Kemijska analiza cvjetnog meda

Devčić, Borna

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

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:159:274645

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Prediplomski studij Prehrambena tehnologija

Borna Devčić

6638/PT

KEMIJSKA ANALIZA CVJETNOG MEDA

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Analitika prehrambenih proizvoda

Mentor: prof.dr.sc. Nada Vahčić

Zagreb, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavoda za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

KEMIJSKA ANALIZA CVJETNOG MEDA

Borna Devčić, 0058202355

Sažetak: Cilj ovoga rada bio je odrediti fizikalno-kemijska svojstva 33 uzorka cvjetnog meda te usporediti njihove vrijednosti u odnosnu na zahtjeve Pravilnika o medu. U svim uzorcima meda mjereni su: udio reducirajućih šećera, udio saharoze, kiselost, provodnost, udio vode i udio hidroksimetilfurfurala. Sve korištene metode propisala je Međunarodna komisija za med. Nakon provedene analize, samo je 5 uzoraka imalo malih odstupanja vezano uz vrijednost električne provodnosti, dok su ostali zadovoljili sve zahtjeve Pravilnika.

Ključne riječi: cvjetni med, fizikalno – kemijski parametri meda

Rad sadrži: 28 stranica, 2 tablice, 24 reference

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici

Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: prof.dr.sc. Nada Vahčić

Pomoć pri izradi: Renata Petrović, ing.

Valentina Hohnjec, teh.sur.

Rad predan: 11. rujan, 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

CHEMICAL ANALYSIS OF MEDOW HONEY

Borna Devčić, 0058202355

Abstract: The aim of this research was to determine physical and chemical parameters in 33 samples of medow honey and their values in comparsion to regulative. Total reducing sugar mass fraction, sucrose mass fraction, acidity, electrical conductivity, water mass fraction and mass fraction of hydroxymethylfurfural were measured for all samples. All of the used methods was appointed by International Honey Commission. After conducted analysis, only 5 samples had slight deviation in values of electrical conductivity, while others meet the condititons of regulative.

Keywords: medow honey, physical and chemical composition of honey

Thesis contains: 28 pages, 2 tables, 24 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Ph.D. Nada Vahčić, Full professor

Technical support and assistance: Renata Petrović, Eng.
Valentina Hohnjec, tech. assist.

Thesis delivered: September 11th 2017

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 2
2.1. DEFINICIJA I PODJELA MEDA 2
2.1.1. NEKTARNI MED 3
2.1.2. MEDLJIKOVAC 5
2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA 6
2.2.1. UGLJIKOHIDRATI 6
2.2.1. PROTEINI I AMINOKISELINE 7
2.2.2. VODA 7
2.2.1. ENZIMI 7
2.2.1. VITAMINI 8
2.2.1. ORGANSKE KISELINE 8
2.2.2. MINERALNE TVARI 8
2.2.1. FITOKEMIKALIJE 9
2.2.2. HIDROKISMETILFURFURAL (HMF) 9
2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA 9
2.3.1. VISKOZNOST 10
2.3.2. KRISTALIZACIJA 10
2.3.3. HIGROSKOPNOST 10
2.3.4. ELEKTRIČNA PROVODNOST 11
2.3.5. OPTIČKA AKTIVNOST 11
2.3.6. INDEKS REFRAKCIJE 11
2.3.7. POVRŠINSKA NAPETOST 12
2.3.8. SPECIFIČNA MASA 12
2.4. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA 12
2.4.1. BOJA MEDA 12
2.4.2. OKUS MEDA 12
2.4.3. MIRIS MEDA 13
3. EKSPERIMENTALNI DIO 13

3.1. MATERIJALI 13
3.2. METODE RADA 13
3.2.1. PRIPREMA UZORKA MEDA ZA ANALIZU 13
3.2.2. ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU 14
3.2.3. ODREĐIVANJE KISELOSTI MEDA 14
3.2.4. ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA 14
3.2.5. ODREĐIVANJE UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA 15
3.2.6. ODREĐIVANJE REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA 16
3.2.7. ODREĐIVANJE UDJELA SAHAROZE 19
4. REZULTATI I RASPRAVA 21
5. ZAKLJUČAK 25
6. LITERATURA 26

1. UVOD

Med i ljudi imaju zajedničku povijest koja seže daleko prije nego su postojale farme i udomaćene životinje. Otkriven je prije 10 000 godine te se u to vrijeme, dok je najslađa stvar bilo voće, smatralo hranom bogova.

Prvi oblik pčelarstva pojavljuje se Egiptu gdje su pronađene drvene košnice. Moderne košnice se pojavljuju tek sredinom 19. stoljeća zahvaljujući pčelaru Lorenzu Langstrothu. Zahvaljući njemu, saće se moglo pojedinačno izvaditi te se nije trebala mijenjati kolonija.

Med se sastoji od šećera, većinom fruktoze i glukoze te drugih tvari kao što su enzimi, organske kiseline i krutih čestica koje dospiju u njega u procesu nastanka. Može biti u tekućem ili viskoznom stanju te kristaliziran ili djelomično kristaliziran. Boja meda varira od gotovo bezbojnog do tamnog meda. Aroma je različita, ali mora biti prirodnog izvora.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA I PODJELA MEDA

Ministarstvo poljoprivrede na temelju članka 71. stavka 1. Zakona o poljoprivredi definiralo je med kao prirodno slatkast proizvod što ga medonosne pčele (*Apis mellifera*) proizvode od nektara medonosnih biljaka, 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 (NN 53/15).

Prema Codex standardu med je prirodno slatka tvar koju proizvode pčele medarice (*Apis mellifera*) od nektara biljaka ili izlučevina živih dijelova biljaka, odnosno izlučevina kukaca koji sišu sokove na živim dijelovima biljaka, na taj način da pčele skupljaju, preoblikuju dodajući im vlastite specifične tvari, odlažu, isušuju, pohranjuju i ostavljaju u saću da sazriju (Codex stan 12-1981).

Prema osnovnoj podjeli, med po podrijetlu dijelimo na:

- nektarni ili cvjetni: med koji je dobiven iz nektara biljaka
- medljikovac ili medun: med koji je dobiven od izlučevina kukaca (*Hemiptera*) koji žive na živim dijelovima biljaka ili od sekreta živih dijelova biljaka

Prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranju med dijelimo na:

- med u saću: med koji skladište pčele 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 jedan ili više proizvoda iz prethodno definiranog meda u saću
- cijeđeni med: med koji se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla
- prešani med: med dobiven prešanjem saća bez legla, sa ili bez korištenja umjerene temperature koja ne smije biti veća od 45^0C
- vrcani med: med dobiven vrcanjem, odnosno centrifugiranjem otvorenog saća bez legla
- filtrirani med: med dobiven na način koji tijekom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari dovodi do značajnog uklanjanja peludi
- pekarski med: med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje, može imati strani okus ili miris, biti u stanju vrenja ili prevrio ili biti pregrijan (NN 53/15)

2.1.1. NEKTARNI MED

Pčele proizvode nektarni med od nektara,odnosno od slatke tekućine koju izlučuju biljne žlijezde nektarije. Nektarije dijelimo na cvjetne i izvancvjetne, ovisno o položaju gdje se nalaze. Dvije vrste čimbenika utječu na količinu izlučenog nektara. Unutarnji, koji su povezani s biljkom (veličina, uzrast i faza razvitka cvijeta, veličina površine nektarije, položaj cvijeta na biljci, biljna vrsta i sorta i dr.) i vanjski (temperatura i vlažnost zraka, zemljišni uvjeti, količina vjetra, dužina dana i dr.). Nektar je otopina šećera,a u najveći udio šećera čine saharoza, glukoza i fruktoza. U sastavu nektara mogu se naći i oligosaharidi poput rafinoze, melebioze itd.,a osim šećera prisutni su dušikovi i fosforni spojevi, vitamini, pigmenti, organskse kiseline, aromatski spojevi, mineralne tvari, aminokiseline i enzimi. Nektarni med može biti monoflorni i poliflorni. Monoflorni med je med koji u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 45% peludnih zrnaca iste biljne vrste, a poliflorni med je mješavina meda različitih vrsta. Postoji i miješani med koji je definiran kao mješavina nektarnog meda i medljikovca (Vahčić i Matković, 2009).

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

Bagrem (*Robinia pseudoacacia*) je kratkotrajna, ali najizdašnija paša u kontinentalnim dijelovima Hrvatske. Počinje cvjetat u drugoj polovici svibnja i početkom lipnja, te cvat traje od 10 do 12 dana, ovisno o nadmorskoj visini. Mediti počinje najprije na nižim zaštićenijim terenima, a kasnije na višim. Korištenjem visinske razlike možemo dobiti raniju i kasniju bagremovu pašu, u ukupnoj cvatnji do 20 dana. Vremenske prilike u periodu cvjetanja u kontinentalnim krajevima mogu biti nepovoljne (hladno i kišovito ili jako toplo i vjetrovito), stoga bagremova paša može podbaciti. Najveće šume bagrema nalaze se u Baranji, Podravini i na Moslavačkoj gori. Bagremov med, bez primjesa, je svijetlo žute boje, slabog mirisa, ugodnog okusa te sporo kristalizira (Šimić, 1980).

Kadulja (*Salvia officinalis*) je višegodišnji drvenasti grm i nakon bagrema je najvrednija pčelinja paša. Najraširenija je na područijima primorskog i dalmatinskog krša te u nekim predjelima Istre. Što se tiče cvata, rana kadulja cvate završetkom travnja i početkom svibnja i to u područjima bližim moru. U višim predjelima i u unutrašnjosti cvat traje do sredinje lipnja. Na cvat utječe loše vrijeme,pogotovo kišno i hladno te presuho i vjetrovito vrijeme. Kaduljin med je svijetložute, malo zelenkaste boje koja može varirati ovisno o prisutnosti peluda vinove loze koja istodobno cvate. Ima jak miris po cvijetu biljke. Okusom je blago gorak med. Sporo kristalizira u srednje krupne kristale, makar ni tad nije pretvrd (Persano Oddo i Piro, 2004; Šimić, 1980).

Kesten (*Castanea sativa Mill.*) je jednodomna biljka visokog i razgranatog stabla. Najrašireniji je u samoniklim šumama od kojih su najveće u okolici Petrinje, Hrvatske Kostajnice, Dvora na Uni, Zagreba (Medvednica) i u Istri. Kesten se ubraja u voćke te je najmedonosnija voćna vrsta i jedina koja spada u biljke glavne pčelinje paše. Cvatnja počinje u drugoj polovici lipnja i traje oko 10 dana. Sama cvatnja može potrajati i do 20 dana,ako sva stabla ne procvjetaju odjednom. Boja kestenovog meda ovisi o podneblju i godini,ali je općenito tamne boje. Ima jak,oštar miris i okus zbog čega ga potrošaći ne preferiraju (Šimić, 1980).

Lipa (*Tilia L.*) spada među najmedonosnije biljke. Najzastupljenijie vrste lipe su: sitnolisna lipa (*Tilia parvifolia Ehrh.)*, krupnolisna lipa (Tilia grandifolia Ehrh.) i srebrnolisna lipa (Tilia argentea Desf.) U Hrvatskoj ih možemo pronaći na području Bilogore. Ovisno o samoj vrsti, lipa cvjeta od kraja lipnja i kasnije. Boja lipinog meda može se kretati od svjetložute do zelenkaste boje. Ima lagano gorak okus i ugodan miris po cvijetu. Sporo kristalizira (Šimić, 1980; Janković, 1979).

Lavanda (*Lavandula officinalis L.*) je višegodišnji gust grm. Ima uske, svijetle listove i ljubičasto modre cvjetove na vrhu grančice. U našu zemlju je prenesena iz Francuske,a nalazimo ju najviše na Hvaru. Cvjeta oko 30 dana u lipnju i srpnju. Daje velik prinos i smatra se smatra jednom od najsigurnijih pčelinjih paša. Med od lavande ima svjetložutu boju, bistar je i proziran te ima karakterističan jaki miris po biljci zbog čega nije omiljen potrošačima (Vahčić i Matković, 2009).

Ružmarin (*Rosmarinus officinalis L.*) je zimzeleni samonikli grm visine do 2 metara. Ima vrlo niske zadebljane listove i modre cvjetove. Najviše ga nalazimo na dalmatinskim otocima i to većinom izmješan s drugim grmljem u makiji. Cvjeta veći dio godine, od rujna do svibnja, a u proljeće cvatnja može trajati i preko 40 dana. Med je svjetle boje, proziran. Ima blagi okus te nema miris. Brzo kristalizira. Kad se nalazi u čvrstim stanju, potpuno je bijele boje (Šimić, 1980).

Suncokret (*Helianthus annuus L.*) je jednogodišnja biljka koja se uzgaja zbog proizvodnje ulja. Najzastupljeniji je u Slavoniji. Cvjeta početkom srpnja te samom medenju pogoduje vlažan zrak. Suncokretov med je jantarno žute boje. Okus može biti od slatkog do blago trpkog. Ima slab miris po biljci, a nakon vrcanja brzo kristalizira (Petrović Jojriš, 1979).

Amorfa (*Amorpha fructicosa L.*) je grm visine do 2 metara. Ima tamnocrvene do ljubičaste cvjetove. Cvjetanje kreće početkom lipnja,a traje oko 15 dana. Nalazimo je u šumama pokraj rijeke Odre, između Novske i Okučana i u slavonskoj Posavini. Amforin med je tamno crvene boje. blagog mirisa i okusa (Šimić, 1980).

Livadni med je med koji se dobiva od različite vrste livadnog cvijeća. U sastavu livadnog meda možemo pronaći i medljiku, lipu ili neku drugu biljku koja cvate u to vrijeme. Boja i okus ovise o podrijetlu nektara biljki prisutnih u medu. O samoj biljnoj vrsti koja se nalazi u livadnom medu ovisi i to da li će med kristalizirati brže ili sporije. Livadni med ima sve osobine dobrog i vrijednog meda zbog toga što prustni nektar potječe od puno vrsti biljaka.

2.1.2. MEDLJIKOVAC

Medna rosa ili medljika je slatka izlučevina koja nastaje kao proizvod kukaca iz reda jednakokrilaca (Homoptera). Od tih kukaca za pčelarstvo su najznačajnije lisne i štitaste uši. Nalazi se na listovima i ostalim dijelovima crnogoričnog i bjelogoričnog drveća. Pojava medljike je u izravnoj vezi s prisutnosti biljnih uši u šumi, stoga je moguće predvidjeti pašu ili prinos medljike s njihovim intenzitetom.

Medljikovac najčešće potječe od crnogoričnog (jela, smreka, bor, ariš) i bjelogoričnog (hrast, bukva, lipa) drveća. Karakteristike meda medljikovca su mali sadržaj peluda i elementi medljike (spore, gljivice i alge). U usporedbi s nektarnim medom, med medljikovac ima veću pH vrijednost,zato jer ima više kiselina. Manje je sladak nego nektarni med, ima veću obojanost, sadrži više mineralnih tvari i veću količinu oligosaharida (Sajko i sur., 1996).

Najznačajnije vrste medljikovca su:

Jelov medljikovac je tamnosive do smeđe boje s tamnozelenom nijansom. Ima ugodan okus i miris. Lisne uši iz roda *Cinara* luče medljiku od lipnja do kasne jeseni. Taj period ovisi o klimi i položaju jele. Stabla jele su najzastupljenija u Gorskom kotaru i Velikoj i Maloj kapeli (Persano Oddo i Piro, 2004).

Smrekov medljikovac je tamne jantarne boje s crvenkastom nijansom, izrazito intenzivnog mirisa po smoli. Štitaste uši iz roda *Physokermes* luče medljiku u svibnju i lipnju. U Gorskom kotaru nalaze se najveće šume smreke (Šimić, 1980).

Hrastov medljikovac je tamno crvene boje, slabog mirisa po hrastu, opornog okusa i pali u grlu. Gust je i rastezljiv, pa se teško vrca iz saća. Najveće šume hrasta nalaze se u Slavoniji, Turopolju i okolici Jasenovca i Siska (Persano Oddo i Piro, 2004).

Medljikovac od medljike medećeg cvrčka (*Metcalfa pruinosa* (Say)) je mutne smeđe boje, ponekad skoro crn. Ima okus po suhom voću i melasi koji se dugo zadržava u ustima. Karakterističan je za područje Istre (Vahčić i Matković, 2009).

2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA

Med ima izuzetno složeni kemijski sastav s više od 70 različitih komponenti. Te komponente mogu potjecati od pčela, od medonosne biljke ili mogu nastati tijekom zrenja u saću (Krell, 1996).

Najzastupljeniji sastojci su ugljikohidrati, i to većinom fruktoza i glukoza, te voda koji zajedno čine više od 99 % meda. Ostatak čine proteini (uključujući enzime), mineralne tvari, vitamini, organske kiseline, fenolni spojevi, tvari arome (hlapljivi spojevi) i razni derivati klorofila. Iako je udio tih tvari u medu vrlo mali (< 1 %) one su uveliko odgovorne kako za senzorska tako i za nutritivna svojstva meda (Singhal i sur, 1997).

2.2.1. UGLJIKOHIDRATI

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda i njihov udjel iznosi 73-83 %, što med čini prezasićenom otopinom šećera. Najzastupljeniji su fruktoza, s udjelom od 33,3-40,0 % (prosječno 39,1 %) i glukoza s udjelom od 25,2-35,3 % (prosječno 30,3 %) (Škenderov i Ivanov, 1986).

Ova dva monosaharida čine prosječno 88-95 % ukupnih ugljikohidrata, daju medu slatkoću, energetsku vrijednost te najviše utječu na njegova fizikalna svojstva kao što su viskoznost, gustoća, ljepljivost sklonost kristalizaciji, higroskopnost te mikrobiološku aktivnost. Fruktoza, koja je najzastupljeniji šećer u medu, je 1,5 puta slađa od konzumnog šećera (Vahčić i Matković, 2009).

U kemijskom sastavu meda identificirano je i 11 disaharida: saharoza, maltoza, izomaltoza, nigeroza, turanoza, kobioza, laminoriboza, α- i β- trehaloza, i gentiobioza maltuloza i izomaltuloza melibioza. Osim njih prisutno je 12 oligosaharida: erloza, melecitoza, α- i β-izomaltozilglukoza, maltotrioza, 1-kestoza, panoza, centoza, izopanoza i rafinoza te izomaltotetroza i izomaltopentoza (Sanz i sur., 2004).

Količina i odnos između pojedinih ugljikohidrata u medu ovise o njegovom botaničkom i geografskom podrijetlu, o sastavu i intenzitetu lučenja nektara, klimatskim uvjetima, fiziološkom stanju i pasmini pčela. Iz sastava ugljikohidrata može se utvrditi patvorenje meda.

Određivanjem udjela saharoze možemo vidjeti je li došlo do patvorenja, hranjenja pčela saharozom ili direktnog dodavanja saharoze u med. Udio saharoze koji je dozvoljen, iznosi 5 %. Postoje i iznimke, a tu su: med bagrema, lucerna, med biljaka Banksia menziesii, eukaliptusa, slatkovina Hedysarum i med citrusa koji smiju sadržavati do 10% saharoze i med lavande i boražina koji ne smiju imati više od 15% saharoze (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.1. PROTEINI I AMINOKISELINE

Proteini i aminokiseline u medu mogu biti biljnog (iz biljaka) i životinjskog (iz pčela) podrijetla. Proteini u medu se mogu nalaziti u obliku prave otopine aminokiselina ili u obliku koloida,a utječu na neka fizikalna i kemijska svostva kao što su: pjenjenje,stvaranje zračnih mjerhurića,tamnjenje,zamućenje i kristalizacija meda (Belčić i sur., 1979). Udio proteina u medu se kreće od 0-1.7%, dok medljikovac sadrži više proteina od nektarnog (White, J.W., 1978). Osim proteina, u medu se nalazi otprilike 18 esencijalnih i neesencijalnih aminokiselina čiji omjeri variraju ovisno o vrsti meda. Najzastupljenija aminokiselina je prolin. Određivanje botaničkog podrijetla na temelju aminokiselinskog profila otežava i činjenica da značajan dio slobodnih aminokiselina u medu potječe od pčela što vodi do velike različitosti u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu aminokiselina unutar jedne vrste meda. Stoga je preporuka da se analiza aminokiselinskog profila u svrhu određivanja botaničkog podrijetla kombinira s drugim metodama (Anklam, E., 1998).

2.2.2. VODA

Voda je drugi najzastupljeniji sastojak meda. Zakonski omjer vode u medu ovisi o vrsti i iznosi od 15% do 20% (izuzetak je vrijesak i pekarski med od vrijeska koji smiju sadržavati do 23% i 25% vode). Količina vode koja je prisutna u medu ima bitan utjecaj na fizikalna svojstva meda, kao što su kristalizacija, viskoznost i specifična težina. Udio vode ovisi o klimatskim uvjetima, pasmini pčela, snazi pčelinje zajednice, vlažnosti i temperaturi zraka u košnici, uvjetima pri preradi i čuvanju i o botaničkom podrijetlu meda (Škenderov i Ivanov, 1986).

Zbog higroskopnosti meda, količina vode u njemu nije stalna veličina, već se mijenja za vrijeme čuvanja u ovisnosti o vlažnosti zraka. Može se reći da je udio vode najvažniji parametar kakvoće meda budući da određuje stabilnost meda i otpornost na mikrobiološko kvarenje (fermentaciju) tijekom čuvanja (Bogdanov i sur., 1999).

2.2.1. ENZIMI

Jedna od karakteristika po kojoj se med razlikuje od ostalih zaslađivača je i prisustvo enzima. Med sadrži invertazu, dijastazu (amilaza), glukoza oksidazu, katalazu, kiselu fosfatazu,

peroksidazu, polifenoloksidazu, esterazu, inulazu i proteolitičke enzime (Škenderov i Ivanov, 1986). Enzimi su vrlo značajne komponente meda budući da se njihova aktivnost smatra pokazateljem kakvoće, stupnja zagrijavanja i trajnosti te čuvanja meda (White i sur., 1964). Zajedno s proteinima medu daju svojstva koja se umjetnim putem ne mogu proizvesti niti nadomjestiti (Singhal i sur, 1997).

2.2.1. VITAMINI

Vitamine nalazimo u malim količinama te one nisu dovoljne za svakodnevne potrebe ljudskog organizma. Ovisno o podrijetlu meda nalazimo ih u različitim sastavima i količinama. U najvećoj količini se nalaze vitamin B, vitamin K i vitamin C (Vahčić i Matković, 2009). Neke vrste meda mogu sadržavati vitamin E (livada) i folnu kiselinu koja je bitna za rast i razvoj (Balen, 2003).

2.2.1. ORGANSKE KISELINE

Organske kiseline utječu na miris i okus meda te se u njemu nalaze u obliku estera. Prvotno se smatralo da se jedino mravlja kiselina nalazi u medu, no danas poznamo čitav niz organskih kiselina. Od kiselina prisutnih u medu u velikim količinama znamo za: mravlju, oksalnu, maslačnu, octenu, limunsku, vinsku, jabučnu, piroglutaminsku, mliječnu, benzojevu, maleinsku, glukonsku, valerijansku, jantarnu, pirogrožđanu, α-ketoglutaratnu, glikolnu i 2,3-fosfogliceratnu. Najzastupljenija od njih je glukonska koja nastaje iz monosaharida glukoze djelovanjem enzima glukoza oksizade. Tamniji medovi su u pravilu kiseliji ,a bagremov,livadni i kestenov med sadrže malu količinu organskih kiselina (Anupama i sur, 2003).

2.2.2. MINERALNE TVARI

Mineralne tvari u medu nalazimo u malim količinama,no kao i vitamini bitni su nam za zdravlje ljudskog organizma. U nektarnom medu njihov udio iznosi od 0.1% do 0.2%, a u medljikovcu do 1.5% izraženo kao udio pepela. Od mineralanih tvari nalazimo: kalij, natrij, kalcij, fosfor, sumpor, klor, magnezij, željezo i aluminij, a u malim količinama prisutni su još i bakar, mangan, krom, cink, olovo, arsen, titan i selen. Od svih, najzastupljeniji je kalij koji čini ¼ do ½ od ukupnog udjela svih mineralnih tvari,a zajedno s natrijem, kalcijem i fosforom najmanje 50 % (Škenderov i Ivanov, 1986). Udio mineralnih tvari u medu ovisi o njegovom botaničkom podrijetlu odnosno o sastavu tla i klimatskim uvjetima (Przybylowski i Wilczyńska, 2001). Provedenim istraživanjem na medu proizvedenom u Španjolskoj utvrđeno je da ista vrsta

meda odnosno med dobiven od iste vrste biljke (moniflorni) pokazuje sličnosti u količini određenih mineralnih tvari, stoga se udio i sastav mineralnih tvari koristi kao metoda određivanja botaničkog i geografskog podrijetla meda (Fernandez-Torres i sur. 2005).

2.2.1. FITOKEMIKALIJE

Med je poznat po svojem ljekovitom utjecaju,a ona dolazi iz tvari kao što su fitokemikalije. One potječu iz biljaka s kojih su pčele skupljale nektar ili mednu rosu. Jedna od grupa fitokemikalija su antioksidansi i flavanoidi. Antioksidansi su spojevi koji nas štite od oksidativnog djelovanja slobodnih radikala. Slobodni radikali su reaktivne molekule koje sadrže jedan nesparen elektron te lančanim reakcijama uzrokuju starenje i uništavanje stanica. Antioksidansi mogu biti enzimski ili neenzimski. U medu su nam važni jer sprječavaju njegovo kvarenje koje može biti posljedica svjetlosti, topline i nekih metala (Anonymous, 2005). Flavonoidi su grupa antioksidansa koji se nalaze u biljkama i vezani su uz fotosintezu, stoga ih nalazimo u voću, povrću, sjemenkama i medu. Jedna od njihovih funkcija je privlačenje oprašivaća te zaštita od patogenih mikroorganizma (Cushnie, 2005).

2.2.2. HIDROKISMETILFURFURAL (HMF)

Hidroksimetilfurfural je ciklički aldehid koji nastaje dehidracijom fruktoze i glukoze u kiselom mediju te nastaje ii u Maillardovim reakcijama. Njegova pojava i udio u medu ovise o vrsti meda, o pH-vrijednosti meda, o udjelu kiselina i vlage i o izloženosti meda svjetlosti (Spano i sur, 2005). Udio hidroksimetilfurfurala se isprva koristio kao indikator patvorenja meda dodavanjem sirupa invertnog šećera, no uočilo se kako prirodno zagrijavani medovi imaju veće udjele HMF-a,stoga se udio ove tvari koristi kao pokazatelj zagrijavanja i nepravilnog skladištenja meda. Općenito je udio HMF-a u medu manji od 1 mg/kg te može narast do 10mg/kg ako je temperatura okoline iznad 20°C (Vahčić i Matković, 2009). Dozvoljeni udio hidroksimetilfurfurala u hrvatskim medovima iznosi 40 mg/kg i identičan je udjelu kojeg dozvoljavaju Codex Alimentarius i Europska komisija (Codex Alimentarius Commission 2001).

2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

U fizikalna svojstva meda spadaju kristalizacija, viskoznost, higroskopnost, električna vodljivost, optička svojstva, indeks refrakcije te specifična masa te su usko povezana sa kemijskim sastavom meda. Ovisno o vrsti meda,normalno je očekivati da će parametri biti

različiti i posebni za svaku grupu (Škenderov i Ivanov, 1986). Pojedini sastojci meda utječu na određeno svojstvo ili istovremeno na nekoliko njih. Tako o udjelu vode ovisi viskoznost, indeks refrakcije i specifična masa. Optička aktivnost je povezana sa sastavom i udjelom pojedinih ugljikohidrata, a električna vodljivost ovisi o udjelu mineralnih tvari (Lazaridou i sur., 2004).

2.3.1. VISKOZNOST

Viskoznost je jedno od glavnih fizikalnih svojstava meda koje pokazuje njegov otpor tečenju, odnosno stupanj likvidnosti. Na viskoznost utječe više čimbenika, a to su sastav meda, bilje od kojeg potječe nektar, temperatura i broj kristala u medu. Povećanjem udjela vode smanjuje se viskoznost, dok udio nekih di- i trisaharida doprinosi većoj viskoznosti. Uz udio vode, najveći utjecaj na viskoznost ima temperatura. Porastom temperature viskoznost meda se smanjuje jer ima manje molekularnog trenja i hidrodinamičke sile su slabije. Taj utjecaj je najizraženiji kod temeperatura ispod 15 ºC (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.2. KRISTALIZACIJA

Med je prezasićena otopina glukoze i spontano prelazi u stanje ravnoteže kristalizacijom suvišne količine glukoze u otopini. Glukoza gubi vodu (postaje glukoza monohidrat) i prelazi u kristalni oblik, a voda, koja je prije bila vezana na glukozu, postaje slobodna tako da se povećava sadržaj vode u nekristaliziranim dijelovima meda. Zbog toga med postaje skloniji fermentaciji i kvarenju. Fruktoza ostaje u tekućem stanju i čini tanak sloj oko kristala glukoze. Med mijenja boju, postaje svijetliji, više nije proziran, a mijenja i okus. Brzina kristalizacije ovisi o omjeru glukoze i fruktoze Medljikovac s više glukoze nego fruktoze ima i veću sklonost kristalizaciji. Kristalizacija ovisi i o udjelu minerala, organskih kiselina, proteina, temperaturi skladištenja i vlažnosti zraka. Inicijatori kristalizacije su i pelud, prašina, vosak i potresanje meda. Najpovoljnija temperatura za kristalizaciju je od 10 do 20 °C, idealno 11-15 °C, a ispod 5 °C i iznad 27 °C nema kristalizacije. Čuvanjem meda na temperaturi nižoj od 11 °C, dobro zatvorenog da ne dođe do apsorpcije vode može se spriječiti kristalizacija. Također ako je omjer glukoze i vode manji od 1,7 med neće kristalizirati odnosno kad taj omjer prijeđe 2,1 med brzo kristalizira. Kristalizacijom se ne gube nikakva svojstva meda niti mu se smanjuje kvaliteta,ali se zbog izgleda izbijegava jer izgleda odbojno potrošačima (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.3.3. HIGROSKOPNOST

Higroskopnost je fizikalno svojsto meda koje u ovisnosti o relativnoj vlažnosti zraka i udjelu vode na sebe veže ili otpušta. Na taj proces utječe velika količina šećera u medu,a posebice fruktoze koja je higroskopnija od glukoze. Proces se odvija sve do uspostave ravnoteže,a

promjene se većinom događaju na površini jer je zbog velike viskoznosti gibanje vode u unutrašnjost vrlo spora (Vahčić i Matković, 2009). Čuvanjem meda u vlažnim prostorijama dovodi do povećanja masenog udjela,a time i do mogučnosti fermentacije i kvarenja (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.3.4. ELEKTRIČNA PROVODNOST

Električna vodljivost je fizikalno svojstvo koje ovisi o udjelu mineralnih tvari i kiselina u medu te što je taj udio veći,veća je i sposobnost da med provodi električnu struju. Električna provodnost u medu definira se kao provodnost 20%-tne vodene otopine meda pri temperaturi od 20 °C gdje se 20% odnosi na suhu tvar meda (White i sur., 1963). Mjerna jedinica za električnu vodljivost je milisimens po centrimetru (mS/cm). Danas se električna vodljivost koristi u određivanju kakvoće meda te se služi i kao dobar kriterij određivanja botaničkog podrijetla meda odnosno za razlikovanje nektarnog meda od medljikovca. Prema zakonskoj regulativi, kako hrvatskoj tako i europskoj, nektarni i mješani med moraju imati električnu vodljivost manju od 0,8 mS/cm, a medljikovac i med kestena veću od 0,8 mS/cm. Iznimke su medovi eukaliptusa, vrijeska i lipe, zbog prirodno velikih varijacija u električnoj vodljivosti (NN 53/15).

2.3.5. OPTIČKA AKTIVNOST

Vodena otopina meda je optički aktivna,odnoso zakoreće ravninu polarizirane svjetlosti. U medu optička aktivnost je funkcija udjela ugljikohidrata. Fruktoza zakreće ravninu polarizirane svjetlosti ulijevo, a glukoza, svi disaharidi, trisaharidi i viši oligosaharidi udesno (Škenderov i Ivanov, 1986). Nektarni med zbog većeg udjela fruktoze zakreće svjetlost ulijevo, odnosno pokazuje negativnu optičku aktivnost dok medljikovac zbog većeg udjela oligosaharida, ponajviše melecitoze i erloze, zakreće svjetlost udesno, tj. pokazuje pozitivnu optičku aktivnost (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.6. INDEKS REFRAKCIJE

Udjel vode odnosno topljive suhe tvari u medu određuje se mjerenjem indeksa refrakcije. Mjeri se refraktometrom na principu loma svjetlosti koji prolazi kroz otopinu. Mjerenje se najčešće provodi pri temperaturi od 20 °C te se dobiveni rezultati razliku zavisno o temperaturi mjerenja. Budući da se indeksi refrakcije meda razlikuje od onog izmjerenog za otopinu saharoze iste koncentracije moraju se koristiti posebne tablice za tu svrhu (Anonymous, 2005).

2.3.7. POVRŠINSKA NAPETOST

Mala površinska napetost meda i zadržavanje vode čini ga pogodnim za kozmetičke proizvode. Površinska napetost ovisi o podrijetlu meda a povezana je vjerojatno s koloidnim česticama. Zajedno s velikom viskoznošću odgovorna je za stvaranje pjene u medu (Krell, R. 1996).

2.3.8. SPECIFIČNA MASA

Specifična masa meda predstavlja omjer mase meda prema masi iste količine vode i prije svega ovisi o udjelu vode u medu. Specifična masa kvalitetnih vrsta meda veća je od 1,42. Na specifičnu masu meda može utjecat medonosno bilje od kojeg potječe nektar (Anonymous 2005).

2.4. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA

Boja,okus i miris su najvažnija senzorska svojstva meda te ovise o biljnom podrijetlu meda i o njegovoj preradi i skladištenju. Budući da za određene vrste meda fizikalno-kemijske analize ne podastiru dovoljno karakterističnih vrijednosti senzorska analiza je neizostavna u procjeni kakvoće meda. Rezultati senzorskog ispitivanja mogu ukazati i na neka patvorenja meda kao što su patvorenje dodavanjem šećera, dobivanje meda hranjenjem pčela šećerom te deklariranje neodgovarajuće vrste meda obzirom na botaničko podrijetlo. Također je moguće utvrditi i kontaminaciju stranim tvarima kao što su sredstva protiv moljaca, repelenti, miris i okus dima (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.1. BOJA MEDA

Boja je meda ovisno o botaničkom podrijetlu svjetložuta, žuta, smeđa do tamnosmeđa. Izrazito svijetlom bojom skoro bijelo zelenkastom očituje se bagremov, a tamnosmeđom kestenov med. Boja ostalih medova kreće se između te dvije krajnosti. Osim bagremovog meda svijetlom bojom odlikuju se i livadni med i med od djeteline, crvenkastom bojom lipa, tamnožutom vijesak, jantarnožutom suncokretov med i med uljane repice, kadulja je žućkasto smeđe boje a medljikovci i heljdin med su tamne boje. Med postaje svjetliji nakon kristalizacije (jer su kristali glukoze bijeli), ali potamni tijekom skadištenja. Intenzivnije potamni ako se čuva pri višoj temperaturi (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.2. OKUS MEDA

Punoću i prepoznatljivost okusa čini slatkoća, koja ovisi o udjelu i omjeru glukoze, fruktoze, aminokiselina, eteričnih ulja i organskih kiselina. Tako se okus meda kreće se od slatkog do gorkog kod kestenovog meda. Malo gorčine ima i med trešnje, višnje i heljde. Oporog je

okusa med od vrijeska, repica ima okus po saću, oštar okus ima med od kadulje i mente. Sve su to značajke bitne za određivanje vrste meda pri senzorskom ocjenjivanju. Poslije fermentacije med poprima kiseo okus (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.3. MIRIS MEDA

Miris meda, u većini slučajeva ovisi o biljci od koje je dobiven. Mirisne tvari su lakohlapljive pa čuvanjem ili zagrijavanjem, miris slabi ili nestaje. Neke vrste meda nemaju specifičan miris, dok neke, poput kestena i lavande karakterizira miris po medonosnoj biljci (Skakelja, N. 2003). Mirisne tvari mogu se podijeliti u tri skupine: karbonilni spojevi (aldehidi i ketoni), alkoholi i esteri. Med sadrži preko 50 spojeva koji mu daju miris (Škenderov i Ivanov, 1986).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

U ovom radu analizirano je ukupno 33 uzorka cvjetnog meda poznatog podrijetla s područja Republike Hrvatske iz 2016. godine. Kod svih uzoraka provedena je analiza sljedećih fizikalno – kemijskih parametara: maseni udio vode, kiselost, električna provodnost, maseni udio hidrokismetilfurfurala, maseni udio reducirajućih šećera i maseni udio saharoze.

3.2. METODE RADA

3.2.1. PRIPREMA UZORKA MEDA ZA ANALIZU

Ovisno o konzistenciji meda, uzorci za analizu pripremaju se na razne načine (IHC, 2009).

- Ako je med u tekućem stanju, prije početka analize polako se izmiješa štapićem ili se protrese.
- Ako je med granuliran, zatvorena posuda s uzorkom stavi se u vodenu kupelj i zagrijava 30 minuta na temperaturi od 60°C, a prema potrebi i na temperaturi od 65°C. U toku zagrijavanja može se promiješati štapićem ili kružno protresti, a zatim brzo ohladiti.
- Ako se određuje dijastaza ili hidroksimetilfurfural, med se ne zagrijava .
- Ako med sadržava strane tvari, kao što su vosak, dijelovi pčela ili dijelovi saća, uzorak se zagrijava u vodenoj kupelji na temperaturi od 40°C, a potom se procijedi kroz tkaninu koja se stavlja na ljepilo zagrijavano toplom vodom.

- Ako je med u saću, saće se otvori, procijedi kroz žičano sito s kvadratnim otvorima promjera 0,5 mm x 0,5 mm. Ako dio saća i voska prođe kroz sito, uzorak se zagrijava u vodenoj kupelji na temperaturi od 60°C , a prema potrebi zagrijava se 30 minuta i na temperaturi od 65°C. Za vrijeme zagrijavanja promiješa se štapićem ili protrese kružnim pokretima, a zatim brzo ohladi.
- Ako je med u saću granuliran, zagrijava se da bi se vosak otopio, promiješa se i ohladi. Nakon hlađenja vosak se odstrani.

3.2.2. ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU

Uzorak se priprema na način koji je utvrđen za metodu pripreme uzorka za analizu,a zatim se pri temperaturi od 20°C odredi indeks refrakcije s refraktometrom. Na temelju izmjerenog indeksa refrakcije izračuna se količina vode (% m/m) uz pomoć tablice za proračun udjela vode u medu (IHC, 2009).

Kad indeks refrakcije određujemo na temperaturi koja 20°C, u obzir moramo uzeti i korekciju temperature:

- temperatura viša od 20°C – dodati 0,00023 za svaki °C
- temperatura do 20°C – oduzeti 0,00023 za svaki °C

3.2.3. ODREĐIVANJE KISELOSTI MEDA

Pripremljeni uzorak se titrira, uz fenoftalein, otopinom 0,1 mol/L natrijeva hidroksida do pojave svijetlo ružičaste boje (IHC, 2009).

Kiselost se iskazuje u milimolima kiseline/kg i računa se prema formuli:

$$\text{Kiselost} = 10 \times V$$

gdje V označava broj potrošenih mL 0,1 mol (NaOH)/L za neutralizaciju 10 g meda

3.2.4. ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA

Mjerimo električnu provodnost 20%-tne otopine meda koristeći konduktometar. Određivanje se bazira na mjerenju električne otpornosti koja je obrnuto proporcionalna električnoj provodnosti.

Oomoću otopine KCl, pri temperaturi od 20°C, standardiziramo konduktometar. Otopi se 20 g meda u destiliranoj vodi, prebaci se u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Ulije se 40 mL pripremljene otopine u posudu i stavi u vodenu kupelj termostatiranu na 20°C. Elektroda se ispere preostalim dijelom otopine, uroni u posudu s otopinom uzorka i očita se električna provodnost nakon što je postignuto 20°C (IHC, 2009).

Električna provodnost se izračunava prema sljedećoj formuli:

$S_H = K \times G$

gdje je:

S_H - električna otpornost meda (mS/cm)

K - konstanta elektrode (cm^{-1})

G – provodnost (mS)

Rezultati se prikazuju s točnošću 10^{-2} mS/cm.

3.2.5. ODREĐIVANJE UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA

Određivanje udjela hidroksimetilfurfurala u medu temelji se na originalnoj metodi po Winkleru. Alikvoti otopine meda, otopine p-toluidina i barbiturne kiseline se pomiješaju. Boja koja nastane mjeri se u odnosu na slijepu probu u kivetama promjera 1 cm na valnoj duljini od 550 nm (IHC, 2009.).

REAGENSI:

1. Otopina p-toluidina

U vodenoj kupelji, laganim zagrijavanjem, otopi se u 50 mL 2-propanola 10,0 grama p-toluidina. Nekoliko mL 2-propanola prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL i pomiješa se s 10 mL ledene octene kiseline. Nakon što se ohladi na sobnu temperaturu, tikvica se nadopuni 2-propanolom do oznake. Prije upotrebe otopina mora odstajat barem 24 sata na tamnom mjestu te se mora bacit nakon 3 dana ili ako dođe do pojave neprikladnog obojenja.

2. Otopina barbiturne kiseline

U odmjernu tikvicu od 100 ml prenese se 500 mg barbiturne kiseline s 70 ml vode. Tikvica se začepi i lagano se otapa sadržaj tikvice zagrijavanjem u vodenoj kupelji. Zatim se tikvica ohladi na sobnu temperaturu i nadopuni do oznake.

3. Carrrezova otopina I: U 100 mL vode otopi se 15 grama kalijevog heksacijanoferata (II).
4. Carrezova otopina II: U 100 mL vode otopi se 30 grama cinkovog acetata.

POSTUPAK:

U 20 ml vode otopimo prethodno izvaganih 10 g meda te u otopinu kvantitativno prenesemo u odmjernu tikvicu od 50 ml i dodamo 1 mL Carrezove otopine I .Nakon toga se doda 1 mL Carrezove otopine II te otopinu promiješamo. Tikvicu nadopunimo vodom do oznake te ponovo promiješamo. Kap etanola sprječava mogućnost pjenjenja. Otopina se filtrira kroz filter papir. Prvih 10 mL filtrata se baca, a ostatak analize odmah treba dovršiti. U slučaju da su uzorci vrlo bistri, pročišćavanje Carrezovim otopinama nije potrebno.

ODREĐIVANJE:

2 mL otopine uzorka otpipetiramo u dvije epruvete te u obije dodamo 5 mL otopine p-toluidina. U jednu epruvetu se doda samo 1 mL vode i ona predstavlja slijepu probu. U drugu epruvetu se doda 1 mL otopine rbiturne kiseline uz lagano miješanje. Reagensi se dodaju bez prekida, a sve se mora završiti za 1 do 2 minute. Nakon 3 – 4 minute, kada intenzitet boje dosegne maksimum, očita se apsorbancija na 550 nm u kiveti promjera 1 cm.

Udio hidroksimetilfurfurala se računa prema sljedećoj formuli:

$$HMF = (192 \times A \times 10)/m$$

pri čemu je:

A - apsorbancija

192 - faktor razrjeđenja i koeficijent

m - masa meda (g)

3.2.6. ODREĐIVANJE REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA

Metoda se temelji na redukciji Fehlingove otopine titracijom pomoću otopine reduciranih šećera iz meda uz upotrebu metilenskog modrog bojila kao indikatora (IHC, 2009).

REAGENSI:

- Fehlingova otopina

Otopina A: otopi se 69,28 g bakrenog sulfata ($CuSO_4$ x $5H_2O$) i tome se doda destilirana voda do jedne litre. Otopina se pripremi 24 sata prije titracije.

Otopina B: otopi se 346 g kalijeva natrijeva tartarata ($C_4H_4KNaO_6$ x $4H_2O$) i 100 g natrijeva hidroksida (NaOH) u litri destilirane vode. Otopina se zatim filtrira.

- Standardna otopina invertnog šećera (10 g/L vode):

Izvaže se 9,5 g čiste saharoze, doda 5 mL otopine solne kiseline (oko 36,5 %) i destilirane vode do 100 mL. Otopina se može pohraniti nekoliko dana, ovisno o temperaturi: na temperaturi od 12°C do 15°C do sedam dana, a na temperaturi od 20°C do 25°C tri dana. Pripremljenoj otopini doda se vode do jedne litre. Neposredno prije upotrebe odgovarajuća se količina otopine neutralizira 1 mol otopinom NaOH/L, a potom se razrijedi do zahtijevane potrebne koncentracije (2 g/L) - standardna otopina.

Napomena: 1%-tna zakiseljena otopina invertnog šećera stabilna je nekoliko mjeseci.

- Otopina metilenskog modrog bojila

Otopi se 2 g metilenskog modrog bojila u destiliranoj vodi,a zaim se razrijedi vodom do jedne litre.

- Stipsa (otopina stipse):

Pripremi se hladno zasićena otopina [$K_2SO_4Al_2(SO_4)_3$ x $24H_2O$] u vodi. Zatim se uz stalno miješanje štapićem dodaje se amonijev hidroksid tako dugo dok otopina ne postane alkalna, što se utvrđuje lakmus papirom. Zatim se pusti da se otopina slegne, provodi se ispiranje vodom uz dekantiranje sve dok je voda slabo pozitivna pri testu na sulfate. To utvrđujemo otopinom barijeva klorida. Višak vode se odlije, a preostala pasta pohrani u boci s brušenim zatvaračem.

PRIPREMA UZORKA:

Postupak I. - primjenjiv na med s talogom:

a) Izvaže se 25 g (W_1) homogeniziranoga meda i prenese u tikvicu od 100 mL. Doda se 5 mL stipse i tikvica se nadopuni vodom do oznake, pri temperaturi od 20°C. Zatim se otopina filtrira.
b) U odmjernu tikvicu od 500 mL otpipetiramo 10 mL uzorka pod a) i nadopunimo ju destiliranom vodom do oznake na tikvici.

Postupak II. :

a) U odmjernu tikvicu volumena od 200 mL kvantitativno prenesemo prethodno izvagano 2g (W_2) homogeniziranog meda te tikvicu nadopunimo vodom do oznake (otopina meda).

b) Odmjeri se 50 mL otopine meda pod a) i njoj dodamo destilirane vode do 100 mL (razrijeđena otopina meda).

STANDARDIZACIJA FEHLINGOVE OTOPINE:

Fehlingova otopina se standardizira tako da se otpipetira 5 mL Fehlingove otopine A i 5 mL Fehlingove otopine B, nakon čega se te otopine pomiješaju. Otopina mora potpuno reagirati s 0,050 g invertnog šećera dodanoga u količini od 25 mL kao standardna otopina invertnog šećera (2 g/L).

PRETHODNA TITRACIJA:

Prije početka titracije dodaje se određena količina vode,jer ukupni obujam tvari na kraju redukcijske titracije mora biti 35 mL. S obzirom na to da se Pravilnikom za med propisuje više od 60% reduciranih šećera (računatih kao invertni šećer), potrebno je najprije obaviti titraciju, da bi se utvrdio točan obujam vode što se dodaje da bi se u postupku analize osigurala redukcija pri stalnom obujmu. Volumen potrebne količine vode računa se odbijanjem potrošenog volumena razrijeđene otopine meda u prethodnoj titraciji.

U stožastu Erlenmeyerovu tikvicu od 50 mL prenese se 5 mL Fehlingove otopine, zatim se doda 5 mL Fehlingove otopine B, 7 mL destilirane vode, malo plovučca i 15 mL razrijeđene otopine meda iz birete. Otopina se zagrijava do vrenja, pa dvije minute polako vrije i za to vrijeme doda se 1 mL 0,2 %-tne otopine metilenskog modrog bojila. Titracija se završi za tri minute, ponovnim dodavanjem razrijeđene otopine meda sve dok ne iščezne boja indikatora. Potrošeni volumen razrijeđene otopine meda koji je potpuno reduciran obilježava se s "X mL".

ODREĐIVANJE:

U stožastu Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL odmjeri se 5 mL Fehlingove otopine A i doda se 5 mL Fehlingove otopine B. Zatim se doda (25 mL - "X mL") destilirane vode, malo kamena plovučca i iz birete razrijeđena otopina meda, tako da za kompletnu titraciju ostane oko 1,5 mL ("X mL" -1,5 mL). Hladna otopina zagrijava se do vrenja i dvije minute se održava umjereno vrenje. Za vrijeme vrenja doda se 1 mL 0,2%-tne otopine metilenskoga modrog bojila. Titracija se mora završiti za tri minute dodavanjem razrijeđene otopine meda do obezbojenja indikatora. Potrošena količina razrijeđene otopine meda obilježava se s "Y mL".

IZRAČUNAVANJE:

Invertni šećer izražava se u g/100 g (%) i izračunava prema sljedećoj formuli:

- postupak I: $C = 25/W_1 \times 1000/Y1$
- postupak II: $C = 2/W_2 \times 1000/Y2$

pri čemu je:

C- invertni šećer

$W_{1,2}$ - masa uzorka (g)

$Y_{1,2}$- volumen razrjeđene otopine meda potrošen za određivanje (mL)

3.2.7. ODREĐIVANJE UDJELA SAHAROZE

Metoda se temelji na hidrolizi saharoze, redukciji Fehlingove otopine titracijom reduciranim šećerom iz hidrolizata meda, uz metilensko modro bojilo (IHC, 2009).

REAGENSI:

- Fehlingova otopina (A i B), utvrđena metodom određivanja reducirajućih šećera
- standardna otopina invertnog šećera, utvrđena metodom određivanja reducirajućih šećera
- solna kiselina c (HCl) = 6,34 mol/L
- otopina natrijeva hidroksida c (NaOH) = 5 mol/L
- 2 %-tna otopina metilenskoga modrog bojila (2 g/L)

PRIPREMA UZORKA:

U odmjernu tikvicu od 200 mL kvantitavno prenesemo prethodno izvaganog 2g homogeniziranog meda. Med zatim otopimo u destilarnoj vodi nakon čega nadopunimo tikvicu do oznake.

HIDROLIZA UZORKA:

50 mL otopine meda prenesemo u tikvicu od 100 mL te dodamo 25 mL destilirane vode. Takav pripremljeni uzorak zagrijava se do temperature od 65°C u kipućoj vodenoj kupelji. Potom se tikvica izvadi iz kupelji i doda joj se 10 mL solne kiseline. Otopinu hladimo 15 minuta. Nakon toga, ohladimo otopinu na temperaturu 20°C i neutraliziramo otopinu otopinom 5 mol NaOH/L, uz upotrebu lakmus papira kao indikatora. Ponovno ohladimo tikvicu na 20°C te se nakraju nadopuni vodom do volumena 100 mL (razrijeđena otopina meda).

ODREĐIVANJE:

Određivanje se provodi istom medom kao određivanje reducirajućih šećera, a odnosi se na prethodnu titraciju i postupak određivanja količine invertnog šećera prije inverzije.

IZRAČUNAVANJE:

Prvo se izračuna postotak invertnog šećera nakon inverzije,pri čemu kod računjanja koristimo formula za određivanje postotka invertnog šećera prije inverzije.

Saharoza se iskazuje u g/100 g meda i izračunava prema formuli:

masa saharoze, g/100 g = (količina invertnog šećera nakon inverzije - količina invertnog šećera prije inverzije) x 0,95

4. REZULTATI I RASPRAVA

Tablica 1. Rezultati kemijske analize cvjetnog meda

Uzorak	maseni udio vode (%)	električna provodnost (mS/cm)	kiselost (mmol/kg)	maseni udio HMF -a (mg/kg)	maseni udio reducirajućih šećera (%)	maseni udio saharoze (%)
1	19,40	1,0040	30,00	3,01	65,22	0,97
2	17,00	0,5180	37,22	5,21	67,52	1,43
3	16,32	0,7860	26,97	1,81	62,30	1,57
4	19,40	0,5800	33,26	1,78	65,75	0,68
5	17,32	0,3240	21,06	2,42	66,31	1,19
6	16,56	0,5850	24,00	3,67	61,28	1,94
7	18,60	0,7940	39,92	3,11	64,47	0,75
8	18,28	0,3600	13,06	10,23	61,94	2,10
9	17,36	0,8320	35,77	2,57	62,65	1,13
10	18,28	0,7290	33,10	2,22	62,82	1,20
11	16,68	0,4340	20,06	0,00	67,21	1,21
12	17,76	0,5130	23,18	1,46	63,97	1,17
13	18,60	0,4970	37,85	2,06	60,32	1,64
14	17,40	0,4620	18,11	0,00	65,23	0,87
15	16,52	0,7960	40,92	0,81	69,38	0,22
16	17,00	0,6370	27,40	1,77	62,77	2,25
17	19,16	0,3580	22,09	1,15	64,77	1,27
18	16,12	0,3540	20,22	3,52	67,27	1,45
19	17,40	0,8850	35,03	0,39	65,93	0,85
20	17,32	0,9870	29,94	0,00	65,56	1,00
21	15,47	0,4680	25,37	1,05	66,25	1,52
22	17,68	0,6960	41,00	0,82	65,60	0,97
23	17,04	0,3630	22,88	1,59	66,63	1,16
24	17,20	0,2900	19,00	0,84	65,77	1,38

Tablica 1. Rezultati kemijske analize cvjetnog meda (nastavak)

Uzorak	**maseni udio vode (%)**	**električna provodnost (mS/cm)**	**kiselost (mmol/kg)**	**maseni udio HMF -a (mg/kg)**	**maseni udio reducirajućih šećera (%)**	**maseni udio saharoze (%)**
25	15,84	0,3800	33,00	12,79	65,79	1,92
26	16,32	0,6870	16,33	0,00	62,08	2,48
27	16,24	0,6520	23,83	1,89	61,83	1,55
28	16,52	0,4170	24,48	1,34	73,19	1,35
29	17,00	0,2670	21,21	1,08	66,84	1,05
30	17,00	0,4320	27,19	18,09	64,42	1,60
31	15,80	0,5520	22,93	11,95	64,20	2,05
32	15,00	0,9000	25,70	0,32	62,31	1,67
33	16,72	0,5100	23,09	1,95	67,40	1,23
prosječna vrijednost	17,16	0,57	27,13	3,06	64,99	1,36
raspon	15-19,4	0,267-1,004	13,06-41,00	0-18,9	60,32-79,19	0,22-2,48
standardna devijacija	1,07	0,20	7,35	4,09	2,56	0,47
koeficijent varijabilnosti (%)	6,23	35,62	27,08	133,81	3,94	35,02
zahtjevi Pravilnika	<20	<0.8	<50	<40	>60	<5

U prethodno prikazanim tablicama nalaze se rezultati ispitivanih fizikalno-kemijskih svojstva cvjetnog meda iz 2016. godine. Uz rezultate, odredili smo prosječnu vrijednost, standardnu devijaciju, koeficijent varijabilnosti i zahtjeve Pravilnika za cvjetni med.

Prosječna vrijednost za maseni udio vode iznosila je 17,16%, s tim da je najmanja vrijednost iznosila 15%, a najveća 19,4%. Udjeli vode koji su izmjerni zadovoljavaju kriterije Pravilnika o medu, a on propisuje da med može sadržavati najviše 20% vode. U usporedbi sa istraživanjem iz 2008. godine, kojeg su proveli Šarić i suradnici, vidimo da cvjetni medovi iz 2003., 2004. i 2005. godine imaju približno jednaku prosječnu vrijednost za udio vode. Dobiveni prosječni udjeli vode redom za spomenute godine iznose: 16%, 16,8%, 16,7%.

Prosječna vrijednost za električnu provodnost iznosila je 0,57 mS/cm, dok je najmanja vrijednost iznosila 0,267 mS/cm,a najveća 1,004 mS/cm. Prema Pravilniku za med, električna provodnost za cvjetni med mora iznosit manje od 0,8 mS/cm te prema rezultatima iz tablice vidimo da uzorak broj: 1,9,19,20,32 nije zadovoljio taj zahtjev. Prosječna vrijednost električne provodnosti za cvjetne medove,kojeg su proveli Šarić i suradnici za 2003., 2004., 2005. godinu iznosile su: 0,61 mS/cm, 0,47 mS/cm, 0,47 mS/cm.

Prosječna vrijednost za kiselost u ispitivanim uzorcima iznosila je 27,13 mmol/kg. Vrijednost najmanje kiselog meda iznosila je 13,06 mmol/kg, dok je najveća iznosila 41,00 mmol/kg. Svi analizirani uzorci zadovoljavaju Pravlinik prema kojem vrijednost kiselosti za cvjetni med ne smije prelaziti 50 mmol/kg. Za cvjetne medove, ispitivane od Šarića i suradnika iz 2008, prosječna vrijednost kiselosti za med iz 2003. godine iznosila je 21,4 mmol/kg, za med iz 2004. godine 18,5 mmol/kg te za med iz 2005. godine 21 mmol/kg.

Maseni udio HMF- a u uzorcima cvjetnog meda iznosio je od 0 mg/kg do 18,9 mg/kg, dok je prosječna vrijednost masenog udjela hidrokismetilfurfurala 3,06 mg/kg. Šarić i suradnici (2008) proveli su istraživanje i prosječna vrijednost masenog udjela HMF-a za medove iz 2003. godine iznosila je 6,7, za medove iz 2004. godine ta vrijednost iznosila je 6,6 i za medove iz 2005. godine iznosila je 26,5. Prosječni udio HMF-a za cvjetne medove je najveći 2005.,a uzrok tomu može biti nepravilna prerada meda ili nepravilno skladištenje. Uzorak broj 11,14,20, i 25 ne sadrže HMF, stoga je za pretpostaviti da su svježe cjeđeni medovi koji su izravno poslani na analizu. Svih 33 analiziranih uzoraka cvjetnog meda zadovoljavaju uvjet koji je postavljen Pravilnikom, koji govori da maseni udio hidrokismetilfurfurala smije iznositi najviše 40 mg/kg.

U ispitivanim uzorcima cvjetnog meda maseni udio reducirajućih šećera iznosio je od 60,32% do 73,19%, a prosječna vrijednost 64,99%. Pravilnik o medu propisuje vrijednost veću od 60,00%, stoga svi uzorci odgovaraju zahtjevu. U istraživanjima koje su proveli Šarić i suradnici (2008), medovi iz 2003. godine imaju prosječnu vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera 71,2%, medovi iz 2004. godine 69,7%, a oni iz 2005. godine 68,2%.

Prosječna vrijednost za udio saharoze u cvjetnom medu iznosila je 1,36%, dok je vrijednost za med s najmanjim udjelom saharoze iznosila 0,22%, a za med s najvećim 2,48%. Pravilnikom zadana vrijednost za udio saharoze iznosi manje od 5%, stoga svi uzorci odgovaraju zahtjevu. Za cvjetne medove iz 2003., 2004., 2005., iz istraživanja koje su proveli Šarić i suradnici, prosječna vrijednost udjela sahroze iznosi redom za godine: 2,4%, 3,7% i 1,8%.

5. ZAKLJUČAK

Nakon provedenog istraživanja fizikalno-kemijskih svojstva 33 uzorka cvjetnog meda iz Republike Hrvatske za 2016. godinu zaključujem da:

- Maseni udio vode za sve uzorke odgovara Pravilniku (najviše 20% vode).
- Električna provodnost prema Pravilniku ne bi smjela prelazit 0,8 mS/cm, no u 5 analiziranih uzoraka ta vrijednost je veća i ne odgovara zahtjevima. Za te uzorke možemo reći da su mješavina cvjetnog i šumskog meda, gdje prisutnost medljike utječe na povećani udio mineralnih tvari te samim time i električne provodnosti. Ostali uzorci zadovoljavaju kriterij Pravilnika.
- Kiselost je za sve uzorke odgovarala zahtjevima Pravilnika, a on propisuje najviše 50 mmol/kg.
- Maseni udio hidroksimetilfurfurala je za sve uzorke bio u granicama koje propisuje Pravilnik. Svi uzorci su imali vrijednost manju od 40 mg/kg.
- Udio reducirajućih šećera je za sve uzorke bio veći od 60 grama na 100 grama meda te su time zadovoljeni zahtjevi Pravilnika.
- Maseni udio saharoze za sve uzorke odgovara Pravilniku te je manji od 5 %

6. LITERATURA

Codex Alimentarius Commission (2001) Revised Codex Standard for Honey, *Codex STAN 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001)*

Pravilnik o medu (2015) *Narodne novine* **53**, Zagreb (NN 53/15).

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

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

Persano Oddo, L., Piro, R. (2004) Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* **35**: Suppl.1. 38-81 28

Janković, A. (1979) Pčelinji proizvodi- hrana i lek, 3. izd., Nolit, Beograd.

Petrović Jojriš, N. (1979) Pčele i medicina (preveo Đeranović, A.) Nolit, Beograd

Sajko, K., Odak, M., Bubalo, D., Dražić, M., Kezić, N. (1996) Razvrstavanje meda prema biljnom podrijetlu uz pomoć peludne analize i električne provodljivosti. *Hrvatska pčela.* **10**: 193-196.

Krell, R. (1996) Value-added products from bee keeping. Ch. 2. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124.

Singhal, R.S., Kulkarni, P.R., Rege, D.V. (1997): Handbook of indices of food quality. Woodhead Publishing Limited, *Cambridge*, 358-379.

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

Belčić, J., Katalinić, J., Loc, D., Lončarević, S., Peradin, L., Šimunić, F., Tomašec, I. (1979) Pčelarstvo, 4. izd., Nakladni zavod Znanje, Zagreb.

Sanz, M.L., González, M., de Lorenzo, C., Sanz, J., Martínez-Castro, I. (2004) Carbohydrate composition and physico chemical properties of artisanal honeys from Madrid (Spain): occurrence of Echium sp honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84**: 1577-1584.

White, J. W., Subers, M.H., Schepartz, A. I. (1963) The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in honey glucoseoxidase system. *Biochimica et Biophysica Acta* **73**: 57-70.

Anklam, E. (1998) A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry* **63**: 549-562.

Bogdanov, S., Lüllmnn, C., Martin, P. (1999) Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Commission. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* **90**: 108-125.

Balen, A. (2003) Pčelarstvo u Petrinji: 1952-2002. Pčelarska udruga, Petrinja.

Anupama, D., Bhat, K.K., Sapna, V.K. (2003) Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Res. Int.* **36**: 183-191.

Przybylowski, P., Wilczyńska, A. (2001) Honey as an environmental marker. *Food Chemistry* **74**: 289-291.

Fernandez-Torres, R., Perez-Bernal, J.L., Bello-Lopez, M.A., Callejon-Mochon, M., Jamenez-Sanchez, J., Guiraum-Perez, A. (2005) Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. *Talanta* **65**: 686-691.

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

Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., Bacandritsos, N., Sabatini, A. G. (2004) Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys. *Journal of Food Engineering* **64**: 9-21.

Skakelja, N. (2003) Slatko,slatko... Med. Drvo znanja **65**: 9-12.

International Honey Commission (2009) Harmonised methods of the International Honey Commission, <www.ihc-platform.net>

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Barna Devčić

ime i prezime studenta