

ZAKLJUČNO POROČILO
O REZULTATIH OPRAVLJENEGA RAZISKOVALNEGA DELA
NA PROJEKTU V OKVIRU CILJNEGA RAZISKOVALNEGA
PROGRAMA (CRP) »KONKURENČNOST SLOVENIJE 2006 – 2013«

REPUBLIKA SLOVENIJA
JAVNA AGENCIJA ZA RAZISKOVALNO DEJAVNOST
REPUBLIKE SLOVENIJE Ljubljana

I. Predstavitev osnovnih podatkov raziskovalnega projekta

Prejeto: 10-10-2008

OKO

1. Naziv težišča v okviru CRP:

Povezovanje ukrepov za doseganje trajnostnega razvoja

Čifra zadave:

03 113-321 / KOC

10

2. Šifra projekta:

V4-0316

3. Naslov projekta:

Določanje geografskega in botaničnega porekla medu

3. Naslov projekta

3.1. Naslov projekta v slovenskem jeziku:

Določanje geografskega in botaničnega porekla medu

3.2. Naslov projekta v angleškem jeziku:

Determination of geographical and botanical origin of bee honey

4. Ključne besede projekta

4.1. Ključne besede projekta v slovenskem jeziku:

Geografsko in botanično poreklo, med, fizikalno-kemijski parametri, kemometrija

4.2. Ključne besede projekta v angleškem jeziku:

Geographical and botanical origin, honey, physical and chemical parameters, chemometrics

5. Naziv nosilne raziskovalne organizacije:

Institut Jožef Stefan

5.1. Seznam sodelujočih raziskovalnih organizacij (RO):

UL, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
Institut za Hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije

6. Sofinancer/sofinancerji:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano

7. Šifra ter ime in priimek vodje projekta:

10677

Marijan Nečemer

Datum: Lj. 9.10.2008

Podpis vodje projekta:

dr. Marijan Nečemer

Podpis in žig izvajalca:

prof. dr. Jadran Lenarčič, direktor



Institut
"Jožef Stefan"
Ljubljana, Slovenija

6

II. Vsebinska struktura zaključnega poročila o rezultatih raziskovalnega projekta v okviru CRP

1. Cilji projekta:

1.1. Ali so bili cilji projekta doseženi?

- ☒ a) v celoti
☐ b) delno
☐ c) ne

Če b) in c), je potrebna utemeljitev.

1.2. Ali so se cilji projekta med raziskavo spremenili?

- ☐ a) da
☒ b) ne

Če so se, je potrebna utemeljitev:

2. Vsebinsko poročilo o realizaciji predloženega programa dela¹:

Opis realizacije projekta je v prilogi tega poročila.

¹ Potrebno je napisati vsebinsko raziskovalno poročilo, kjer mora biti na kratko predstavljen program dela z raziskovalno hipotezo in metodološko-teoretičen opis raziskovanja pri njenem preverjanju ali zavračanju vključno s pridobljenimi rezultati projekta.

Namen projekta je bil z analizo sistematsko zbranih vzorcev medu različnega botaničnega in geografskega izvora ter letnikov vzpostaviti osnovno bazo podatkov, na osnovi katere bo možno izdelati smernice za certificiranje kakovosti in porekla slovenskega medu. Na osnovi uporabe multivariacijskih analiz medu v povezavi s kemometrijskimi metodami smo skušali raziskati in vzpostaviti metodologijo za določanje geografskega in botaničnega porekla medu. Omenjena metodologija kemometrijske obdelave multivariacijskih analiz se zadnjem času vedno bolj uveljavlja na področjih živilske tehnologije, preverjanja avtentičnosti in kvalitete prehrabnenih izdelkov in pri zagotavljanju njihove sledljivosti, kot jih tudi predpisujejo direktive EU. Direktive so zelo jasne in zahtevajo, da mora biti na embalaži medu nedvoumno izpisana vrsta medu in njegovo geografsko poreklo. Na osnovi izmerjenih multivariacijskih parametrov smo tudi ugotovili in ocenili kvaliteto in avtentičnost slovenskega medu, slednje predvsem na osnovi izmerjenih parametrov stabilnih izotopov. Del projekta je bil tudi primerjava kvalitete in avtentičnosti različnih vrst medov, ki so na prodaj v trgovinskih centrih v Sloveniji.

Raziskave metodologije za določanje botaničnega in geografskega porekla medu

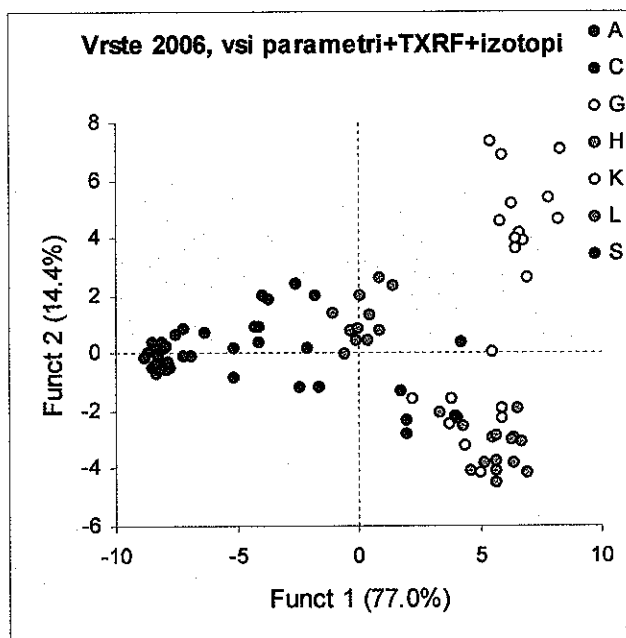
V okviru predlaganega projekta smo analizirali 271 vzorcev medu. Izbrali smo najbolj razširjene slovenske vrste, katerih proizvodne kvote so v Sloveniji najvišje. To so akacijev, cvetlični, lipov, kostanjev, gozdni, hojev in smrekov med. Prvi dve vrsti prištevamo med medove iz nektarja, drugi dve sta mešani, zadnje tri pa uvrščamo med medove iz mane. Vzorci akacijevega, lipovega, kostanjevega, smrekovega in hojevega medu so bili izbrani na podlagi senzorične analize in ocenjeni kot čisti vrstni medovi iz nektarja ali mane ene rastlinske vrste. Analizirali smo letnik 2004 (106 vzorcev), 2005 (75 vzorcev) in 2006 (90 vzorcev), skupaj 271 vzorcev. Vzorcevalne lokacije so bile porazdeljene po vsej Sloveniji. Za osnovo, kako uvrstimo med v ustrezno geografsko regijo, nam je bila razprava D. Perka: Regionalizacija Slovenije (1998), ki opisuje Slovenijo kot zelo raznoliko deželo, kjer se prepletajo štiri velike naravne enote - Alpe, Dinarsko gorovje, Panonska kotlina in Sredozemlje. Razprava določa novo regionalizacijo Slovenije kot 4 makroregije, 9 submakroregij in 49 mezoregij, ki so določene predvsem na osnovi geološke sestave kamnin, površja, podnebja in rastja. Vzorce medu smo grobo geografsko razvrstili na podlagi 4 makroregij (mediteranska, alpska, dinarska in panonska) in še 9 submakroregij (alpsko gorovje, alpsko hribovje, alpske planote, dinarske planote, dinarsko gričevje, panonsko gričevje, panonska nižina, panonsko gričevje, flišno mediteransko in kraško mediteransko področje). Vpliv vseh omenjenih geoloških, podnebnih in florističnih dejavnikov se nedvomno odraža tudi v variacijah fizikalno-kemijskih parametrov medu, ki so bili pridelani v teh regijah.

Analitski parametri, ki smo jih določili v medu, so bili: elementna sestava, stabilni izotopi C13/C12 v medu in njegovih proteinih in N15/N14 v proteinih medu, električna prevodnost, vsebnost vode, pepela, skupnih kislin, laktonov, prostih kislin, saharoze, prolina in beljakovin ter diastazno število, barva in specifična rotacija. Iz rezultatov smo sestavili osnovno banko podatkov slovenskega medu za omenjena leta, ki so nam bila osnova za modeliranje. Za ta namen smo uporabili programski paket StatistiXL in SCAN (Minitab Inc.) in sicer programe za PCA (metoda glavnih osi), LDA (linearno diskriminantno analizo, grupiranje in klasificiranje) in RDA (regresijsko diskriminatno

analizo). Uporabljeni programski paketi delujejo v okolju Windows Excell, torej lahko podatke zajemamo iz Excell datotek, kar dodatno olajša, poenostavi in pospeši modeliranje z datotekami.

Princip delovanja omenjenih statističnih programov temelji na modelu razpoznavanja vzorcev (pattern recognition). Na primer: ali lahko na podlagi meritev koncentracije elementov v medu ugotovimo njegovo botanično in geografsko poreklo? Če lahko, kateri elementi in katere koncentracije ločijo različne vrste medu in različne geografske regije? Za ta namen rabimo set analitskih parametrov z že znanim skupinami, v našem primeru z znanimi sortami medu in znanimi geografskimi regijami, ter zgradimo model razpoznavanja. Nato poskušamo na osnovi analitskih parametrov neznan vzorec klasificirati, kateri sorti pripada in v kateri regiji je bil pridelan.

Pri modeliranju vzorcev glede na vrsto medu smo zajemali podatke za vse analizirane parametre in tudi različne kombinacije enega ali več analitskih parametrov. Tako smo ovrednotili skupno vse vzorce pa tudi posebej posamezne letnike 2004, 2005 in 2006. Ugotovili smo, da lahko ločimo med seboj akacijev in kostanjev med, medtem ko lipov in cvetlični tvorita svojo skupino, smrekov, hojev in gozdni pa tudi svojo skupino. Očitno je, da so manini medovi mešani medovi, čeprav jih senzorično opredelimo kot čisti smrekov, hojin ali gozdni med. Presenetilo pa nas je dejstvo, da se v letniku 2006 ločita tudi cvetlični in lipov med, kar je tudi vidno na Sliki 1.



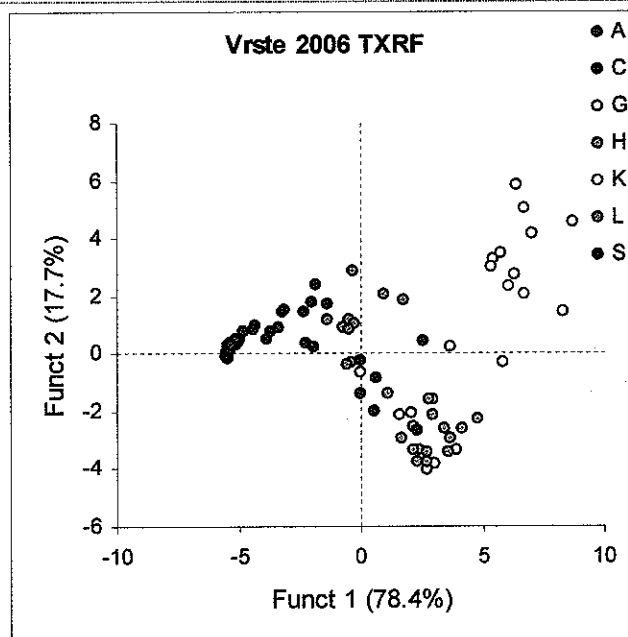
Slika 1. Projekcija medov sedmih različnih vrst v ravnini, definirani z dvema diskriminantnima osema Funct1/Funct2 po metodi LDA (linearna diskriminatna analiza) za leto 2006, A-akacijev, C-cvetlični, G-gozdni, H-hojev, K-kostanjev, L-lipov, S-smrekov.

Nadaljevali smo z iskanjem razloga za to in ugotovili, da lahko to opažanje razložimo s podatki o vremenskih parametrih (ure sončnega obsevanja, povprečna temperatura, količina padavin), ki smo jih za mesece med majem in septembrom pridobili od Agencije republike Slovenije za okolje. Če primerjamo podatke za leta 2004, 2005 in 2006, je

razvidno, da je bilo junija 2006 največ sončnih ur, najmanj padavin in najvišja povprečna temperatura. V tem času so očitno ločeno cvetele lipa in rastline, na katerih čebele nabirajo cvetlični med. Iz tega lahko zaključimo, da je pomemben dejavnik tudi vreme, ki je v zadnjih letih muhavo in nepredvidljivo in nedvomno vpliva na termine cvetenja različnih rastlin, na katerih čebele nabirajo nektar ali mano in tudi na samo obnašanje čebel in njihovo pašo. Očitno je, da čebele ne ločijo ene ali druge paše, temveč se osredotočijo na tisto zvrst rastlin, ki najbolj intenzivno medijo v danem terminu. V primerih nestalnega vremena (nihanja temperatur, nepredvidljivih in nepričakovanih obdobj suhih in deževnih dni), kakor je to pogosto v zadnjih letih, je tudi cvetenje rastlin vse bolj nepredvidljivo, nepopolno, se delno ali popolno prekriva ali pa tudi povsem zamre. To smo lahko opazili tudi pri skupini maninih medov, ko leta 2005 sploh ni bilo na razpolago hojevih medov, ker očitno zaradi neugodnih vremenskih vplivov ni bilo ugodnih razmer za razvoj zelene in velike rjave hojeve ušice ter malega hojevega kaparja, ki povzročajo medenje hoje.

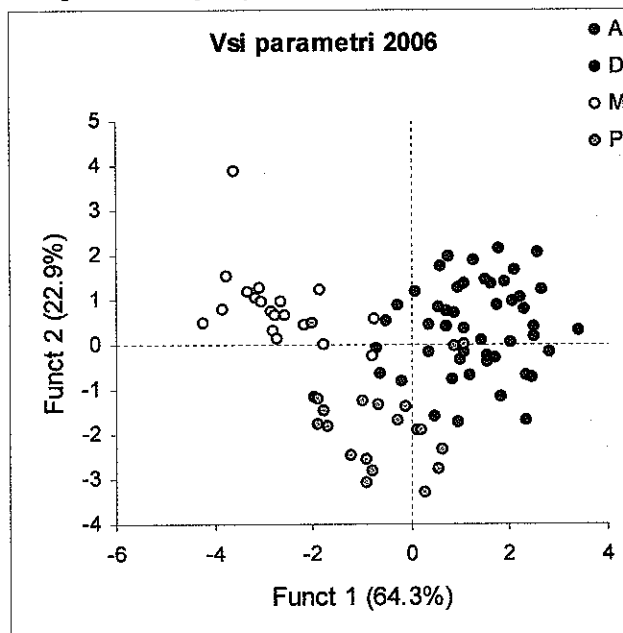
V sklopu modeliranja smo skušali odgovoriti na vprašanje, koliko analitskih parametrov zadostuje, da dobimo odgovor o botaničnem poreklu medu. Ali so to vsi parametri, eden, dva ali več. Ugotovili smo, da je uspešna hitra metoda z uporabo parametra elementne oz. mineralne sestave, ki jo določimo z rentgensko fluorescenčno spektrometrijo s totalnim odbojem (TXRF). Postopek priprave vzorca in merjenje sta enostavna, zahtevata le pripravo vodne raztopine iz zatehtanega medu v centrifugirki, dodatek internega standarda galija, homogenizacijo v ultrazvočni kopeli in pripravo sušine medu na kvarčnem stekelcu kot nosilcu vzorca. Analiza vzorca v TXRF modulu za rentgensko spektrometrijo je večelementna hkrati in traja le 300 sekund. Rezultati modeliranja kažejo, da iz koncentracij merjenih elementov K, Cl, Mn, Ca in Rb že lahko določimo botanično poreklo. Omenjena metoda omogoča hitro, enostavno in poceni določitev botaničnega porekla medu. Na sliki 2 je prikazan rezultat omenjenega modeliranja 7-ih različnih vrst medu za leto 2006. V primeru, ko imamo neznan vzorec medu z izmerjenimi vrednostmi omenjenih 5 elementov, ga lahko s programom LDA klasifikacije uvrstimo v znano skupino medov (vrsta) v modelu za posamezen letnik. Podroben opis teh raziskav bomo poslali v kratkem v objavo v revijo Journal of Agricultural and Food Chemistry.

Modeliranja izmerjenih multivariacijskih parametrov medu, s ciljem določiti geografsko poreklo, smo se lotili na enak način kot pri botaničnem poreklu. Izkazalo se je, da je določitev geografskega porekla bolj kompleksen problem kot določitev botaničnega porekla. Enako smo modelirali podatke za vsa tri leta skupaj in vsako leto posamezno v odvisnosti od štirih zgoraj opisanih glavnih geografskih regij in devetih podregij. Testirali smo uporabo vseh izmerjenih parametrov in tudi samo elementno sestavo ter kombinacijo slednje z enim, dvema ali več parametri. Izkazalo se je, da najboljše rezultate dobimo z uporabo vseh izmerjenih multivariacijskih parametrov in sicer za vsako leto posebej. Na sliki 3 je prikazan rezultat modeliranja za 4 glavne geografske regije medov letnika 2006.



Slika 2. Projekcija medov sedmih različnih vrst v ravnini, definirani z dvema diskriminantnima osema Funct1/Funct2 po metodi LDA (linearna diskriminatna analiza) za leto 2006, A-akacije, C-cvetlični, G-gozdni, H-hojevi, K-kostanjevi, L-lipovi, S-smrekovi. Modeliranje je izvedeno na osnovi rezultatov merjenja elementne sestave (K, Ca, Mn, Cl, Rb).

Ugotovili smo, da se medovi lahko ločijo na osnovi treh regij in sicer mediteranske (rumena), panonske (zelena) in skupne alpsko-dinarske regije (rdeče-modra). Po pričakovanju tudi v tem primeru najboljše rezultate daje uporaba vseh izmerjenih

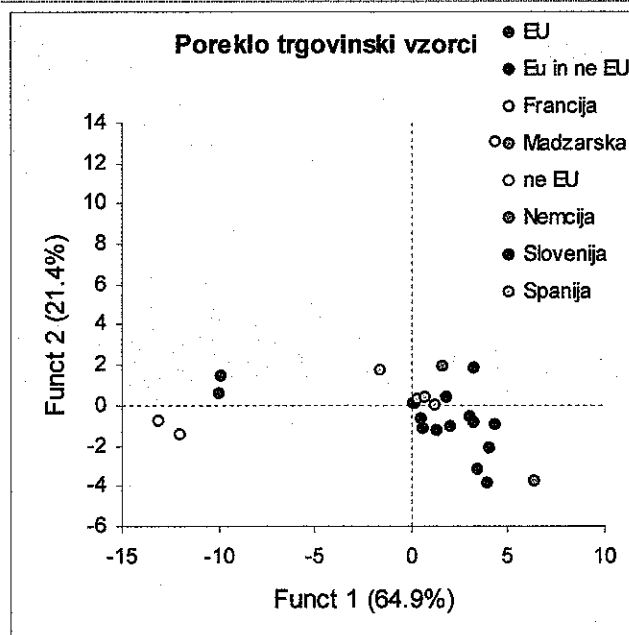


Slika 3. Projekcija medov sedmih različnih vrst iz 4 geografskih regij v ravnini, definirani z dvema diskriminantnima osema Funct1/Funct2 po metodi LDA (linearna diskriminatna analiza) za leto 2006, A-alpsko, D-dinarsko, M-mediteransko in P-panonsko.

analitskih parametrov. Nekoliko slabše, vendar kljub temu še dobro razpoznavne ločitve omenjenih treh regij, pa omogoča modeliranje parametrov večelementne analize in izotopskih parametrov medu. Poskus modeliranja samo podatkov večelementne analize medu, kakor v primeru botaničnega porekla, pa v primeru določitve geografskega porekla ne daje uporabnih rezultatov. Omenjene raziskave bodo tudi predstavljene na konferenci 1st Food Congress, ki bo novembra v Ljubljani.

Preverjanje avtentičnosti in kakovosti komercialno dostopnih artiklov medu

V okviru preverjanja avtentičnosti in kakovosti komercialno dostopnih artiklov medu, ki so na prodaj v trgovinskih centrih po Sloveniji, smo vzorčevali 25 vzorcev. Med smo nabavili v Hoferju (5 vzorcev), Mercatorju (5), Tušu (2), Intersparu (7), Leclercu (3), Eurospinu (2) in Hardiju (1). Med njimi so bili sivkin med (1), cvetlični (10), akacijev (3), lipov (2), pomarančni (1), žajbljev (1), rožmarinov (1), timijanov (1), gozdni (4) in kostanjev (1). Poreklo je bilo deklarirano kot slovensko, iz EU in izven EU. Predvsem smo se osredotočili na analize stabilnih izotopov, ki so glavni indikatorji možne ponarejenosti medu. Metoda temelji na merjenju vrednosti $\delta^{13}\text{C}$, ki se za naravno pridelan med gibljejo med -27.4 ‰ in -22.5 ‰ s povprečno vrednostjo -25.4 ‰. Iz tega lahko sklepamo, da čebele pobirajo surovino za med večinoma iz C3 rastlin, kjer prevladuje Calvinov fotosintezni cikel. Vsebnost ^{13}C kaže namreč na tip fotosinteze, ki ga ima rastlina. Rastline C3, ki imajo Calvinov fotosintezni cikel, imajo izotopsko sestavo okrog -25 ‰, C4 rastline s Hatch-Slackovim fotosinteznim ciklom pa blizu -10 ‰. Torej lahko z omenjenimi meritvami ugotovimo, ali je bil medu dodan sladkor ali sirup, ki izvira iz C4 rastlin, kot so n.pr. koruzni sirup in trsni sladkor. Prav tako se lahko opazi, ali so se čebele prehranjevale s sladkorjem ali sirupom umetnih sladil, kar vodi do drugačnih $\delta^{13}\text{C}$ vrednosti medu v primerjavi z naravnim medom. Omenjena metoda je bila izpopolnjena na podlagi merjenja deleža ^{13}C v proteinski frakciji medu poleg $\delta^{13}\text{C}$ v samem medu (White, Winters). Če je razlika med vrednostmi za $\delta^{13}\text{C}$ za protein in $\delta^{13}\text{C}$ za sladkorje večja kot -1 ‰ pomeni, da je med ponarejen. Na ta način lahko dokažemo ponaredek medu, če je delež dodanega umetnega sladkorja 7 % ali več. To je sedaj uradna metoda za dokazovanje ponarejenosti medu oziroma dodatkov umetnih sladkornih sirupov. Pri upoštevanju zgoraj omenjenih kriterijev smo ugotovili, da je vseh 25 vzorcev avtentičnih. Na sliki 4 je prikazan rezultat modeliranja vseh 25 vzorcev različnih vrst medov glede na geografsko poreklo. Lepo se ločijo medovi pridelani v Sloveniji, v Španiji in drugih deželah EU.



Slika 4. Projekcija 25 medov 10 različnih vrst iz 8 geografskih regij v ravnini, definirani z dvema diskriminantnima osema Funct1/Funct2 po metodi LDA (linearna diskriminatna analiza)

3. Izkoriščanje dobljenih rezultatov:

3.1. Kakšen je potencialni pomen² rezultatov vašega raziskovalnega projekta za:

- ☒ a) odkritje novih znanstvenih spoznanj;
- ☒ b) izpopolnitev oziroma razširitev metodološkega instrumentarija;
- ☒ c) razvoj svojega temeljnega raziskovanja;
- ☐ d) razvoj drugih temeljnih znanosti;
- ☒ e) razvoj novih tehnologij in drugih razvojnih raziskav.

3.2. Označite s katerimi družbeno-ekonomskimi cilji (po metodologiji OECD-ja) sovpadajo rezultati vašega raziskovalnega projekta:

- ☒ a) razvoj kmetijstva, gozdarstva in ribolova - Vključuje RR, ki je v osnovi namenjen razvoju in podpori teh dejavnosti;
- ☐ b) pospeševanje industrijskega razvoja - vključuje RR, ki v osnovi podpira razvoj industrije, vključno s proizvodnjo, gradbeništvom, prodajo na debelo in drobno, restavracijami in hoteli, bančništvom, zavarovalnicami in drugimi gospodarskimi dejavnostmi;
- ☐ c) proizvodnja in racionalna izraba energije - vključuje RR-dejavnosti, ki so v funkciji dobave, proizvodnje, hranjenja in distribucije vseh oblik energije. V to skupino je treba vključiti tudi RR vodnih virov in nuklearne energije;
- ☐ d) razvoj infrastrukture - Ta skupina vključuje dve podskupini:
 - transport in telekomunikacije - Vključen je RR, ki je usmerjen v izboljšavo in povečanje varnosti prometnih sistemov, vključno z varnostjo v prometu;
 - prostorsko planiranje mest in podeželja - Vključen je RR, ki se nanaša na skupno načrtovanje mest in podeželja, boljše pogoje bivanja in izboljšave v okolju;
- ☒ e) nadzor in skrb za okolje - Vključuje RR, ki je usmerjen v ohranjanje fizičnega okolja. Zajema onesnaževanje zraka, voda, zemlje in spodnjih slojev, onesnaženje zaradi hrupa, odlaganja trdnih odpadkov in sevanja. Razdeljen je v dve skupini:
- ☒ f) zdravstveno varstvo (z izjemo onesnaževanja) - Vključuje RR - programe, ki so usmerjeni v varstvo in izboljšanje človekovega zdravja;
- ☐ g) družbeni razvoj in storitve - Vključuje RR, ki se nanaša na družbene in kulturne probleme;
- ☐ h) splošni napredek znanja - Ta skupina zajema RR, ki prispeva k splošnemu napredku znanja in ga ne moremo pripisati določenim ciljem;
- ☐ i) obramba - Vključuje RR, ki se v osnovi izvaja v vojaške namene, ne glede na njegovo vsebino, ali na možnost posredne civilne uporabe. Vključuje tudi varstvo (obrambo) pred naravnimi nesrečami.

² Označite lahko več odgovorov.

3.3. Kateri so **neposredni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Izdelali smo metodologijo, s katero lahko določimo geografsko poreklo in vrsto slovenskega medu. Na osnovi multivariacijskih analiz medu v povezavi s kemometrijskimi tehnikami smo izdelali model, s katerim lahko na podlagi njegovih analiziranih fizikalno-kemijskih parametrov določimo geografsko in botanično poreklo slovenskega medu. S tem smo načrtali smernice in usmeritve za certificiranje kakovosti in porekla slovenskega medu.

3.4. Kakšni so lahko **dolgoročni rezultati** vašega raziskovalnega projekta glede na zgoraj označen potencialni pomen in razvojne cilje?

Na osnovi baze podatkov, ki smo jo osnovali, in z znanjem, izkušnjami ter novo razvito metodologijo, kar smo pridobili s projektnimi raziskavami, sledimo direktivam EU glede nadzora avtentičnosti in kvalitete prehrabnenih izdelkov. S tem bomo tudi podprli razvoj sistema za zagotavljanje sledljivosti surovin oziroma kmetijskih proizvodov in razvoj metod za izvajanje uradne kontrole živil. Z našim prispevkom smo se približali visoko razvitim institucijam v zahodni Evropi na tem področju. S tem smo tudi razvili smernice in kriterije za zaščito slovenskega medu, saj bo omogočeno razlikovanje pristnega medu od potvorjenega in tudi kontrola vrstnosti in geografskega porekla medu.

3.5. Kje obstaja verjetnost, da bodo vaša znanstvena spoznanja deležna zaznavnega odziva?

- ☒ a) v domačih znanstvenih krogih;
- ☒ b) v mednarodnih znanstvenih krogih;
- ☒ c) pri domačih uporabnikih;
- ☒ d) pri mednarodnih uporabnikih.

3.6. Kdo (poleg sofinancerjev) že izraža interes po vaših spoznanjih oziroma rezultatih?

3.7. Število diplomantov, magistrorv in doktorjev, ki so zaključili študij z vključenostjo v raziskovalni projekt?

Število diplomantov, ki so zaključili študij z vključenostjo v projekt, je enako 9.
OCEPEK, Mojca. Zveza med specifično elektrolitsko prevodnostjo medu in vsebnostjo pepela : diplomsko delo, univerzitetni študij = Relationship between electric conductivity of honey and ash content : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomske naloge, 1178). Ljubljana: [BF, Oddelek za živilstvo]: [M. Ocepek], 2005. XI, 73 f., graf. prikazi, tabele. [COBISS.SI-ID 3101304]
NOVAK, Jasmina. Karakterizacija akacijevega, cvetličnega in kostanjevega medu : diplomsko delo, univerzitetni študij = Characterization of acacia, floral nad chestnut honey : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo,

Ljubljana, Diplomске naloge, 1205). Ljubljana: [BF, Oddelek za živilstvo]: [J. Novak], 2006. XI, 58 f., graf. prikazi, tabele. http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_novak_jasmina.pdf. [COBISS.SI-ID 3189880]

kategorija: SU

točke: 1

VESELIČ, Irena. Nekateri kriteriji za določanje vrste medu : diplomsko delo, univerzitetni študij = Some criteria for honey type determination : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1239). Ljubljana: [BF, Oddelek za živilstvo]: [I. Veselič], 2006. XIII, 85 f., graf. prikazi, tabele. [COBISS.SI-ID 3257976]

ŠENK, Nataša. Vrednotenje medu : zveza med barvo medu in antioksidativno aktivnostjo : diplomsko delo, univerzitetni študij = Evaluation of honey : relationship between honey colour and antioxidative activity : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1230). Ljubljana: [BF, Oddelek za živilstvo]: [N. Šenk], 2006. XII, 67 f., graf. prikazi, tabele. [COBISS.SI-ID 3221112]

GOLOB, Urška. Vsebnost prolina in beljakovin v različnih vrstah slovenskega medu : diplomsko delo, univerzitetni študij = Proline and protein content in different types of Slovenian honey : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1192). Ljubljana: [BF, Oddelek za živilstvo]: [U. Golob], 2006. XIII, 74 f., graf. prikazi, tabele. http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_golob_urska_18_02_1980.pdf. [COBISS.SI-ID 3151992]

KASENBURGER, Petra. Vsebnost sladkorjev ter prostih in skupnih kislin v različnih vrstah slovenskega medu : diplomsko delo, univerzitetni študij = Sugars, free and total acids content in different types of Slovenian honey : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1216). Ljubljana: [BF, Oddelek za živilstvo]: [P. Kasenburger], 2006. IX, 73 f., graf. prikazi, tabele. http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/dn_kasenburger_petra.pdf. [COBISS.SI-ID 3200888]

LEPEN, Anja. Specifični kot zasuka medu : diplomsko delo, univerzitetni študij = Specific rotation of honey : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1271). Ljubljana: [A. Lepen], 2007. XII, 67 f., graf. prikazi, tabele. [COBISS.SI-ID 3385464]

KOZLAR, Sandra. Vpliv letnika na vsebnost sladkorjev in kislin v medu : diplomsko delo, univerzitetni študij = The effect of vintage on the content of sugar and acids in honey : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1270). Ljubljana: [S. Kozlar], 2007. X, 81 f., graf. prikazi, tabele. [COBISS.SI-ID 3385208]

LILEK, Nataša. Karakterizacija slovenskega lipovega, smrekovega, hojevega in gozdnega medu : diplomsko delo, univerzitetni študij = Characterization of Slovenian lime, spruce, fir and forest honey : graduation thesis, university studies, (Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomске naloge, 1288). Ljubljana: [N. Lilek], 2008. X, 49 f., graf. prikazi, tabele. [COBISS.SI-ID 3464568]

Trije doktorati so vezani na projekt, vendar še niso zaključeni.

4. Sodelovanje z tujimi partnerji:

4.1. Navedite število in obliko formalnega raziskovalnega sodelovanja s tujimi raziskovalnimi institucijami.

SLO-CIP

Spektroskopska in kemometrična karakterizacija slovenskih in ciprskih sadnih sokov (2005-2006)

Kreiranje ciprske in slovenske baze podatkov za pristne sadne sokove (2008-2009)

SLO-ITA/05 Karakterizacija apulijskih in slovenskih prehrabnenih izdelkov s spektroskopičnimi in kemometričnimi metodami (2006-2009)

4.2. Kakšni so rezultati tovrstnega sodelovanja?

Uporabo stabilnih izotopov ogljika, kisika in dušika smo razširili še na druge prehrabnene izdelke kot so mleko, sadni sokovi in oljčna olja. Rezultati teh raziskav so vključeni v treh prispevkih, ki smo jih poslali v objavo v Food Chemistry in Journal of Agricultural and Food Chemistry.

5. Bibliografski rezultati³ :

Za vodjo projekta in ostale raziskovalce v projektni skupini priložite bibliografske izpise za obdobje zadnjih treh let iz COBISS-a) oz. za medicinske vede iz Inštituta za biomedicinsko informatiko. Na bibliografskih izpisih označite tista dela, ki so nastala v okviru pričujočega projekta.

6. Druge reference⁴ vodje projekta in ostalih raziskovalcev, ki izhajajo iz raziskovalnega projekta:

Rezultati projekta so bili predstavljeni na treh vabljenih predavanjih:

- Na Seminarju o kakovosti in pristnosti oljčnega olja, Izola, 8. november 2007, kjer smo predstavili dosedanje delo na področju oljčnega olja in metode, ki se jih poslužujemo za določanje potvorjenosti ostalih prehrabnenih izdelkov vključno medu.
- V prispevku z naslovom »An application of stable isotopes in food studies« na Workshopu dne 17.12.2007, ki so ga organizirali na Ministrstvu za zdravje v Nikoziji na Cipru in na katerem so bili povabljeni tudi gostje iz drugih vladnih organizacij, ki se ukvarjajo s potvorjenostjo prehrabnenih izdelkov.
- Rezultati so bili predstavljeni tudi na vabljenem predavanju z naslovom »Stable isotopes in food analysis« na Workshopu »Specific methods for food safety and quality« dne 23.9.2008, v Beogradu.

³ Bibliografijo raziskovalcev si lahko natisnete sami iz spletne strani: <http://www.izum.si/>

⁴ Navedite tudi druge raziskovalne rezultate iz obdobja financiranja vašega projekta, ki niso zajeti v bibliografske izpise, zlasti pa tiste, ki se nanašajo na prenos znanja in tehnologije.

Navedite tudi podatke o vseh javnih in drugih predstavitev projekta in njegovih rezultatov vključno s predstavitevami, ki so bile organizirane izključno za naročnika/naročnike projekta.

Povzetek

Z analizo sistematsko zbranih vzorcev medu različnega botaničnega in geografskega izvora ter letnikov smo vzpostavili osnovno bazo podatkov, na osnovi katere smo s kemometričnimi statističnimi metodami izdelali smernice za certificiranje kakovosti in porekla slovenskega medu. V okviru predlaganega projekta smo analizirali 271 vzorcev medu, sedmih različnih sort (akacija, cvetlični, lipa, kostanj, gozdni, hoja in smreka) in treh letnikov (2004, 2005, 2006) s področja Slovenije. Analitski parametri, ki smo jih določili v medu so bili: elementna sestava, stabilni izotopi $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ v medu in njegovih proteinih in $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ v proteinih medu, pH, elektrolitska prevodnost, skupne in proste kisline, laktone, proste kisline itd. Kemometrične metode, ki smo jih uporabili pri vrednotenju so bile PCA (metoda glavnih osi), LDA (linearna diskriminantna analiza) in RDA (regresijska diskriminantna analiza). Ugotovili smo, da zgoraj omenjena metodologija omogoča določitev tako botaničnega kakor tudi geografskega porekla medu. Čisto botanično poreklo lahko pripišemo vrstam nektarnih medov (akacije, lipe, cvetličnega in kostanja), medtem ko so manini medovi izpadli kot mešani (hoja, gozdni, smrekovi), kljub temu da so jih s senzorično analizo uvrstili v omenjene tri skupine. Pri tem smo razvili tudi enostavno metodo določitve botaničnega porekla na osnovi analize elementne sestave z rentgensko fluorescenčno spektrometrijo s totalnim odbojem (TXRF) v kombinaciji s kemometrijsko metodo LDA. Omenjena metoda se je izkazala za hitro in poceni v primerjavi z ostalimi predlaganimi analitskimi metodami za določanje botaničnega porekla medu. Pri določanju geografskega porekla smo ugotovili, da je to kompleksen problem in zahteva uporabo večjih multivariacijskih analitskih parametrov v kombinaciji s kemometrijsko obdelavo podatkov. Med lahko uvrstimo v tri geografske regije in sicer alpsko-dinarsko, mediteransko in panonsko. Pri ugotavljanju avtentičnosti in kakovosti medu, ki so na prodaj na slovenskem tržišču smo analizirali 25 vzorcev, ki smo jih nabavili v večjih trgovskih centrih. Izvor vzorcev je bil Španija, Slovenija, Nemčija, Madžarska itd. Predvsem smo se osredotočili na rezultate analiz stabilnih izotopov ogljika, ki običajno pokažejo potvorjenost medu. Ugotovili smo, da tak sum ne obstaja in da so vsi analizirani vzorci avtentični. Z modeliranjem smo tudi ugotovili, da lahko ločimo geografsko poreklo, naprimer španskega od slovenskega medu, lahko pa tudi uspešno ločimo botanično poreklo vseh teh analiziranih vzorcev.

Abstract

The basic analytical parameters of systematically collected samples of honey of various botanical and geographical origin harvested in different were employed to make the basic data bank. By chemometric statistical treatment of the above data, the guidelines for certifying the quality and origin of Slovenian honey were established. 271 honey samples of 7 sorts (accacia, floral, lime, chestnut, forest, spruce and fir) were analysed. Physico-chemical parameters such as elemental composition, pH, free and total acidity, content of lactones, electrolytic conductivity, basic isotopic parameters $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in honey and its proteins and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ in proteins etc. were determined. Chemometric treatment of the data was performed by PCA (principal component analysis), LDA (linear discriminant analysis) and RDA (regression discriminant analysis). It has been found that the used methodology enables determination of botanical and also geographical origin of honey. Accacia, lime, floral and chestnut sorts of honey were classified as pure honey of nectar origin, but spruce, fir and forest were classified as the mixed honey-dew honey though the sensoric analysis classified mentioned honey-dew sorts of honeys as unifloral. Additionally the simple screening method based on analysis of elemental content of honey by total reflection X-ray fluorescence spectrometry (TXRF) and treated by LDA was developed for the determination of botanical origin of honey. Results of this approach have confirmed that the introduced approach was cheap and fast in comparison with other applied methods. Determination of geographical origin was more complex task. Application of more than one multivariate analytical parameters of honey in combination with chemometric treatment of obtained data was necessary. In this way, honey samples were classified in three geographical regions such as mediterranean, panonian and alpine-dinaric. The authenticity and quality of various commercially available honeys in the Slovenian market were checked. For this purpose 25 samples of various sorts of honey produced in Slovenia, Spain, Hungary, Germany etc. collected from main shopping centers were treated. This investigations was focused on the analysis of stable carbon isotopes as indicators of possible adulteration of honey. It has been found that all 25 samples were authentic and that a suspicion of adulteration was groundlessness. The results of chemometric treatment have also distinguished between e.g. Slovenian and Spanish sorts of honey, and also the classification of origin of various sorts of mentioned honey samples was successful.