni u prirodnim prehrambenim proizvodima pokazuju veću antioksidacijsku aktivnost u odnosu na sintetske.[92] Osim toga, antioksidansi u medu, ali i u drugim namirnicama, spriječavaju kvarenje uzrokovano oksidativnim promjenama usljed djelovanja svjetlosti, topline i nekih metala.[29]

Pri procesu upale leukociti stvaraju slobodne radikale u inficiranim ili oštećenim tkivima. Slobodni radikali imaju vrlo štetno djelovanje, kako na bakterije i stanice patogena tako i na stanice tijela. Mogu degradirati lipide, bjelančevine i nukleinske kiseline koje su osnovne građevne jedinice svake stanice. Protuupalno djelovanje meda se zasniva upravo na sprječavanju nastanka slobodnih radikala, odnosno, antioksidacijskom djelovanju.[79]

Slobodni radikali nastaju homolitičkim cijepanjem kovalentne veze, pri čemu svaki elektron ostaje vezan u susjednom atomu. Slobodni radikali su definirani kao bilo koji atom, molekula, ili ion s nesparenim elektronom koji predstavlja slobodnu valenciju zbog čega su kemijski jako reaktivni pa im je niska specifičnost za reaktante. Kao posljedica toga u kemijskoj reakciji oksidacije, brzo se i nepredvidivo spajaju s bilo kojom prostorno bliskom molekulom proteina, lipida, ugljikohidrata ili nukleinske kiseline, kako bi postigli stabilniju konfiguraciju. Vezivanjem slobodnih radikala na spomenute organske molekule mogu nastati novi radikali s mogućnošću pokretanja novog niza neenzimskih lančanih reakcija.[93] Prisutnost slobodnih radikala može polučiti i citotoksično djelovanje, kao i smrt stanica, induciranjem mutacija i kromosomskih aberacija, te kancerogenezom.[94]

Izvori slobodnih radikala mogu biti endogeni i egzogeni. Endogeni slobodni radikali u organizmu mogu nastati tijekom metabolizma kisika, fagocitoze, kemotaksije, apoptoze, koagulacije, hipoksije ili hiperoksije. Egzogeni izvor slobodnih radikala mogu biti dim cigareta, lijekovi, prehrana, pesticidi, radioaktivno zračenje ili UV-zračenje. (Slika 19.)



Slika 19. Induktori nastanka slobodnih radikala

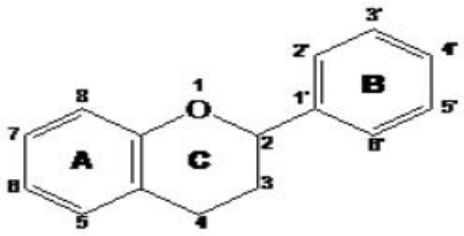
Oksidacijski stres se definira kao pomak ravnoteže u staničnim oksido-redukcijskim reakcijama u smjeru oksidacije. Riječ je o stanju prekomjernog stvaranja reaktivnih molekulskih vrsta, pri čemu dolazi do neuravnoteženog stvaranja slobodnih radikala i premašivanja mogućnosti neke stanice da ih razgradi, što rezultira oštećenjem stanica, tj. promjenama u strukturi i funkciji stanica, tkiva i organa. Tako nastala oštećenja mogu narušiti homeostazu iona, prijenos signala u stanici, gensku transkripciju i dovesti do drugih poremećaja. Oksidacijski stres ima značajnu ulogu u etiopatogenezi kardiovaskularnih i infektivnih bolesti, karcinoma, dijabetesa, neurodegenerativnih bolesti, fibroze, hemolize, procesa starenja ili ateroskleroze.[93]

Biokemijski su najznačajniji reaktivni oblici kisika (engl. reactive oxygen species – ROS), koji se dijele na slobodne radikale kisika (superoksidni O^{2-}, hidroksilni OH•, peroksilni ROO•, alkoksilni RO•, hidroperoksilni HO_2•) i spojeve koji nisu slobodni radikali (vodikov peroksid H_2O_2, hipokloritna kiselina HClO, ozon O_3, singletni kisik $^1O_2$…) te reaktivni oblici dušika (engl. reactive nitrogen species – RNS), u koje ubrajamo slobodne radikale dušika (dušikov (II)-oksid NO•, dušikov (IV)-oksid NO_2 •) te spojeve koji nisu slobodni radikali (nitrozil NO^+, nitritna kiselina HNO_2, peroksinitrit $ONOO^-$, alkilperoksinitrit ROONO).

5.4.2. Flavonoidi

U biljkama flavonoidi djeluju antioksidacijski, antimikrobno, kao fotoreceptori, te kao zaštita od UV zračenja.[95] Zaštitna uloga flavonoida u biološkim sustavima pripisuje se njihovoj sposobnosti hvatanja elektrona slobodnog radikala, kelatnog vezanja iona prijelaznih metala ($Fe^{2+,}$ Cu^{2+}, Zn^{2+} i Mg^{2+}) , aktiviranja antioksidacijskih enzima i inhibiranja oksidaza.[45]

Osnovna kemijska struktura flavonoida je skelet od petnaest ugljikovih atoma (difenilpropan - $C_6C_3C_6$), raspoređenih u dva aromatska prstena (A i B prsten) povezana heterocikličnim piranskim prstenom (C prsten). (Slika 10.) Prema razlikama u heterocikličkom prstenu C, dijele se u više podskupina: flavanoni, flavan-3-oli (katehini), flavoni, flavon-3-oli, antocijanidini i izoflavoni.[45] Strukturna raznolikost flavonoida rezultat je brojnih modifikacija osnovne strukture zbog reakcija hidrogenacije, hidroksilacije, O-metilacije hidroksilnih grupa, dimerizacije, vezanja neorganskog sulfata i glikolizacije hidroksilnih grupa (O-glikozidi) ili flavonoidne jezgre (C-glikozidi). Flavonoidi se u biljkama pojavljuju kao glikozidi, aglikoni i metilirani derivati. Oko 90% flavonoida biljaka nalazi se u obliku glikozida. Do danas je identificirano više od 6400 flavonoida.[96]



Slika 20. Osnovna struktura flavonoida

Kod flavonoida postoji velika sklonost umrežavanju i polimerizaciji (npr. tanini). U gotovo svakoj biljci pronađeni su flavonoli i u manjoj mjeri flavoni.[97] Najpoznatiji flavoni su apigenin i luteolin. Najrašireniji flavonoli su kvercetin, kemferol i miricetin.

5.5. Cvjetni markeri u medu - fitokemikalije kao markeri

Svojstva i sastav meda ne ovise samo o nektaru ili medljici, već i o drugim čimbenicima, kao što su pasmina pčela, zemljopisno područje, sezona, način skladištenja, tehnologija i uvjeti žetve. Stoga pronalaženje pouzdanih markera nije uvijek jednostavno. Ujedno je poznato i da akumulacija fitokemikalija ovisi o klimatskim uvjetima (sunčeva svjetlost, vlaga), karakteristikama tla i dr.

5.5.1. Hlapljive tvari

Specifična aroma je prepoznatljivo svojstvo meda. Temelji se na prisustvu hlapljivih spojeva koji se dijele na terpene, norizoprenoide i ostale hlapljive tvari. Brojne studije su identificirale specifične hlapljive tvari karakteristične za pojedine biljne vrste te se one koriste kao markeri u identifikaciji meda. Mogu potjecati od nektara ili medljike, a uvelike ovise o biljnoj vrsti te stupnju zrelosti meda. Ujedno, komponente arome mogu potjecati i od medonosnih pčela, mogu nastati prilikom termičke obrade i/ili tijekom skladištenja meda.[33]

Nemaju sve hlapljive tvari jednak utjecaj na aromu. Općenito, utjecaj određenog spoja ovisi o tome u kojoj koncentraciji premašuje mirisni prag. U obzir treba uzeti i moguće sinergističke i antagonističke reakcije između različitih komponenti. Prema tome, čak i spojevi prisutni u niskim koncentracijama mogu utjecati na aromu meda.

Uniflorni medovi imaju visokospecifičan aromatični profil u usporedbi s poliflornim medovima. Međutim, do sada publicirani radovi su pokazali da se vrlo malo uzoraka meda može identificirati pomoću jedne komponte. Uglavnom se identifikacija vršila pomoću više komponenti.[33]

5.5.2. Fenolni spojevi

Polifenoli su prirodni spojevi veoma rasprostranjeni u prirodi i značajno prisutni u ljudskoj prehrani. Neki polifenoli kao na primjer kvercetin, nađeni su u svim namirnicama i piću prirodnog porijekla, dok se drugi karakteristično pojavljuju u pojedinim namirnicama (flavanoni u voću iz roda *Citrus*, izoflavoni u soji). Spojevi su aromatske strukture s više hidroksilnih supstituenata, a dijele se na flavonoide i ostale fenolne spojeve. U prirodi su rijetko prisutni u slobodnom obliku. Nalaze se uglavnom esterificirani s malim organskim kiselinama, konjugirani sa šećernim jedinicama ili u polimernom obliku. Najveću pozornost

privuklo je njihovo antioksidacijsko djelovanje i sposobnost keliranja prooksidativnih metala poput bakra i željeza. Najviše su istraživani flavonoidi. Najveća pozornost u istraživanjima posvećena je kvercetinu – jednom od najpotentnijih i najraširenijih flavonoida. U prehrani su količinski najzastupljenije fenolne kiseline koje se prema strukturi dijele u derivate benzojeve i cimetne kiseline.

Uobičajno, iste komponente imaju antioksidacijski i antimikrobni učinak, kao npr. siringinska kiselina, cimetna kiselina, kofeinska kiselina, feniloctena kiselina, pinocembrin, pinobanksin, krizin i galangin.[33] Neki specifični flavonoidi koriste se kao markeri za identifikaciju meda, npr., kvercetin je predložen kao marker za med suncokreta,[98] a 8-metoksikemferol za med ružmarina.[99]

5.6. Biološki učini i terapijska primjena meda

5.6.1. Mehanizam antimikrobnog djelovanja

Med posjeduje dvije osnovne grupe mehanizama kojima ostvaruje antibakterijsku aktivnost. Prvoj grupi pripadaju mehanizmi antibakterijske aktivnosti zasnovane na njegovim fizikalno-kemijskim osobinama (osmolarnost, viskoznost, pH vrijednost – kiselost, nizak aktivitet vode, niska koncentracija proteina). Druga grupa mehanizama antibakterijske aktivnosti meda zasnovana je na kemijskim spojevima koji su u njemu prisutni. Svi se ti spojevi zajedničkim imenom zovu inhibini. Inhibini se mogu klasificirati na one koje medu daju peroksidnu aktivnost (vodikov peroksid) i one koje medu daju neperoksidnu antibakterijsku aktivnost.[54]

Visoka osmolarnost meda

Med je prezasićena otopina šećera sa niskim aktivitetom vode. Mnoge vrste bakterija rast će samo ako je aktivitet vode 0,94 – 0,99, dok se prosječan aktivitet vode u medu kreće u rasponu od 0,56 do 0,6212, što znači da u medu ima malo dostupne vode za razvoj bakterija i gljivica.[100]

Kiselost meda

Ovisi o prisutnosti organskih kiselina, prvenstveno glukonske kiseline, pH vrijednost meda uglavnom se kreće u rasponu od 3,2 do 4,5 i dovoljno je niska da djeluje inhibicijski na

velik broj mikroorganizama. Međutim, razrjeđivanje meda s tjelesnim tekućinama podiže njegov pH i smanjuje antimikrobni učinak.[100]

Vodikov peroksid

Dokazano je da je vodikov peroksid jedna od najznačajnijih antimikrobnih komponenti meda. Međutim, ioni metala, askorbinska kiselina i enzim katalaza razgrađuju peroksid do vode i kisika, a nizak pH inaktivira enzim glukoza oksidazu koja ga stvara. Međutim, razrjeđivanjem meda 2500-50 000 puta povećava se enzimska aktivnost i polagano otpuštanje antiseptika s antibakterijskim djelovanjem.[100] Utvrđeno je da med koji posjeduje srednju razinu antibakterijske aktivnosti sprječava rast *Staphylococcus aureus*, čak i kad se razrijedi 7 do 14 puta ispod vrijednosti osmolariteta koji sprječava rast mikroorganizama.

Neperoksidni spojevi

Med manuke (podrijetlom s grma manuke – lat. *Leptospermum scoparium*) najdetaljnije je ispitan i u njemu su identificirani mnogi neperoksidni antimikrobni sastojci. Najznačajniji antibakterijski spoj je MGO (metilglioksal) koji je pronađen u visokim koncentracijama te nastaje konverzijom dihidroksiacetona (DHA).[53] Smatra se da su vrijednosti 150 mg/kg i više, poželjne te izravno odgovorne za karakteristična antibakterijska svojstva manuka meda.

UMF (Unique Manuka Factor) je zaštićeni znak Honey Association kojim se određuje antibakterijska neperoksidna aktivnost manuka meda. UMF® je uveden zbog klasifikacije, odnosno izdvajanja *premium* proizvoda, a ta je oznaka korištena najviše u marketinške svrhe. Što je viši UMF, veća je ljekovitost manuka meda (npr. UMF faktor 5-9, UMF faktor 10-14, UMF faktor 15+).

Tablica 5. Odnos između vrijednosti UMF i MGO u manuka medu[101]

UMF	5	10	15	20	25
MGO (mg/kg)	30	100	250	400	550

Fenolni spojevi koji potječu iz biljnog nektara predloženi su kao važni čimbenici za neperoksidno antibakterijsko djelovanje meda. Nekoliko antibakterijskih fenolnih spojeva identificirano je u medu, ali njihov doprinos na ukupnu aktivnost meda za sada ipak ostaje nejasan, s obzirom na to da je koncentracija pojedinačnih fenola izoliranih iz meda suviše niska da bi mogla značajnije pridonijeti antibakterijskom djelovanju.[100]

Nedavno je identificiran antimikrobni peptid pčela defensin-1 (poznat i pod nazivom rojalisin) u medicinskom medu Revamil®. Pčelinji defensin-1 ima snažno djelovanje, ali samo protiv Gram-pozitivnih bakterija, uključujući *B. subtilis, S. aureus* i *Paenibacillus larvae.*[53]

Vodikov peroksid jedna je od najznačajnijih antimikrobnih komponenti meda uz metilglioksal i antimikrobni peptid pčelinji defensin-1.

5.6.2. Mehanizam djelovanja antioksidansa

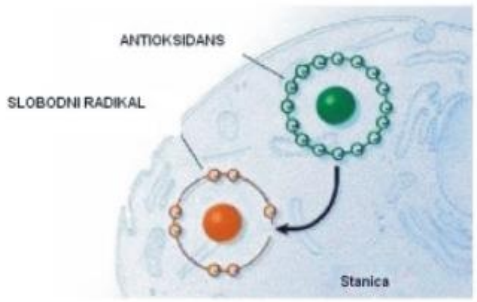
Antioksidansi nastaju u stanici ili se u organizam najčešće unose hranom ili u obliku vitaminskih i sličnih suplemenata, a djeluju na nekoliko načina:

1) izravno enzimskom katalizom uklanjaju ROS - SOD (superoksid-dismutaza), GSHPx (glutation periksidaza), CAT (katalaza)

2) reagiraju sa slobodnim radikalima, pretvaraju ih u neradikale dajući im elektron, a sami postaju slabo reaktivni radikali - vitamin C, vitamin E (Slika 21.)

3) keliraju ione željeza i bakra - transferin, metalotioneini

4) štite biomolekule od oštećenja drugim mehanizmima - proteini toplinskog stresa (heat shock proteins, HSP) [91]



Slika 21. Djelovanje antioksidansa

5.6.3. Mehanizam djelovanja meda kod zacjeljivanja rana

Zacjeljivanje rana je kompleksan, dinamičan proces koji uključuje aktivaciju brojnih sustava i različitih stanica. Još nije točno definiran mehanizam zacjeljivanja rana pomoću meda. Tablica 6 opisuje učinke meda, kliničke ishode i pretpostavljene mehanizme djelovanja meda, temeljeno na *in vitro* istraživanjima, životinjskim modelima i kliničkim podatcima.

Tablica 6. Učinak, predviđeni klinički ishod i pretpostavljeni mehanizam djelovanja meda kod zacjeljivanja rana [61, 102, 103]

UČINAK	PREDVIĐENI KLINIČKI ISHOD	PRETPOSTAVLJENI MEHANIZAM DJELOVANJA
Antimikrobni učinak	- sterilizacija rana - inhibicija potencijalnih patogena u ranama i enzima koji razaraju tkivo - dezodorirajući učinak na rane - barijera za novu kontaminaciju	- Stvaranje H_20_2. - Učinak neperoksidnih komponenti (fitokemikalije). - Nizak pH. - Bakterije prisutne u rani kao izvor energije koriste glukozu umjesto aminokiselina iz tkiva rane. Glukozu razlažu do mliječne kiseline koja doprinosi uklanjaju neugodnog mirisa. - Stimulacija imunološkog sustava: stimuliranje B i T-limfocita, aktivacija neutrofila, otpuštanje citokina, opskrba glukozom za stvaranje energije u makrofagima; kiselost pomaže u uništavanju bakterija u makrofagima. - Zbog svoje viskoznosti, med stvara zaštitnu barijeru za prodor mikroorganizama u ranu.
Antiinflamatorni učinak	- rezolucija edema i eksudata - analgetski učinak - smanjenje keloida i ožiljaka	- Zbog visoke osmolarnosti, med privlači tekućinu iz tkiva čime se stvara sloj razrjeđenog meda na površini rane koji omogućuje vlažno zacjeljivanje i neprijanjanje na ranu. - Smanjuje dolazak leukocita povezanih s upalom. - Inhibira nastale slobodne radikale djelujući kao antioksidans.
Stimulacija zacjeljivanja	- potiče fagocitozu - potiče autolitički debridement - stimulira angiogenezu - potiče granulaciju tkiva - stimulira staničnu proliferaciju - stimulira sintezu kolagena - potiče reepitelizaciju	- Glikolizirani proteini meda i neke dr. komponente imaju stimulativni učinak na makrofage. - Olakšava autolitičko djelovanje proteaza. - Uklanja nečistoće sa vlažnih zavoja. - Zbog osmolarnosti, med povlači tekućinu iz rane i time je čisti i suši. Suha sredina u oštećenom tkivu omogućava fibroblastima umnažanje i zatvaranje površine rane, omogućava i epitelizaciju bez oštećenja mladog sloja epitelnih stanica. Omogućuje zacjeljivanje bez ožiljaka. - Kontrolira nisku produkciju H_2O_2 antioksidacijskim učinkom koji modificira proteine važne za rast stanica i debridement.

5.6.4. Pretpostavljeni mehanizmi djelovanja meda kod različitih indikacija

Med u gastroenterologiji

Med ne utječe na produkciju prostaglandina, ali stimulira senzorne neurone želudca osjetljive na kapsaicin.[104] Također, antiinflamatorni učinak meda koji se odnosi na antioksidacijsko djelovanje meda, doprinosi želučano-protektivnom učinku. Treći mehanizam gastroprotektivnog učinka meda je povezan sa nitratima i nitritima prisutnim u medu (koncentracija je veća u medljici, nego u cvjetnom medu). Nakon konzumacije hrane bogate nitratima, dolazi do redukcije nitrata ($-NO_3$) u nitrite ($-NO_2$) djelovanjem bakterija usne šupljine te do intragastričnog formiranja dušikovog oksida (NO) iz nitrita. Oksidi stvoreni tim putem potiču zaštitne mehanizme mukozne membrane želudca te čuvaju kapilare želučane stijenke.[4]

Utjecaj meda na sportske rezultate

Sportski uspjesi često ovise o opskrbljenosti organizma ugljikohidratima. Međutim, konzumacijom čiste glukoze ili fruktoze se ne postižu optimalni uspjesi. Dokazano je da se kombinacija glukoze i fruktoze mnogo bolja podnosi te da je pogodnija za prevenciju umora i postizanje boljih sportskih rezultata, od konzumacije pojedinih šećera. Med kao prirodan izvor fruktoze i glukoze je izvrstan izbor za sportaše prije, tijekom i nakon natjecanja.[74] Ujedno, tijekom natjecanja, povećan je i gubitak elektrolita znojenjem, a metabolizam pretvorbe energije je ubrzan pri čemu se troši čitav niz vitamina i minerala, posebice vitamina B kompleksa (vitamin B1 i B6) te minerala važnih za prijenos impulsa, kalcija, magnezija, cinka i drugih. Ono što med čini visokovrijednim je i sadržaj vitamina i minerala.

Oftalmologija

Djelovanje meda kod očnih bolesti se objašnjava njegovim protuupalnim, antibakterijskim i antifungalnim učinkom. Postoje još objašnjenja prema kojima je med iritans oka koji potiče procese zacjeljivanja oka.

Kardiovaskularni sustav

Djelovanje meda na kardiovaskularni sustav se objašnjava njegovim antioksidacijskim i antiinflamatornim učincima.

Onkologija

Antitumorska aktivnost meda se objašnjava njegovim antibakterijskim, protuupalnim, imunomodulacijskim, antioksidacijskim i prebiotičkim djelovanjem.[4]

Fizikalno-kemijsko djelovanje (smanjenje dostupnosti kisika u okolini tumora, tj. antiangiogeno djelovanje) i medni antioksidansi mogu spriječiti širenje metastatskih stanica. Saznanja ukazuju na komplementarno djelovanje biljnih antioksidansa (fenolnih derivata) koji djeluju sinergistički s vodikovim peroksidom, ali i neovisno o njemu prilikom borbe protiv tumorskih stanica.[52]

Kašalj

Učinkovitost meda kod kašlja u djece se objašnjava mogućnošću meda da stvara kontaktni umirujući učinak, a zbog slatkih komponenti potiče salivaciju te prekriva sluznicu štiteći je od iritansa koji bi izazvali suhi, neproduktivni kašalj.

Učinci meda na zdravlje čovjeka su uočeni pri unosu sljedeće doze meda:

- odrasli: 50-80 g/dan
- općenito (odrasli i djeca): 0,8-1,2 g meda po gramu tjelesne mase.

Učinci meda na zdravlje su zabilježeni u velikom broju kliničkih istraživanja nakon 2-3 tjedna uzimanja meda, dok apiterapeuti preporučavaju uzimanje meda 1,5-2 mjeseca.[4]

Potreban dnevni unos ugljikohidratnih zaslađivača je 25 g. Pošto je preporučena dnevna doza meda poprilično velika, treba izbjegavati unos drugih sladila. Uzimanje 20-25 g meda/dan će također imati pozitivne učinke na zdravlje u budućnosti.[4]

6. ZAKLJUČCI

Med je prirodni zaslađivač poznat u cijelom svijetu. Osim kao prirodno sladilo, već od davnih vremena, med je prepoznat kao ljekovito sredstvo. Prvi sačuvani podatci o primjeni meda potječu oko 7000 - 6000 godina pr. n. e., što znači da je čovječanstvo upoznato s medom barem 8000 - 9000 godina. Od tada su med i drugi pčelinji proizvodi pratili čovjeka kroz povijest kao vjerski simbol, hrana i lijek.

Prema podrijetlu medonosnih biljaka ili medne rose, med se razvrstava na nektarni med i medljikovac. Nektarni med se proizvodi od nektara, slatke tekućine koju izlučuju biljne žlijezde nektarije, a može biti monoflorni i poliflorni. Med medljikovac je proizveden od medne rose (medljike), slatke tvari koja se javlja na crnogoričnom i bjelogoričnom drveću, a izlučevina je kukaca iz reda Homoptera.

Med je s kemijskog stajališta mješavina brojnih tvari, među kojima se nalaze različiti ugljikohidrati, voda, organske kiseline, vitamini, minerali, proteini, aminokiseline, enzimi, peludna zrnca i dr. Dominiraju ugljikohidrati sa udjelom 73-83%. Najzastupljeniji su fruktoza i glukoza. Disaharidi, trisaharidi i oligosaharidi su prisutni u mnogo manjem udjelu. Voda je drugi najzastupljeniji sastojak meda i njen se udio kreće između 15-23%. Udio proteina i aminokiselina u medu je mali, ali značajan zbog širokog spektra esencijalnih i neesencijalnih aminokiselina od kojih dominira prolin. Med sadrži male količine različitih enzima među kojima su invertaza, dijastaza, glukoza oksidaza, katalaza i dr. Enzimi su bitni za antimikrobni učinak meda, a ujedno služe kao parametar za provjeru svježine i stupnja zagrijavanja meda. Med sadrži mnogo mineralnih tvari od kojih su neki vrlo bitni za pravilnu funkciju ljudskog organizma. Najzastupljeniji je kalij, zatim natrij, fosfor i kalcij. U medu se nalaze i male količine vitamina: vitamini B-skupine, vitamin C, te rijetko vitamini E, A i K. Med sadrži i brojne organske kiseline od kojih je najzastupljenija glukonska kiselina.

Fitokemikalije potječu iz biljaka s kojih pčele skupljaju nektar ili mednu rosu, a dokazano je kako mnoge od njih mogu povoljno utjecati na zdravlje.

Antioksidansi su velika skupina fitokemikalija koji djeluju kao hvatači slobodnih radikala, smanjujući rizik od oksidacijskog stresa stanica. Antioksidansi u medu mogu biti enzimski (katalaza i glukoza-oksidaza) i neenzimski (organske kiseline, produkti Maillardovih reakcija aminokiseline, proteini, flavonoidi, fenoli, vitamin E, vitamin C, karotenoidi).

Flavonoidi su fitokemikalije koje imaju izraženo antioksidacijsko djelovanje. Flavonoidi najčešće prisutni u medu su pinocembrin, apigenin, kemferol, kvercetin, galangin, krizin,

pinobanksin, luteolin i hesperitin. Najviše prisutan flavonoid (flavanon) je pinocembrin koji ima antibakterijski učinak. Flavonoidima se pripisuju mnoga terapijska djelovanja, kao što su antibakterijska, protuupalna, antialergijska, antimutagena, antiviralna i antikancerogena.

U istraživanjima antioksidacijske aktivnosti meda, najčešće korištene metode su DPHH-metoda, FRAP- metoda, ABTS- metoda i dr.

Terapijska primjena meda je raznolika. Najistraživanije primjene meda su vezane za njegov antimikrobni učinak i upotrebu meda kao sredstvo za zacjeljivanje rana.

Antibakterijski učinak meda se zasniva na njegovim fizikalno-kemijskim svojstvima (visoka osmolarnost, viskoznost, pH vrijednost – kiselost, nizak aktivitet vode, niska koncentracija proteina) te na kemijskim spojevima koji su u njemu prisutni (vodikov peroksid i neperoksidne komponente). Danas se antibakterijska aktivnost meda računa kao MIK, najmanja koncentracija antibiotika koja inhibira rast mikroorganizama (*in vitro*).

Mnoge vrste rana se uspješno tretiraju s medom. Mehanizam djelovanja se zasniva na antimikrobnom učinku, protuupalnom djelovanju te stimulaciji zacjeljivanja rana.

Med ima jaki imunostimulacijski učinak temeljem aktivacije limfocita T i B. Pozitivno djeluje na kardiovaskularni sustav regulacijom krvnog tlaka te smanjenjem masnoća u krvi.

Med sadržava različite oligosaharide zbog kojih djeluje kao prebiotik. Svakodnevnim konzumiranjem meda, regulira se rad crijeva i bitno smanjuje opasnost od pojave probavnih smetnji, gastritisa, čireva na želudcu i sl., što se objašnjava antibakterijskim i protuupalnim djelovanjem meda uz mogućnost inhibiranja želučane kiseline. Kod pojedinaca koji nedovoljno apsorbiraju fruktozu iz meda, konzumacija meda u velikim količinama može djelovati laksativno. Med, kao izvor glukoze u ORS-u, je skratio vrijeme oporavka djece koja boluju od bakterijskog gastroenteritisa u odnosu na kontrolnu grupu koja je koristila standardnu terapiju ORS-a.

Med je dobar za sportaše jer im osigurava brzi izvor energije (glukoza) te olakšava održavanje razine šećera u krvi, oporavak mišića i obnovu glikogena nakon vježbanja.

Med bi se mogao koristiti kod dijabetičara kao dio ukupnih ugljikohidrata u individualnoj dijabetičkoj dijeti. U nekim istraživanjima je dokazano da je konzumacija meda kod dijabetesa tipa II pomogla da se smanje komplikacije bolesti kao što su povišen krvni tlak, angina i dislipidemija i to usprkos trajno povišenoj razini šećera u krvi.

Oralne lezije, kao što su aftozni stomatitis, rekurentni herpes labialis, rekurentni intraoralni herpes, atrofični/erozivni oralni lichen planus, oralna kandidijaza i oralna psorijaza se mogu uspješno liječiti medom.

Korištenjem meda, ostvaruje se remisija ili zaustavljanje progresije očne bolesti.

Medni oblozi pomažu kod pacijenata s kožnim tumorima nakon što uobičajeni pristupi, poput terapije zračenjem, nemaju učinka. Postoje dokazi da med može ublažiti nuspojave onkoloških tretmana.

Zasigurno najčešće indikacije za korištenje meda su prehlada, gripa i dječji kašalj. Dokazano je da dugoročno uzimanja meda djeluje imunostimulacijski i sprječava nastanak infekcije te da je med učinkovitiji od kemijskih sirupa kod dječjeg kašlja.

Postoje znanstvena istraživanja koja naglašavaju učinkovitost meda kao sredstva za poticanje sna, kod alergijskog rinitisa, anemije, kandidijaze, dermatofitoza i dr.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Jones R. Honey and healing through the ages. U: Munn P, Jones R. Cardiff, UK: IBRA International Bee Research Association; 2001. str. 1-4.
2. Beck DF, Smedley D. Honey and Your Health: A Nutrimental, Medicinal and Historical Commentary. Silver Spring: Health Resources Inc.; 1997.
3. Batinić K, Palinić D. Priručnik o medu. Mostar: Federalni agromediteranski zavod; 2014. 54 str.
4. Bogdanov S. Honey in medicine. Bee Product Science; 2014. str. 1-16.
5. Stepanović Ž. Apiterapija, moderna profesija tradicionalne medicine; 2014. Dostupno na: www.pcelari-bujstine.com, 10. lipnja 2015.
6. Kuštrak D. Fitofarmacija i farmakognozija. Zagreb: Golden Marketing - Tehnička knjiga; 2005. str. 84-88.
7. Papić J. Matična mliječ: drevna panaceja – mit ili istina?. Dostupno na: www.inpharma.hr
8. Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva. Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda. Narodne novine. 2000; str. 280.
9. Senjković R. Osnove oblikovanja lijekova. Zagreb: Školska knjiga; 2003.
10. Sajko K, Odak M, Bubalo D, Dražić M, Kezić N. Razvrstavanje meda prema biljnom podrijetlu uz pomoć peludne analize i električne provodljivosti. Hrvatska pčela. 1996; 10:193-196.
11. Škenderov S, Ivanov C. Pčelinji proizvodi i njihovo korištenje. Beograd: Nolit; 1986.
12. Persano OL, Piana L, Bogdanov S, Bentabol A, Gotsiou P, Kerkivliet J, Martin P, Morlot M, Valbuena Ortiz A, Ruoff K, Von der Ohe K. Botanical species giving unifloral honey in Europe. Apidologie. 2004; 82-93.
13. Krell R. Med. U: Krell R. *i sur*. Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124; 1996.
14. Sanz ML, Sanz J, Martínez-Castro I. Gas chromatographic-mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey. J. of Chrom. 2004; 1059:143-148.
15. Bogdanov S, Ruoff K, Persano OL. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. Apidologie. 2004; 35:4–17.
16. Zamora MC, Chirife J. Determination of water activity change due to crystallization in honey from Argentina. Food Cont. 2004; 38:342-347.
17. Belčić J, Katalinić J, Loc D, Lončarević S, Peradin L, Šimunić F, Tomašec I. Pčelarstvo, 4. izdanje. Zagreb: Nakladni zavod Znanje; 1979.

18. Küçük M, Kolayh S, Karaoğlu S, Ulusoy E, Baltaci C, Candon F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chem. 2005; 100:526-534.
19. Bonvehi JS, Torrento MS, Raich JM. Invertase activity in fresh and processed honeys. J. Sci. Food Agric. 2000; 80:507-512.
20. Schepartz AI. The glucose oxidase of honey. Kinetics and stochiometry of the reaction. Biochim. Biophys. Acta. 1965; 99:161-164.
21. Weston R. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. Food Chem. 2000; 71:235-239.
22. Tong SSC, Morse RA, Bache CA, Lisk DJ. Elemental analysis of honey as indicator of pollution. Arch. Environ. Health. 1975; 30:329-332.
23. Anupama D, Bhat KK, Sapna VK. Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. Food Res. Int. 2003; 36:183-191.
24. Fournier P, Dupuis Y. Modulation of intestinal absorption of calcium. Journal of Physiology. 1975; 70:479-491.
25. National Honey Board. Honey's Nutrition and Health Facts; 2005. Dostupno na: www.nhb.org, 10. lipnja 2015.
26. Airborne honey. Honey Enzymes; 2003. Dostupno na: www.airborne.co.nz/enzymes.html
27. Spano N, Casula L, Panzanelli A, Pilo MI, Piu PC, Scanu R, Tapparo A, Sanna G. An RP-HPLC determination of 5-hydroximethylfurfural in honey. The case of strawberry tree honey. Talanta. 2005; 68:1390-1395.
28. www.tehnologijahrane.com, 22.lipnja 2015.
29. Vahčić N, Matković D. Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda; 2009. Dostupno www. pcelinjak.hr, 15. lipnja 2015.
30. Abu-Jdayil B, Ghzawi AA-M, Al-Malah KIM, Zaitoun S. Heat effect on rheology of light- and dark-colored honey. J. Food Eng. 2002; 51:33-38.
31. White JW, Subers MH, Schepartz AI. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in honey glucoseoxidase system. Biochim. Biophys. Acta. 1963; 73:57-70.
32. Bubalo D. Pelud, botaničko i zemljopisno podrijetlo meda. Dostupno na: www.pcelinjak.hr, 15. srpnja 2015.
33. Kašloniene V, Venskutonis PR. Floral Markers in honey of Various Botanical and Geographic Origion: A Review. Comprehensive reviews in food science and food safety; 2010.

34. Jerković I, Radonić A. Praktikum iz organske kemije. Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu; 2009.

35. Sutlović D. Osnove forenzične toksikologije. Split: Redak; 2011.

36. Luterott S. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC). Dostupno na: http://free-zg.t-com.hr/Svjetlana_Luterotti/09/091/09131.htm, 22. lipnja 2015.

37. Kalenić S, Mlinarić-Missoni E. Medicinska bakteriologija i mikologija. Zagreb: Merkur A.B.D.; 2005.

38. Allen KL, Molan PC, Reid GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. J Pharm Pharmacol. 1991; 3:817–22.

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

40. Garcia EJ, Oldoni TLC, Alencar SM, Reis A, Loguercio AD, Grande RHM. Antioxidant Activity by DPPH• Assay of Potential Solutions to be Appliedon Bleached Teeth. Brazilian Dental Journal. 2012; 1:22-27.

41. Escuredo OM, Fernández-González M, Sejio CM. Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. Food Chemistry. 2012; 138: 851-856.

42. Zappalá M, Fallico B, Arena E, Verzera A. Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. Food Control. 2005; 16:273-277.

43. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS•+ radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. 1999; 26:1231-1237.

44. Frankel S, Robinson GE, Berenbaum MR. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. J. Apicultural Res. 1998; 37(1):27-31.

45. Kazazić PS. Antioksidacijska i antiradikalna aktivnost flavonoida. Dostupno na: http://hrcak.srce.hr/257. , 15. lipnja 2015.

46. Pyrzynska K, Biesaga M. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. Trac trends in analytical chemistry; 2009. Dostupno na www.ResearchGate.com, 15. srpnja 2015.

47. Anklam E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. Food Chem. 1998; 63:549-562.

48. Bogdanov S. Determination of pinocembrin in honey using HPLC. Journal of Apicultural Research; 1989.

49. Frankel S, Robinson GE, Berenbaum MR. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. J. Apicultural Res. 1998; 37:27-31.
50. Jerković I, Marijanović Z, Kezić J, Gigić M. Headspace, volatile and semi-volatile organic compounds diversity and radical scavenging activity of ultrasonic solvent extracts from amorpha fruticosa honey samples. Molecules. 2009; 14:2717–28.
51. Sontag G, Friedrich O, Kainz G, JoÈ E. Determination of phenolic compounds by HPLC with electrochemical detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry; 1989.
52. Alvarez-Suarez JM, Tulipani S, Romandini S, Bertoli E, Battino M. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism. 2009; 3:15-23.
53. Gobin I, Vučković D, Lušić D. Antibakterijska svojstva meda: a Review. Medicina Fluminensis; 2014.
54. Molan PC. The antibacterial activity of honey: The nature of the antibacterial activity. Bee World. 1992; 73:5-28.
55. George NM, Cutting KF. Antibacterial honey: in-vitro activity against clinical isolates of MRSA, VRE, and other multiresistant gram-negative organisms including Pseudomonas Aeruginosa. Wounds-A Compendium of Clinical Research and Practice; 2007.
56. Manyl-Loh CE, Clarke AM, Ndip RN. An overview of honey: Therapeutic properties and contribution in nutrition and human health. African Journal of Microbiology Research. 2011; 5:844-852.
57. White R, Molan P, Copper R. Honey: A modern wound management product. Wounds UK; 2005.
58. Ustunol Z. Oligosaccharide composition and content of honey from different floral sources and their influence on growth of intestinal microflora. Michigan, SAD: National Honey Board; 2001.
59. Dubtsova E. Clinical studies with bee products for therapy of some nutritional. Central Moscow Institute of Gastroenterology. 2009; str. 1-38.
60. Baltuskevicius A, Laiskonis A, Vysniauskiene D, Ceksteryte V, Racys J. Use of different kinds of honey for hepatitis A treatment and for reduction of increased acidity of gastric juice. Zemdirbyste Journal. 2001; 76:173-180.
61. Molan PC. Why honey is effective as a medicine – 1. st. Its use in modern medicine. U: Munn P, Jones R. Cardiff, UK: International Bee Research Association; 2001:81-89.
62. Basil CN, Faiza Al-N. The Antibacterial Activity of Honey on Helicobacter Pylori. Sultan Qaboos Univ Med J. 2006; 6:71–76.

63. Onyesom I. Effect of Nigerian citrus honey on ethanol metabolism. Samj South African Medical Journal. 2004; 94:984-986.
64. Brown S, Forest J, Roscoe P. A controlled trial of fructose in the treatment of acute alcoholic intoxication. Lancet. 1972; 2:898-890.
65. Branko PK. Primjena meda u ishrani dijabetičara. Dostupno na http://poljoprivredaiselo.com/2013/04/primjena-meda-u-ishrani-dijabeticara-i-dio/, 16. srpnja 2015., 15. srpnja 2015.
66. Verbanac D. Med u prehrani i dijetoterapiji. Dostupno na: http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/index.html, 16. srpnja 2015.
67. Yagoobi N, Ghayour-Mobarhan M, Parizadeh SMR, Abasalti Z, Yaghoobi Z, Yaghoobi F, Esmaeili H, Kazemi-Bajestani SMR, Aghasizadeh R, Saloom KY, Ferns GAA. Natural honey and cardiovascular risk factors; Effects on blood glucose, cholesterol, triacylglycerole, CRP, and body weight compared with sucrose. The scientific world journal. 2008; 8:463-469.
68. Ahmed A, Khan A, Azim MK, Saeed SA, Mesaik MA, Ahmed S, Imran I. Effect of Natural Honey on Human Platelets and Blood Coagulation Proteins. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2011; 24:389-397.
69. Bahrami M, Ataie-Jafari A, Hosseini S, Foruzanfar MH, Rahmani M, Pajouhi M. Effects of natural honey consumption in diabetic patients: an 8-week randomized clinical trial. International journal of food sciences and nutrition. 2009; 60:618-626.
70. Molan PC. Honey for oral health. Journal of Dental Research. 2001; 80:1-130.
71. Grobler SR, Du Toit IJ, Basson NJ. The effect of honey on human tooth enamel in vitro observed by electron microscopy and microhardness measurements. Archives of Oral Biology. 1994; 39:147-153.
72. El-Haddad S, Shawaf M. Effect of honey for treatment of some common oral lesions: Follow up of 50 cases. Journal of Dentistry and Oral Hygiene. 2013; 5:55-61.
73. Shiga H, Jo A, Terao K, Nakano M, Oshima T, Maeda N. Decrease of halitosis by intake of manuka honey. Barcelona: General Session of IADR; 2010.
74. Honey-Healt and Therapeutic Qualities. National Honey Board; 2002.
75. Cavanagh D, Beazley J, Ostapowicz F. Radical operation for carcinoma of the vulva. A new approach to wound healing. Journal of Obstetrics and Gynaecology. 1970; 77:1037-1040.
76. Smirnova II, Filatova EI, Suvorov AN, Bylinskaia EN. The use of therapeutic/prophylactic dragee "honey laminolact" in radiotherapy of uterine tumors. Voprosy Onkologii. 2000; 46(6):748-750.

77. Bardy J, Slevin NJ, Mais KL, Molassiotis A. A systematic review of honey uses and its potential value within oncology care. Journal of Clinical Nursing. 2008; 17:2604-2623.
78. Zidan J, Shetver L, Gershuny A, Abzah A, Tamam S. Stein M, Friedman E. Prevention of chemotherapy-induced neutropenia by special honey intake. Medical Oncology. 2006; 23(4):549-552.
79. Ajibola A, Chamunorwa JD, Erlwanger KH. Nutraceutical values ofnatural honey and its contribution to human health and wealth. Nutrition&Metabolism. 2012; 9:61-73.
80. Warren MD, Pont SJ, Barkin SL, Callahan ST, Caples TL, Carroll KN, Plemmons GS, Swan RR, Cooper WO. The effect of honey on nocturnal cough and sleep quality for children and their parents. Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine. 2007; 161(12):1149-1153.
81. Paul IM, Beiler J, Mcmonagle A, Shaffer ML, Duda L, Berlin CM. Effect of honey, dextromethorphan, and no treatment on nocturnal cough and sleep quality for coughing children and their parents. Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine. 2007; 161(12):1140-1146.
82. Pourahmad M, Sobhanian S. Effect of Honey on the Common Cold. Arch Med Res. 2009; 40(3):224-5.
83. Frolov VM, Peressadin NA. Honey against influenza and sore throat. Pcelovodstvo. 2006; 10(529):52-53.
84. Mcinnis M. The Uniqueness of Honey - its impact on Human Metabolism and its role in Restorative Sleep. Sacremento: First International Symposium on honey and health; 2008.
85. Croft L. Honey and hay fever: a report on the treatment of hay fever with honey; 1990.
86. Chauvin R. Action physiologique et therapeutique des produits de la ruche. Traite de biologie de l'abeille. 1968; 116-154.
87. Haydak MH, Palmer LS, Tanquary MC. The role of honey in the prevention and cure of nutritional anemia in rats. Journal of Pediatrics. 1942; 21(6):763-768.
88. Obaseiki-Ebor EE, Afonya TCA. In vitro evaluation of the anticandidiasis activity of honey distillate (HY-1) compared to that of some antimycotic agents. J.Pharm. Pharmacol. 1984; 36:283-284.
89. Kwakman PH, Zaat SA. Antibacterial components of honey. IUBMB Life 2012; 64:48–55.
90. Sharma OP, Bhat TK. DPPH antioxidant assay revisited. Food Chemistry; 2008.
91. Oksidacijski stres, slobodni radikali i antioksidansi. Dostupno na: www.belupo.hr, 20. srpnja 2015.

92. National Honey Board. Honey Crystallization; 2004. Dostupno na: www.nhb.com., 20. srpnja 2015.
93. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radical Biology and Medicine. London: Oxford Univ. Press; 2007.
94. Štefan L, Tepšić T, Zavidić T, Urukalo M, Tota D, Domitrović R. Lipidna peroksidacija, uzroci i posljedice: sustavni pregled. medicina. 2007; 43:84-93.
95. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry. 2000; 55:48-504.
96. Swain T, Harborne JB, Sumere CF. Biochemistry of Plant Phenolics, Recente Advances in Phytochemistry. New York, SAD: Plenum Press; 1979.
97. Harborne JB, Baxter H. Handbook of natural flavonoids. Chichester, UK: Wiley & Sons; 1999.
98. Tomas-Barber´an FA, Martos I, Ferreres F, Radovic BS, Anklam E. HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. J Sci Food Agric. 2001; 81:485–96.
99. Ferreres F, Tom´as-Barber´ FA, Soler C, Garc`ıa-Viguera C, Ortiz A, Tom´as-Lorente F.A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. Apidologie. 1994; 25:21–30.
100. Molan PC. Honey as an antimicrobial agent. University of Waikato: Waikato Honey Research Unit; 2002:27-28.
101. Vranešić Bender D. Manuka med. InPharma; 2015., 15. srpnja 2015.
102. Cooper R. How does honey heal wounds?. U: Munn P, Jones R. Cardiff, UK: International Bee Research Association; 2001.
103. Jones KP. The role of honey in wound healing and repair. U: Munn P, Jones R. Cardiff, UK: International Bee Research Association; 2001.
104. Al Swayeh OA, Ali AT. Effect of ablation of capsaicin-sensitive neurons on gastric protection by honey and sucralfate. Hepato Gastroenterology. 1998; 45:297-302.

8. SAŽETAK

Med je prirodni zaslađivač poznat u cijelom svijetu. Osim kao prirodno sladilo, već od davnih vremena, med je prepoznat kao ljekovito sredstvo.

Fitokemikalije potječu iz biljaka s kojih pčele skupljaju nektar ili mednu rosu, a dokazano je kako mnoge od njih mogu povoljno utjecati na zdravlje. Antioksidansi prisutni u medu mogu biti enzimski (katalaza, glukoza-oksidaza) i neenzimski (organske kiseline, produkti Maillardovih reakcija, aminokiseline, proteini, flavonoidi, fenoli, vitamin E, vitamin C, karoteonidi). Flavonoidi najčešće prisutni u medu su pinocembrin, apigenin, kemferol, kvercetin, galangin, krizin, pinobanksin, luteolin i hesperitin.

Med ima raznolike biološke učinke i terapijsku primjenu: antimikrobni učinak (djeluje na širok spektar bakterija, uključujući i neke multirezistentne sojeve, a učinkovit je i kod mikoza), zacjeljivanje rana, koristi se u gastroenterologiji kao prebiotik, kod ulkusa i gastritisa, kao sredstvo za rehidraciju kod akutnog gastroenteritisa kod djece, sportašima služi kao brz izvor energije, kod dijabetesa smanjuje rizik od komplikacija bolesti, pozitivno djeluje na kardiovaskularni sustav, učinkovit je kod stomatitisa i drugih oralnih lezija, koristi se kod različitih očnih infekcija, pronalazi primjenu i u onkologiji. Med se može koristiti i za smanjenje kašlja, kod prehlade, gripe i dr.

9. SUMMARY

Honey is a natural sweetener known through the world. In addition to being a natural sweetener, since ancient times, honey has been recognized as a healing agent. Ever since, honey is not only used as nutrition, but also used for different indications.

Phytochemicals are derived from plants from which bees collect nectar or a delicious honey dew, and it has been proved that many of them can benefit the health. Antioxidants present in the honey can be enzymatic (catalase, glucose oxidase) and non-enzymatic (organic acids, products of Maillard reactions, amino acids, proteins, flavonoids, phenols, vitamin E, vitamin C, carotenoids). Flavonoids present in honey are usually pinocembrin, apigenin, kaempferol, quercetin, galangin, chrysin, pinobanksin, luteolin and hesperitin.

Today, honey is used because it's antimicrobial activity, anti-inflammatory activity, as dressing to promote healing of wounds, burns and skin ulcers. Also, honey is used in gastroenterology as prebiotics, antibacterial agent and rehydrating agent for the treatment of childs gastroenteritis, antibacterial agent and healing-promoting agent for the treatment of dyspepsia and peptic ulcers. Honey is used in sports as a quick source of energy. In diabetics, honey has a positive impact on reducing complications. Honey has positive effects on cardiovascular health. Stomatitis and other oral lesions can be successfully treated with honey. Numerous reports from around the world detail the use of honey to treat ophthalmologic disorders. Honey is also use in oncology. It may be an effective cough suppressant. It is used because its anti-influenza viral effects, as topical antifungal agent for the treatment of tineas etc.