

Barevnost a antioxidační aktivita medů

Colour and antioxidant activity of honey

Jan Šubert • Jozef Kolář • Jozef Čižmárik

Došlo 30. listopadu 2021 / Přijato 8. ledna 2022

Souhrn

Příspěvek upozorňuje na vztahy mezi výsledky instrumentálního měření barevnosti a výsledky stanovení antioxidační aktivity medů (zejména metodou DPPH a FRAP). Dostatečně těsné korelace ukazují, že po jejich ověření, doplnění regresní analýzou a kalibrací mohou najít uplatnění při rychlém stanovení antioxidační aktivity medů.

Klíčová slova: med • antioxidační aktivita • měření barevnosti • korelace

Summary

The paper highlights the relationships between the results of instrumental colour measurement and the results of the determination of the antioxidant activity of honey (especially by DPPH and FRAP). The sufficiently close correlations show that once verified, supplemented by regression analysis and calibration, they may find application in the rapid determination of the antioxidant activity of honey.

Key words: honey • antioxidant activity • colour measurement • correlation

Úvod

Včelí med má řadu vlastností prospěšných lidskému zdraví^{1, 2}. Je významným zdrojem biologicky aktivních

látek, včetně přírodních antioxidantů^{1–6}. Med tradičně byl a je zařazován do starších, např.^{7–10} i současných^{11–13} lékopisů. Jednou z důležitých vlastností medů je jejich antioxidační aktivita. Medy jsou také prakticky vždy více či méně barevné, přičemž na souvislost antioxidační aktivity medů s jejich barevností bylo již mnohokrát poukázáno. Řada publikovaných prací, např.^{2, 4, 6, 14} zmiňuje vyšší antioxidační kapacitu tmavších medů. Záměrem našeho příspěvku je poukázat na korelace některých instrumentálním měřením získaných ukazatelů barevnosti medů s jejich antioxidační aktivitou a na možné využití těchto korelací k hodnocení antioxidační aktivity medů.

Hodnocení barevnosti medů

Údaje o barevnosti medů lze získat mimo subjektivního hodnocení měřením založeným na číselném vyjádření barev ve vhodně voleném barevném prostoru. Většinou jde o barevné prostory CIELAB nebo CIELCH^{15–20}, není tomu ale tak vždy²¹. Východiskem k měření barevnosti je spektrální propustnost nebo odraz vzorků ve viditelné spektrální oblasti. V analytice medů je však častější hodnocení barevnosti medů na základě výsledků měření absorpance vodných roztoků vzorků při některých vlnových délkách ve viditelné oblasti spektra. V publikacích zabývajících se hodnocením barevnosti a současně i antioxidační aktivity medů jde nejčastěji o vlnovou délku 450 nm, používanou po jejím snížení o hodnotu absorpance vzorku při 720 nm. Další častěji volenou vlnovou délkou je 635 nm, přičemž hodnoty absorpance naměřené při této vlnové délce se zpravidla používají k výpočtu hodnot ve stupnici podle Pfunda²². Přepočtení do stupnice podle Pfunda je možný i z výsledků měření v trichromatickém systému CIELAB¹⁶. Méně často lze v publikacích zabývajících se barevností a antioxidační aktivitou medů k hodnocení barevnosti medů nalézt hodnoty absorpance při vlnových délkách v rozmezí 530–593 nm^{23–26}. Výsledky měření absorpance vodných roztoků medů při jednotlivých vlnových délkách nepopisují jejich barevnost stejně výstižně jako parametry barevných prostorů, které jsou počítány z měření v celé viditelné oblasti spektra; zřejmě proto jsou v některých publikacích uvedeny jako intenzita zbarvení. V řadě případů však

J. Šubert

Dušínova 1512/42, Kuřim

doc. RNDr. Jozef Kolář, CSc. (✉)

Masarykova univerzita, Farmaceutická fakulta

Ústav aplikované farmacie

Palackého třída 1946/1, 612 00 Brno

e-mail: kolarj@pharm.muni.cz

J. Čižmárik

Univerzita Komenského, Bratislava

Katedra farmaceutickej chémie FaF

Tab. 1. Některé těsnější korelace mezi parametry získanými měřením barevnosti medů v barevných prostorech CIE a výsledky stanovení jejich antioxidační aktivity

Původ medů	Počet vzorků	Proměnné ^{a)}	Korelace a korelační koeficient
Slovenské medy ²⁹⁾	15	b^* , TEAC	lineární, 0,7683
Polské medy ³⁰⁾	28	L^* , DPPH	-0,9548 ^{b)}
		L^* , FRAP	-0,9610 ^{b)}
		a^* , DPPH	0,9426 ^{b)}
		a^* , FRAP	0,9641 ^{b)}
		b^* , FRAP	0,7856 ^{b)}
Polské medy II ³¹⁾	63	$h_{ab'}$, DPPH	-0,781 ^{b)}
		$h_{ab'}$, FRAP	-0,706 ^{b)}
Chorvatské medy ³²⁾	55	L^* , DPPH	0,967 ^{c)}
		L^* , FRAP	-0,944 ^{c)}
		a^* , DPPH	-0,694 ^{c)}
		a^* , FRAP	0,640 ^{c)}
Slovinské medy ²⁸⁾	70	L^* , DPPH	-0,884 ^{b)}
		L^* , FRAP	-0,924 ^{b)}
		a^* , DPPH	0,868 ^{b)}
		a^* , FRAP	0,900 ^{b)}
Medy z různých zemí Evropy ³³⁾	100	a^* , DPPH	-0,7153
Íránské medy ³⁴⁾	129	L^* , FRAP	-0,85 ^{b)}
Íránské medy II ²⁷⁾	10	a^* , DPPH	0,875

a) Metody stanovení antioxidační aktivity viz^{3, 5, 19, 35–38)}

b) Pearsonův korelační koeficient

c) Spearmanův korelační koeficient

s výsledky měření barevnosti v barevných prostorech uspokojivě korelují, přičemž hodnoty korelačního koeficientu se mohou pohybovat až okolo 0,9. Příkladem v tomto směru mohou být korelace hodnot rozdílu $A_{450\text{nm}} - A_{720\text{nm}}$ s hodnotami souřadnice a^* barevného prostoru CIELAB s korelačním koeficientem 0,915²⁷⁾, 0,905²⁸⁾ nebo hodnot $A_{560\text{nm}}$ s korelačním koeficientem 0,88²⁵⁾.

Korelace výsledků měření barevnosti a antioxidační aktivity medů

U všech výše uvedených způsobů měření barevnosti medů byly popsány korelace jejich výsledků s výsledky stanovení antioxidační aktivity.

Některé z těsnějších korelací parametrů získaných instrumentálním měřením barevnosti medů v barevných prostorech (nejčastěji CIELAB) s výsledky stanovení jejich antioxidační aktivity jsou uvedeny v tabulce 1.

Z dalších korelací téhož typu popsali autoři³⁹⁾ u jiných medů pozoruhodně těsné korelace mezi L^* , a^* a b^* a aktivitou vůči radikálu NO. Pearsonův korelační koeficient byl 1,000, -1,000 a -1,000. U medů z Kašmíru byla popsána korelace s L^* s DPPH hodnotou Pearsonova korelačního koeficientu -0,69⁴⁰⁾. V některých jiných případech však nepřesahují v korelaci parametrů barevného prostoru CIELAB hodnoty korelačního koeficientu zřetelněji hodnotu 0,6. Příkladem mohou být korelace hodnot souřadnice a^* s FRAP nebo DPPH u italských medů, kdy byl Pearsonův korelační koeficient roven 0,45 a 0,39⁴¹⁾, anebo korelace stejných proměnných

u medů odlišného původu s Pearsonovým korelačním koeficientem -0,601 a -0,570⁴²⁾. Zvýšení těsnosti korelací antioxidační aktivity medů s parametry barevných prostorů by mohlo přinést použití vícenásobné korelace a regrese, které se osvědčilo např. autorům⁴³⁾ při sledování obsahu karotenoidů v pomerančové šťávě, anebo využití postupu popsaného v práci⁴⁴⁾. Jeho autor používá parametry barevných prostorů RGB a HSV.

V rámci měření barevnosti medů jako absorbance jejich vodného roztoku při jednotlivých vlnových délkách ve viditelné oblasti spektra dominuje rozdíl absorbance při 450 a 720 nm. Některé korelace výsledků těchto měření s výsledky stanovení antioxidační aktivity medů jsou uvedeny v tabulce 2.

Z dalších popsanych korelací hodnot rozdílu absorbance roztoků medů při 450 nm a 720 nm lze zmínit korelaci s DPPH (Pearsonův korelační koeficient 0,70) zjištěnou u jiných indických medů⁵⁸⁾, korelaci s DPPH (Pearsonův korelační koeficient 0,944) a FRAP (0,966) u jiných malajsijských medů⁴²⁾ a korelaci s DPPH (Pearsonův korelační koeficient 0,925) u australských medů⁵⁹⁾. Mimoto byly popsány korelace rozdílu absorbance při 560 nm a 720 nm (španělské medy, korelace s DPPH, Pearsonův korelační koeficient 0,771)²⁴⁾ anebo korelace hodnot absorbance měřené při 593 nm (nelineární korelace s FRAP, korelační koeficient 0,99)²⁶⁾.

Výsledky barevnosti medů měřením absorbance jejich vodných roztoků při 635 nm bývají zpravidla přepočítávány do stupnice barevnosti medů podle Pfunda²²⁾. Přestože k hodnocení barevnosti medů podle

Tab. 2. Některé těsnější korelace mezi hodnotami získanými měřením barevnosti medů jako rozdílu absorbance jejich vodného roztoku při 450 a 720 nm a výsledky stanovení jejich antioxidační aktivity

Původ medů	Počet vzorků	Druhá proměnná ^{a)}	Korelace a korelační koeficient
České a slovenské medy ⁴⁵⁾	11	ABTS DPPH	0,9293 0,9454
Polské medy ⁴⁶⁾	90	DPPH FRAP	0,928 ^{c)} 0,793
Chorvatské medy ³²⁾	55	DPPH FRAP	-0,914 ^{c)} 0,887 ^{c)}
Slovinské medy ²⁸⁾	70	FRAP	0,853 ^{b)}
Maďarské medy ⁴⁷⁾	42	DPPH ORAC TEAC TRC	0,715 ^{b)} 0,822 ^{b)} 0,964 ^{b)} 0,893 ^{b)}
Maďarské medy II ⁴⁸⁾	24	DPPH ORAC TRC	0,947 ^{b)} 0,825 ^{b)} 0,886 ^{b)}
Italské medy ⁴¹⁾	90	FRAP	0,91 ^{b)}
Íránské medy ²⁷⁾	10	DPPH	0,822
Íránské medy II ⁴⁹⁾	33	FRAP ORAC TEAC	0,7622 0,8240 0,6678
Pákistánské a další medy ⁵⁰⁾	16	DPPH FRAP	0,757 ^{b)} 0,718 ^{b)}
Kašmírské medy ⁴⁰⁾	37	DPPH	0,86 ^{b)}
Indické medy ⁵¹⁾	54	DPPH	0,732 ^{b)}
Indické medy II ⁵²⁾	7	DPPH FRAP	0,878 ^{b)} 0,931 ^{b)}
Bangladéšské medy ⁵³⁾	10	DPPH FRAP	0,838 ^{b)} 0,894 ^{b)}
Malajsijské medy ⁵⁴⁾	5	DPPH	0,938 ^{b)}
Malajsijské medy II ⁵⁵⁾	4	DPPH FRAP	0,840 ^{b)} 0,964 ^{b)}
Malajsijské medy III ⁵⁶⁾	10	DPPH	0,820 ^{b)}
Alžírské medy ⁵⁷⁾	4	DPPH FRAP	0,964 ^{b)} 0,963 ^{b)}
Medy různého původu ³⁵⁾	14	DPPH FRAP ORAC	0,884 0,918 0,731

^{a)} Metody stanovení antioxidační aktivity viz^{3, 5, 19, 35–38)}

^{b)} Pearsonův korelační koeficient

^{c)} Spearmanův korelační koeficient

Pfunda (Pfund mm) byly publikovány dílčí výhrady²⁰⁾, byla popsána řada více, či méně těsných korelací hodnot Pfund (mm) s jejich antioxidační aktivitou. Příklady jsou uvedeny v tabulce 3.

Mimo korelace uvedené v tabulce 3 byly popsány i další, např. u alžírských jujubových medů Pfund (mm) (hodnoty získány výpočtem z absorbance při 635 nm) a s DPPH, Spearmanův korelační koeficient byl -0,672⁶⁵⁾, u ománských medů v analogické korelaci byl Pearsonův korelační koeficient -0,608⁶⁶⁾. U medů ze středního Srbska byl publikován Pearsonův korelační koeficient v korelaci s ABTS 0,997264 a s DPPH 0,997009⁶⁷⁾, autoři však zmiňují pouze tři vzorky medů.

Z údajů v tabulkách 1 až 3 je zřejmé, že nejčastěji byly popisovány korelace ukazatelů barevnosti medů s hodnotami antioxidační aktivity získanými metodami DPPH a FRAP. Při korelacích ukazatelů barevnosti s DPPH jako nejčastěji používanou metodou stanovení antioxidační aktivity medů¹⁹⁾ používají někteří autoři místo hodnot DPPH parametr z nich odvozený a označovaný jako IC₅₀^{37, 38)}. Korelace se v těchto případech mění z nepřímé na přímou (korelace L^* v³²⁾) nebo z přímé na nepřímou (korelace a^* v^{32, 33, 42)}, korelace rozdílu absorbance při 450 nm a 720 nm³²⁾, nebo hodnot ve stupnici Pfund^{62, 65, 66)}.

Pokud jde o těsnost korelací různých ukazatelů barevnosti týchž medů s výsledky stanovení jejich an-

Tab. 3. Některé těsnější korelace mezi hodnotami Pfundovy stupnice barevnosti medů (mm) získanými výpočtem z měření absorbance vodných roztoků medů při 635 nm a výsledky stanovení jejich antioxidační aktivity

Původ medů	Počet vzorků	Druhá proměnná ^{a)}	Korelace a korelační koeficient
Moldavské medy ⁶⁰⁾	28	DPPH	0,9961 ^{b)}
Srbské medy ⁶¹⁾	8	DPPH FRAP	0,649 ^{b)} 0,762 ^{b)}
Marocké medy ⁶²⁾	6	ABTS DPPH	-0,767 ^{b)} -0,789 ^{b)}
Etiopské medy ⁶³⁾	80	DPPH	0,952 ^{b)}
Tanzanské medy ⁶⁴⁾	72	FRAP	lineární, 0,760
Kašmírské medy ⁴⁰⁾	37	DPPH	0,84 ^{b)}

^{a)} Metody stanovení antioxidační aktivity viz^{3, 5, 19, 35–38)}

^{b)} Pearsonův korelační koeficient

tioxidační aktivity metodami DPPH a FRAP, mohou být hodnoty korelačních koeficientů při korelování nejvyšších hodnot parametrů barevných prostorů CIE ve srovnání s korelačními koeficienty hodnot rozdílu absorbance při 450 a 720 nm vyšší^{27, 28, 32)}, v některých případech ale i nižší⁴²⁾; rozdíly hodnot korelačních koeficientů však jsou výrazné jen výjimečně⁴²⁾. Obdobné srovnání těsnosti korelací s výjimkou⁴⁰⁾ nelze z prací zabývajících se barevností a antioxidační aktivitou medů zahrnutých do našeho příspěvku odvodit v případě korelací hodnot Pfund (mm) získaných výpočtem z měření absorbance roztoků medů při 635 nm. Pomineme-li omezenou výpovědní schopnost korelačního koeficientu vyčísleného z měření několika málo vzorků (např.^{55, 57)} a zejména⁶⁷⁾), jde v tabulkách 1 až 3 i mimo ně často o korelace dostatečně těsné k úvahám o jejich možném analytickém využití při hodnocení antioxidační aktivity medů měřením jejich barevnosti. Je však nutné mít na zřeteli, že v publikovaných pracích jde většinou o korelační koeficient Pearsonův. Ten je sice vázán na stejné předpoklady jako korelační koeficient z klasické korelační analýzy (lineární závislost a dvourozměrné normální rozdělení), vzhledem k jeho citlivosti na extrémní hodnoty^{68, 69)} lze ale očekávat, že korelační koeficienty z klasické regresní analýzy nebudou nabývat identických ani téměř identických hodnot. K bližšímu ověření včetně kalibrace se mimo korelací parametrů barevného prostoru CIELAB jeví jako vhodná zejména korelace rozdílu hodnot absorbance 50% vodného roztoku vzorků medu měřených při 450 a 720 nm.

Seznam zkratk a symbolů (viz také¹⁵⁾)

CIE Mezinárodní komise pro osvětlování (Commission Internationale de l'Éclairage)

CIELAB barevné prostory bližší lidskému vidění

CIELCH barevné prostory bližší lidskému vidění

HSV barevné prostory bližší lidskému vidění

h_{ab} měrný úhel barevného tónu v barevném prostoru CIELCH

L^* , a^* , b^* souřadnice barevného prostoru CIELAB

Střet zájmů: žádný.

Literatura

1. Meo S. A., Al-Asiri S. A., Mahesar A. L., Ansari M. J. Role of honey in modern medicine. Saudi J. Biol. Sci. 2017; 24, 975–978. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010> (20.9.2021).
2. Rana S., Mishra M., Yadav D., Subramani S. K., Kataré C., Prasad, G. B. K. S. Medicinal uses of honey: A review on its benefits to human health. Prog. Nutr. 2018; 20(Suppl 1), 5–14. doi: 10.23751/pn.v20i1-5.6394 (20.9.2021).
3. Wiczorek J., Pietrzak M., Pomianowski J., Wiczorek Z. Honey as a source of bioactive compounds. Polish J. Nat. Sci. 2014; 29, 275–285. http://www.uwm.edu.pl/polish-journal/sites/default/files/issues/articles/wiczorek_et_al_2014.pdf (7.11.2021).
4. Özcan M. M., Al Juhaimi F. Honey as source of natural antioxidants. J. Apic. Res. 2015; 54, 145–154. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1144976> (20.9.2021).
5. Martinello M., Mutinelli F. Antioxidant activity in bee products: A review. Antioxidants 2021; 10, 71. <https://doi.org/10.3390/antiox10010071> (20.9.2021).
6. Khalil M. I., Sulaiman S. A., Boukraa L. Antioxidant properties of honey and its role in preventing health disorder. Open Nutraceuticals J. 2010; 3, 6–16. <https://doi.org/10.3390/antiox10010071> (20.9.2021).
7. Pharmacopoea Austriaca, Ed. Octava. Vienne: C.E.S. REG. AULE ET IMPERII TYPOGRAPHIA 1906; 244.
8. Deutsches Arzneibuch, 6. Ausgabe Berlin: Decker 1926; 422.
9. Československý lékopis, 1. vydání (ČsL 1). Praha: Státní tiskárna 1947; 276.
10. Československý lékopis, 2. vydání. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství 1954; 455.
11. Honey. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition. [online] s. 2831. <https://pheur.edqm.eu/home> (20.9.2021).
12. USP43 2020 Vol. 3; s. 5816. <https://www.ilovepharma.com/2021/05/united-state-pharmacopoeia-2020-usp-43.html> (20.9.2021).
13. The Japanese Pharmacopoeia, Seventeenth Edition (JP17) the Electronic version 2016; s.1899. <http://jpd.nihs.go.jp/jp17e/> (2.8.2019).

14. **Frankel S., Robinson G. E., Berenbaum M. R.** Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *J. Apic. Res.* 1998; 37, 27–31. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100951> (25.9.2021).
15. **Ohta N., Robertson A. R.** *Colorimetry: Fundamentals and applications.* Chichester: Wiley 2005.
16. **Gallez L. M., Marconi A., Tourn E., Gonzáles-Miret M. L., Heredia F. J.** Color of Honeys from the Southwestern Pampas Region: Relationship between the Pfund Color Scale and CIELAB Coordinates. In: *Color in food.* CRC Press 2012; 158–167. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/b11878-17/color-honeys-southwestern-pampas-region-relationship-pfund-color-scale-cielab-coordinates-liliana-gallez-alfredo-marconi-elian-tourn-lourdes-gonz%C3%A1lez-miret-francisco-heredia> (26.9.2021).
17. **Tuberoso C. I. G., Jerković I., Sarais G., Congiu F., Marjanović Z., Kuš P. M.** Color evaluation of seventeen European unifloral honey types by means of spectrophotometrically determined CIE L* C*_{ab} h_{ab} chromaticity coordinates. *Food Chem.* 2014; 145, 284–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.032> (20.9.2021).
18. **Szabó R. T., Mézes M., Szalai T., Zajác E., Weber M.** Colour identification of honey and methodical development of its instrumental measuring. *Columella: J. Agr. Environ. Sci.* 2016; 3, 29–36. http://real.mtak.hu/47064/1/Szabo_Columella_vol3no12016_29_36_u.pdf (26.9.2021).
19. **Pascual-Maté A., Osés S. M., Fernández-Muiño M. A., Sancho M. T.** Methods of analysis of honey. *J. Apic. Res.* 2018; 57, 38–74. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1411178> (26.9.2021).
20. **Bodor Z., Benedek C., Urbin Á., Szabó D., Sipos L.** Colour of honey: can we trust the Pfund scale? – An alternative graphical tool covering the whole visible spectra. *LWT* 2021; 149, 111859. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111859> (21.9.2021).
21. **Dominguez M. A., Centurión M. E.** Application of digital images to determine color in honey samples from Argentina. *Microchem. J.* 2015; 118, 110–114. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.08.002> (26.9.2021).
22. Pfund scale. https://www.sizes.com/units/pfund_scale.htm (28.9.2021).
23. **Martin M. J., Fredes C., Nuñez G., Ginocchio R., Montenegro G.** Comparison of methods for determining the color of Chilean honeys and the relationship of color with botanical origin in central Chile. *Cien. Inv. Agr.* 2014; 41, 411–418. DOI: 10.4067/S0718-16202014000300014 (28.9.2021).
24. **González Lorente M., de Lorenzo Carretero C., Pérez Martín R. A.** Sensory attributes and antioxidant capacity of Spanish honeys. *J. Sens. Stud.* 2008; 23, 293–302. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2008.00156.x> (27.9.2021).
25. **Al-Dabbas M. M., Ootom H. A., Al-Antary T. M.** Impact of honey color from Jordanian flora on total phenolic and flavonoids contents and antioxidant activity. *Fresenius Environ. Bull.* 2019; 28, 6898–6907.
26. **Taormina P. J., Niemira B. A., Beuchat L. R.** Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 69, 217–225. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00505-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00505-0) (28.9.2021).
27. **Khalafi R., Goli S. A. H., Behjatian M.** Characterization and classification of several monofloral Iranian honeys based on physicochemical properties and antioxidant activity. *Int. J. Food Prop.* 2016; 19, 1065–1079. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1055360> (28.9.2021).
28. **Bertoncelj J., Doberšek U., Jamnik M., Golob T.** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chem.* 2007; 105, 822–828. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.060> (6.10.2021).
29. **Zalibera M., Staško A., Šlebodová A., Jančovičová V., Čermáková T., Brezová V.** Antioxidant and radical-scavenging activities of Slovak honeys – An electron paramagnetic resonance study. *Food Chem.* 2008; 110, 512–521. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.015> (2.10.2021).
30. **Kuš P. M., Congiu F., Teper D., Sroka Z., Jerković I., Tuberoso C. I. G.** Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six Polish unifloral honey types. *LWT* 2014; 55, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.016> (3.10.2021).
31. **Kędzierska-Matysek M., Teter A., Stryjecka M., Skalecki P., Domaradzki P., Rudaś M., Florek M.** Relationships linking the colour and elemental concentrations of blossom honeys with their antioxidant activity: A chemometric approach. *Agriculture* 2021; 11, 702. <https://doi.org/10.3390/agriculture11080702> (4.10.2021).
32. **Flanjak I., Kenjerić D., Bubalo D., Primorac L.** Characterisation of selected Croatian honey types based on the combination of antioxidant capacity, quality parameters, and chemometrics. *Eur. Food Res. Technol.* 2016; 242, 467–475. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2557-0> (3.10.2021).
33. **Marić A., Jovanov P., Sakač M., Novaković A., Hadnađev M., Pezo L., Mandić A., Miličević N., Durović A., Gadžurić S.** A comprehensive study of parameters correlated with honey health benefits. *RSC Adv.* 2021; 11, 12434–12441. <https://doi.org/10.1039/D0RA10887A> (4.10.2021).
34. **Shafiee S., Minaei S., Moghaddam-Charkari N., Barzegar M.** Honey characterization using computer vision system and artificial neural networks. *Food Chem.* 2014; 159, 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.136> (3.10.2021).
35. **Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Facino R. M.** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Anal. Chim. Acta* 2005; 533, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.11.010> (5.10.2021).
36. **Alvarez-Suarez J. M., Tulipani S., Romandini S., Vidal A., Battino M.** Methodological aspects about determination of phenolic compounds and *in vitro* evaluation of antioxidant capacity in the honey: A re-

- view. *Curr. Anal. Chem.* 2009; 5, 293–302. <https://doi.org/10.2174/157341109789077768> (5.10.2021)
37. **Moniruzzaman M., Khalil M. I., Sulaiman S. A., Gan S. H.** Advances in the analytical methods for determining the antioxidant properties of honey: A review. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2012; 9, 36–42. <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v9i1.5> (5.10.2021).
 38. **Lewoyehu M., Amare M.** Comparative evaluation of analytical methods for determining the antioxidant activities of honey: A review. *Cogent Food Agric.* 2019; 5, 1685059. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1685059> (5.10.2021).
 39. **Aumeeruddy M. Z., Aumeeruddy-Elalfi Z., Neetoo H., Zengin G., van Staden A. B., Fibrich B., Lambrechts I. A., Rademan S., Szuman K. M., Lall N., Mahomoodally F.** Pharmacological activities, chemical profile, and physicochemical properties of raw and commercial honey. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2019; 18, 101005. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.01.043> (5.10.2021).
 40. **Nayik G. A., Nanda V.** A chemometric approach to evaluate the phenolic compounds, antioxidant activity and mineral content of different unifloral honey types from Kashmir, India. *LWT* 2016; 74, 504–513. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.016> (5.10.2021).
 41. **Perna A., Simonetti A., Intaglietta I., Gambacorta E.** Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different areas of Southern Italy. *J. Life Sci.* 2013; 7, 428–436.
 42. **Kek S. P., Chin N. L., Yusof Y. A., Tan S. W., Chua L. S.** Classification of entomological origin of honey based on its physicochemical and antioxidant properties. *Int. J. Food Prop.* 2017; 20, S2723–S2738. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1359185> (5.10.2021).
 43. **Meléndez-Martínez A. J., Vicario I. M., Heredia F. J.** Application of tristimulus colorimetry to estimate the carotenoids content in ultrafrozen orange juices. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51, 7266–7270. <https://doi.org/10.1021/jf034873z> (5.10.2021).
 44. **Zhang H.** Multiple regression model for identification of material concentration and color reading. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 2019; 612, 022086. IOP Publishing. doi:10.1088/1757-899X/612/2/022086 (6.10.2021).
 45. **Škrovánková S., Snopek L., Mlček J., Volaříková E.** Bioactive compounds evaluation in different types of Czech and Slovak honeys. *Potr. S. J. F. Sci.* 2019; 13, 94–99. <https://doi.org/10.5219/1025> (9.10.2021).
 46. **Džugan M., Tomczyk M., Sowa P., Grabek-Lejko D.** Antioxidant activity as biomarker of honey variety. *Molecules* 2018; 23, 2069. <https://doi.org/10.3390/molecules23082069> (9.10.2021).
 47. **Bodó A., Radványi L., Kőszegi T., Csepregi R., Nagy D. U., Farkas Á., Kocsis M.** Melissopalynology, antioxidant activity and multielement analysis of two types of early spring honeys from Hungary. *Food Biosci.* 2020; 35, 100587. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100587> (10.10.2021).
 48. **Bodó A., Radványi L., Kőszegi T., Csepregi R., Nagy D. U., Farkas Á., Kocsis M.** Quality evaluation of light-and dark-colored Hungarian honeys, focusing on botanical origin, antioxidant capacity and mineral content. *Molecules* 2021; 26, 2825. <https://doi.org/10.3390/molecules26092825> (10.10.2021).
 49. **Mahmoodi-Khaledi E., Lozano-Sánchez J., Bakhouché A., Habibi-Rezaei M., Sadeghian I., Segura-Carretero A.** Physicochemical properties and biological activities of honeys from different geographical and botanical origins in Iran. *Eur. Food Res. Technol.* 2017; 243, 1019–1030. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2811-0> (11.10.2021).
 50. **Ahmed M., Shafiq M. I., Khaleeq A., Huma R., Qadir M. A., Khalid A., Ali A., Samad A.** Physicochemical, biochemical, minerals content analysis, and antioxidant potential of national and international honeys in Pakistan. *J. Chem.* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8072305> (11.10.2021).
 51. **Das A., Mukherjee A., Dhar P.** Characterization of antioxidants and antioxidative properties of various unifloral honeys procured from West Bengal, India. *IOSR-JEST-FT* 2013; 7(3), 56–63. www.iosjournals.org (12.10.2021).
 52. **Das A., Datta S., Mukherjee S., Bose S., Ghosh, S., Dhar P.** Evaluation of antioxidative, antibacterial and probiotic growth stimulatory activities of *Sesamum indicum* honey containing phenolic compounds and lignans. *LWT* 2015; 61, 244–250. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.044> (12.10.2021).
 53. **Moniruzzaman M., Yung An C., Rao P. V., Hawlader M. N. I., Azlan S. A. B. M., Sulaiman S. A., Gan S. H.** Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: determination of antioxidant capacity. *Biomed Res. Int.* 2014; 737490. <https://doi.org/10.1155/2014/737490> (12.10.2021).
 54. **Moniruzzaman M., Sulaiman S. A., Khalil M. I., Gan S. H.** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chem. Cent. J.* 2013; 7, 1–12. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-138> (12.10.2021).
 55. **Moniruzzaman M., Khalil M. I., Sulaiman S. A., Gan S. H.** Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera*. *BMC Complement. Altern. Med.* 2013; 13, 1–12. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-43> (12.10.2021).
 56. **Moniruzzaman M., Sulaiman S. A., Azlan S. A. M., Gan S. H.** Two-year variations of phenolics, flavonoids and antioxidant contents in acacia honey. *Molecules* 2013; 18, 14694–14710. <https://doi.org/10.3390/molecules181214694> (12.10.2021).
 57. **Khalil M., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam M. A., Islam M. N., Sulaiman S. A., Gan S. H.** Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules* 2012; 17, 11199–11215. <https://doi.org/10.3390/molecules170911199> (15.10.2021).
 58. **Vaghela J., Reddy A. S.** Antioxidant potential of *Apis florea* honey from dryland ecosystem in Western India. *Int. J. Adv. Res.* 2016; 4, 1392–1402. https://www.academia.edu/23116680/ANTIOXIDANT_POTENTIAL_OF_APIS_

- FLOREA_HONEY_FROM_DRYLAND_ECOSYSTEM_IN_WESTERN_INDIA (14.11.2021).
59. **Anand S., Pang E., Livanos G., Mantri N.** Characterization of physico-chemical properties and antioxidant capacities of bioactive honey produced from Australian grown *Agastache rugosa* and its correlation with colour and poly-phenol content. *Molecules* 2018; 23, 108. <https://doi.org/10.3390/molecules23010108> (14.10.2021).
60. **Chirsanova A., Capcanari T., Boistean A., Siminiuc R.** Physico-chemical profile of four types of honey from the south of the Republic of Moldova. *Food Nutr. Sci.* 2021; 12, 874–888. <https://doi.org/10.4236/fns.2021.129065> (17.10.2021).
61. **Živković J., Sunarić S., Stanković N., Mihajilov-Krstev T., Spasić A.** Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antibacterial activities of selected honeys against human pathogenic bacteria. *Acta Pol. Pharm.* 2019; 76, 671–681. <http://dx.doi.org/10.32383/appdr/105461> (17.10.2021).
62. **Aazza S., Elamine Y., El-Guendouz S., Lyoussi B., Antunes M. D., Estevinho L. M., Anjos O., Carlier J. D., Costa M. C., Miguel M. G.** Physicochemical characterization and antioxidant activity of honey with *Eragrostis* spp. pollen predominance. *J. Food Biochem.* 2018; 42, e12431. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12431> (18.10.2021).
63. **Hailu D., Belay A.** Melissopalynology and antioxidant properties used to differentiate *Schefflera abyssinica* and polyfloral honey. *PloS One* 2020; 15, e0240868. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240868> (18.10.2021).
64. **Shekilango S. G., Mongi R. J., Shayo N. B.** Colour and antioxidant activities of honey from different floral sources and geographical origins in Tanzania. *Tanzan. J. Agric. Sci.* 2016; 15, 101–113. 177785-Article Text-454223-1-10-20180926 (14.11.2021). [cle Text-4223-1-10-20180926.pdf 177785-Article Text-454223-1-10-20180926.pdf](https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1399663)
65. **Zerrouk S., Seijo M. C., Escuredo O., Rodríguez-Flores M. S.** Characterization of *Ziziphus lotus* (jujube) honey produced in Algeria. *J. Apic. Res.* 2018; 57, 166–174. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1399663> (18.10.2021).
66. **Al-Farsi M., Al-Amri A., Al-Hadhrami A., Al-Belushi S.** Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon* 2018; 4, e00874. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00874> (18.10.2021).
67. **Srećković N. Z., Mihailović V. B., Katanić-Stanković J. S.** Physico-chemical, antioxidant and antimicrobial properties of three different types of honey from Central Serbia. *Kragujev. J. Sci.* 2019; 41, 53–68. <https://scidar.kg.ac.rs/handle/123456789/13294> (18.10.2021).
68. Korelace. <https://ksoc.ff.cuni.cz/wp-content/uploads/sites/76/2018/09/4.-Statistika2-Korelace.pdf> (17.11.2021).
69. **Kružlicová D.** Chemometria. Trnava: Univerzita sv. Cyrila a Metoda 2015; 119.