

Parametri kvalitete različitih vrsta meda iz sezone 2020.

Mikulić, Nataša

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:965841>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, veljača, 2022.

Nataša Mikulić

**PARAMETRI KVALITETE
RAZLIČITIH VRSTA MEDA IZ
SEZONE 2020.**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji na Zavodu za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Ksenije Marković.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Upravljanje sigurnošću hrane

PARAMETRI KVALITETE RAZLIČITIH VRSTA MEDA IZ SEZONE 2020.

Nataša Mikulić, univ. bacc. ing. techn. aliment
0058206877

Sažetak: Med je vrlo cijenjena i nutritivno vrijedna namirnica, koja u svrhu zaštite potrošača mora udovoljavati određenim kriterijima sastava. Tijekom ovog istraživanja analizirani su parametri kvalitete meda kao što su maseni udio vode, kiselost, električna provodnost, maseni udio hidroksimetilfurfurala (HMF-a), maseni udio reducirajućih šećera i maseni udio saharoze koji su potom uspoređeni s važećim Pravilnikom o medu. Analizirane su različite vrste meda ($n = 41$) kao što su medljikovac, cvjetni med, med od kestena, livadni med, med trušljike, med vriska, med amorfe, med mandarine, med vrbe, med divlje trešnje, šumski med, med lipice, te med kadulje, podrijetlom iz Republike Hrvatske iz sezone 2020. Rezultati analiza pokazuju da propisane zahtjeve Pravilnika obzirom na vrijednost kiselosti, masenog udjela HMF-a i masenog udjela saharoze zadovoljavaju svi analizirani uzorci, dok propisane zahtjeve Pravilnika za maseni udio vode, električnu provodnost te maseni udio reducirajućih šećera ne zadovoljava 2,44 %, 29,27 %, odnosno 14,63 % analiziranih uzoraka.

Ključne riječi: *kriteriji sastava meda, kvaliteta meda, multiflorni med, uniflorni med*

Rad sadrži: 49 stranica, 3 slike, 14 tablica, 56 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: prof.dr.sc. Ksenija Marković

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof.dr.sc. Nada Vahčić
2. Prof.dr.sc. Ksenija Marković
3. Prof.dr.sc. Draženka Komes
4. Prof.dr.sc. Ines Panjkota Krbavčić (zamjena)

Datum obrane: 02. ožujka 2022.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Safety Management

QUALITY PARAMETERS OF DIFFERENT TYPES OF HONEY FROM THE 2020 SEASON

Nataša Mikulić, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058206877

Abstract: Honey is a highly valued and nutritionally valuable food, which in order to protect consumers must meet certain compositional criteria. During this study, honey quality parameters such as water content, acidity, electrical conductivity, hydroxymethylfurfural (HMF) content, reducing sugars, and sucrose content were analysed and then compared with the current Honey Regulation. Different types of honey (n = 41) were analysed, such as honeydew, flower honey, chestnut honey, meadow honey, amorphous honey, mandarin honey, willow honey, wild cherry honey, forest honey, linden honey, and sage honey, originating from the Republic of Croatia from the 2020 season. The results of the analyses show that all analysed samples meet the prescribed requirements of the Honey Regulation regarding the value of acidity, HMF content, and sucrose content. The prescribed requirements for water content, electrical conductivity, and reducing sugar content do not meet 2.44%, 29.27%, and 14.63% of the analysed samples.

Keywords: *honey composition criteria, honey quality, multifloral honey, unifloral honey*

The thesis contains: 49 pages, 3 figures, 14 tables, 56 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Ksenija Marković, PhD, Full professor

Reviewers:

1. Nada Vahčić, PhD, Full professor
2. Ksenija Marković, PhD, Full professor
3. Draženka Komes, PhD, Full professor
4. Ines Panjkota Krbavčić, PhD, Full professor (substitute)

Thesis defended: 02 March 2022

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. DEFINICIJA I PODJELA MEDA.....	2
2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA.....	5
2.2.1. Ugljikohidrati.....	6
2.2.2. Voda.....	6
2.2.3. Proteini i aminokiseline.....	6
2.2.4. Enzimi	7
2.2.5. Organske kiseline.....	7
2.2.6. Vitamini i mineralne tvari	8
2.2.7. Fenolni spojevi	8
2.2.8. Hidroksimetilfurfural	8
2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA	9
2.3.1. Viskoznost	9
2.3.2. Kristalizacija.....	9
2.3.3. Higroskopnost.....	9
2.3.4. Električna provodnost	10
2.3.5. Optička aktivnost	10
2.3.6. Indeks refrakcije	10
2.3.7. Specifična masa	10
2.4. PATVORENJE MEDA.....	11
2.4.1. Metode detekcije patvorenja meda	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	15
3.1. MATERIJALI.....	15
3.2. METODE RADA.....	16
3.2.1. Priprema uzoraka za analizu.....	16
3.2.2. Određivanje udjela vode u medu	16
3.2.3. Određivanje električne provodnosti meda.....	18
3.2.4. Određivanje kiselosti meda	19
3.2.5. Određivanje hidroksimetilfurfurala u medu	20
3.2.6. Određivanje udjela reducirajućih šećera u medu	22
3.2.7. Određivanje udjela saharoze.....	25
3.2.8. Obrada rezultata.....	26

4. REZULTATI I RASPRAVA	27
4.1. Fizikalno-kemijski parametri analiziranih uzoraka meda	28
4.2. Maseni udio vode.....	37
4.3. Kiselost meda	38
4.4. Električna provodnost	39
4.5. Maseni udio hidroksimetilfurfurala	40
4.6. Maseni udio reducirajućih šećera	41
4.7. Maseni udio saharoze.....	42
5. ZAKLJUČCI.....	44
6. LITERATURA	45

1. UVOD

Med je slatka, gusta i viskozna prirodna namirnica, kojoj se prepisuju antibakterijska, antivirusna i ljekovita svojstva kod različitih bolesti i stanja. Prirodni je zaslađivač i konzervans visoke nutritivne vrijednosti, a po podrijetlu se dijeli na cvjetni ili nektarni med i na medljikovac.

Radi svoje visoke vrijednosti, med spada u 10 najpatvorenijih proizvoda u EU, a i radi toga što je dokazano da doprinosu zdravlju ljudi, potrebno je kontrolirati kvalitetu meda. U svrhu zaštite potrošača, prije stavljanja meda na tržište potrebno je provesti određene validirane metode za određivanje parametara kvalitete meda, objavljene od strane Codex Alimentarius-a, Međunarodne komisije za med i Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske.

Cilj ovog rada bio je odrediti parametre kvalitete različitih vrsta meda podrijetlom iz Republike Hrvatske na 41 uzorku koji su predstavljali dio uzoraka sa 16. Međunarodnog natjecanja pčelara u kvaliteti meda - Zzzagimed 2020. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza potom su uspoređeni sa kriterijima sastava meda u okviru zahtjeva važećeg Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015), te sa rezultatima sličnih istraživanja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA I PODJELA MEDA

Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015), med je definiran kao “prirodno sladak proizvod što ga medonosne pčele (*Apis mellifera*) proizvode od nektara medonosnih biljaka ili sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja.”

Med se prema podrijetlu može podijeliti na cvjetni ili nektarni med i na medljikovac ili medun. Nektarni med je med podrijetlom od nektara biljaka dok se medljikovac dobiva od izlučevina kukaca (*Hemiptera*) ili od sekreta živih dijelova biljke (Pravilnik, 2015).

Nektarni med je med koji proizvode pčele od nektara medonosnih biljaka različitih vrsta. Nektar se može definirati kao slatka tekućina koju izlučuju biljne žljezde nektarije, a sastoji se od do čak 80 % vode, šećera, od kojih su najzastupljenije saharoza, glukoza i fruktoza a mogu se naći i šećeri poput rafinoze, melebioze i drugih oligosaharida. U sastavu su prisutne i mineralne tvari, aminokiseline, aromatski spojevi, aminokiseline i enzimi (Kapš, 2013; Janković, 1979). Medonosne pčele složene šećere u sakupljenom nektaru pomoću enzima pretvaraju u jednostavne šećere, što čini med slađim od konzumnog šećera radi većeg udjela fruktoze, ali i lakše probavljivijim. Pčele enzimima koje proizvode njihove žljezde slinovnice potiču razgradnju saharoze na glukozu i fruktozu djelovanjem enzima invertaze, a djelovanjem enzima amilaze saharoza se razgrađuje na glukozu. Nektar prenose u košnice te ga prerađuju, odlažu u ćelije košnice i dehidriraju do udjela vode između 17 do 18 % (Riddle, 2016).

Nektarni med možemo podijeliti na uniflorni i multiflorni med. Uniflorni med je definiran kao med koji sadrži minimalno udio peludnih zrnaca iste biljne vrste u netopljivom sedimentu, koji ovisi o vrsti meda. Med od bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.) mora sadržavati 20 % peludnih zrnaca, dok na primjer. med od pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) 85 % peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu. Osim za ove dvije vrste meda, taj udio je određen i za med od drače, lavande, lipe, lucerne, kadulje, ružmarina, suncokreta i med od vrijesa, a za ostale biljne vrste udio peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu mora iznositi minimalno 45 %. Multiflorni med je definiran kao mješavina meda različitih vrsta (Mujić i sur., 2014).

Najznačajnije vrste nektarnog meda i medonosnog bilja u Republici Hrvatskoj su:

Bagrem (*Robinia pseudoacacia* L.) – Bagremov med je karakteristične svijetložute boje, ima blagi okus i miris. Gust je i sadrži više fruktoze nego glukoze, te ga radi toga karakterizira spora kristalizacija. Bagrem cvijeta u razdoblju od sredine svibnja do početka lipnja. U Hrvatskoj su šume bagrema najrasprostranjenije u područjima Baranje, Podravine te Moslavačke gore (Šimić, 1980).

Kadulja (*Salvia officinalis* L.) – Kaduljin med ima svijetložutu boju sa zelenkastom nijansom. Okus meda kadulje je blag i ugodan, a karakteristična je i blaga gorčina. Kadulja cvijeta krajem travnja i početkom svibnja, a područja u kojem je u Hrvatskoj rasprostranjena su područje Istre te na primorskom području Dalmacije. Također je važno spomenut kako je kadulja ljekovita biljka, pa je i kaduljin med visoko cijenjeni proizvod (Šimić, 1980).

Kesten (*Castanea sativa* Mill.)- Kestenov med je prepoznatljiv po tamnoj boji, trpkom i gorkom okusu te intenzivnom mirisu. Kesten cvijeta od sredine do kraja lipnja te su šume kestena najrasprostranjenije u područjima Petrinje, Hrvatske Kostajnice, Dvora na Uni, na području Istre te u okolici Zagreba (Šimić, 1980).

Lipa (*Tilia* L.)- Lipin med ima blago žutu do zelenkastu boju i karakterizira ga intenzivan miris po cvijetu. Okus lipinog meda ima određenu gorčinu, iako prevladava sladak okus. Lipa cvijeta od kraja lipnja, a u Hrvatskoj je najrasprostranjenija na području Bilogore (Šimić, 1980).

Lavanda (*Lavandula officinalis* L.)- Lavandin med je prepoznatljiv po vrlo intenzivnom mirisu i okusu po samoj biljci radi čega među mnogim potrošačima nije dobro prihvaćen. Boja mu je svijetložuta, vrlo je bistar te gotovo proziran. U Hrvatskoj je lavanda rasprostranjena na području Dalmacije, naročito na otocima, gdje se Hvar može izdvojiti kao područje u kojem je lavanda najrasprostranjenija. Cvijeta u razdoblju od početka lipnja do kraja srpnja (Vahčić i Matković, 2009; Persano Oddo i Piro, 2004).

Ružmarin (*Rosmarinus officinalis* L.)- Ružmarinov med je vrlo svijetle boje, gotovo bez mirisa i ugodnog i blagog okusa, a u krutom stanju je potpuno bijel. Ružmarin cvjeta u razdoblju od rujna pa sve do svibnja, a najčešće ga se može naći na otocima kao što su Šolta, Hvar, Vis, Korčula i Lastovo (Vahčić i Matković, 2009).

Suncokret (*Helianthus annuus* L.) – Suncokretov med je karakterističan po jantarnožutoj boji i svom slabo trpkom okusu iako i dalje prevladava sladak okus. Blagog je mirisa i nakon vrcanja relativno brzo kristalizira. Suncokret cvijeta početkom srpnja, a u Hrvatskoj je najrašireniji u području Slavonije (Vahčić i Matković, 2009).

Amorfa (*Amorpha fruticosa* L.)- Amorfin med ima prepoznatljivu tamnocrvenu boju, blagog je mirisa i okusa. Amorfa cvjeta početkom lipnja, a najrasprostranjenija je u okolini rijeke Odre, u slavonskoj Posavini te u području između Novske i Okučana (Šimić, 1980).

Livadni med je med koji potječe od nekoliko različitih vrsta livadnog cvijeća, pa i boja i okus livadnog meda ovise o podrijetlu nektara od kojeg je nastao iako se može svrstati u tamnije vrste meda i većinom je blagog i aromatičnog okusa. Vrlo je cijenjen radi toga što potječe od više vrsta biljaka i bogat je kalijem (Popović-Raljić i sur., 2015).

Medljikovac se dobiva od mediljke ili medne rose koja se može naći na lišću, a uistinu je izlučevina kukaca koji se hrane floemskim sokovima lišća. Na regiji mediterana najčešće vrste drveća od kojih potječe medljikovac su Obična jela (*Abies alba*), Brucijski bor (*Pinus brutia*), Pitomi kesten (*Castanea sativa*), različiti hrastovi (*Quercus* spp.) i vrbe (*Salix* spp.) (Atanassova i sur., 2016).

Med medljikovac karakterističan je prema malom sadržaju peluda kao i elementima medljike tj. sporama, gljivicama i algama koje se mogu utvrditi mikroskopskom analizom. U usporedbi sa nektarnim medom, obično je obojeniji, ima veći sadržaj mineralnih tvari te oligosaharida među kojima se melecitoza izdvaja. Slatkoća je nešto manja nego kod nektarnog meda, kao i kiselost (Vahčić i Matković, 2009).

U Hrvatskoj su najznačajnije vrste medljikovca:

Jelov medljikovac koji karakterizira tamnosiva do smeđe-zelena boja, kao i miris srednjeg intenziteta koji podsjeća na smolu crnogorice i slad. Lisne uši iz roda *Cinara* luče medljiku u razdoblju od sredine lipnja do početka zime, a to razdoblje ovisi o geografskom položaju, klimi te vremenskim uvjetima u pojedinoj godini. U Hrvatskoj je jelov medljikovac najrašireniji u području Gorskog Kotra i na području Male i Velike Kapele (Udruženje pčelara za promicanje pčela i pčelarstva, 2010).

Hrastov medljikovac je karakterističan po svojoj tamnocrvenoj boji, kao i po niskointenzivnom mirisu na hrast. Za razliku od jelovog medljikovca koji je ugodnog okusa, hrastov medljikovac je opornog okusa. Konzistencija mu je gusta i rastezljiv je što otežava vrcanje iz saća. Medljiku luče lisne i štitaste uši, a područja najrasprostranjenija šumama hrastom u Hrvatskoj su područje Siska, Jasenovca i Turopolja te Slavonije.

Medljikovac od medljike medećeg cvrčka se ističe mutno tamno smeđom bojom i slabo izraženom slatkoćom te okusom koji podsjeća na melasu i suho voće. U Hrvatskoj je rasprostranjen na području Istre (Persano Oddo i Pirro, 2004).

Smrekov medljikovac karakterizira tamno jantarna boja sa crvenkastom nijansom te intenzivan miris koji podsjeća na smolu, sirup i biljne bombone. Štitaste uši luče medljiku u

razdoblju od početka svibnja pa do kraja lipnja, a u Hrvatskoj su šume smreke najrasprostranjenije u Gorskom Kotaru (Šimić, 1980).

Med se prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja dijeli na:

- med u saću: med kojeg pčele skladište u stanicama svježe izgrađenog saća bez legla ili u satnim osnovama izgrađenim isključivo od pčelinjeg voska, koji se prodaje u poklopljenom saću ili u sekcijama takvog saća
- med sa saćem ili med s dijelovima saća: med koji sadrži saće ili dijelove saća
- cijedeni med: med koji se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla
- vrcani med: med dobiven vrcanjem ili centrifugiranjem otklopljenog saća bez legla
- prešani med: med dobiven prešanjem saća bez legla, sa ili bez korištenja umjerene temperature do 45 °C;
- filtrirani med: med sa značajno nižom količinom peludi što je posljedica uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari
- Pekarski med – med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje i može imati strani okus ili miris, biti u stanju vrenja, prevrio ili biti pregrijan (Pravilnik, 2015).

2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA

Kemijski sastav meda odlikuje više od 180 različitih spojeva od kojih neki potječu od medonosnih biljaka, neki spojevi nastaju u tijeku hidrolize koju obavljaju pčele, te neki nastaju u procesu zrenja u saću (Riddle, 2016; Krell, 1996).

Ugljikohidrati su najzastupljeniji sastojci meda, gdje se ističu fruktoza i glukoza, a udio u suhoj tvari meda im se kreće od 95 do 99 % ovisno o vrsti meda. Zatim slijedi voda s udjelom između 15 do 23 %, a ostali sastojci koji doprinose karakterističnim senzorskim i nutritivnim svojstvima su proteini, mineralne tvari i vitamini, organske kiseline, fenolni spojevi, spojevi arome (Singhal i sur., 1997).

2.2.1. Ugljikohidrati

Najzastupljeniji sastojak meda su šećeri koji čine 95 do 99 % ukupne suhe tvari meda, gdje je udio monosaharida 75 % , disaharida od 10 do 15 % te ostatak čine ostali šećeri (da Silva i sur., 2015). Iako udjeli pojedinih šećera u medu variraju ovisno o vrsti meda i raznim čimbenicima primjećeno je da je udio fruktoze koji se kreće oko 40 % većinom nešto viši od udjela glukoze (34 %), dok udio saharoze čini otprilike 5 % (Crnoja, 2018). Osim saharoze, neki od najzastupljenijih su maltoza, izomaltoza, nigeroz, kobioza, laminariboza, turanoza , gentiobioza i izomaltuloza melibioza, a od oligosaharida se isitiču erloza, melecitoza, maltotrioza, panoza, izopanoza i rafinoza (Sanz i sur., 2004). Na osnovu profila šećera u medu, odnosno na osnovu različitih omjera monosaharida, disaharida i oligosaharida moguće je temeljem brojnih istraživanja utvrditi o kojoj vrsti meda se radi (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.2. Voda

Udio vode u medu se kreće između 15 do 23 % i time je drugi najzastupljeniji sastojak meda. Udio vode je važan parametar jer ima utjecaj na kristalizaciju meda, viskoznost, specifičnu težinu, stabilnost kao i na mikrobiološko kvarenje te fermentaciju, a ovisi o klimatskim uvjetima, vlažnosti i temperaturi zraka u košnici, pasmini pčela kao i o uvjetima prerade meda i uvjetima skladištenja meda (Bogdanov i sur., 1999; Škenderov i Ivanov, 1986).

Udio vode može se odrediti metodom sušenja, viskozimetrijskom metodom, refraktometrijskom metodom i piknometrijskom metodom. Metoda sušenja se temelji na sušenju meda pri temperaturi između 60 i 105 °C do konstantne mase, s mogućnošću korištenja vakuuma. Viskozimetrijska metoda se temelji na odnosu viskoznosti meda i količini vode, a piknometrijska metoda na odnosu relativne gustoće meda i količini vode. Udio vode se refraktometrijskom metodom određuje prema indeksu refrakcije pri sobnoj temperaturi (Kreculj, 2005).

2.2.3. Proteini i aminokiseline

Proteini i aminokiseline su sastojci koji su u medu prisutni u tragovima (0,2 – 0,3 %) koji mogu potjecati iz nektara tj. medljike ili iz peluda koji se nalazi u medu (Mujić i sur., 2014). Aminokiselina koja je najzastupljenija u medu je prolin, koja čini čak od 50 do 85 % svih aminokiselina u medu, a uglavnom nastaje pri pretvorbi nektara u med u žlijezdama slinovnicama pčela (da Silva i sur., 2016; Truzzi i sur., 2014).

2.2.4. Enzimi

Enzimi u medu sudjeluju u pretvorbi nektara i medne rose u med. Na udio enzima u medu utječu geografski položaj, vlažnost i vrsta tla i vrsta medonosne biljke kao i pasmina pčela jer su oni većinom izlučevine pčelinjih slinovnih žlijezdi. Med sadrži različite enzime u tragovima, među kojima se kao tri najznačajnija enzima ističu dijastaza, invertaza i glukoza-oksidaža.

Dijastaza se sastoji od alfa-amilaze, koja sudjeluje u razgradnji molekula škroba na dekstrine i beta-amilaze, koja sudjeluje u razgradnji škroba do maltoze. Udio dijastaze se koristi kao mjerilo kvalitete jer u medu koji je podvrgnut zagrijavanju je aktivnost dijastaze smanjena. Iz istog razloga koristi se i kao mjerilo svježine meda, pošto se vremenom skladištenja meda aktivnost dijastaze snižava (Mujić i sur., 2014). Pravilnik o medu (Pravilnik, 2015) definira aktivnost dijastaze kao jedan od parametara kvalitete, a izražen je kao dijastazni broj. Aktivnost dijastaze određena je kao količina enzima koji razgradi 0,01 grama škroba u vremenu od jednoga sata pri temperaturi od 40 °C .

Invertaza sudjeluje u reakciji razgradnje saharoze na glukozu i fruktozu i pri tome je važan enzim dozrijevanja meda (Mujić i sur., 2014). Glukoza-oksidaža katalizira reakciju pretvorbe glukoze u glukonsku kiselinu, u kojoj nastaje i vodikov peroksid koji u malim količinama u medu ima antimikrobno djelovanje (Moreira i sur., 2007).

2.2.5. Organske kiseline

Iako je udio organskih kiselina u medu poprilično nizak, u prosjeku 0,57 %, one imaju značajan utjecaj na fizikalna, kemijska i senzorska svojstva meda. Povezane su i pridonose mikrobiološkoj stabilnosti meda (Mato i sur., 2006). Organske kiseline iz meda potiču iz procesa pretvorbe nektara u med, a neke su već sastojak nektara (Cherchi i sur., 1994).

Najzastupljenija organska kiselina u medu je glukonska kiselina, čija se koncentracija uz koncentraciju limunske kiseline koristi kao jedan od parametara razlikovanja medljikovca i nektarnog meda. Ostale kiseline koje se mogu naći u medu se mravlja, maslačna, mliječna, octena, vinska, jabučna, oksalna, benzojeva i piroglutaminska kiselina (Mato i sur., 2006).

Količina slobodnih kiselina je jedan od parametara koji je određen Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015), a propisano je da med koji se stavlja na tržište (sa izuzetkom pekarskog meda) smije imati najviše 50 mEq slobodnih kiselina na 1000 grama meda.

2.2.6. Vitamini i mineralne tvari

Vitamini su jedni od niskozastupljenih sastojaka meda, a glavni izvori su pelud i nektar, pa količina vitamina, a i mineralnih tvari ovisi najviše o botaničkom podrijetlu meda, ali i o zrelosti meda, količini peluda te pčelarskoj praksi. Najzastupljeniji vitamini u medu su vitamini B skupine, gdje se mogu izdvojiti tiamin (B1), riboflavin (B2), niacin (B3), pantotenska kiselina (B5), biotin (B8) i folna kiselina (B9), a u nižoj koncentraciji prisutni su i vitamin C i vitamin K (da Silva i sur., 2015; Mujić i sur., 2014).

Najzastupljenija mineralna tvar u medu je kalij koji čini od 25 do 50 % ukupnog udjela mineralnih tvari u medu, a druge mineralne tvari koje mogu biti prisutne u medu su kalcij, klor, željezo, fosfor, natrij, cink, magnezij, selen, bakar i mangan. One se najčešće određuju metodom atomske apsorpcijske spektrometrije (Hernandez i sur., 2004).

2.2.7. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi su sekundarni metaboliti biljaka koji imaju antioksidacijski učinak, odnosno sprječavaju oksidaciju drugih tvari koja je posljedica djelovanja slobodnih radikala. U medu potiču iz nektara, propolisa ili voska, a maseni udio flavonoida u medu se kreće u rasponu od 60 do 460 $\mu\text{g}/100\text{g}$ meda (Mujić i sur., 2014). Najzastupljeniji flavonoidi u medu su apigenin, galangin, pinocembrin, kamferol, kvarcetin, krizin, pinobanksin, luteolin i hesperitin, a najzastupljenije fenolne kiseline su galna, kumarinska, ferulinska kiselina (Mujić i sur., 2014; Meda i sur., 2005).

2.2.8. Hidroksimetilfurfural

Hidroksimetilfurfural (HMF) je ciklički aldehid koji je značajan jer predstavlja jedan od parametara kvalitete meda. Nastaje u reakciji dehidracije fruktoze ili glukoze u kiselom mediju i u Maillardovim reakcijama. Udio hidroksimetilfurfurala ovisi o vrsti meda, pH vrijednosti meda, kiselosti, udjelu vlage i količini svjetlosti kojoj je med izložen (Spano i sur., 2005). Povećanje udjela HMF-a u medu je posljedica dugotrajnog skladištenja pri temperaturama višim od 20°C ili zagrijavanja meda. U tim slučajevima je povišen udio HMF-a pokazatelj loše pčelarske prakse, ali također može biti i pokazatelj patvorenja (Mujić i sur., 2014). Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) je utvrđeno da maseni udio HMF-a u medu ne smije prelaziti 40 mg kg^{-1} , a iznimka je med koji potiče iz regija s tropskom klimom i kod takvih vrsta meda je gornja granica 80 mg/kg.

2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

2.3.1. Viskoznost

Viskoznost je fizikalno svojstvo meda koje predstavlja stupanj otpora tekućine prema tečenju, a na viskoznost meda utječu razni čimbenici među kojima najveći utjecaj ima temperatura, udio vode u medu, kemijski sastav meda i prisutnost kristala i koloidnih čestica (Yanniotis i sur., 2006). Udio vode i viskoznost su u obrnuto-proporcionalnom odnosu, odnosno što je udio vode viši, to je viskoznost niža, kao i udio vode i temperatura. S porastom temperature, viskoznost se snižava, a kemijski sastav meda utječe na viskoznost tako što povećan udio disaharida i trisaharida u medu pridonose višoj viskoznosti meda (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.2. Kristalizacija

Kristalizacija je proces koji se prirodno odvija u medu, te se javlja kada glukoza iz tekućeg stanja prelazi u male nakupine u čvrstom stanju, odnosno. kristale. Na brzinu kristalizacije utječe kemijski sastav meda kao omjer fruktoze i glukoze, gdje je poželjno da je taj omjer iznad 1,33 jer je tada proces kristalizacije značajno sporiji (Laos i sur., 2011). Omjer glukoze i vode također utječe na brzinu kristalizacije i poželjan je omjer ispod 1,7 koji će pridonijeti sporijoj kristalizaciji (Escuredo i sur., 2014). Kristalizacija ovisi i o temperaturi, pa je kristalizacija sporija pri višim temperaturama, a ovisi o drugim čimbenicima kao i o vlažnosti zraka i vremenu skladištenja. Iako kristalizacija ne utječe na kvalitetu meda, mijenja neka njegova svojstva, kao na primjer boju, a u nekim slučajevima i okus, te predstavlja nepoželjan proces obzirom da je takav med često loše prihvaćen od strane potrošača (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.3. Higroskopnost

Higroskopnost je fizikalno svojstvo koje tekućim i čvrstim tvarima omogućuje upijanje i zadržavanje vode iz okoline. Med je visoko higroskopna namirnica, a glavni razlog tome je visok udio fruktoze i nizak udio vode. Radi toga se tijekom skladištenja meda mora obratiti pozornost na relativnu vlažnost zraka, jer u suprotnom se povećava rizik od kvarenja i fermentacije meda (Mujić i sur., 2014).

2.3.4. Električna provodnost

Električna provodnost je fizikalno svojstvo koje se definira kao svojstvo neke tvari da provodi električnu struju. Na električnu provodnost meda utječe udio mineralnih tvari i kiselina u medu, odnosno što je udio mineralnih tvari i kiselina u medu veći to je i električna provodnost viša (Mujić i sur., 2014). Električna provodnost je jedan od parametara kvalitete koji je određen Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015), a sve više se koristi kao parametar za razlikovanje nektarnog meda od medljikovca (Karabagias i sur., 2014). Pravilnik o medu (Pravilnik, 2015) propisuje kako bi električna provodnost meda koji se stavlja na tržište trebala biti ispod 0,8 mS/cm, a za med od kestena i medljikovac iznad 0,8 mS/cm. Iznimke ovom pravilu su med od planike (*Arbutus unedo*), med od vrijesa (*Erica* spp.), med od eukaliptusa (*Eucalyptus* spp.), med od lipe (*Tilia* spp.), med od vrijeska (*Calluna vulgaris*), manukin med (*Leptospermum scoparium*), te med od čajevca (*Malaleuca* spp.) (Pravilnik, 2015).

2.3.5. Optička aktivnost

Med ima svojstvo zakretanja ravnine polarizirane svjetlosti, a kut zakretanja ovisi o vrsti i udjelu šećera u medu. Fruktaza zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u lijevo, dok glukoza, disaharidi i ostali oligosaharidi u desno, pa se zbog toga optička aktivnost meda koristi kao jedan od parametara za razlikovanje nektarnog meda i medljikovca, obzirom da medljikovac zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u desno, a nektarni med u lijevo (Mujić i sur., 2014; Bogdanov i sur., 2004).

2.3.6. Indeks refrakcije

Indeks refrakcije je fizikalna veličina koja je definirana kao omjer brzine svjetlosti u vakuumu i brzine svjetlosti u nekoj tvari. Na temelju indeksa refrakcije u medu se određuje udio vode, a mjeri se refraktometrom pri konstantnoj sobnoj temperaturi. Uređaj mjeri lom svjetlosti kada ona prolazi kroz otopinu meda i na taj način se može odrediti udio vode u medu kao i udio topljive suhe tvari (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.7. Specifična masa

Specifična masa meda se definira kao omjer mase meda i mase iste količine vode, a prije svega ovisi o udjelu vode u medu, ali i vrsti meda odnosno o vrsti medonosnog bilja od kojeg

potječe. Specifična masa kvalitetnih vrsta meda viša je od 1,42 te je i specifična masa meda jedan od parametara kvalitete (Vahčić i Matković, 2009).

2.4. PATVORENJE MEDA

Patvorenje se može definirati kao namjerna izmjena sastava ili svojstava dodavanjem tvari koje nisu njezini prirodni sastojci, u svrhu postizanja boljeg izgleda, okusa, boje, mirisa, viskoznosti i drugih senzorskih svojstava kao i u svrhu veće ekonomske isplativosti (Medved, 2021). Med se ubraja među najčešće patvorene namirnice, uz maslinovo ulje, mlijeko, šafran, sok od naranče, sok od jabuke i kavu, a razlog patvorenja je gotovo uvijek ekonomska isplativost, odnosno zamjena ili dodatak manje kvalitetnih i jeftinijih sastojaka ili izdvajanje visoko cjenjenih sastojaka u svrhu prodaje istih kao zaseban proizvod (Jaafar i sur., 2020).

Patvorenje meda je trenutno u porastu zbog sve veće potražnje za medom, a paralelnog smanjenja globalne populacije pčela radi klimatskih promjena, zagađenja okoliša i širenja bolesti (González, 2018). Potražnja za medom se povećava kako raste osviještenost potrošača o njegovom povoljnom učinku na zdravlje, pri čemu neka istraživanja ukazuju i na terapijska svojstva meda, na primjer kod gastrointestinalnih problema, srčanožilnih stanja, insomnije, osteoporoze i problema s jetrom (Mahmoudi i sur., 2016).

Patvorenje meda dijeli se na izravno patvorenje, gdje se sastojak i/ili sastojci izravno dodaju u med i na neizravno patvorenje, kada se pčele hrane šećernim sirupima kako bi prinos meda bio veći ili kada se med miješa medom niže kvalitete (Zábrodská i Vorlová, 2015). U med se najčešće dodaje visoko fruktozni sirup, ali i šećerni sirupi od kukuruza, pšenice i repe te invertni šećerni sirup (Se i sur., 2018). Dodatak ovih sirupa teško je detektirati laboratorijskim analizama jer je ugljikohidratni profil tih vrsta meda optimiran na način da je vrlo sličan profilu pravog meda (Zábrodská i Vorlová, 2015).

Na tržištu Europske Unije 40 % meda predstavlja med iz uvoza, a 2015. godine je više od 50 % uvezenog meda bilo podrijetlom iz Kine pri čemu je utvrđeno da je velik dio uvezenog meda bio patvoren šećernim sirupima dobivenim iz kukuruza ili trstike, usprkos otežanoj provodbi analiza potrebnih za detektiranje patvorenja meda na svim vanjskim granicama EU (Službeni list Europske Unije, 2018).

Patvorenje meda ima za posljedicu ugrožavanje zdravlja potrošača, dovođenje potrošača u zabludu kao i velike ekonomske posljedice. Konzumiranje patvorenog meda može dovesti do stanja povišenog šećera u krvi, koji je čimbenik rizika za razvoj dijabetesa tipa II, porasta lipida u krvi i visokog krvnog tlaka. Također, kako raste broj slučajeva patvorenja meda,

smanjuje se sigurnost potrošača obzirom na kvalitetu meda na tržištu, što predstavlja problem pčelarima koji provode dobru pčelarsku praksu i stavljaju na tržište kvalitetne proizvode (Fakhlai i sur., 2020).

2.4.1. Metode detekcije patvorenja meda

Med se najčešće patvori dodavanjem različitih šećernih sirupa, a to je većinom popraćeno procesom zagrijavanja radi postizanja boljeg otapanja te homogenosti. Tijekom procesa zagrijavanja u medu nastaje hidroksimetilfurfural (HMF), a povišene vrijednosti HMF-a su pokazatelj patvorenja. HMF se osim fizikalno-kemijskim metodama, može odrediti i tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti (engl. *High Performance Liquid chromatography, HPLC*), plinskom kromatografijom uparenom s masenom spektrometrijom (engl. *Gas Chromatography – Mass spectrometry, GC-MS*) i micelarnom elektrokinetičkom kromatografijom (engl. *Micellar Electrokinetic Chromatography, MEKC*) (Morales i sur., 2008).

Osim koncentracije HMF-a, kao jedan od parametara za detekciju patvorenja meda koristi se i enzimska aktivnost dijastaze i invertaze, a aktivnost invertaze se pokazala kao bolji parametar jer se razgrađuje brže tijekom procesa zagrijavanja meda (Fakhlai i sur., 2020).

Razvijene su mnoge analitičke metode koje se mogu provoditi u cilju detekcije direktnog dodavanja šećernog sirupa u med. Visoko djelotvorna kromatografija anionske izmjene s pulsnom amperometrijskom detekcijom (engl. *High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection, HPAEC-PAD*) koristi se za detekciju kukuruznog sirupa i visoko fruktuznog kukuruznog sirupa. Metoda se temelji na tretiranju uzoraka aktivnim ugljenom s ciljem uklanjanja monosaharida i disaharida meda, kako bi se potom mogli analizirati oligosaharidi meda i na temelju profila oligosaharida moglo zaključiti radi li se o patvorini. Metoda se pokazala kao brza i jeftina (Morales i sur., 2008).

HPLC, GC-MS kao i analiza omjera stabilnih izotopa ugljika (engl. *Stable Carbon Isotope Ratio Analysis, SCIRA*) se mogu koristiti kao metode detekcije dodatka visoko fruktoznog šećernog sirupa u med (Fakhlai i sur., 2020).

SCIRA služi kao metoda za detekciju dodatka šećernog sirupa kukuruza i šećernog sirupa šećerne trske u med, a bazira se na usporedbi omjera ugljikovih izotopa u medu ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) i omjera ugljikovih izotopa u proteinima koji su izdvojeni iz meda. Omjeri izotopa ugljika u proteinu i šećeru meda bi trebali biti isti ukoliko dolaze iz istog izvora, a usporedbom tih omjera može se zaključiti da li je med patvoren (White i sur., 1998).

Kako bi se detektirao kukuruzni šećerni sirup može se koristiti matricom potpomognuta laserska desorpcija/ionizacija spojena s masenom spektrometrijom (engl. *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Mass Spectrometry, MALDI-MS*), *headspace* plinska kromatografija spojena sa spektrometrijom ionske pokretljivosti (engl. *Headspace - Gas Chromatography–Ion Mobility Spectrometry, HS-GC-IMS*), kao i tekućinska kromatografija spojena sa masenom spektrometrijom za određivanje omjera stabilnih izotopa (engl. *Liquid Chromatography - Isotope Ratio Mass Spectrometry, LC-IRMS*) (Fakhlaei i sur., 2020).

LC-IRMS je brza metoda koja je razvijena s ciljem poboljšanja izotopne SCIRA metode, a koristi se za detekciju pojedinačnih šećera (saharoze, glukoze i fruktoze) kao i omjera ¹³C izotopa fruktoze, glukoze, di- i trisaharida. Ovom metodom može se detektirati dodatak šećernih sirupa biljaka poput repe, riže, pšenice, šećerne repe (Elflein i Raezke, 2008).

Dodatak šećernog sirupa može se odrediti i vezanim sustavom tekućinska kromatografija-tandemska masena spektrometrija (engl. *Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS*) koja je vrlo osjetljiva, ali i skupocjena tehnika. Primjenom ovih metoda detektira se specifični marker rižinog sirupa (2-acetil-3 glukopiranozid) koji se ne pojavljuje prirodno u medu (Zábrodská i Vorlová, 2015).

Jedna od tehnika detekcije indirektnog patvorenja je tekućinska kromatografija ultra visoke učinkovitosti spojena sa kvadropol-TOF (engl. *Time of Flight*) masenom spektrometrijom (engl. *Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time-Of-Flight Mass Spectrometry, UHPLC/Q-TOF-MS*). Pomoću ove metode može se detektirati indirektni dodatak visoko fruktuzog kukuruznog sirupa, rižinog sirupa i invertnog šećera (Arroyo-Manzanares i sur., 2019).

Jedna od tehnika koja se može koristiti za detekciju patvorenja miješanjem meda različitog podrijetla je i SDS-PAGE (engl. *Sodium Dodecyl-Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*), kojom se mogu razdvojiti proteini peludi meda i poslužiti kao biljezi podrijetla meda. Ovom se metodom mogu razdvojiti glavni proteini meda, koji se ovisno o pasmini pčela razlikuju po svojoj molekulskoj masi, te mogu predstavljati indikator podrijetla meda (Mehryar i Esmaili, 2011).

Botaničko podrijetlo meda može se odrediti analizom flavonoida, peludi, aromatskih komponenata, a električna provodnost, kiselost, pH, udio šećera, boja, profil i udio oligosaharida, aminokiselina i mineralnih tvari koriste se pri određivanju zemljopisnog podrijetla. Botaničko podrijetlo meda se često određuje fizikalno-kemijskim analizama, peludnom analizom i senzorskom analizom (Zábrodská i Vorlová, 2015). Peludna analiza se temelji se na brojanju zrna peludi mikroskopom, kao i uočavanju razlika u boji, obliku, građi i

veličini peludnih zrnca, obzirom da svaka od biljaka pokazuje karakteristična svojstva Metoda zahtjeva stručne i uvježbane analitičare, a prednost je njezina cijena (Bogdanov i Martin, 2002).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

U ovom diplomskom radu provedene su analize fizikalno-kemijskih parametara uzoraka (n = 41) različitih vrsta meda, koji predstavljaju dio uzoraka analiziranih u okviru 16. Međunarodnog natjecanja pčelara u kvaliteti meda - Zzzagimed 2020. Pri tome su svi uzorci poznatog podrijetla s područja Republike Hrvatske iz sezone 2020.

Analizirani uzorci uključivali su:

- 12 uzoraka medljikovca
- 7 uzoraka cvjetnog meda
- 5 uzoraka meda od kestena
- 5 uzoraka livadnog meda
- 3 uzorka meda od trušljike
- 2 uzorka meda od vriska
- 1 uzorak meda od amorfe
- 1 uzorak meda od mandarine
- 1 uzorak meda od vrbe
- 1 uzorak meda od divlje trešnje
- 1 uzorak šumskog meda
- 1 uzorak meda od lipice
- 1 uzorak meda od kadulje.

Kod svih navedenih uzoraka provedene su analize sljedećih fizikalno-kemijskih parametara: maseni udio vode, električna provodnost, kiselost, maseni udio hidroksimetilfurfurala (HMF), maseni udio reducirajućih šećera i maseni udio saharoze.

3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema uzoraka za analizu

Uzorci meda se za analizu pripremaju ovisno o njihovoj konzistenciji.

Ako je uzorak meda u tekućem stanju potrebno ga je prije početka analize lagano izmiješati staklenim štapićem ili protresti.

Ako je uzorak meda granuliran potrebno ga je zagrijati u vodenoj kupelji u trajanju od 30 min pri temperaturi od 60 °C do 65 °C. Prilikom zagrijavanja med je potrebno povremeno promiješati štapićem ili kružnim pokretima protresti, a nakon što je zagrijavanje završeno, brzo ohladiti.

U slučaju da se uzorcima meda određuje hidrosimetilfurfural ili dijastaza uzorci meda se ne podvrgavaju zagrijavanju jer to može dovesti do pogrešnih rezultata analize jer temperatura ima utjecaj na udio tih parametara.

Ako uzorak meda sadrži strane tvari, kao što su vosak, dijelovi pčela ili saća, uzorak se tretira zagrijavanjem vodenoj kupelji pri 40 °C i nakon toga se procjeđuje kroz tkaninu, koja se stavlja na ljepilo zagrijavano toplom vodom.

Ako se med nalazi u saću, potrebno je otvoriti saće te procijediti med kroz žičano sito s kvadratnim otvorima promjera veličine 0,5 mm x 0,5 mm. Ukoliko dio saća ili voska unatoč ovom postupku dospije u med potrebno je provesti isti postupak kao i kod granuliranog meda, odnosno uzorak zagrijati u vodenoj kupelji kroz 30 min pri temperaturi od 60 °C do 65 °C uz povremeno miješanje te nakon opisanog postupka uzorak brzo ohladiti.

U slučaju da je med u saću granuliran, on se zagrijava s ciljem da se vosak otopi te se tad promiješa i ohladi. Nakon hlađenja potrebno je ukloniti vosak iz uzoraka meda (IHC, 2009).

3.2.2. Određivanje udjela vode u medu

Princip metode:

Metoda se temelji na refraktometrijskom određivanju (IHC, 2009)

Aparatura i pribor:

- staklene laboratorijske čaše volumena 250 mL
- staklene menzure od 50 mL
- stakleni štapić
- tehnička vaga tip ET 1111, Tehtnica, Železiniki
- refraktometar Model I, Carl Zeiss (Jena, Njemačka).

Određivanje i izračun:

Indeks refrakcije uzorka mjeri se refraktometrom pri stalnoj sobnoj temperaturi, te se na temelju dobivenog indeksa refrakcije izračuna količina vode (% m/m) u medu pomoću tablice za proračun udjela vode u medu (Tablica 1).

Ako se indeks refrakcije određuje pri nešto višoj ili nižoj temperaturi potrebno je napraviti korekciju indeksa refrakcije na sljedeći način:

- A) ako je temperatura viša od 20 stupnjeva, potrebno je dodati 0,00023 za svaki °C
 - B) ako je temperatura niža od 20 stupnjeva, potrebno je oduzeti 0,00023 za svaki °C
- (IHC, 2009)

Tablica 1. Tablica za izračun udjela vode u medu (IHC, 2009)

Udio vode (%)	Indeks refrakcije (20 °C)	Udio vode (%)	Indeks refrakcije (20 °C)	Udio vode (%)	Indeks refrakcije (20 °C)
13,0	1,5044	17,2	1,4935	21,4	1,4830
13,2	1,5038	17,4	1,4930	21,6	1,4825
13,4	1,5033	17,6	1,4925	21,8	1,4820
13,6	1,5028	17,8	1,4920	22,0	1,4815
13,8	1,5023	18,0	1,4915	22,2	1,4810
14,0	1,5018	18,2	1,4910	22,4	1,4805
14,2	1,5012	18,4	1,4905	22,6	1,4800
14,4	1,5007	18,6	1,4900	22,8	1,4795
14,6	1,5002	18,8	1,4895	23,0	1,4790
14,8	1,4997	19,0	1,4890	23,2	1,4785
15,0	1,4992	19,2	1,4885	23,4	1,4780
15,2	1,4987	19,4	1,4880	23,6	1,4775
15,4	1,4982	19,6	1,4875	23,8	1,4770
15,6	1,4976	19,8	1,4870	24,0	1,4765
15,8	1,4971	20,0	1,4865	24,2	1,4760
16,0	1,4966	20,2	1,4860	24,4	1,4755
16,2	1,4961	20,4	1,4855	24,6	1,4750
16,4	1,4956	20,6	1,4850	24,8	1,4745
16,6	1,4951	20,8	1,4845	25,0	1,4740
16,8	1,4946	21,0	1,4840		
17,0	1,4940	21,2	1,4835		

3.2.3. Određivanje električne provodnosti meda

Princip metode:

Električna provodnost meda se mjeri pomoću konduktometra na principu mjerenja električne otpornosti koja je obrnuto-proporcionalna električnoj provodnosti. Metoda je pogodna za određivanje meda u rasponu od 0,1 do 3 mS/cm (IHC, 2009).

Aparatura i pribor:

- staklene laboratorijske čaše volumena 100 mL
- plastične čašice za odvagu uzorka
- odmjerne tikvice volumena 100 mL
- stakleni štapić
- tehnička vaga tip ET 1111, Tehtnica, Železiniki
- konduktometar Mettler – Toledo 8603, Mettler – Toledo GmbH (Schwerzenbach, Švicarska).

Određivanje i izračun:

Izvaže se oko 20 g meda tj. količina meda koja odgovara tabličnoj vrijednosti utvrđenoj po udjelu vode za svaki ispitivani uzorak i otopi se u plastičnoj čašici s destiliranom vodom. Zatim se pomoću staklenog štapića ulije u odmjernu tikvicu volumena 100 mL te se zatim odmjerna tikvica nadopuni do oznake. 40 mL tako pripremljene 20 % otopine meda prelije se u staklenu čašu i elektroda konduktometra se uroni u otopinu. Nakon svakog uzorka, elektrodu je potrebno isprati destiliranom vodom te obrisati.

Mjerenje se izvodi pri stalnoj temperaturi od 20 stupnjeva te ako temperatura prilikom mjerenja odstupa od 20 stupnjeva provodi se korekcija temperature na sljedeći način:

- a) ako je temperatura viša od 20 stupnjeva, potrebno je oduzeti 3,2 % vrijednosti za svaki °C.
- b) ako je temperatura niža od 20 stupnjeva, potrebno je dodati 3,2 % vrijednosti za svaki °C.

Električna provodnost izračunava se pomoću sljedeće jednadžbe:

$$S_H = K \times G \quad [1]$$

gdje je:

S_H - električna otpornost meda (mS/cm)

K - konstanta elektrode (1/cm)

G -provodnost (mS) (IHC, 2009).

3.2.4. Određivanje kiselosti meda

Princip metode:

Metoda određivanja kiselosti meda je titracijska metoda, kod koje se uzorak titrira otopinom 0,1 mol/L natrijevog hidroksida uz dodatak fenolftaleina kao indikatora, do vidljive promjene boje meda u blago ružičastu boju (IHC, 2009).

Aparatura i pribor:

- Erlenmeyerova tikvica volumena 100 mL
- plastične čašice za odvagu meda
- staklena menzura volumena 100 mL
- stakleni štapić
- bireta
- tehnička vaga tip ET 1111, Tehtnica, Železniki.

Reagensi:

- Otopina natrijevog hidroksida, c (NaOH) = 0,1 mol/L bez karbonata, Gram – mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- 1%-tna otopina fenolftaleina (m/V) u etanolu, neutralizirana
- destilirana voda bez CO₂ dobivena kuhanjem, pa potom ohlađena.

Određivanje i izračun:

Potrebno je izvagati 10 g uzorka i otopiti u 75 mL destilirane vode u Erlenmeyerovoj tikvici. Zatim se dodaje od 4 do 5 kapi fenolftaleina kao indikatora i titrira se otopinom natrijevog hidroksida (0,1 mol/L) do pojave blago ružičaste boje koja mora biti postojana minimalno 10 sekundi.

Kiselost se izračunava pomoću sljedeće jednadžbe:

$$\text{Kiselost} = 10 \times V [2]$$

gdje je:

V – volumen utrošenog 0,1 mol NaOH/L za neutralizaciju 10 g meda izražen u mL

(IFC, 2009).

3.2.5. Određivanje hidrokсимetilfurfurala u medu

Princip metode:

Metoda koja je korištena za određivanje udjela hidrokсимetilfurfurala u medu bazira se na metodi po Winkleru. Alikvot otopine meda, otopina barbiturne kiseline i otopina *p*-toluidina se pomiješaju te se absorbancija takve smjese mjeri spektrofotometrom pri valnoj duljini 550 nm u odnosu na slijepu probu (IHC,2009).

Aparatura i pribor:

- staklene laboratorijske čaše volumena 50 mL
- odmjerne tikvice volumena 100 mL
- odmjerne tikvice volumena 50 mL
- stakleni lijevci
- filter papir
- stakleni štapići
- staklene epruvete
- automatska pipeta
- kivete promjera 1 cm
- analitička vaga, osjetljivost $\pm 0,0001$ g, tip Shimadzu AX200 (Kyoto, Japan)
- spektrofotometar UV-1280, Shimadzu (Kyoto, Japan).

Reagensi:

- barbiturna kiselina, Gram – mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- *p*-toluidin, 99 % crystalline molten mass (Njemačka)
- ledena octena kiselina, CARLO ERBA Reagents S.A.S. (Val-de-Reuil, Francuska)
- 2-propanol, Lach-Ner s.r.o. (Neratovice, Češka)
- kalijev-heksacijanoferat (II), Gram – mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- cinkov acetat, Fisher Scientific UK Ltd (Loughborough, Ujedinjeno Kraljestvo).

Priprema reagensa:

1. Otopina barbiturne kiseline

Potrebno je izvagati 0,5 g barbiturne kiseline koja se zatim treba otopiti u 70 mL deionizirane vode i prenijeti u odmjernu tikvicu od 100 mL. Stavi se zatim u vodenu kupelj

kako bi se otopila grijanjem. Nakon što se ohladi na sobnu temperaturu, odmjernu tikvicu potrebno je deioniziranom vodom dopuniti do oznake.

2. Otopina *p*-toluidina

Izvaže se 10 g *p*-toluidina te ga se zatim otopi u 50 mL 2-propanola grijanjem u vodenoj kupelji. Otopina se zatim prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL pomoću staklenog štapića i nekoliko mL 2-propanola i doda se 10 mL ledene octene kiseline. Kada se dobivena otopina ohladi na sobnu temperaturu, odmjerna tikvica se nadopuni do oznake s 2-propanolom te ju je potrebno pustiti da odstoji minimalno 24 sata na tamnom mjestu. Tako pripremljena otopina *p*-toluidina se može koristiti najviše 3 dana.

3. Carrezova otopina I

Potrebno je izvagati 15 grama kalijevo heksacijanoferata (II) i otopiti u 100 mL deionizirane vode.

4. Carrezova otopina II

Potrebno je izvagati 30 grama cinkovog acetata i otopiti u 100 mL deionizirane vode.

Priprema otopine uzorka:

Potrebno je odvagati 10 grama meda i otopiti pomoću destilirane vode u čaši te kvantitativno pomoću staklenog štapića prenijeti u odmjernu tikvicu od 50 mL. U odmjernu tikvicu se zatim dodaje 1 mL Carrezove otopine I te se otopina tada promiješa te zatim dodaje 1 mL Carrezove otopine II te je zatim opet potrebno dobro promiješati. Odmjerna tikvica se zatim dopuni do oznake deioniziranom vodom te još jednom promiješa. Tako pripremljena otopina se zatim filtrira uz pomoć filter papira. Prvih 10 mL filtrata se baci, a ostatak koristi za analizu. U slučaju da su uzorci vrlo bistri, dodatak Carrezove otopine I i Carrezove otopine II nije nužan.

Određivanje i izračun:

Potrebno je otpipetirati po 2 mL pripremljene otopine uzorka u dvije epruvete, od kojih je jedna slijepa proba. U obje epruvete dodaje se 5 mL otopine *p*-toluidina, a zatim u jednu epruvetu 1 mL otopine barbiturne kiseline te se otopina lagano promiješa, a u drugu epruvetu se doda 1 mL deionizirane vode (slijepa proba). Reagensi se moraju dodavati jedan za drugim i ovaj dio ne smije trajati više od 2 minute. Intenzitet boje dosegne svoj maksimum nakon 3 – 4 minute i tada se otopina iz epruvete prebaci u kivetu te se očita apsorbancija pri valnoj duljini od 550 nm.

Udio hidroksimetilfurfurala (mg/kg) se određuje prema sljedećoj jednadžbi:

$$HMF = \frac{192 \times A \times 10}{m} [3]$$

gdje je:

A - apsorbancija

192- faktor razrjeđivanja i koeficijent apsorbancije

m- masa meda (g).

3.2.6. Određivanje udjela reducirajućih šećera u medu

Princip metode:

Metoda korištena za određivanje udjela reducirajućih šećera u medu temelji se na redukciji Fehlingove otopine titracijom pomoću otopine reducirajućih šećera iz meda i metilenskog modrog bojila kao indikatora.

Aparatura i pribor:

- laboratorijske čaše volumena 100 i 250 mL
- Erlenmeyerove tikvice volumena 100 i 200 mL
- odmjerne tikvice volumena 100 i 300 mL
- menzura volumena 100 mL
- stakleni lijevci
- stakleni štapići
- bireta
- stakleni filter
- porculanski filter
- eksikator
- plamenik
- analitička vaga, osjetljivost $\pm 0,0001$ g, tip Shimadzu AX200 (Kyoto, Japan)
- vodena kupelj, Inko Zagreb
- zračna sušnica tip ST – 01/02, Instrumentaria Zagreb.

Reagensi:

- bakrov (II) sulfat pentahidrat, Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- kalijev natrijev tartarat, Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- natrijev hidroksid, Gram-mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- klorovodična kiselina, CARLO ERBA Reagents S.A.S. (Val-de-Reuil, Francuska)
- metilensko modro bojilo, Kemika d.d. (Zagreb, Hrvatska).

Priprema reagensa:

1. Fehlingova otopina

Otopina A: Izvaže se 69,28 grama bakrovog (II) sulfata pentahidrata ($\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$) i otopi se u 1 L deionizirane vode. Otopinu je potrebno pustiti 24 sata da odstoji.

Otopina B: Izvaže se 346 grama kalijevog natrijevog tartarata ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \times 4 \text{H}_2\text{O}$) i 100 grama natrijevog hidroksida (NaOH) i otopi u 1 L deionizirane vode. Zatim se otopina filtrira.

2. Standardna otopina invertnog šećera (10 g/L vode)

Izvaže se 9,5 grama čiste saharoze te je u odmjernu tikvicu volumena 100 mL potrebno dodati 5 mL klorovodične kiseline (oko 36,5 %) te ju nadopuniti deioniziranom vodom do oznake. Otopinu je tada potrebno pohraniti nekoliko dana ovisno o temperaturi (do sedam dana pri temperaturi od 12 do 15 °C i do 3 dana pri temperaturi od 20 do 25 °C) i zatim ju se razrijedi do volumena od 1000 mL. Neposredno prije uporabe potrebno je otopinu neutralizirati sa 1 mol otopinom NaOH/L te ju razrijediti do potrebne koncentracije (2 g/L) – standardna otopina.

3. Otopina metilenskog modrila

Izvaže se 2 g metilenskog modrog bojila i otopi u destiliranoj vodi i doda se destilirane vode do volumena od 1 L.

4. Stipsa (alaun)

Potrebno je pripremiti hladno zasićenu otopinu $\text{K}_2\text{SO}_4\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \times 24 \text{H}_2\text{O}$ u vodi. Uz stalno miješanje staklenim štapićem polako se zatim dodaje amonijev hidroksid dok otopina ne postane alkalna što se provjerava lakmus papirom. Nakon toga otopina se pusti da se slegne i provede se ispiranje vodom uz dekantiranje sve dok je voda slabo pozitivna na sulfate, a to se provjerava otopinom barijevog klorida. Zatim se višak vode odlije, a pasta se pohrani u boci s brušenim čepom.

Određivanje i izračun:

Potrebno je izvagati 2 grama uzorka meda (W) i otopiti ga u malom volumenu destilirane vode te kvantitativno prenijeti pomoću staklenog štapića u odmjernu tikvicu volumena 200 mL te ju nadopuniti deioniziranom vodom do oznake (otopina meda).

Zatim je potrebno 50 mL otopine meda otpipetirati u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i tikvicu nadopuniti deioniziranom vodom do oznake kako bi dobili razrijeđenu otopinu meda.

Standardizacija Fehlingove otopine:

Potrebno je otpipetirati 5 mL Fehlingove otopine A i 5 mL Fehlingove otopine B. Tako pripremljena otopina mora potpuno reagirati s 0,05 grama invertnog šećera dodanog kao 25 mL standardne otopine invertnog šećera (2 g/L).

Prethodna titracija:

Svrha izvođenja prethodne titracije je da se odredi volumen vode koji je potreban dodati uzorku meda kako bi se osigurala redukcija pri konstantnom volumenu, budući da med prema Pravilniku od medu (Pravilnik, 2015) ne smije sadržavati više od 60 % reducirajućih šećera te da ukupan volumen nakon titracije mora iznositi 35 mL, što se postiže dodavanjem određenog volumena vode prije početka titracije. Potrebni volumen vode se izračuna na način da se utrošeni volumen razrijeđene otopine meda (X mL) oduzme od 25 mL.

Potrebno je otpipetirati 5 mL Fehlingove otopine A i 5 mL Fehlingove otopine B u Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL. Zatim se dodaje 7 mL deionizirane vode, malo plovuća i 15 mL razrijeđene otopine meda iz birete. Otopinu je potrebno zagrijavanjem dovesti do točke vrenja i zadržati je na toj temperaturi 2 minute. Nakon toga dodaje se 1 mL 0,2 % -tne otopine metilenskog modrog bojila kao indikator reakcije redukcije. Titracija se završava kada se izgubi boja indikatora, a volumen razrijeđene otopine meda utrošen za titraciju označi se s „X mL“. Titracija ne smije trajati više od 3 minute.

Određivanje i izračun:

Potrebno je otpipetirati 5 mL Fehlingove otopine A i 5 mL Fehlingove otopine B u Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL. Zatim se dodaje (25-X mL) deionizirane vode, malo plovuća i razrijeđena otopina meda iz birete tako da za titraciju ostane oko 1,5 mL (X mL – 1,5 mL). Tako pripremljena smjesa se zagrijava do točke vrenja te se na toj temperaturi zadrži 2 minute. Dodaje se 0,2 %-tna otopina metilenskog modrog bojila kao indikatora. Titracija razrijeđenom otopinom meda je gotova kada dođe do obezbojenja indikatora i može trajati najviše 3 minute. Utrošena količina razrijeđene otopine meda korištene pri titraciji označi se s „Y mL“.

Invertni šećer se izražava u g/100g (%) te određuje putem sljedeće jednadžbe:

$$C = \frac{2}{W} \times \frac{1000}{Y} \quad [4]$$

gdje je:

C – masa invertnog šećera u g/100 g meda

W - masa uzorka (g)

Y – volumen razrijeđene otopine meda, utrošenog za titraciju (mL)

(IHC, 2009).

3.2.7. Određivanje udjela saharoze

Princip:

Metoda kojom se određuje udio saharoze u medu temelji se na hidrolizi saharoze te redukciji Fehlingove otopine titracijom otopinom reducirajućih šećera iz meda uz metilensko modro bojilo kao indikator.

Reagensi:

- prethodno pripremljena Fehlingova otopina A i Fehlingova otopina B
- standardna otopina invertnog šećera
- otopina klorovodične kiseline (c = 6,34 mol/L)
- otopina natrijevog hidroksida (c = 5 mol/L)
- metilensko modro bojilo (2 g/L)

Priprema reagensa opisana je u metodi određivanja reducirajućih šećera.

Priprema uzorka:

Potrebno je odvagati 2 grama uzorka meda te otopiti u maloj količini deionizirane vode te pomoću staklenog štapića kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu volumena 200 mL te ju zatim nadopuniti deioniziranom vodom do oznake. Zatim slijedi hidroliza saharoze u medu koja se odvija na način da se 50 mL pripremljene otopine meda otpipetira u odmjernu tikvicu volumena 100 mL te se u nju doda još 25 mL deionizirane vode. Uzorak se zatim zagrijava u vodenoj kupelji na temperaturi od 65 °C u trajanju od 10 minuta, s time da ga je prvih 3 minute potrebno miješati. Nakon toga otopina se ohladi na temperaturu od 20 °C i tada se provede reakcija neutralizacije pomoću natrijevog hidroksida koja se prati lakmus papirom kao

indikatorom uspješno provedene reakcije neutralizacije. Otopina se zatim ohladi na sobnu temperaturu te se zatim odmjerna tikvica nadopuni razrijeđenom otopinom meda do oznake.

Određivanje i izračun:

Određivanje udjela saharoze se provodi na jednaki način opisan kod određivanja udjela reducirajućih šećera, odnosno uz provođenje prethodne titracije te određivanje količine invertnog šećera prije inverzije.

Udio saharoze izračunava se na način da se prvo izračuna postotak invertnog šećera nakon inverzije primjenjujući jednadžbu za određivanje postotka invertnog šećera prije inverzije, te se nakon toga udio saharoze može izračunati koristeći sljedeću jednadžbu:

Masa saharoze (g/100g meda) = (količina invertnog šećera nakon inverzije – količina invertnog šećera prije inverzije) x 0,95(IHC, 2009).

3.2.8. Obrada rezultata

Dobiveni rezultati su analizirani pomoću Microsoft Excel programa, te su metodama deskriptivne statistike izračunate srednja vrijednost, standardna devijacija, varijanca i koeficijent varijabilnosti.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Istraživanjem su analizirani fizikalno-kemijski parametri na ukupno 41 uzorku različitih vrsta meda (medljikovac (n = 12), cvjetni (n = 7), kesten (n = 5), livadni (n = 5), trušljika (n = 3), vrisak (n = 2), amorfa (n = 1), mandarina (n = 1), vrba (n = 1), divlja trešnja (n = 1), šumski (n = 1), lipica (n = 1), kadulja (n = 1)) podrijetlom iz Republike Hrvatske, a uključenim u 16. Međunarodno natjecanje pčelara u kvaliteti meda - Zzzagimed 2020. Fizikalno-kemijski parametri uključivali su udio vode (%), kiselost (mEq/kg), električnu provodnost (mS/cm), udio hidroksimetilfurfurala (mg/kg), maseni udio reducirajućih šećera (%) te maseni udio saharoze (%). Dobiveni rezultati analiza su statistički obrađeni korištenjem programa Microsoft Excel te su izračunate srednja vrijednost, standardna devijacija, varijanca i koeficijent varijabilnosti koje su prikazane u tablicama 2. - 14. U tablicama su također prikazani zahtjevi Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015) obzirom na analizirane parametre, u svrhu usporedbe vrijednosti.

4.1. Fizikalno-kemijski parametri analiziranih uzoraka meda

Tablica 2. Rezultati analiza fizikalno-kemijskih parametara za uzorke medljikovca i statistička analiza podataka (n=12)

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/71	15,08	19,25	1,23	4,61	63,43	3,78
2/78	18,00	39,19	1,03	5,95	63,10	1,15
3/79	17,00	12,11	1,46	4,03	65,26	2,87
4/80	15,00	16,22	1,26	3,65	59,08	1,49
5/83	15,40	23,93	1,25	0,00	64,41	2,53
6/85	15,92	17,93	1,15	4,99	70,57	0,00
7/90	18,28	21,82	0,64	2,88	64,65	2,56
8/91	18,12	28,08	0,28	6,14	70,57	0,19
9/92	17,48	20,00	0,40	11,52	71,02	0,98
10/98	18,60	27,83	0,43	22,66	66,49	2,11
11/106	15,53	19,88	1,17	4,03	59,08	2,18
12/111	16,93	27,27	0,38	8,06	60,57	0,00
Srednja vrijednost	16,78	22,79	0,89	6,54	64,85	1,65
Standardna devijacija	1,34	7,10	0,43	5,80	4,23	1,22
Varijanca	1,79	50,39	0,18	33,69	17,87	1,49
Koeficijent varijabilnosti	7,97	31,14	48,25	88,70	6,52	73,90
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≥0,8	≤40	≥45	≤5

Kao što je u Tablici 2. prikazano, u analiziranim uzorcima medljikovca (n=12) maseni udio vode se kreće u rasponu od 15,08 do 18,60 % sa srednjom vrijednosti 16,78 % , dok se kiselost kreće od 12,11 do 39,19 mEq/kg sa srednjom vrijednosti od 22,79 mEq/kg. Vrijednost električne provodnosti analiziranih uzoraka u rasponu je od 0,28 do 1,46 mS/cm sa srednjom vrijednosti od 0,89 mS/cm, a uzorci (n=4) 7/90 (0,64 mS/cm), 8/91 (0,28 mS/cm), 9/92 (0,40 mS/cm), 10/98 (0,43 mS/cm) imaju provodnost manju od 0,8 mS/cm što znači da ne zadovoljavaju zahtjev Pravilnika (Pravilnik, 2015). Maseni udio HMF-a u analiziranim uzorcima medljikovca u rasponu je od 0 do 22,66 mg/kg sa srednjom vrijednosti od 6,54 mg/kg. Maseni udio reducirajućih šećera analiziranih uzoraka kreće se od 59,08 do 71,02 % sa srednjom vrijednosti od 64,85 %, dok maseni udio saharoze analiziranih uzoraka meda iznosi od 0 do 3,78 % sa srednjom vrijednosti 1,65 %.

Tablica 3. Rezultati analiza fizikalno-kemijskih parametara za uzorke cvjetnog meda i statistička analiza podataka (n=7)

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/1	15,88	28,17	0,31	4,61	61,27	1,59
2/2	17,32	39,66	0,51	12,86	68,13	0,89
3/ 4	17,72	29,35	0,36	2,30	61,57	2,43
4/5	17,40	23,41	0,64	4,22	71,51	0,49
5/6	16,52	25,17	0,69	20,93	59,05	3,81
6/10	17,00	24,95	0,85	8,06	69,08	1,49
7/19	15,84	27,86	0,30	19,20	71,06	0,94
Srednja vrijednost	16,81	28,37	0,52	10,31	65,95	1,66
Standardna devijacija	0,75	5,40	0,21	7,49	5,17	1,13
Varijanca	0,56	29,21	0,05	56,16	26,71	1,29
Koeficijent varijabilnosti	4,45	19,05	40,75	72,67	7,84	68,26
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

U Tablici 3 može se vidjeti kako se vrijednosti masenog udjela vode u analiziranim uzorcima cvjetnog meda (n=7) kreću u rasponu od 15,84 do 17,72 % sa srednjom vrijednosti od 16,81 %. Kiselost cvjetnog meda u rasponu je od 23,41- 39,66 mEq/kg sa srednjom vrijednosti od 28,37 mEq/kg, dok je električna provodnost analiziranih uzoraka u rasponu od 0,30 do 0,85 mS/cm sa srednjom vrijednosti od 0,52 mS/cm. Električna provodnost uzorka 6/10 iznosi 0,85 mS/cm, što je više od najviše dopuštene električne provodnosti propisane Pravilnikom (Pravilnik, 2015). Maseni udio HMF-a analiziranih uzoraka kreće se od 2,30 do 20,93 mg/kg sa srednjom vrijednosti od 10,31 mg/kg, a vrijednosti masenih udjela reducirajućih šećera analiziranih uzoraka cvjetnog meda nalaze se u rasponu od 59,05 do 71,51 % sa srednjom vrijednosti od 65,95 %. Uzorak pod oznakom 5/6 (59,05 %) ne udovoljava zahtjevima Pravilnika (Pravilnik, 2015), iako svojom vrijednošću ne istupa značajno. Maseni udio saharoze u ispitivanim uzorcima kreće se od 0,49 do 3,81 % sa srednjom vrijednosti od 1,66 %, čime zadovoljava zahtjev za taj parametar.

Tablica 4. Rezultati analiza fizikalno-kemijskih parametara za uzorke meda od kestena i statistička analiza podataka (n=5)

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/86	18,36	23,95	1,20	2,69	59,86	0,49
2/96	16,16	13,93	0,92	0,00	64,25	3,70
3/97	20,20	14,95	1,36	6,91	57,03	1,11
4/120	18,12	35,59	1,42	7,87	60,57	1,43
5/123	17,00	29,20	1,43	0,00	60,57	0,69
Srednja vrijednost	17,97	23,52	1,27	3,49	60,46	1,48
Standardna devijacija	1,53	9,27	0,21	3,74	2,57	1,29
Varijanca	2,34	85,89	0,05	13,98	6,63	1,67
Koeficijent varijabilnosti	8,52	39,40	16,90	106,99	4,26	87,03
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≥0,8	≤40	≥60	≤5

Kako slijedi iz Tablice 4, maseni udio vode u analiziranim uzorcima meda od kestena (n=5) se kreće od 16,16 do 20,20 % sa srednjom vrijednosti od 17,97 %, a uzorak 3/97, čiji je maseni udio vode 20,2 % ne zadovoljava zahtjev Pravilnika (Pravilnik, 2015) koji propisuje da je najviši dozvoljeni udio vode u medu 20 %, iako nije značajno iznad dozvoljene granice. Vrijednost kiselosti meda od kestena u rasponu je od 13,93 do 35,59 mEq/kg sa srednjom vrijednosti od 23,53 mEq/kg, dok se električna provodnost kreće u rasponu od 0,92 do 1,43 mS/cm sa srednjom vrijednosti 1,27 mS/cm. Med od kestena trebao bi imati električnu provodnost najmanje 0,8 mS/cm, što znači da svi analizirani uzorci meda od kestena zadovoljavaju Pravilnik (Pravilnik, 2015). Maseni udio HMF-a u ispitivanim uzorcima u rasponu je od 0 do 7,87 mg/kg sa srednjom vrijednosti od 3,49 mg/kg. Vrijednosti masenog udjela reducirajućih šećera analiziranih uzoraka nalaze se u rasponu od 57,03 do 60,57 % sa srednjom vrijednosti od 60,46 %. Uzorci 1/86 (59,86 %) i 3/97 (57,03 %) ne udovoljavaju zahtjevima Pravilnika (Pravilnik, 2015). Maseni udio saharoze u ispitivanim uzorcima meda od kestena u rasponu je od 0,49 do 3,70 % sa srednjom vrijednosti od 1,48 %.

Tablica 5. Rezultati analiza fizikalno-kemijskih parametara za uzorke livadnog meda i statistička analiza podataka (n=5)

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/41	16,72	26,39	0,44	0,00	64,41	0,33
2/44	18,00	22,04	1,08	3,46	65,26	1,68
3/46	15,47	42,80	1,02	5,38	61,57	2,93
4/49	17,40	27,35	0,38	29,95	70,60	2,72
5/59	16,80	23,88	0,26	9,02	70,06	1,82
Srednja vrijednost	16,88	28,49	0,64	9,56	66,38	1,90
Standardna devijacija	0,94	8,27	0,38	11,86	3,86	1,03
Varijanca	0,89	68,34	0,15	140,57	14,91	1,06
Koeficijent varijabilnosti	5,58	29,01	60,47	124,00	5,82	54,38
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

Kao što je prikazano u Tablici 5, maseni udio vode u analiziranim uzorcima livadnog meda (n=5) kreće se u rasponu od 15,47 do 18 % sa srednjom vrijednosti od 16,88 %, dok se kiselost livadnog meda kreće od 22,04 do 42,8 mEq/kg sa srednjom vrijednosti od 28,49 mEq/kg. Vrijednosti električne provodnosti analiziranih uzoraka livadnog meda nalaze se u rasponu od 0,26 do 1,10 mS/cm sa srednjom vrijednosti 0,64 mS/cm, a električna provodnost uzoraka (n=2) 2/44 (1,10 mS/cm) i 3/46 (1,02 mS/cm) viša je od 0,8 mS/cm, što je najviša dopuštena električna provodnost određena važećim Pravilnikom (Pravilnik, 2015). Maseni udio HMF-a u ispitivanim uzorcima u rasponu je od 0 do 29,95 mg/kg sa srednjom vrijednosti od 9,56 mg/kg. Maseni udio reducirajućih šećera je u analiziranim uzorcima livadnog meda u rasponu od 61,57 do 70,60 % sa srednjom vrijednosti od 66,38 %, dok se maseni udio saharoze kreće u rasponu od 0,33 do 2,93 % sa srednjom vrijednosti 1,90 %.

Tablica 6. Rezultati analiza fizikalno-kemijskih parametara za uzorke meda od trušljike i statistička analiza podataka (n=3)

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/113	16,36	29,76	0,82	5,57	60,57	0,69
2/115	17,08	17,25	0,27	9,98	65,61	1,51
3/116	16,72	17,95	0,27	8,45	64,92	0,95
Srednja vrijednost	16,72	21,65	0,45	8,00	63,70	1,05
Standardna devijacija	0,36	7,03	0,32	2,24	2,73	0,42
Varijanca	0,13	49,41	0,10	5,03	7,47	0,18
Koeficijent varijabilnosti	2,15	32,46	70,78	28,02	4,29	39,91
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

Iz Tablice 6 može se vidjeti kako se vrijednosti masenog udjela vode meda od trušljike (n=3) kreću u rasponu od 16,36 do 17,08 % sa srednjom vrijednosti od 16,72 %, dok se kiselost kreće u rasponu od 17,25 do 29,76 mEq/kg sa srednjom vrijednosti od 21,65 mEq/kg. Električna provodnost ispitivanih uzoraka nalazi se u rasponu od 0,27 do 0,82 mS/cm sa srednjom vrijednosti od 0,45 mS/cm te svi uzorci zadovoljavaju zahtjev važećeg Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015). Vrijednosti masenog udjela HMF-a u rasponu su od 5,57 do 9,98 mg/kg sa

srednjom vrijednosti 8,00 mg/kg, a masenog udjela reducirajućih šećera od 60,57 do 65,61 % sa srednjom vrijednosti koja iznosi 63,70 %. Maseni udio saharoze analiziranih uzoraka meda od trušljike u rasponu je od 0,69 do 1,51 % sa srednjom vrijednosti od 1,05 %.

Tablica 7. Rezultati analiza fizikalno-kemijskih parametara za uzorke meda od vriska (n=2)

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/124	17,80	21,00	0,74	0,00	65,26	1,86
2/125	17,00	21,87	1,02	0,00	66,85	3,72
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

Kako slijedi iz Tablice 7, maseni udjeli vode meda od vriska (n=2) iznose 17,00 % i 17,80 %, dok vrijednosti kiselosti iznose 1,86 mEq/kg i 3,72 mEq/kg. Električna provodnost analiziranih uzoraka vriska iznosi 0,74 mS/cm i 1,02 mS/cm. Uzorak 2/125 (1,02 mS/cm) po pitanju električne provodnosti ne zadovoljava važeći Pravilnik o medu (2015). Vrijednost masenog udjela HMF-a u oba analizirana uzorka meda od vriska iznosi 0 mg/kg, dok maseni udjeli reducirajućih šećera analiziranih uzoraka meda od vriska iznose 62,26 % i 66,85 %. Vrijednosti masenih udjela saharoze analiziranih uzoraka meda od vriska iznose 1,86 % i 3,72 %.

Tablica 8. Rezultat analize fizikalno-kemijskih parametara za uzorak meda od amorfe

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/9	16,32	20,12	0,23	12,29	71,35	0,65
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

U tablici 8 prikazane su vrijednosti masenog udjela vode meda od amorfe koji iznosi 16,32%, kiselosti koja iznosi 20,12 mEq/kg, električne provodnosti, koja iznosi 0,23 mS/cm, masenog udjela HMF-a od 12,29 mg/kg, te masenog udjela reducirajućih šećera od 71,35 % te saharoze koji iznosi 0,65 %. Vrijednosti svih analiziranih fizikalno-kemijskih parametara meda od amorfe udovoljavaju zahtjevima Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015).

Tablica 9. Rezultat analize fizikalno-kemijskih parametara za uzorak meda od mandarine

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/62	15,92	29,09	0,94	0,96	57,57	3,03
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤10

Kako slijedi i iz Tablice 9, vrijednost masenog udjela vode meda od mandarine iznosi 15,92 %, dok kiselost iznosi 29,09 mEq/kg. Električna provodnost analiziranog uzorka meda od mandarine iznosi 0,94 što je iznad 0,8 mS/cm, najviše dopuštene vrijednosti električne provodnosti ovih vrsta meda koja je propisana važećim Pravilnikom (Pravilnik, 2015). Maseni udio HMF-a iznosi 0,96 mg/kg. Vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera ispitivanog uzorka iznosi 57,57 %, što je ispod najniže prihvatljive vrijednosti masenog udjela reducirajućih šećera, te posljedično zahtjev Pravilnika o medu (2015) za ovaj parametar nije zadovoljen. Vrijednost masenog udjela saharoze iznosi 3,03 %.

Tablica 10. Rezultat analize fizikalno-kemijskih parametara za uzorak meda od vrbe

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/117	15,40	21,80	1,30	0,96	56,49	1,71
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

Iz Tablice 10 može se vidjeti kako vrijednost masenog udjela vode meda od vrbe iznosi 15,40 %, dok kiselost iznosi 21,80 mEq/kg. Vrijednost električne provodnosti analiziranog uzorka meda od vrbe iznosi 1,30 što je značajno više od 0,8 mS/cm, što je vrijednost koja predstavlja gornju granicu vrijednosti električne provodnosti ove vrste meda. Maseni udio HMF-a iznosi 0,96 mg/kg. Vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera ispitivanog uzorka iznosi 56,49 % te zahtjev Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015) za ovaj parametar nije zadovoljen, dok vrijednost masenog udjela saharoze iznosi 3,03 %.

Tablica 11. Rezultat analize fizikalno-kemijskih parametara za uzorak meda od divlje trešnje

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/14	17,40	31,90	1,00	3,07	64,25	2,69
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

U tablici 11 prikazana je vrijednost masenog udjela vode meda od divlje trešnje koji iznosi 17,40%, kiselosti koja iznosi 31,90 mEq/kg, električne provodnosti sa vrijednošću od 1,00 mS/cm, vrijednost masenog udjela HMF-a koja iznosi 3,07 mg/kg, masenog udjela reducirajućih šećera od 64,25 % te saharoze koji iznosi 2,69 %. Vrijednosti svih analiziranih fizikalno-kemijskih parametara meda od divlje trešnje, osim zahtjeva za vrijednost električne provodnosti koja je nešto viša od najveće dopuštene vrijednosti, udovoljavaju zahtjevima Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015).

Tablica 12. Rezultat analize fizikalno-kemijskih parametara za uzorak šumskog meda

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/87	15,47	20,38	0,93	8,83	55,11	2,01
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

Iz Tablice 12 vidljiva je vrijednost masenog udjela vode šumskog meda koja iznosi 15,47 %, vrijednost kiselosti koja iznosi 20,38 mEq/kg. Vrijednost električne provodnosti analiziranog uzorka šumskog meda iznosi 0,93 što nije značajno više od 0,8 mS/cm, ali i dalje ne udovoljava zahtjevu Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015) za ovaj parametar. Maseni udio HMF-a iznosi 8,83 mg/kg. Vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera ispitivanog uzorka iznosi 55,11 %, što je ispod najniže prihvaćene vrijednosti masenog udjela reducirajućih šećera propisanog Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015), dok vrijednost masenog udjela saharoze iznosi 2,01 %.

Tablica 13. Rezultat analize fizikalno-kemijskih parametara za uzorak meda od lipice

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/40	16,64	29,82	0,60	2,88	70,57	0,19
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

U tablici 13 prikazane su vrijednosti masenog udjela vode meda od lipice koji iznosi 16,64%, kiselosti koja iznosi 29,82 mEq/kg, električne provodnosti koja iznosi 0,60 mS/cm, masenog udjela HMF-a od 2,88 mg/kg, te masenog udjela reducirajućih šećera od 70,57 % kao i saharoze (0,19 %). Vrijednosti svih analiziranih fizikalno-kemijskih parametara meda od lipice udovoljavaju zahtjevima koje donosi Pravilnik o medu (Pravilnik, 2015).

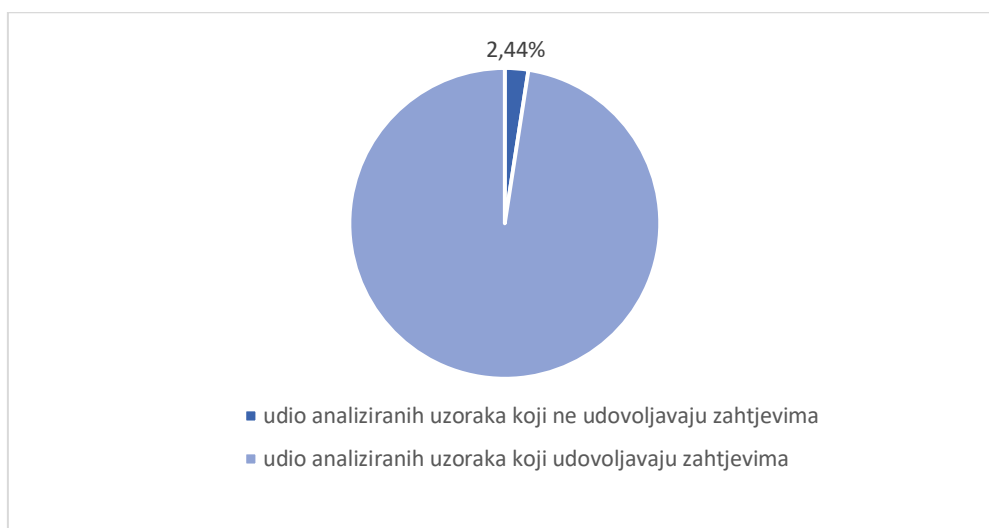
Tablica 14. Rezultat analize fizikalno-kemijskih parametara za uzorak meda od kadulje

Uzorak/ Zzzagi2020 oznaka	Maseni udio vode (%)	Kiselost (mEq/kg)	Električna provodnost (mS/cm)	Maseni udio HMF-a (mg/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)
1/37	17,48	32,29	0,94	2,30	70,57	0,69
Zahtjevi Pravilnika	≤20	≤50	≤0,8	≤40	≥60	≤5

Kako slijedi iz Tablice 14, vrijednost masenog udjela vode meda o kadulje iznosi 17,48 %, dok kiselost iznosi 32,29 mEq/kg. Električna provodnost analiziranog uzorka meda od kadulje iznosi 0,94, što je iznad 0,8 mS/cm, koja je najviša prihvaćena vrijednost električne provodnosti propisana važećim Pravilnikom za ovu vrstu meda (Pravilnik, 2015). Maseni udio HMF-a iznosi 2,30 mg/kg, dok vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera ispitivanog uzorka iznosi 70,57 %, a vrijednost masenog udjela saharoze 0,69 %.

4.2. Maseni udio vode

Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) propisano je da maseni udio vode u vrstama meda analiziranim u okviru ovog istraživanja može biti najviše 20 %.



Slika 1. Udio (%) analiziranih uzoraka meda koji udovoljavaju/ne udovoljavaju zahtjevu Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015) obzirom na maseni udio vode

Od ukupno 41 analiziranog uzorka, samo 1 uzorak (uzorak meda od kestena 3/97) ne zadovoljava Pravilnik o medu (Pravilnik, 2015) obzirom na maseni udio vode u medu, što iznosi 2,44 % (Slika 1) od ukupno analiziranih uzoraka meda. Kao jedan od razloga povišenog udjela vode u medu navodi se nedovoljna zrelost meda kao i nepravilno skladištenje meda, pošto je med visoko higroskopna namirnica. Ovaj je parametar jedan od najznačajnijih parametara kvalitete meda jer utječe na njegova fizikalna, senzorska svojstva, pa i na mikrobiološku ispravnost i time i rok trajanja. Smatra se da pri vrijednosti udjela vode u medu ispod 18 % neće doći do fermentacije djelovanjem osmofilnih kvasaca koji uzrokuju nastanak alkohola koji u reakciji s kisikom prelazi u octenu kiselinu, dajući medu netipičan kiseli okus i uzrokujući kvarenje samog meda. Što je udio vode u medu viši, to će prije doći do spomenute reakcije i kao posljedica toga kvaliteta meda će biti smanjena, a rok trajanja kraći (Vahčić i Matković, 2009). Također omjer glukoze i vode utječe na brzinu kristalizacije i poželjan je omjer ispod 1,7 koji će pridonijeti sporijoj kristalizaciji, koja se većinom smatra nepoželjnom od strane potrošača (Escuredo i sur., 2014).

Denžić i suradnici (2017) proveli su istraživanje kojim su analizirali fizikalno-kemijske parametre 227 različitih uzoraka meda (amorfa, suncokret, drača, planika, vrijesak, mandarina, vrba, zlatošipka, lavanda, kadulja, repica, glog, bagrem, cvjetni, kesten, livada, lipa, medljikovac) u razdoblju od 2012. do 2016. godine, a koji su podrijetlom iz Republike Hrvatske. Usporedbom srednjih vrijednosti dobivenih rezultata ovog istraživanja sa srednjim vrijednostima rezultata istraživanja Denžić i suradnika (2017) može se vidjeti kako je maseni udio vode meda od kestena i meda od kadulje (16,60 %, odnosno 16,00 %) manji nego u uzorcima meda od kestena dobivenih u ovom istraživanju (17,97 %, 17,48 %) (Tablica 4), maseni udio vode cvjetnog meda, livadnog meda i medljikovca (17,00 %, 16,80 %, odnosno 16,78 %) ima približno jednaku vrijednost vrijednostima (16,81 %, 16,88 %, odnosno 16,78 %) dobivenim u ovom radu (Tablica 3, Tablica 5, odnosno Tablica 2), te da su rezultati analize masenog udjela vode u medu od mandarine i medu od vrbe (17,20 %, odnosno 18,40 %) nešto viši od rezultata dobivenih u ovom istraživanju (15,92 %, odnosno 15,40 %) (Tablica 9 i Tablica 10).

4.3. Kiselost meda

Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) definirano je da maseni udio slobodnih kiselina (kiselost/ mEq/kg) može iznositi najviše 50 mEq/kg. Jedini izuzetak ovom zahtjevu je pekarski med, koji nije analiziran u okviru ovog istraživanja.

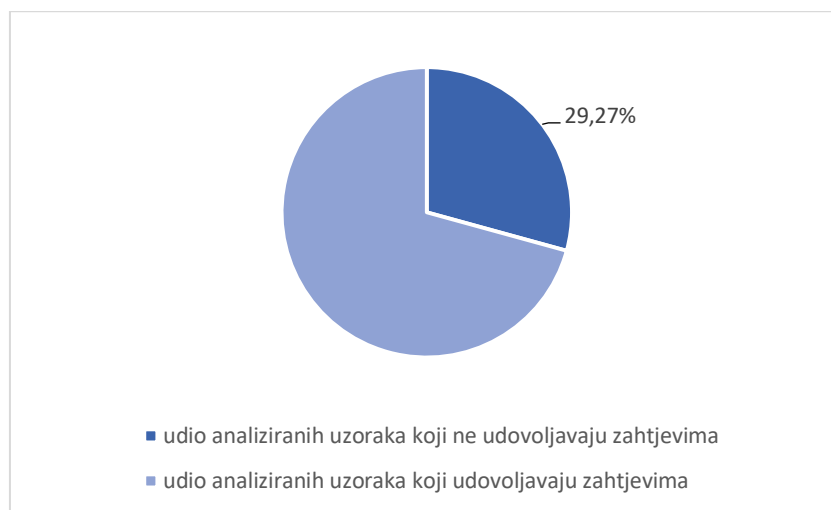
Svi analizirani uzorci (n=41) zadovoljili su propisani zahtjev za kiselost koji nalaže važeći Pravilnik o medu (Pravilnik, 2015). Kiselost ima značajan utjecaj na fizikalna, kemijska i senzorska svojstva meda, a najznačajnije je istaknuti da pridonosi mikrobiološkoj stabilnosti meda i njegovim antimikrobnim svojstvima obzirom da niska pH vrijednost inhibira rast većine mikroorganizama, pri čemu je pH vrijednost meda između 3,2 do 6,5 (Vahčić i Matković, 2009; Mato i sur., 2006). Prirodna kiselost meda povećava se i vremenom skladištenja i dozrijevanjem meda, kao i tijekom fermentacije meda tvorbom octene kiseline. Ovaj parametar može služiti i kao jedan od potencijalnih pokazatelja patvorenja meda. Naime, med patvoren šećernim sirupom ima vrlo nisku kiselost, dok med patvoren invertnim šećerom ima izraženo visoku kiselost (Yadata, 2014). Također, kiselost meda varira ovisno o vrsti meda, odnosno o vrsti biljaka i pasmini pčela, pa se tako koncentracija najzastupljenije organske kiseline u medu, glukonske kiseline i koncentracija limunske kiseline može koristiti za razlikovanje medljikovca i nektarnog meda te prevenirati neispravno deklariranje meda, koje uzrokuje stvaranje

nepovjerenja među potrošačima i smanjenu percepciju kvalitete proizvoda (Sousa i sur., 2016; Mato i sur., 2006).

Živkov Baloš i suradnici (2018) u svom istraživanju u kojem su ispitivali koncentraciju slobodnih kiselina (kiselost) i električnu provodnost različitih vrsta meda podrijetlom s područja Vojvodine dobili su srednju vrijednost kiselosti livadnog meda 13,08 mEq/kg, što je značajno niže od srednje vrijednosti analiziranih uzoraka u ovom istraživanju, a koja je iznosila 28,49 mEq/kg (Tablica 5). Srednja vrijednost uzoraka cvjetnog meda iznosila je 13,61 mEq/kg, dok je u ovom radu iznosila 28,37 mEq/kg (Tablica 3). Kiselost uzorka šumskog meda je iznosila 19,33 mEq/kg, što je približno jednaka vrijednost vrijednosti od 20,38 mEq/kg (Tablica 12) dobivenoj u ovom istraživanju.

4.4. Električna provodnost

Pravilnikom o medu (2015) određeno je da električna provodnost svih vrsta meda, osim medljikovca i meda od kestena, može biti najviše 0,8 mS/cm, dok električna provodnost meda od kestena i medljikovca mora biti najmanje 0,8 mS/cm. Iznimno za neke vrste meda kao što su med planike, vrijesa i eukaliptusa nije definirana električna provodnost.



Slika 2. Udio (%) analiziranih uzoraka meda koji udovoljavaju/ne udovoljavaju zahtjevu Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015) obzirom na električnu provodnost

Od ukupno 41 analiziranog uzorka, 12 uzoraka (4 uzorka medljikovca, 2 uzorka livadnog meda, te po 1 uzorak cvjetnog meda, meda od vriska, mandarine, vrbe, divlje trešnje i kadulje) ne zadovoljavaju Pravilnik o medu (Pravilnik, 2015) obzirom na električnu provodnost meda,

što iznosi 29,27 % ukupno analiziranih uzoraka meda. Jedan od mogućih razloga povećane električne provodnosti meda je povišen maseni udio mineralnih tvari i kiselina (Kropf i sur., 2008). Kako medljikovac sadrži veći udio mineralnih tvari, tako mu je i električna provodnost viša što predstavlja još jedan od načina razlikovanja medljikovca i nektarnog meda, ali i općenito botaničkog podrijetla meda (Vahčić i Matković, 2009).

Uspoređujući srednje vrijednosti električne provodnosti analiziranih uzoraka u ovom istraživanju sa srednjim vrijednostima dobivenih rezultata za taj parametar u istraživanju Denžić i suradnika (2017) može se zaključiti kako su vrijednosti dobivene u istraživanju Denžić i suradnika (2017) za uzorke meda od kestena, cvjetnog meda, livadnog meda, medljikovca i meda od amorfe (1,33 mS/cm, 0,47 mS/cm, 0,51 mS/cm, 1,14 mS/cm, odnosno 0,23 mS/cm) približno jednake vrijednostima dobivenim u ovom radu (1,27 mS/cm (Tablica 4), 0,52 mS/cm (Tablica 3), 0,64 mS/cm (Tablica 5), 0,89 mS/cm (Tablica 2), odnosno 0,23 mS/cm (Tablica 8)) te kako su vrijednosti dobivene za med od kadulje, med od mandarine i med od vrbe (0,55 mS/cm, 0,35 mS/cm, odnosno 0,30 mS/cm) značajno niže od vrijednosti dobivenih u ovom istraživanju (0,94 mS/cm (Tablica 14), 0,94 mS/cm (Tablica 9), odnosno 1,30 mS/cm (Tablica 10)).

Živkov Baloš i suradnici (2018) ispitivanjem električne provodnosti različitih vrsta meda s područja Vojvodine dobili su srednje vrijednosti električne provodnosti livadnog meda od 0,49 mS/cm, što je nešto manje od dobivene vrijednosti od 0,64 mS/cm (Tablica 5) u ovom radu, a cvjetnog meda 0,46 mS/cm, što je približno jednako dobivenoj vrijednosti od 0,52 mS/cm (Tablica 3) u ovom istraživanju. Električna provodnost uzorka šumskog meda iznosila je 1,12 mS/cm, dok je u ovom radu bila nešto niža, s vrijednošću od 0,93 mS/cm (Tablica 12).

4.5. Maseni udio hidroksimetilfurfurala

Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) definiran je najviši dozvoljeni maseni udio HMF-a u medu od 40 mg/kg za sve vrste meda osim pekarskog meda i meda označenog podrijetlom iz regije tropske klime.

Svi analizirani uzorci meda (n = 41) imaju maseni udio hidroksimetilfurfurala niži od 40 mg/kg, čime zadovoljavaju Pravilnik o medu (Pravilnik, 2015), obzirom na razmatrani parametar.

Usporedbom srednjih vrijednosti dobivenih rezultata ovog istraživanja sa srednjim vrijednostima rezultata istraživanja Denžić i suradnika (2017) vidljivo je kako je maseni udio HMF-a u medu od kestena, livadnom medu, medljikovcu, medu od amorfe (1,80 mg/kg, 4,00

mg/kg, 2,20 mg/kg, odnosno 4,20 mg/kg) niži u odnosu na vrijednosti za uzorke tih vrsta meda dobivene u ovom istraživanju (3,49 mg/kg (Tablica 4), 9,56 mg/kg (Tablica 5), 6,54 mg/kg (Tablica 2), odnosno 12,29 mg/kg (Tablica 8)). Maseni udio HMF-a cvjetnog meda, meda od kadulje i meda od vrbe (13,00 mg/kg, 3,30 mg/kg, 1,00 mg/kg) ima približno jednaku vrijednost srednjoj vrijednosti dobivenoj u ovom radu (10,31 mg/kg (Tablica 3), 2,30 mg/kg (Tablica 14), 0,96 mg/kg (Tablica 10)) dok je srednja vrijednost masenog udjela HMF-a u uzorcima meda od mandarine (10,5 mg/kg) značajno viša od vrijednosti dobivene ovim istraživanjem (0,96 mg/kg (Tablica 9)).

Udio HMF-a u medu ovisi o vrsti meda, pH vrijednosti, udjelu slobodnih kiselina, udjelu vode, izloženosti povišenoj temperaturi i svjetlosti. Udio HMF-a je jedan od pokazatelja kvalitete meda i poželjno je da je hidroksimetilfurfural prisutan u jako malim količinama ili potpuno odsutan, a povišena koncentracija HMF-a najčešće je pokazatelj nepravilnog ili predugog skladištenja obzirom da se koncentracija HMF-a povećava starenjem meda, te čuvanjem meda pri povišenim temperaturama (Shapla i sur., 2018). Uzrok povećanog udjela HMF-a osim toga može biti i zagrijavanje meda, a povećani udio može biti i pokazatelj patvorenja meda (Zarei i sur., 2019).

4.6. Maseni udio reducirajućih šećera

Maseni udio reducirajućih šećera u medu (zbroj glukoze i fruktoze) za cvjetni med mora biti najmanje 60 g/100g, a za medljikovac i mješavine medljikovca i cvjetnog meda najmanje 45 g/100g (Pravilnik, 2015).



Slika 3. Udio (%) analiziranih uzoraka meda koji udovoljavaju/ne udovoljavaju zahtjevu Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015) obzirom na maseni udio reducirajućih šećera

Od ukupno 41 analiziranog uzorka meda, 6 analiziranih uzoraka ili 14,63 % (2 uzorka meda od kestena, te po 1 uzorak cvjetnog meda, meda od mandarine, meda od vrbe i šumskog meda) nema zadovoljavajući udio reducirajućih šećera. Maseni udio reducirajućih šećera može ovisiti o geografskom i botaničkom podrijetlu meda, klimi, načinu prerade, vremenu skladištenja i o vremenu sakupljanja meda, kao i biti jedan od pokazatelja patvorenja meda (Rybak-Chmielewska, 2007). Na proces kristalizacije osim omjera glukoze/vode (G/V) ima značajan utjecaj i omjer fruktoze i glukoze (F/G). Ako je vrijednost F/G visoka, a G/V niska, proces kristalizacije biti će sporiji. Ako se koncentracija glukoze poveća, ona postaje netopljiva u vodi i dolazi do kristalizacije i preostala otopina će imati veći udio vode te će biti sklonija mikrobiološkom kvarenju (Amariei i sur., 2020).

Uspoređujući rezultate ovog istraživanja sa rezultatima dobivenim istraživanjem Čalopek i suradnika (2016) može se primijetiti kako su ovim istraživanjem dobivene nešto niže srednje vrijednosti masenog udjela reducirajućih šećera za med od kestena, cvjetni med, livadni med, šumski med i medljikovac (60,46 % (Tablica 4), 65,95 % (Tablica 3), 66,38 % (Tablica 5), 55,11 % (Tablica 12), odnosno 64,85 % (Tablica 2)) od srednjih vrijednosti masenog udjela reducirajućih šećera za iste vrste meda dobivenih istraživanjem Čalopek i suradnika (2016) (70,60 %, 70,40 %, 70,10 %, 69,70 %, odnosno 64,85 %). Srednja vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera meda od kadulje dobivena ovim istraživanjem je nešto viša (70,57 % (Tablica 14)) od one dobivene spomenutim istraživanjem (69,50 g/100g) (Čalopek i sur., 2016). U istraživanju fizikalno-kemijskih parametara meda na tržištu Saudijske Arabije, srednja vrijednost udjela reducirajućih šećera iznosila je 66,60 %, pri čemu su udjeli šećera određeni HPLC metodom (Aljohar i sur., 2018). Rezultati ovog istraživanja u skladu su s rezultatima navedenih istraživanja (Čalopek i sur., 2016; Aljohar i sur., 2018).

4.7. Maseni udio saharoze

Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) propisano je kako med može sadržavati najviše 5 g saharoze na 100 g meda. Iznimke su med od bagrema, med od lucerne, med od slatkovine, med od eukaliptusa i med od agruma koji mogu sadržavati do 10 g saharoze na 100 g meda, kao i med od lavande i med od boražine koji mogu sadržavati do 15 g saharoze na 100 g meda.

Usporedbom ovog istraživanja i istraživanja koje su proveli Čalopek i suradnici (2016) zamjećuje se kako su ovim istraživanjem dobivene nešto više srednje vrijednosti masenog

udjela saharoze za med od kestena, cvjetni med, livadni med, šumski med i medljikovac (1,48 % (Tablica 4), 1,66 % (Tablica 3), 1,90 % (Tablica 5), 2,01 % (Tablica 12), odnosno 1,65 % (Tablica 2)) od srednjih vrijednosti masenog udjela saharoze za iste vrste meda dobivene istraživanjem Čalopek i suradnika (2016) (1,39 %, 1,41 %, 1,67 %, 0,81 %, odnosno 1,24 %), iako razlika između dobivenih rezultata nije značajna. Srednja vrijednost masenog udjela saharoze meda od kadulje je ovim istraživanjem značajno niža (0,69 % (Tablica 14)) od one dobivene spomenutim istraživanjem (2,75 %) (Čalopek i sur., 2016). U istraživanju fizikalno-kemijskih parametara meda na tržištu Saudijske Arabije koje su proveli Aljohar i suradnici (2018), srednja vrijednost masenog udjela saharoze iznosila je 2,38 %, a udio saharoze kao i udio ostalih šećera bio je određen HPLC metodom. Iako postoje neke razlike između rezultata istraživanja, svi analizirani uzorci meda su sadržavali saharozu u masenom udjelu ispod propisanih 5 g/100g, a razlike između istraživanja se mogu pripisati geografskom području, vrsti meda, klimatološkim uvjetima pojedine sezone kao i mnogim čimbenicima prerade i skladištenja meda.

Maseni udio saharoze može, kao i udio reducirajućih šećera, ukazivati na direktno i indirektno patvorenje meda dodatkom različitih šećernih sirupa, iako je većinom ugljikohidratni profil meda optimiran na način da se gotovo ne razlikuje od ugljikohidratnog profila meda koji nije patvoren (Zábrodská i Vorlová, 2015).

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata fizikalno-kemijskih analiza i provedene rasprave, može se zaključiti sljedeće:

1. Zahtjev Pravilnika za maseni udio vode u medu zadovoljavaju svi analizirani uzorci meda osim 1 uzorka meda od kestena (3/97).
2. Svi analizirani uzorci meda zadovoljili su zahtjev Pravilnika za vrijednost kiselosti meda.
3. Pravilnik o medu obzirom na zahtjev o vrijednosti električne provodnosti meda nije zadovoljilo 12 analiziranih uzoraka (4 uzorka medljikovca; 7/90, 8/91, 9/92, 10/98, 2 uzorka livadnog meda; 2/44, 3/46, te po 1 uzorak cvjetnog meda; 6/10, meda od vriska; 2/125, mandarine; 1/62, vrbe; 1/117, divlje trešnje; 1/14 i kadulje; 1/37).
4. Svi analizirani uzorci meda imaju maseni udio HMF-a niži od 40 mg/kg, čime zadovoljavaju zahtjev Pravilnika za ovaj parametar.
5. Šest analiziranih uzoraka meda (2 uzorka meda od kestena; 1/86, 3/97, te po 1 uzorak cvjetnog meda; 5/6, meda od mandarine; 1/62, meda od vrbe; 1/117 i šumskog meda; 1/87) nema zadovoljavajući maseni udio reducirajućih šećera obzirom na zahtjev Pravilnika, dok ostali analizirani uzorci ispunjavaju ovaj zahtjev Pravilnika.
6. Svi analizirani uzorci meda zadovoljavaju propisani zahtjev za maseni udio saharoze koji nalaže važeći Pravilnik.
7. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza različitih vrsta meda iz sezone 2020. u skladu su s drugim istraživanjima.

6. LITERATURA

Aljohar IH, Maher, MH, Albaqami J, Al-Mehaizie M, Orfali R, Alrubia, S (2018) Physical and chemical screening of honey samples available in the Saudi market: An important aspect in the authentication process and quality assessment. *Saudi Pharm J* **26**(7), 932–942.

Amariei S, Norocel, L, Scripcă, LA (2020) An innovative method for preventing honey crystallization. *Innov Food Sci Emerg* **66**, 1-12.

Arroyo-Manzanares N, García-Nicolás M, Castell A, Campillo N, Viñas P, López-García I, Hernández-Córdoba M (2019) Untargeted headspace gas chromatography–Ion mobility spectrometry analysis for detection of adulterated honey. *Talanta* **205**, 120-123.

Atanassova J, Lazarova M, Yurukova L (2016) Significant parameters of Bulgarian honeydew honey. *Journal of Central European Agriculture* **17** (3), 640-651.

Bogdanov S, Lullmann C, Martin P (1999) Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Commission. *Mitt Lebensm Hyg* **90**, 108-125.

Bogdanov S, Martin P (2002) Honey authenticity: a Review. *Swiss Bee Research Centre*, 1-20.

Bogdanov S, Rouff K, Oddo LP (2004) Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie* **35** (1), 4 – 17.

Cherchi A, Spanedda L, Tuberoso C, Cabras P (1994) Solid-phase extraction and highperformance liquid chromatographic determination of organic acids in honey. *J. Chromatogr A* **669**, 59 – 64.

Crnoja AM (2018) Kemijska, fizikalna i antioksidativna svojstva meda, Diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, <<https://repositorij.fazos.hr/islandora/object/pfos:1432>>. Pristupljeno 03. prosinca 2021.

Čalopek B, Marković K, Vahčić N, Bilandžić N (2016) Procjena kakvoće osam različitih vrsta meda. *Veterinarska stanica* **47**, 317 – 325.

da Silva PM, Gauche C, Gonzaga LV, Oliveira Costa AC, Fett R (2015) Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem* **196**, 309 – 323.

- Denžić Lugomer M, Pavliček D, Kiš M, Končurat A, Majnarić D (2017) Quality assessment of different types of Croatian honey between 2012 and 2016. *Veterinarska stanica* **48**, 93 – 99.
- Elflein L, Raezke KP (2008) Improved detection of honey adulteration by measuring differences between $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ stable carbon isotope ratios of protein and sugar compounds with a combination of elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometry and liquid chromatography-isotope ratio mass spectrometry ($\delta^{13}\text{C}$ -EA/LC-IRMS). *Apidologie* **39**, 574-587.
- Escuredo O, Dobre I, Fernández-González M, Seijo MC (2014) Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chem* **149**, 84 – 90.
- Fakhlai R, Selamat J, Khatib A, Razis AFA, Sukor R, Ahmad S, Babadi AA (2020) The Toxic Impact of Honey Adulteration: A Review. *Foods* **9** (11), 1-21.
- González FM, Espada-Bellido E, Guillén-Cueto L, Palma M, Barroso CG, Barbero GF (2018) Rapid quantification of honey adulteration by visible-near infrared spectroscopy combined with chemometrics. *Talanta* **188**, 288–292.
- Hernandez OM, Fraga JMG, Jimenez AI, Jimenez F, Arias JJ (2005) Characterisation of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry. *Food Chem* **93**, 449 – 458.
- International Honey Commission (2009) Harmonised methods of the International Honey Commission <<http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>>. Pristupljeno 30. studenog 2021.
- Jaafar M, Othman M, Yaacob M, Talip B, Ilyas M, Ngajikin N, Fauzi N (2020) A Review on Honey Adulteration and the Available Detection Approaches. *Int J Integr Eng* **12**, 125–131.
- Janković A (1979) Pčelinji proizvodi- hrana i lek, 3. izd., Nolit, Beograd.
- Kapš P (2013) Liječenje pčelinjim proizvodima - Apiterapija, Geromar d.o.o., Bestovje.
- Karabagias IK, Badeka A, Kontakos S, Karabournioti S, Kontominas MG (2014) Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chem* **146**, 548 – 557.

- Kreculj D (2005) Sadržaj vode u medu, < <https://poljoprivreda.info/tekst/sadrzaj-vode-u-medu> >. Pristupljeno 3. prosinca 2021.
- Krell R (1996) Value-added products from bee keeping. Ch. 2. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124., < <https://www.fao.org/3/w0076e/w0076e00.htm> > Pristupljeno 28. studenog 2021.
- Kropf U, Jamnik M, Bertoncej J, Golob T (2008) Linear Regression Model of the Ash Mass Fraction and Electrical Conductivity for Slovenian Honey. *Food Technol Biotech* **46**, 335-340.
- Mahmoudi R, Ghojoghi A, Ghajarbeygi P (2016) Honey safety hazards and public health. *J Chem Health Risks* **6**, 249–267.
- Mato I, Huidobro JF, Simal-Lozano J, Sancho MT (2006) Analytical Methods for the Determination of Organic Acids in Honey. *Crit Rev Anal Chem* **36**, 3-11.
- Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo L, Nacoulma OG (2005) Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem* **91**, 571-577.
- Medved I (2021) Patvorenje meda, < <https://www.agroportal.hr/uzgoj-pcela/36349> >. Pristupljeno 6. prosinca 2021.
- Mehryar L, Esmaili M (2011) Honey and honey adulteration detection: A Review. < https://www.academia.edu/29886364/Honey_and_Honey_Adulteration_Detection_A_Review > Pristupljeno 7. prosinca 2021.
- Morales V, Corzo N, Sanz ML (2008) HPAEC-PAD oligosaccharide analysis to detect adulterations of honey with sugar syrups. *Food Chemistry* **107**, 922-928.
- Moreira RF, Maria CA, Pietrolungo M, Trugo LC (2007) Chemical changes in the non-volatile fraction of Brazilian honeys during storage under tropical conditions. *Food Chem* **104**, 1236 – 1241.
- Mujić I, Alibabić V, Travljanin D (2014) Prerada meda i drugih pčelinjih proizvoda, Veleučilište u Rijeci, Rijeka.
- Persano Oddo L, Piro R (2004) Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* **35**, 38-81.

Popović-Raljić J, Arsić N, Zlatković B, Basarin B, Mladenović M, Laličić-Petronijević J, Ivkov M, Popov V (2015) Evaluation of color, mineral substances and sensory uniqueness of meadow and acacia honey from Serbia. *Rom Biotech Lett* **20** (5), 10784 -10799.

Pravilnik o medu (2015) Narodne novine **53**, Zagreb.

Riddle S (2016) The Chemistry of Honey, < <https://www.beeculture.com/the-chemistry-of-honey/> >. Pristupljeno 28. studenog 2021.

Rybak-Chmielewska H (2007) High performance liquid chromatography (HPLC) study of sugar composition in some kinds of natural honey and winter stores processed by bees from starch syrup. *J Apicultural Sci* **51** (1), 23–37.

Sanz ML, Sanz, J, Martínez-Castro I (2004) Gas chromatographic-mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey. *J of Chrom A*, 143-148.

Se KW, Ghoshal SK, Wahab RA, Ibrahim RKR, Lani MN (2018) A simple approach for rapid detection and quantification of adulterants in stingless bees (*Heterotrigona itama*) honey. *Food Res Int* **105**, 453–460.

Shapla, UM, Solayman M, Alam N, Khalil MI, Gan SH (2018) 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chem Cent J* **12** (35), 1 – 18.

Singhal RS, Kulkarni PR, Rege DV (1997) Handbook of indices of food quality. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 358-379.

Službeni list Europske unije (2018) Mogućnosti i izazovi za pčelarski sektor EU-a ,Rezolucija Europskog parlamenta od 1. ožujka 2018. o mogućnostima i izazovima za pčelarski sektor EU-a (2017/2115(INI). < <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:52018IP0057&from=EN>> Pristupljeno 5. prosinca 2021.

Sousa JMB, Soza LE, Marques G, Benassi MT, Gullon B, Pintado MM (2016) Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. *Food Sci Tech-Brazil* **65**, 645-651.

Spano N, Casula L, Panzanelli A, Pilo MI, Piu PC, Scanu R, Tapparo A, Sanna G (2005) An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey. The case of strawberry tree honey. *Talanta* **68**: 1390-1395.

Šimić F (1980) Naše medonosno bilje, Znanje, Zagreb.

Škenderov S, Ivanov C (1986) Pčelinji proizvodi i njihovo korišćenje, Nolit, Beograd.

Truzzi C, Annibaldi A, Illuminati S, Finale C, Scarponi G (2014) Determination of proline in honey: Comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology. *Food Chem* **150**, 477 – 481.

Udruženje pčelara za promicanje pčela i pčelarstva (2010) Vrste meda, <<http://www.pcelarstvo.hr/index.php/proizvodi/med-vrste>>. Pristupljeno 27. studenog 2021.

Vahčić N, Matković D (2009) Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda, <<http://www.pcelinjak.hr>>. Pristupljeno 27. studenog 2021.

White JW, Winters K, Martin P, Rossmann A (1998) Stable Carbon Isotope Ratio Analysis of Honey: Validation of the Internal Standard Procedure for Worldwide Application. *Journal of AOAC International* **81** (3), 610-619.

Yadata D (2014) Detection of the electrical conductivity and acidity of honey from different areas of Tepi. *Food Sci Tech-Brazil* **2** (5), 59 - 63.

Yanniotis S, Skaltsi S, Karaburnioti S (2006) Effect of moisture on the viscosity of honey at different temperatures. *J Food Eng* **72**, 372 – 377.

Zábrodská B, Vorlová L (2015) Adulteration of honey and available methods for detection – a review. *Acta Vet Brno* **83**, 85–102.

Zarei M, Fazlara A, Tulabifard N (2019) Effect of thermal treatment on physicochemical and antioxidant properties of honey. *Heliyon* **5**.

Živkov Baloš M, Popov N, Vidaković S, Ljubojević Pelić D, Pelić M, Mihaljev Ž, Jakšić S (2018) Electrical conductivity and acidity of honey. *Arhiv veterinarske medicine* **11**, 91 - 101.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, Nataša Mikulić, izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



Vlastoručni potpis