

Kemijski sastav cvjetnog i livadnog meda

Marevci, Alma

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:500645>

Rights / Prava: [In copyright](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2021-10-24**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Alma Marevci

6983/PT

KEMIJSKI SASTAV CVJETNOG I LIVADNOG MEDA
ZAVRŠNI RAD

Predmet: Analitika prehrambenih proizvoda

Mentor: Prof. dr. sc. *Nada Vahčić*

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena

Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda

Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Kemijski sastav cvjetnog i livadnog meda

Alma Marevc, 0058206008

Sažetak: Cilj ovog rada bio je odrediti fizikalno-kemijska svojstva 35 uzorka cvjetnog meda i 11 uzorka livadnog meda te usporediti dobivene vrijednosti u odnosu na zahtjeve Pravilnika o medu. U svim uzorcima meda mjereni su: maseni udio vode, električna provodnost, kiselost, udio reducirajućih šećera, saharoze te hidrosimetilfurfurala. Sve korištene metode propisala je Međunarodna komisija za med. Nakon provedene analize, 7 uzoraka je imalo odstupanja u vrijednosti električne provodnosti, 1 u udjelu saharoze i 2 u udjelu reducirajućih šećera, a ostali su zadovoljili sve zahtjeve Pravilnika.

Ključne riječi: cvjetni med, fizikalno-kemijska svojstva, livada

Rad sadrži: 30 stranica, 2 tablice, 6 slika, 26 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Prof.dr.sc. Nada Vahčić

Pomoć pri izradi: Renata Petrović, ing.

Valentina Hohnjec, teh.sur.

Datum obrane: srpanj, 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Food Technology

Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Chemical properties of floral and meadow honey

Alma Marevci, 0058206008

Abstract: The aim of this paper was to determine the physico-chemical properties of 35 floral honey samples and 11 samples of meadow honey and compare the obtained values with requirements of Croatian Regulative of honey. All samples of honey were measured by weight of water, electrical conductivity, acidity, the proportion of reducing sugars, sucrose and hydroxymethylfurfural. All the methods used were prescribed by the International Honey Commission. After the analysis, 7 samples showed deviations in the value of electrical conductivity, 1 in the sucrose content and 2 in the proportion of reducing sugars, while others met the conditions of Regulative.

Keywords: floral honey, meadow, physico-chemical properties

Thesis contains: 30 pages, 2 tables, 6 figures, 26 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.

Defence date: July, 2018

SADRŽAJ

2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. DEFINICIJA MEDA	2
2.2. VRSTE MEDA	2
2.2.1. NEKTARNI MED	3
2.2.2. MED MEDLJKOVAC	5
2.3. KEMIJSKI SASTAV MEDA	6
2.3.1. UGLJIKOHIDRATI	7
2.3.2. VODA	7
2.3.3. PROTEINI I AMINOKISELINE	8
2.3.4. ENZIMI	8
2.3.5. VITAMINI	8
2.3.6. ORGANSKE KISELINE	8
2.3.7. MINERALNE TVARI	9
2.3.8. FITOKEMIKALIJE	9
2.3.9. HIDROKSIMETILFURFURAL (HMF)	10
2.4. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA	10
2.4.1. VISKOZNOST	10
2.4.2. KRISTALIZACIJA	11
2.4.3. HIGROSKOPNOST	11
2.4.4. ELEKTRIČNA VODLJIVOST	11
2.4.5. OPTIČKA AKTIVNOST	12
2.4.6. INDEKS REFRAKCIJE	12
2.4.7. SPECIFIČNA MASA	12
2.4.8. POVRŠINSKA NAPETOST	12
2.5. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO	14
3.1. MATERIJALI	14
3.2. METODE RADA	14
3.2.1. PRIPREMA UZORAKA ZA ANALIZU	14
3.2.2. ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU	15
3.2.3. ODREĐIVANJE KISELOSTI MEDA	15

3.2.4. ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA.....	15
3.2.5. ODREĐIVANJE UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA U MEDU	16
3.2.6. ODREĐIVANJE UDJELA REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA U MEDU	17
3.2.7. ODREĐIVANJE UDJELA SAHAROZE U MEDU	19
4. REZULTATI I RASPRAVA	21
5. ZAKLJUČAK.....	28
6. LITERATURA	29

1. UVOD

Med sadrži gotovo sve sastojke koji grade ljudski organizam pa se prema nekim izvorima navodi kao najsavršeniji proizvod prirode. Danas se upotreba meda postepeno povećava zbog sve popularnijeg zdravog načina prehrane u kojem se med koristi umjesto jeftinijeg rafiniranog bijelog šećera. Također je vrlo cijenjen u prehrani zbog svog pozitivnog učinka na ljudsko zdravlje, a pripisuje mu se i antibakterijsko, antiseptičko i antioksidacijsko djelovanje. Osim u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji, zbog jedinstvenog kemijskog sastava, njegova uporaba je raširena čak i u kozmetičkoj industriji. Danas se na medu provode različita istraživanja upravo zbog njegovih antibakterijskih i kemijsko-fizikalnih svojstava. Sadrži jednostavne šećere i različite spojeve koji djeluju blagotvorno na zdravlje ljudi.

Cilj ovog rada je odrediti fizikalno-kemijska svojstva u 46 uzorka meda iz 2017. godine, te na temelju dobivenih vrijednosti procijeniti njihovu kvalitetu u odnosu na zahtjeve Pravilnika o medu, a potom utvrditi sličnosti i razlike unutar svakog parametra s obzirom na vrstu meda.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA MEDA

Ministarstvo poljoprivrede je na temelju članka 71. stavka 1. Zakona o poljoprivredi donijelo Pravilnik o medu koji definira med kao prirodno sladak 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).

2.2. VRSTE MEDA

Vrste meda možemo podijeliti prema podrijetlu i prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranju.

Med prema podrijetlu dijelimo na:

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

Med s obzirom na način proizvodnje i/ili prezentiranju dijelimo na:

- med u saću: med kojeg 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
- cijedeni med: med koji se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla
- vrcani med: med dobiven vrcanjem, odnosno centrifugiranjem 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 °C
- filtrirani med: med dobiven postupkom koji tijekom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari dovodi do značajnog uklanjanja peludi (NN 53/15).
- med za industrijsku uporabu: med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje i može imati strani okus ili miris, ili može biti u stanju vrenja ili prevrio ili može biti pregrijan (NN 47/17).

- kremasti med: med dobiven kontroliranom kristalizacijom tekućeg meda. To je 100 % prirodni med, koji nema dodane strane tvari. Postignuta konzistencija uvijek ostaje takva što olakšava korištenje jer med ne curi (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.1. NEKTARNI MED

Pčele proizvode nektarni med od nektara, a to je slatka tekućina koju izlučuju biljne žlijezde nektarije. Nektarije dijelimo na cvjetne i izvancvjetne. Postoje dvije vrste čimbenika koji utječu na količinu izlučenog nektara, a to su unutarnji, povezani s biljkom poput veličine, uzrasta i faze razvitka cvijeta, veličine površine nektarije, položaja cvijeta na biljci, biljne vrste i sorte te vanjski, poput temperature i vlažnosti zraka, zemljišnih uvjeta, količine vjetra i dužine dana. Nektar je vodena otopina različitih šećera, a najviše ima saharoze, glukoze i fruktoze. Postoje i neke vrste meda koje sadrže u malim količinama i određene oligosaharide (rafinosa, melebioza, melecitoza i dr.). Odnos pojedinih šećera u nektaru ovisi o vrsti biljke, ali i o klimatskim, zemljišnim i drugim uvjetima. Nektar također sadrži i određene količine dušikovih i fosfornih spojeva, organskih kiselina, vitamina (naročito vitamina C), pigmenata, aromatskih spojeva, mineralnih tvari, enzima (invertaza, kiselna fosfataza) i aminokiselina. Nektarni med može biti monoflorni i poliflorni. Monoflorni med je onaj koji u netopljivom sedimentu ne sadrži manje od 45 % peludnih zrnaca iste biljne vrste s nekim izuzecima, a poliflorni med je med s peludnim zrnacima različitih biljnih vrsta. Postoji i tzv. miješani med koji je mješavina nektarnog meda i medljikovca. Nisu dostupni uzorci koji su 100 % monoflorni već uvijek sadrže dominantnu fazu i peludna zrnca neke druge biljne vrste (Vahčić i Matković, 2009).

Pčele prerađuju nektar u med (izvor ugljikohidrata), a pelud u tzv. pčelinji kruh (fermentirani pelud) koji je glavni izvor proteina za leglo. U Europi postoji više od stotinu botaničkih vrsta koje mogu dati monoflorni med, a mnogi od tih medova se proizvode u ograničenim količinama jer imaju samo lokalni značaj. Različite vrste meda dobile su ime po biljkama sa kojih pčele skupljaju nektar (npr. bagrem, kadulja, lipa, kesten). S druge strane, ako pčele sakupljaju nektar sa različitih biljaka dobivamo livadni med, voćni med i dr. (poliflorni med) (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 cvjetati u drugoj polovici svibnja i početkom lipnja, 10 - 12 dana, ovisno o nadmorskoj visini. Korištenjem visinske razlike moguće je dobiti raniju i kasniju bagremovu pašu, u ukupnoj cvatnji do 20 dana. Vremenske prilike u periodu cvjetanja u kontinentalnim krajevima često mogu biti nepovoljne (hladno i kišovito ili jako

toplo i vjetrovito) zbog čega bagremova paša može podbaciti. U Hrvatskoj se najveće bagremove šume nalaze u Baranji, Podravini i na Moslavačkoj gori. Čisti bagremov med je vrlo svijetao, slabog mirisa i ugodnog okusa po biljci te sporo kristalizira (Šimić, 1980).

- Kadulja (*Salvia officinalis*) je višegodišnji drvenasti grm i poslije bagrema je najvrjednija pčelinja paša. Na područjima primorskog i dalmatinskog krša je najraširenija. Rana kadulja počinje cvasti krajem travnja ili početkom svibnja najprije bliže moru dok u unutrašnjosti te u višim predjelima cvatnja završava oko polovice lipnja. Na kadulju negativno djeluje kišno i hladno te previše suho i vjetrovito vrijeme. Kaduljin med je svijetložute boje koja može varirati s obzirom na prisutnost peluda vinove loze koja istodobno cvate. Ugodnog je do blago gorkog okusa i ima izraziti miris po cvijetu biljke. Sporo kristalizira u srednje krupne kristale, ali ni tada nije previše tvrd (Persano Oddo i Piro, 2004; Šimić, 1980).

- Kesten (*Castanea sativa* Mill.) je biljka visokog i razgranatog stabla i raste u samoniklim šumama od kojih su najveće u okolici Petrinje, Hrvatske Kostajnice, Dvora na Uni, Zagreba (Medvednica) i u Istri. Zbog vrijednih plodova se kesten ubraja u voćke i najmedonosnija je voćna vrsta i jedina koja se ubraja u biljke glavne pčelinje paše. Cvatnja kestena počinje u drugoj polovici lipnja i traje 10-20 dana. Medenju odgovara toplo vrijeme, bez vjetra, s dovoljno vlage u zraku. Med je tamne boje, vrlo jakog i oštrog mirisa. Karakterističnog je trpko - gorkog okusa, zbog kojeg ga mnogi potrošači ne vole (Šimić, 1980).

- Lipa (*Tilia* L.) ubraja se u najmedonosnije biljke. Najzastupljenije vrste su sitnolisna lipa (*Tilia parvifolia* Ehrh.), krupnolisna lipa (*Tilia grandifolia* Ehrh.) i srebrnolisna lipa (*Tilia argentea* Desf.). Krajem lipnja cvjetaju malolisne i velikolisne lipe sa kojih pčele skupljaju samo cvjetni prah jer vjetar i sunce isuše nektar prije nego ga pčele pokupe, a razlog tome su plitke čašice lipovog cvijeta vjetar. Lipa može biti izvor nektara samo ako raste zaštićena od vjetra i sa dovoljno vlage u tlu. Takva je srebrnolisna lipa koja cvjeta kasnije, i kad zamedilna je paša kao i bagrem. U Hrvatskoj se veće površine pod lipom nalaze na području Bilogore. Lipov med je svijetložute do blago zelenkaste boje, ugodnog, malo gorkastog okusa s izrazitim mirisom po cvijetu. Sporo kristalizira, pa se ostavlja pčelama za ishranu tijekom zime (Persano Oddo i Piro, 2004; Šimić, 1980).

- Lavanda (*Lavandula officinalis* L.) je višegodišnji gust grm koji ima uske i svijetle listove te ljubičasto – modre cvjetove skupljene pri vrhu grančica u obliku prividnog klasa. U našu zemlju prenesena je iz Francuske, a najraširenija je na otoku Hvaru. Cvat se odvija u lipnju i srpnju, oko 30 dana. Lavanda je bogat izvor nektara i daje visoke prinose meda po košnici te se smatra jednom od najsigurnijih pčelinjih paša. Ipak, može doći do nestanka

legla pčela jer cvjetovi lavande nemaju dovoljno peluda. Lavandin med je svijetložut, bistar i proziran, jakog mirisa po biljci i oštrog okusa zbog čega mnogim potrošačima nije omiljen (Vahčić i Matković, 2009).

- Ružmarin (*Rosmarinus officinalis* L.) je zimzeleni samonikli grm visine do 2 m, sa vrlo niskim i zadebljanim listovima te modrim cvjetovima smještenim. Kod nas raste sam ili izmiješan s drugim gmrljem u makiji, na dalmatinskim otocima. Ružmarin je vrlo medonosna biljka, ali daje malo peluda. Cvjeta od rujna do svibnja, a u proljeće cvatnja može trajati preko 40 dana. Ružmarinov med je svijetao i proziran te je bez mirisa, a ugodnog je i blagog okusa i brzo kristalizira u fine sitne kristale. U čvrstom je stanju potpuno bijel (Šimić, 1980).
- Suncokret (*Helianthus annuus* L.) je jednogodišnja biljka koja se uzgaja zbog proizvodnje ulja i najraširenija je u Slavoniji. Cvjeta početkom srpnja i medenju pogoduje lijepo, stabilno vrijeme s vlažnim zrakom. Med od suncokreta je jantarno žute boje, slabog mirisa po biljci, slatkog do malo trpkog okusa. Poslije vrcanja brzo kristalizira (Petrović Jojriš, 1979).
- Amorfa (*Amorpha fruticosa* L.) je grm visine do 2 m na čijim vrhovima grančica se nalaze tamnocrveni do ljubičasti cvjetovi. Cvjeta početkom lipnja, oko 15 dana, odmah poslije bagrema. U Hrvatskoj amorfe dosta ima u šumama pored rijeke Odre, zatim između Novske i Okučana, a također i po šumama u Slavonskoj Posavini. Amorfin med je tamnocrvenkast, blagog mirisa i okusa (Šimić, 1980).
- Livadni med je med od različitog livadnog cvijeća. U sastavu livadnog meda možemo pronaći i medljiku, lipu ili neku drugu biljku koja cvate u to vrijeme. Boja i okus kao i sklonost kristalizaciji ovise o biljnoj vrsti koja prevladava u medu. Zbog potjecanja od nektara mnogo vrsta biljaka, nosi u sebi sve osobine dobrog i vrijednog meda (Šimić, 1980).

2.2.2. MED MEDLJKOVAC

Medljika ili medna rosa je slatka tvar nastala iz reda jednokrila (Homoptera) kao njihova izlučevina i javlja se na listovima i ostalim dijelovima crnogoričnog i bjelogoričnog drveća. Medljika sadrži 5 – 18 % suhe tvari, specifična težina joj je 1,0 - 1,3, a pH vrijednost je u rasponu od 5,1 do 7,9. Ugljikohidrati čine 90 - 95% suhe tvari i ukoliko se uspoređuje s nektarom, šećerni spektar medljike je kompleksniji i sadrži više oligosaharida. Medljika sadrži i određenu količinu aminokiselina od kojih se neke ne nalaze u biljnom soku, organskih kiselina, mineralnih tvari te enzima (invertaza, dijastaza, proteaza) (Škenderov i Ivanov, 1986).

Prema podrijetlu medljikovac najčešće potječe od crnogoričnog (jela, smreka, bor, ariš) i bjelogoričnog (hrast, bukva, lipa) drveća. Karakteristike meda medljikovca prema mikroskopskoj analizi su mali sadržaj peluda i elementi medljike (spore, gljivice i alge). U odnosu na nektarni med, medljikovac ima veću obojanost, veći sadržaj mineralnih tvari, veću količinu oligosaharida te je manje sladak od nektarnog meda, ima manje kiselina i pH vrijednost mu je veća (Sajko i sur., 1996).

Najznačajnije vrste medljikovca su:

- Jelov medljikovac koji je tamnosive do smeđe boje s tamnozelenom nijansom. Ugodnog je okusa i mirisa. Ubraja se u najcjenjenije medove Europe. Medljiku luče lisne uši iz roda *Cinara* od polovice lipnja do kasne jeseni, ovisno o klimi i položaju. Najznačajnija područja pod jelom su Gorski Kotar te Velika i Mala Kapela (Persano Oddo i Piro, 2004).
- Smrekov medljikovac, tamnojarne boje sa crvenkastom nijansom, intenzivnog mirisa po smoli. Medljiku luče štitarne uši roda *Physokermes* obično u svibnju i lipnju. Najveće smrekove šume nalaze se u Gorskom Kotaru (Šimić, 1980).
- Hrastov medljikovac je tamno crvene boje, slabog mirisa po hrastu te ima oporan okusa i pali u grlu. Gust je i rastezljiv, pa se teško vrca iz saća. Najveće površine pod hrastom su u Slavoniji, Turopolju te okolici Jasenovca i Siska (Persano Oddo i Piro, 2004).
- Medljikovac od medljike medećeg cvrčka (*Metcalfa pruinos* (Say)) je mutne smeđe boje, u nekim slučajevima je skoro crn. Okusom podsjeća na suho voće i melasu, te iako nema izraženu slatkoću, dugo zadržava okus u ustima. Karakterističan je za Istru (Vahčić i Matković, 2009).

2.3. KEMIJSKI SASTAV MEDA

Med je izgrađen od složene smjese sa više od 70 različitih komponenata. Neke od njih pčele dodaju u med, neke vode podrijetlo od medonosne biljke, a neke nastaju tijekom zrenja meda u saću (Krell, 1996).

Različite vrste meda, kao i medovi unutar pojedine vrste se mogu razlikovati po svom sastavu u ovisnosti o biljnom i geografskom podrijetlu, klimatskim uvjetima, pasmini pčela te sposobnostima samog pčelara (način dorade i skladištenje meda) (Škenderov i Ivanov, 1986).

U najvećoj koncentraciji su u medu ugljikohidrati, i to uglavnom 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 %) oni doprinose senzorskim i nutritivnim svojstvima meda (Singhal i sur, 1997).

2.3.1. UGLJIKOHIDRATI

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda i njihov udjel iznosi 73-83 %, zbog čega je med prezasićena otopina 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). Prosječni udio fruktoze i glukoze od ukupnih ugljikohidrata je 88-95 % te daju medu slatkoću, energetska vrijednost i najviše utječu na njegova fizikalna svojstva (viskoznost, gustoća, ljepljivost, sklonost kristalizaciji, higroskopnost te mikrobiološka aktivnost). Fruktoza, kao najzastupljeniji šećer u medu je 1,5 puta slađa od konzumnog šećera (Vahčić i Matković, 2009). Omjer fruktoze i glukoze (F/G) je karakteristika pojedinih vrsta medova i u većini je slučajeva veći od 1,0. Omjer fruktoze i glukoze te omjer glukoze i vode u medu su vrlo bitni jer služe za predviđanje brzine kristalizacije meda. Osim dva monosaharida u medu je identificirano 11 disaharida: saharoza, maltoza, izomaltoza, nigerioza, turanoza, kobioza, laminoriboza, α - i β - trehaloza, i gentiobioza, maltuloza i izomaltuloza, melibioza. Također je prisutno i 12 oligosaharida: erloza, melecitoza, α - i β - izomaltosilglukoza, maltotrioza, 1-kestoza, panoza, centoza, izopanoza i rafinoza te izomaltotetroza i izomaltopentoza (Sanz i sur., 2004).

2.3.2. VODA

Udio vode se kreće između 15 % i 23 % i značajno utječe na neka fizikalna svojstva meda (kristalizaciju, viskoznost, specifičnu težinu), a ovisi o klimatskim uvjetima, pasmini pčela, snazi pčelinje zajednice, vlažnosti i temperaturi zraka u košnici, uvjetima pri preradi i čuvanju, kao i o botaničkom podrijetlu meda (Škenderov i Ivanov, 1986).

U medu je izraženo svojstvo higroskopnosti zbog čega količina vode u njemu nije stalna, već se mijenja za vrijeme čuvanja u ovisnosti o vlažnosti zraka. Budući da udio vode određuje stabilnost meda te njegovu otpornost na mikrobiološko kvarenje (fermentaciju) tijekom čuvanja, voda se smatra najvažnijim parametrom kakvoće meda (Bogdanov i sur., 1999).

Fermentacijom dolazi do kemijskih promjena u medu i javljaju se promjene u organoleptičkim svojstvima meda. Zbog toga se Pravilnikom o medu ograničava sadržaj vode u medu na najviše 20 %, a najvjerojatnije do fermentacije neće doći ukoliko je udjel vode ispod 18 %. Ta mogućnost se ipak ne može potpuno isključiti čak ni kod sadržaja vode ispod 17,1 %, jer na početak procesa fermentacije utječe i količina kvasaca u medu, temperatura čuvanja meda i raspodjela vode nakon kristalizacije meda (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.3. 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 svojstva kao što su: pjenjenje, stvaranje zračnih mjehurića, tamnjenje, zamućenje i kristalizacija meda (Belčić i sur., 1979). Udio proteina u medu se kreće u rasponu od 0 % do 1,7 %, dok medljikovac sadrži više proteina od nektarnog (White, 1978).

Osim proteina, u medu se nalazi oko 18 esencijalnih i neesencijalnih aminokiselina čiji omjeri variraju ovisno o vrsti meda. Najzastupljenija aminokiselina je prolin. U medu, prolin zauzima ukupno 50-85 % od svih aminokiselina te služi kao kriterij za procjenu kvalitete meda te u nekim slučajevima služi i kao kriterij za procjenu zrelosti meda, kao i pokazatelj otkrivanja šećernog patvorenja. Sadržaj prolina nije zakonski obavezan parametar kvalitete meda, ali se u nekim laboratorijima koristi za kontrolu autentičnosti meda. Smatra se da sadržaj prolina u zreлом, autentičnom medu mora biti veći od 180 mg/kg (Bogdanov, 2009).

2.3.4. ENZIMI

Jedna od karakteristika po kojoj se med razlikuje od ostalih zaslađivača je i prisustvo enzima. Med sadrži invertazu, diastazu (amilazu), glukoza oksidazu, katalazu, kiselu fosfatazu, peroksidazu, polifenoloksidazu, esterazu, inulazu i proteolitičke enzime (Škenderov i Ivanov, 1986). Aktivnost enzima se smatra pokazateljem kakvoće, stupnja zagrijavanja i starosti te načina 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).

2.3.5. VITAMINI

Vitamine se nalaze u malim koncentracijama 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).

2.3.6. ORGANSKE KISELINE

Veliki broj organskih kiselina u medu nalazi se u obliku estera, a dokazana je i prisutnost anorganskih iona poput fosfata, klorida i sulfata. Neke kiseline se unose u med nektarom i

medljikom dok neke nastaju tijekom čuvanja. Zbog povezanosti udjela kiselina u medu sa fermentacijskim procesima, okusom i mirisom (mnoge organske kiseline u medu se nalaze u obliku estera te tako uvelike utječu na miris i okus) te baktericidnim svojstvima meda (niska pH vrijednost inhibira rast mikroorganizama), ukupna kiselost je važan pokazatelj kakvoće meda. Udjel organskih kiselina u medu kreće se u rasponu od 0,17 % do 1,17 %. Bagremov, kestenov i livadni med karakterizira mala količina organskih kiselina dok tamniji medovi imaju veću kiselost. Najzastupljenija je glukonska kiselina koja u medu nastaje iz glukoze djelovanjem enzima glukoza oksidaze. Ostale organske kiseline prisutne u medu su: mravlja, octena, maslačna, vinska, limunska, jabučna, mliječna, benzojeva i jantarna (Anupama i sur., 2003).

2.3.7. MINERALNE TVARI

Med sadrži čitav niz mineralnih tvari od kojih su neke vrlo važne za pravilan rad ljudskog organizma iako su količinski slabo zastupljene (prosječno 0,1-0,2 % u nektarnom medu i do 1,5 % u medljikovcu izraženo kao udjel pepela). Prevladavaju 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, selen i dr. Najzastupljeniji je kalij koji zajedno s natrijem, kalcijem i fosforom čini najmanje 50 % ukupnog udjela mineralnih tvari (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).

2.3.8. FITOKEMIKALIJE

Fitokemikalije potječu iz biljaka, s kojih su pčele skupljale nektar ili mednu rosu, a pokazalo se kako mnoge od njih mogu povoljno utjecati na zdravlje čovjeka. Med je bogat flavonoidima, tvarima koje imaju antioksidativni učinak, a to znači da štite stanice od oksidacijskog utjecaja slobodnih radikala.

Slobodni radikali su reaktivne molekule koje mijenjaju strukturu drugih molekula što za posljedicu ima oštećenje stanica, koje dalje uzrokuje starenje organizma i zdravstvene probleme (Vahčić i Matković, 2009).

Antioksidansi smanjuju rizik od oksidativnih oštećenja stanica nastalih djelovanjem slobodnih radikala. Mogu biti enzimski (katalaza, glukoza – oksidaza) i neenzimski (organske kiseline, produkti Maillardovih reakcija, aminokiseline, proteini, flavonoidi, fenoli, vitamin E, vitamin C, karoteonidi). Flavonoidi imaju antioksidativni učinak, djeluju antimikrobno, inhibiraju razne enzime, imaju citotoksični antitumorni učinak te djeluju kao

estrogeni. Flavonoidi koji se najčešće nalaze u medu su pinocembrin, apigenin, kamferol, kvercetin, galangin, krisin, pinobanksin, luteolin i hesperitin (Meda i sur., 2005).

Med sadrži i fenolne kiseline koje se mogu podijeliti na dvije grupe: hidroksibenzojeve kiseline (galna i elaginska kiselina) i hidrosicinaminske kiseline (kofeinska, ferulna, p-kumarinska i sinapinska kiselina). Obje grupe su zastupljene u medu, kao i njihovi esteri. Sadržaj fenolnih spojeva u medu ima značajan utjecaj na boju meda. Dokazano je da tamniji med ima više fenolnih spojeva od svjetlijeg meda (Meda i sur., 2005).

2.3.9. HIDROKSIMETILFURFURAL (HMF)

Hidroksimetilfurfural je ciklički aldehid koji nastaje dehidracijom fruktoze i glukoze u kiselom mediju, a može nastati i u Maillardovim reakcijama. Pojava i udio HMF-a u medu ovise o vrsti meda, njegovoj pH-vrijednosti, udjelu kiselina i vlage, te o izloženosti svjetlosti (Spano i Casula, 2005).

HMF je prirodno prisutan u medu, no njegov udio u svježem medu je vrlo mali i iznosi ispod 1 mg/kg. Međutim, taj udio brzo raste ukoliko je temperatura okoliša iznad 20 °C. Usprkos tomu, udio hidroksimetilfurfurala u svježem procijeđenom medu obično ne prelazi 10 mg/kg. Ako je udio iznad te vrijednosti, to može biti znak prekomjernog zagrijavanja prilikom prerade. Dozvoljeni udio hidroksimetilfurfurala u hrvatskim medovima iznosi 40 mg/kg. Unatoč tim odredbama, med koji se prodaje u regijama tropske klime često ima udio HMF-a 80 mg/kg jer su takvi medovi izloženi visokim vanjskim temperaturama prilikom čuvanja i transporta (IHC, 2009).

2.4. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

U fizikalna svojstva meda ubrajaju se kristalizacija, viskoznost, higroskopnost, električna vodljivost, optička svojstva, indeks refrakcije te specifična masa i vrlo su usko povezana sa kemijskim sastavom meda. Pojedine vrste meda će imati vrijednosti ovih parametara različite i specifične zbog razlika u samom sastavu meda (Škenderov i Ivanov, 1986). Pojedini sastojci meda utječu na određeno svojstvo ili istovremeno na nekoliko njih. Tako, na primjer, o udjelu vode ovisi viskoznost, indeks refrakcije i specifična masa. Optička aktivnost je pak povezana sa sastavom i udjelom pojedinih ugljikohidrata, a električna vodljivost ovisi prije svega o udjelu mineralnih tvari (Lazaridou i sur, 2004).

2.4.1. VISKOZNOST

Viskoznost je stupanj likvidnosti, odnosno tekućeg stanja i naročito utječe na postupanje s medom tijekom dorade i skladištenja. Na viskoznost utječe više faktora poput sastava meda

(ponajviše udio vode), vrsta meda, temperatura te broj i veličina kristala u medu. Što je veći udio vode, manja je viskoznost. Porastom temperature pri konstantnom udjelu vode viskoznost meda se smanjuje. Veći udio di- i trisaharida doprinosi većoj viskoznosti (Assil i sur., 1991). Uz udio vode najviše utjecaja na viskoznost ima temperatura (Lazaridou i sur, 2004). Kako raste temperatura, tako se viskoznost meda smanjuje, a taj utjecaj najizraženiji je na temperaturi ispod 15 °C. (Vahčić i Matković, 2009)

2.4.2. KRISTALIZACIJA

Med je prezasićena otopina glukoze i spontano prelazi u stanje ravnoteže kristalizacijom suviše 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. Upravo je to razlog zašto med postaje skloniji fermentaciji i kvarenju. Fruktosa ostaje u tekućem stanju i čini tanak sloj oko kristala glukoze. Med mijenja boju, postaje svjetliji, više nije proziran, a mijenja i okus. Iako med kristalizacijom ne gubi ništa od svojih osobina i vrijednosti, zbog odbojnosti potrošača prema kristaliziranom medu ona se nastoji izbjeći. 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. Proces pasterizacije odgađa kristalizaciju meda pa tako med koji je pasteriziran na temperaturi od 77 °C kroz 5 minuta nije kristalizirao na sobnoj temperaturi više od 2 godine (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.3. HIGROSKOPNOST

Higroskopnost je fizikalno svojstvo 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 dok se ne uspostavi ravnoteža, 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 dolazi do povećanja masenog udjela, a time i do mogućnosti fermentacije i kvarenja (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.4. ELEKTRIČNA VODLJIVOST

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 %-ne vodene otopine meda

pri temperaturi od 20 °C gdje se 20 % odnosi na suhu tvar meda (White i sur., 1963). 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 miješani med moraju imati električnu vodljivost manju od 0,8 mS/cm, a medljikovac i med kestena veću od 0,8 mS/cm. Iznimke su medovi eukaliptusa, vrijeska i lipe, zbog prirodno velikih varijacija u električnoj vodljivosti (NN 53/15).

2.4.5. OPTIČKA AKTIVNOST

Vodena otopina meda je optički aktivna, tj. ima sposobnost zakretanja ravnine polarizirane svjetlosti. U medu optička aktivnost je funkcija udjela ugljikohidrata. Fruktosa 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).

2.4.6. INDEKS REFRAKCIJE

Udio vode, odnosno topljive suhe tvari, u medu određuje se mjerenjem indeksa refrakcije. Mjerenje se provodi refraktometrom koji radi na principu loma svjetlosti pri prolasku kroz otopinu. Mjerenje se provodi najčešće pri 20 °C, a ovisno o temperaturi mjerenja se razlikuju dobiveni rezultati. Budući da se indeksi refrakcije meda razlikuje od onog izmjenog za otopinu saharoze iste koncentracije moraju se koristiti posebne tablice za tu svrhu (Bogdanov i sur., 1999).

2.4.7. SPECIFIČNA MASA

Specifična masa meda predstavlja omjer mase meda prema masi iste količine vode i ovisi prvenstveno o udjelu vode u medu. Specifična masa kvalitetnih vrsta meda veća je od 1,42. Medonosno bilje od kojeg potječe nektar može lagano utjecati na specifičnu masu meda (National Honey Board, 2005).

2.4.8. POVRŠINSKA NAPETOST

Površinska napetost ovisi o podrijetlu meda, a povezana je s koloidnim česticama. Med ima malu površinsku napetost te zbog zadržavanja vode postaje pogodnim za kozmetičke proizvode (Krell, R. 1996).

2.5. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA

Boja, miris i okus najvažnija su senzorska svojstva meda i ponajviše ovise o biljnom podrijetlu meda te o uvjetima prerade i čuvanja, a njihova analiza ima značajnu ulogu u definiranju ukupnih svojstava meda. Budući da za neke vrste meda fizikalno – kemijske analize ne daju dovoljno karakterističnih vrijednosti, senzorska analiza je neizostavna u procjeni kakvoće meda.

Boja je meda ovisno o botaničkom podrijetlu svijetložuta, žuta, smeđa do tamnosmeđa. Bagremov med se očituje izrazito svijetlom bojom, skoro bijelo zelenkastom, a tamnosmeđom kestenov med. Boja ostalih medova kreće se između te dvije krajnosti. Nakon kristalizacije med posvijetli, no potamni tijekom čuvanja.

Miris meda, u većini slučajeva ovisi o biljci od koje je dobiven. Mirisne tvari mogu se podijeliti u tri skupine: karbonilni spojevi (aldehidi i ketoni), alkoholi i esteri. U mirisne spojeve se ubraja i hidroksimetilfurfural (HMF). Med sadrži preko 50 spojeva koji mu daju miris.

Punoću i prepoznatljivost okusa čini slatkoća, a ona 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. Poslije fermentacije med poprima kiseo okus (Škenderov i Ivanov, 1986).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Ispitivanja su provedena na uzorcima meda sa međunarodnog natjecanja "Zzzagimed 2017". Ispitano je ukupno 46 uzorka, od čega su 35 uzoraka cvjetnog meda, a 11 uzoraka livadnog meda, s područja Republike Hrvatske i Republike Slovenije, iz 2017. godine.

Na svim uzorcima provedena je analiza sljedećih fizikalno-kemijskih parametara:

- Maseni udio vode
- Kiselost
- Električna provodnost
- Maseni udio reducirajućih šećera
- Maseni udio saharoze
- Maseni udio hidrosimetilfurfurala

3.2. METODE RADA

3.2.1. PRIPREMA UZORAKA ZA ANALIZU

Ovisno o konzistenciji meda, uzorci za analizu pripremaju se na razne načine.

Ako je med u tekućem stanju, prije početka analize polako se izmiješa štapićem ili se protrese.

Ako je med granuliran, onda se zatvorena posuda s uzorkom stavi u vodenu kupelj i zagrijava 30 minuta na temperaturi od 60 °C, a prema potrebi i na 65 °C. U toku zagrijavanja može se promiješati štapićem ili kružno protresti, a zatim brzo prohladiti.

Ako se određuje dijastaza ili hidrosimetilfurfural, med se ne zagrijava.

Ako med sadržava strane tvari, poput voska, dijelova pčela ili dijelova saća, uzorak se zagrijava u vodenoj kupelji na temperaturi od 40 °C, a zatim 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 prohladi.

Ako je med u saću granuliran, zagrijava se da bi se vosak otopio, promiješa se i ohladi. Nakon hlađenja vosak se odstrani (International Honey Commission, 2009).

3.2.2 ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU

Princip

Metoda se temelji na refraktometrijskom određivanju.

Račun

Uzorak se priprema na način utvrđen za metodu pripreme uzoraka za analizu, a zatim se indeks refrakcije uzorka odredi refraktometrom, pri stalnoj temperaturi od 20 °C. Na temelju indeksa refrakcije izračuna se količina vode (% m/m), pomoću tablice za proračun udjela vode u medu. Ako se indeks ne odredi na temperaturi od 20 °C, uzima se u obzir korekcija temperature i rezultati se svedu na temperaturu od 20 °C. Ako je temperatura viša od 20 °C, potrebno je dodati 0,00023 za svaki °C, a za temperaturu do 20 °C, oduzeti 0,00023 za svaki °C (International Honey Commission, 2009).

3.2.3. ODREĐIVANJE KISELOSTI MEDA

Princip

Temelji se na titracijskoj metodi pri čemu uzorak titriramo otopinom 0,1 mol/L natrijeva hidroksida uz dodatak fenoftaleina do pojave svijetlo ružičaste boje.

Reagensi

1. Otopina natrijeva hidroksida c (NaOH)=0,1 mol/L (bez karbonata)
2. 1%-na otopina fenolftaleina (m/V) u etanolu, neutralizirana
3. Destilirana voda bez CO₂ dobivena kuhanjem, a zatim ohlađena

Postupak

Potrebno je odvagati 10 g uzorka i otopiti ih u 75 mL deionizirane vode. Nakon čega kreće postupak titracije (International Honey Commission, 2009).

Račun

Ukupna kiselost se računa prema formuli:

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

gdje je: V – broj potrošenih mL 0,1 mol (NaOH)/L potreban za neutralizaciju 10 g meda.

3.2.4. ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA

Princip

Mjeri se električna provodnost meda konduktometrom. Bazira se na mjerenju električne otpornosti, a ona je obrnuto proporcionalna provodnosti.

Postupak

20 g meda se otopi u destiliranoj vodi, prebaci 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 termostatoranu na 20 °C. Elektroda se ispere preostalim dijelom otopine, uroni u posudu s otopinom uzorka i očitava se električna provodnost nakon postignutih 20 °C (International Honey Commission, 2009).

Račun

Električna provodnost se izračunava prema sljedećoj formuli

$$S_H = K \times G$$

gdje je:

S_H – električna otpornost meda u mS/cm

K – konstanta elektrode u cm^{-1}

G – provodnost u mS

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

3.2.5. ODREĐIVANJE UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA U MEDU

Princip

Metoda određivanja udjela hidrokсимetilfurfurala u medu bazira se na originalnoj metodi po Winkleru. Alikvot otopine meda, otopina p-toluidina i barbiturne kiseline se pomiješaju, a boja koja nastaje mjeri se u odnosu na slijepu probu u kivetama promjera 1 cm, na valnoj duljini od 550 nm (International Honey Commission, 2009).

Reagensi i postupak

1. Otopina p-toluidina

10.0 grama p-toluidina otopi se laganim grijanjem u vodenoj kupelji u 50 mL 2-propanola. Prenese se s nekoliko mL 2-propanola u odmjernu tikvicu od 100 mL i pomiješa s 10 mL ledene octene kiseline. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu, tikvica se nadopuni 2-propanolom do oznake. Ostavi se da prije upotrebe odstoji najmanje 24 sata na mračnom mjestu, a baca se nakon 3 dana ili ako dođe do neprikladnog obojenja.

2. Otopina barbiturne kiseline

500 mg barbiturne kiseline prenese se sa 70 mL vode u odmjernu tikvicu od 100 mL. Polako se otopi zagrijavanjem začepljene tikvice u vodenoj kupelji. Ohladi se na sobnu temperaturu i nadopuni do oznake.

3. Carrrezova otopina I

15 grama kalij heksacijanoferata (II) otopi se u 100 mL vode.

4. Carrrezova otopina II

30 grama cink acetata otopi se u 100 mL vode.

Postupak

Izvaže se 10,0 grama meda, otopi u 20 mL vode te kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL. Doda se 1,0 mL Carrezove otopine I i dobro promiješa. Nakon toga se doda 1,0 mL Carrez II otopine te opet promiješa. Dopuni se vodom do oznake i još jednom promiješa. Kap etanola sprječava moguće pjenjenje. Otopina se filtrira kroz filter papir. Prvih 10 mL filtrata se baci. Ostatak analize se odmah treba dovršiti. U slučaju da su uzorci vrlo bistri, pročišćavanje Carrezovim otopinama nije potrebno.

Otpipetira se po 2,0 mL otopine uzorka u dvije epruvete i u obje se doda 5,0 mL otopine p-toluidina. Doda se 1 mL vode u jednu epruvetu (slijepa proba) i 1 mL otopine barbiturnekiseline u drugu epruvetu uz nježno miješanje. Reagens se treba dodavati bez prekida, a sve se mora završiti za 1 do 2 minute. Nakon 3 – 4 minute, kada intenzitet boje 22 dosegne svoj maksimum, očitava se apsorbancija na 550 nm u kiveti promjera 1 cm (International Honey Commission, 2009).

Račun

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

pri čemu je:

A - apsorbancija

192 - faktor razrjeđivanja i koeficijent ekstinkcije

m - masa meda (g)

3.2.6. ODREĐIVANJE UDJELA REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA U MEDU

Princip

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

Reagensi

1. Fehlingova otopina

Otopina A: Otopi se 69,28 g bakrenog sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) i tome se doda destilirana voda do jedne litre. Otopina se pripremi 24 sata prije titracije.

Otopina B: Otopi se 346 g kalij-natrijeva tartarata ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \times 4\text{H}_2\text{O}$) i 100 g natrijeva hidroksida (NaOH) u litri destilirane vode. Otopina se zatim filtrira.

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

Izvaže se 9,5 g čiste saharoze, doda 5 mL otopine klorovodične 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 zatim se razrijedi do zahtijevane potrebne koncentracije (2 g/L) - standardna otopina. Napomena: 1 %-na zakiseljena otopina invertnog šećera stabilna je nekoliko mjeseci.

3. Otopina metilenskog modrog bojila 23

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

4. Stipsa (alaun)

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

Postupak

a) Izvaži se 2 g homogeniziranoga meda (W2), prenese u odmjerenu tikvicu volumena 200 mL i otopi u vodi, a tikvica se dopuni vodom do oznake.

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

Standardizacija Fehlingove otopine

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

Određivanje

Pipetom se odmjeri 5 mL Fehlingove otopine A i prenese u stožastu Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL te se doda 5 mL Fehlingove otopine B. Zatim se doda (25 mL - "X mL") destilirane vode, malo kamena plovućca i iz birete razrijeđena otopina meda, tako da za kompletnu titraciju ostane oko 1,5 mL ("X mL" -1,5 mL). Zatim se hladna mješavina zagrijava do vrenja i dvije minute održava umjereno vrenje. Za vrijeme vrenja doda se 1,0 mL 0,2 %-ne otopine metilenskoga modrog bojila. Titracija se, dodavanjem razrijeđene otopine meda do obezbojenja indikatora, mora završiti ukupno za tri minute. Potrošena količina razrijeđene otopine meda obilježava se s "Y mL" (International Honey Commission, 2009).

Račun

Invertni šećer izračunava se u g /100 g prema formuli:

$$C = 2/W \times 1000/Y$$

gdje je:

C – invertni šećer u g

W – masa uzetog uzorka u g

Y – volumen razrijeđene otopine meda potrošenog za određivanje u mL

3.2.7. ODREĐIVANJE UDJELA SAHAROZE U MEDU

Princip

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

Reagensi

1. Fehlingova otopina (A i B), utvrđena metodom određivanja reduciranih šećera
2. standardna otopina invertnog šećera, utvrđena metodom određivanja reduciranih šećera
3. klorovodična kiselina $c(\text{HCl}) = 6,34 \text{ mol/L}$
4. otopina natrijeva hidroksida $c(\text{NaOH}) = 5 \text{ mol/L}$,
5. 2 %-na otopina metilenskoga modrog bojila (2 g/L)

Priprema uzorka

Izvaže se 2 g homogeniziranog meda, prenese u odmjernu tikvicu i otopi u destiliranoj vodi pa se tikvica dopuni vodom do volumena 200 mL.

Hidroliza uzorka

Otopina meda (50 mL) prenese se u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i doda se 25 mL destilirane vode. Toplomjer se zaroni u pripremljeni uzorak, koji se zagrijava do temperature od 65 °C u kipućoj vodenoj kupelji. Tikvica se zatim iznese iz kupelji i doda se 10 mL klorovodične kiseline [$c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/L}$]. Pusti se da se otopina hladi 15 minuta, zatim se temperatura ugodi na 20 °C i otopina neutralizira 5 mol otopinom NaOH/L, uz upotrebu lakmusova papira kao indikatora. Ponovno se ohladi (20 °C) te se tikvica dopuni vodom do volumena 100 mL (razrijeđena otopina meda).

Određivanje

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

Račun

Prvo se obračunava postotak invertnog šećera nakon inverzije, pri čemu se primjenjuje 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 fizikalno-kemijske analize cvjetnog meda

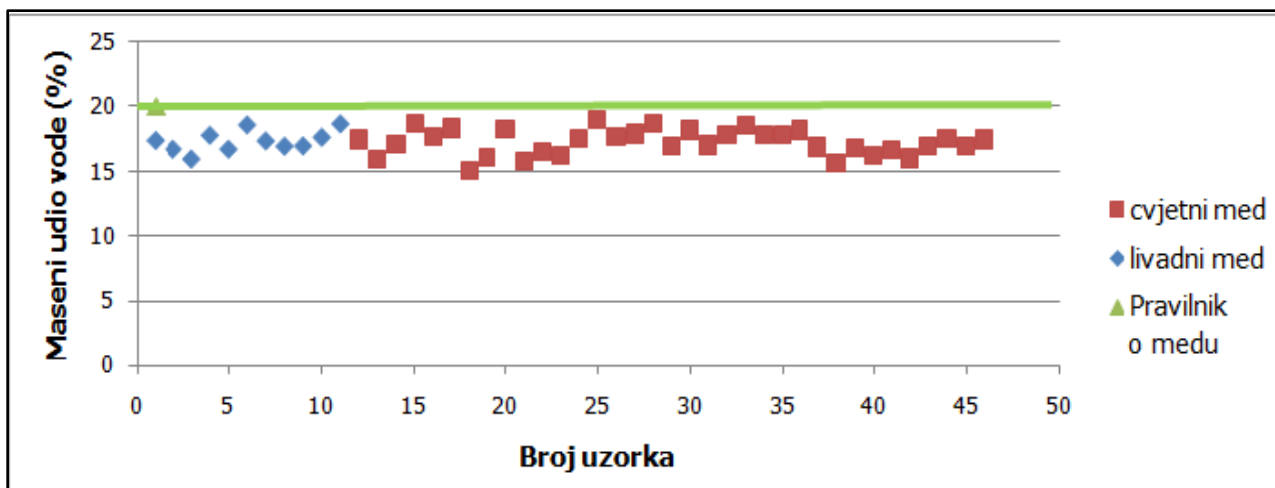
Uzorak	Maseni udio vode (%)	Električna provodnost (mS/cm)	Kiselost (mmol/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)	Maseni udio HMF (mg/kg)
1	17,40	0,2280	17,0	67,06	1,01	16,88
2	15,84	0,7000	30,0	68,18	1,17	2,99
3	17,04	0,2330	9,0	63,80	1,99	3,94
4	18,60	0,5330	32,0	64,65	1,51	3,38
5	17,64	0,7880	27,0	61,93	0,61	2,05
7	18,28	0,3730	31,0	68,68	5,86	2,48
9	15,00	0,7460	16,0	65,63	1,03	3,18
14	16,00	0,6410	28,0	67,59	1,08	1,25
17	18,20	0,1834	11,0	70,41	0,91	0,00
28	15,72	0,6830	9,0	64,71	1,34	0,92
31	16,40	0,2010	10,0	66,21	1,44	15,85
39	16,20	0,9240	10,0	60,69	2,24	0,00
43	17,48	0,8010	30,0	65,73	1,08	3,80
44	18,92	0,2820	19,0	65,99	1,18	2,45
50	17,60	0,6690	23,0	66,58	1,10	14,18
51	17,84	0,2650	18,0	69,18	0,90	6,20
59	18,60	0,4600	25,0	74,49	1,30	0,86
60	16,90	0,6470	44,0	72,45	0,18	0,00
67	18,12	0,5810	26,0	67,12	0,79	4,83
71	16,97	0,3900	19,0	67,70	1,30	31,68
73	17,76	0,4490	24,0	67,26	0,94	6,30
76	18,52	0,3890	21,0	67,23	1,12	1,52
78	17,72	0,6190	28,0	75,95	1,45	1,85
80	17,80	0,3860	17,0	67,07	1,36	3,14
82	18,12	0,5130	34,0	66,53	0,73	11,41
83	16,83	0,1549	12,0	65,44	2,00	11,38
101	15,53	0,8490	13,0	62,50	2,02	0,00

Tablica 1. Rezultati fizikalno-kemijske analize cvjetnog meda- nastavak

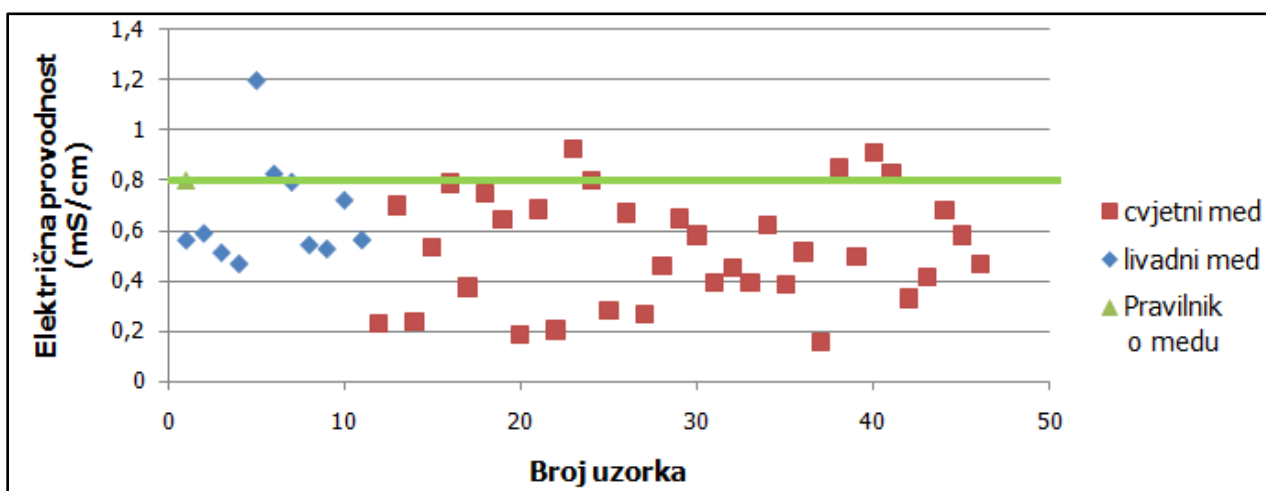
Uzorak	Maseni udio vode (%)	Električna provodnost (mS/cm)	Kiselost (mmol/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)	Maseni udio HMF (mg/kg)
108	16,72	0,4960	35,0	65,57	0,63	0,98
114	16,16	0,9100	28,0	60,71	1,29	2,95
117	16,64	0,8290	34,0	65,27	0,88	1,75
118	15,92	0,3290	19,0	64,73	1,57	6,87
127	16,93	0,4120	19,0	61,78	1,59	3,29
140	17,48	0,6800	38,0	65,24	0,92	1,05
143	16,93	0,5810	29,0	65,78	1,32	0,00
149	17,40	0,4650	17,0	73,01	1,42	6,24
Prosječna vrijednost	17,18	0,53	22,91	66,65	1,35	5,02
Standardna devijacija	0,98	0,22	9,04	3,50	0,89	6,48
Koeficijent varijabilnosti (%)	5,70	41,51	39,46	5,25	65,93	129,08
Zahtjevi Pravilnika	<20	<0,8	<50	>60	<5	<40

Tablica 2. Rezultati fizikalno-kemijske analize livadnog meda

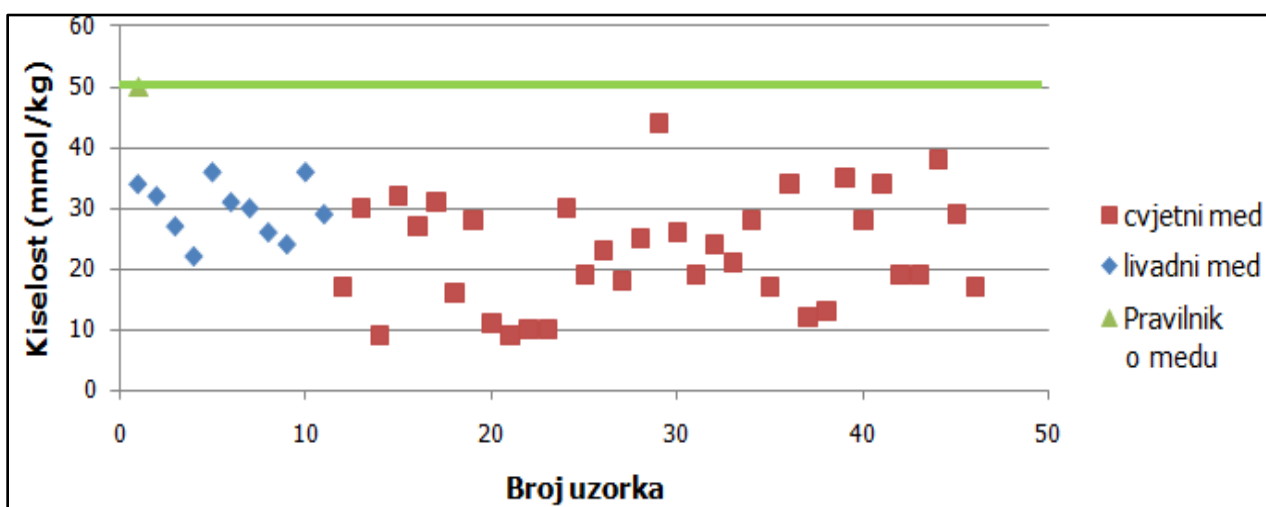
Uzorak	Maseni udio vode (%)	Električna provodnost (mS/cm)	Kiselost (mmol/kg)	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)	Maseni udio HMF (mg/kg)
18	17,32	0,5600	34,0	64,90	0,96	0,66
22	16,64	0,5870	32,0	65,26	0,97	3,84
37	15,88	0,5100	27,0	67,88	1,12	1,20
46	17,72	0,4660	22,0	67,02	1,29	8,60
47	16,64	1,1950	36,0	57,35	1,33	1,40
48	18,52	0,8240	31,0	62,34	0,92	2,72
91	17,28	0,7910	30,0	67,99	1,19	17,54
120	16,87	0,5410	26,0	64,60	0,93	6,79
121	16,90	0,5250	24,0	59,67	0,96	6,89
128	17,56	0,7190	36,0	63,23	0,59	1,61
131	18,60	0,5610	29,0	64,68	0,44	0,00
Prosječna vrijednost	17,27	0,66	29,73	64,08	0,97	4,66
Standardna devijacija	0,82	0,21	4,67	3,31	0,27	5,15
Koeficijent varijabilnosti (%)	4,75	31,82	15,71	5,17	27,84	110,52
Zahtjevi Pravilnika	<20	<0,8	<50	>60	<5	<40



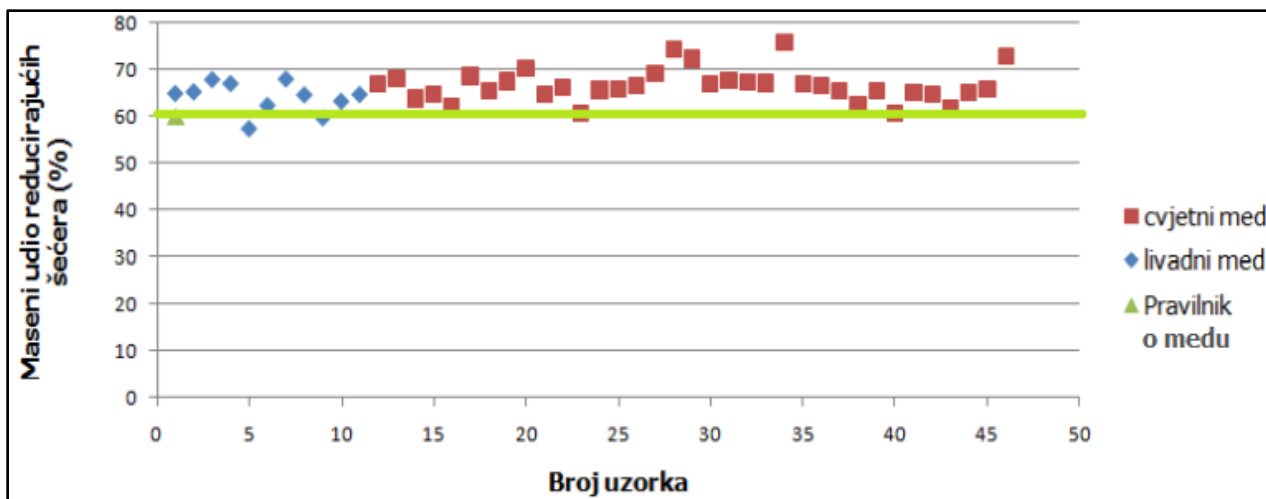
Slika 1. Usporedba zahtjeva Pravilnika o medu i vrijednosti masenog udjela vode u cvjetnom i livadnom medu



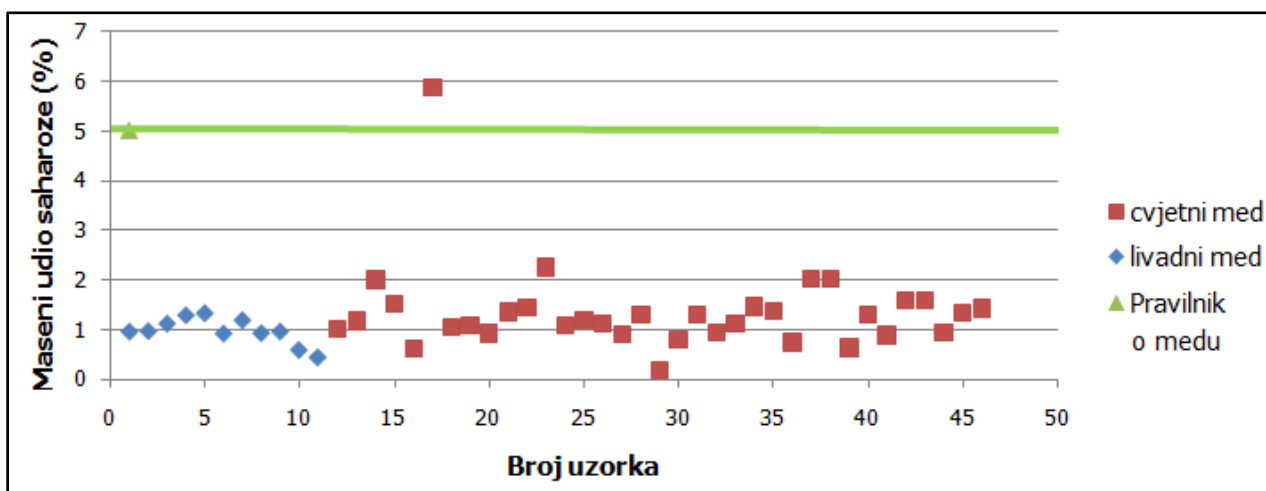
Slika 2. Usporedba zahtjeva Pravilnika o medu i vrijednosti električne provodnosti u cvjetnom i livadnom medu



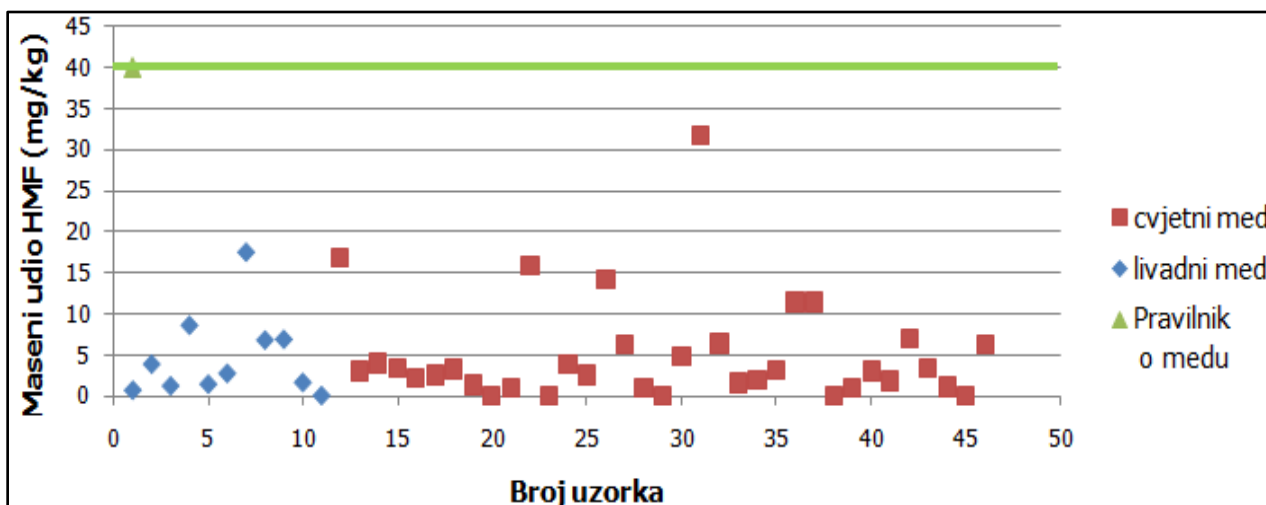
Slika 3. Usporedba zahtjeva Pravilnika o medu i vrijednosti kiselosti u cvjetnom i livadnom medu



Slika 4. Usporedba zahtjeva Pravilnika o medu i vrijednosti masenih udjela reducirajućih šećera u cvjetnom i livadnom medu



Slika 5. Usporedba zahtjeva Pravilnika o medu i vrijednosti masenih udjela saharoze u cvjetnom i livadnom medu



Slika 6. Usporedba zahtjeva Pravilnika o medu i vrijednosti masenih udjela HMF-a u cvjetnom i livadnom medu

U Tablicama 1 i 2 su prikazane dobivene vrijednosti određivanih fizikalno kemijskih parametara cvjetnog i livadnog meda iz 2017. godine (maseni udio vode, električna provodnost, kiselost, maseni udio reducirajućih šećera, maseni udio saharoze i maseni udio HMF), a slike 1-6 prikazuju usporedbu dobivenih vrijednosti određivanih fizikalno kemijskih parametara sa zahtjevima propisanim Pravilnikom o medu.

U navedenim tablicama je također navedena srednja vrijednost, standardna devijacija, koeficijent varijabilnosti i zahtjevi Pravilnika o medu za sve navedene parametre.

U analiziranim uzorcima meda, maseni udio vode kreće se od 15,53 % do 18,92 %, a prosječna vrijednost iznosi 17,18% u cvjetnom medu, dok se u livadnom medu maseni udio vode kreće od 15,88 % do 18,60 %, a prosječna vrijednost iznosi 17,27%. Budući da je Pravilnikom zadano da maseni udio vode u medu ne smije prelaziti 20 %, znači da cvjetni i livadni med zadovoljavaju taj kriterij. U usporedbi sa istraživanjem iz 2008. godine, kojeg su proveli Šarić i suradnici, vidimo da cvjetni i livadni medovi iz 2003. imaju prosječnu vrijednost masenog udjela vode 16%.

Prosječna vrijednost za električnu provodnost cvjetnog meda iznosi 0,53 mS/cm, dok najmanja vrijednost iznosi 0,1549 mS/cm, a najveća 0,9100 mS/cm. U livadnom medu je prosječna vrijednost 0,66 mS/cm, a najmanja 0,466 mS/cm i najveća 1,1950 mS/cm. Prema Pravilniku za med, električna provodnost za cvjetne i livadne medove mora iznositi manje od 0,8 mS/cm te prema rezultatima iz tablice vidimo da uzorci pod brojem: 39,43,47,48,101,114,117 ne zadovoljavaju taj zahtjev.

Prosječna vrijednost za kiselost u ispitivanim uzorcima cvjetnog meda iznosi 22,91 mmol/kg. Vrijednost najmanje kiselog meda je 9 mmol/kg, dok najveća iznosi 38 mmol/kg. S druge strane, prosječna vrijednost za kiselost u ispitivanim uzorcima livadnog meda iznosi 29,73 mmol/kg. Vrijednost najmanje kiselog meda je 22 mmol/kg, dok je najveća 36 mmol/kg. Svi analizirani uzorci zadovoljavaju Pravilnik 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 cvjetni med iz 2003. godine iznosila je 21,4 mmol/kg, a za livadni je raspon kiselosti od 13,9 do 35,0 mmol/kg. Također uzorci zadovoljavaju zahtjev Pravilnika.

U ispitivanim uzorcima cvjetnog meda maseni udio reducirajućih šećera iznosi od 60,69 % do 75,95 %, a prosječna vrijednost 66,65 %. U ispitivanim uzorcima livadnog meda maseni udio

reducirajućih šećera se kreće od 57,35 % do 67,99 %, a prosječna vrijednost 64,08 %. Pravilnik o medu propisuje vrijednost veću od 60,00 %, stoga uzorci pod brojem 47 i 121 ne odgovaraju zahtjevu. U istraživanjima koje su proveli Šarić i suradnici (2008), cvjetni i livadni medovi iz 2003. godine imaju prosječnu vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera 71,2 %.

Prosječna vrijednost za udio saharoze u cvjetnom medu iznosi 1,35 %, dok vrijednost za med s najmanjim udjelom saharoze iznosi 0,18 %, a za med s najvećim 5,86 %. Raspon vrijednosti udjela saharoze u livadnom medu se kreće od 0,44 % do 1,33 %, a prosječna vrijednost iznosi 0,97 %. Udio saharoze u medu prema Pravilniku o medu mora biti manji od 5%, ukoliko je taj iznos veći može ukazivati na patvorenje meda. Svi uzorci odgovaraju zahtjevu, osim uzorka pod brojem 7 s izmjerenom vrijednošću od 5,86 %. Vrijednosti koje su dobili Šarić i suradnici u svom istraživanju vezano na udjel saharoze kreću se u intervalu za livadni med od 0,2 % do 4,5 %, a prosječna vrijednost udjela saharoze u cvjetnom medu iznosi 2,4 %.

Maseni udio HMF-a u cvjetnom medu kreće se od 0,00 mg/kg do 31,68 mg/kg, a u livadnom od 0,00 mg/kg do 17,54 mg/kg. Prosječna vrijednost masenog udjela HMF-a u cvjetnom medu iznosi 5,02 mg/kg, a u livadnom 4,66 mg/kg. Svi analizirani uzorci cvjetnog i livadnog meda zadovoljavaju uvjet postavljen Pravilnikom, koji govori da maseni udio hidrokismetilfurfurala smije iznositi najviše 40 mg/kg. Šarić i suradnici (2008) proveli su istraživanje i prosječna vrijednost masenog udjela HMF-a za različite vrste medove iz 2003. godine iznosila je 6,7 mg/kg.

Uspoređujući rezultate dobivene u ovom radu s rezultatima istraživanja provedenih od strane Šarića i suradnika 2008., mogu se uočiti neke sličnosti, ali i različitosti rezultata. Prosječni udio vode cvjetnih i livadnih medova je sličan dobivenim Šarićevim istraživanjima. Električna provodnost livadnog meda je slična prosječnoj vrijednosti u istraživanja Šarića i suradnika, dok se kod cvjetnog meda uočava razlika u rezultatima. Uspoređujući prosječnu vrijednost kiselosti cvjetnog i livadnog meda ovog radu, uočava se blaga razlika u vrijednostima dobivenim istraživanjima Šarića i suradnika. Također se uočava i razlika u prosječnim vrijednostima reducirajućih šećera iz ovog rada i iz istraživanja Šarića i suradnika.

5. ZAKLJUČAK

Nakon provedenog istraživanja fizikalno-kemijskih svojstva 35 uzorka cvjetnog meda i 11 uzorka livadnog meda iz Republike Hrvatske za 2017. godinu mogu se donijeti određeni zaključci:

Maseni udio vode za sve uzorke odgovara Pravilniku , a to je najviše 20% vode.

Električna provodnost prema Pravilniku ne bi smjela prelaziti 0,8 mS/cm, no u 7 uzoraka ta je vrijednost prekoračena. Za te uzorke se može reći da su mješavina cvjetnog/livadnog i šumskog meda. Na povećani udio mineralnih tvari, a samim time i na električne provodnosti, utječe prisutnost medljike. Ostali analizirani uzorci zadovoljavaju kriterij Pravilnika.

Kiselost je za sve uzorke odgovarala zahtjevima Pravilnika, a on propisuje najviše 50 mmol/kg.

Dva ispitivana uzorka pokazuju manji udio reducirajućih šećera od vrijednosti propisane Pravilnikom, a to je 60 grama na 100 grama meda.

Maseni udio saharoze propisan Pravilnikom iznosi maksimalno 5 %. Samo jedan od analiziranih uzoraka ne zadovoljava ovaj kriterij.

Maseni udio hidroksimetilfurfurala je za sve uzorke bio u granicama koje propisuje Pravilnik te su svi uzorci imali vrijednost manju od 40 mg/kg.

6. LITERATURA

- Anupama, D., Bhat, K.K., Sapna, V.K. (2003) Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Research International* **36**: 183-191.
- Assil, H., Sterling, R., Sporns, P. (1991) Crystal control in processed liquid honey. *Journal of Food Science* **56**: 1034-1041.
- Balen, A. (2003) Pčelarstvo u Petrinji: 1952-2002. Pčelarska udruga, Petrinja.
- Belčić, J., Katalinić, J., Loc, D., Lončarević, S., Peradin, L., Šimunić, F., Tomašec, I. (1979) Pčelarstvo, 4. izd., Nakladni zavod Znanje, Zagreb.
- 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 Dem Gebiete Der Lebensmittel-untersuchung Un Hygiene*. **90**: 108-125.
- International Honey Commission (2009) Harmonised methods of the International Honey Commission, <www.ihc-platform.net>, Pristupljeno lipanj, 2018.
- Krell, R. (1996) Value-added products from bee keeping. Ch. 2. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124.
- 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.
- Meda, A., Lamien, C.E., Millogo, J., Romito, M., Nacoulma, O.G. (2005) Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey. *Acta Veterianria Brno* **74**: 147-152.
- National Honey Board (2005) Honey's Nutrition and Health Facts. Longmon, Colorado, USA. <www.nhb.org>, Pristupljeno lipanj, 2018.
- Persano Oddo, L., Piro, R. (2004) Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* **35**: Suppl.1. 38-81 28
- Petrović Jojriš, N. (1979) Pčele i medicina (preveo Đeranović, A.) Nolit, Beograd

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

Pravilnik o izmjenama Pravilnika o medu (2017) *Narodne novine* **47**, Zagreb (NN 47/17)

Przybylowski, P., Wilczyńska, A. (2001) Honey as an environmental marker. *Food Chemistry*

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.

Sanz, M.L., Sanz, J., Martínez-Castro, I. (2004) Gas chromatographic-mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey, *Journal of Chromatography A* **1059**: 143-148.

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

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-hydroxymethylfurfural in honey. The case of strawberry tree honey. *Talanta* **68**: 1390-1395.

Šarić, G., Matković, D., Hruškar, M., Vahčić, N. (2008) Characterization and Classification of Croatian Honey by Physicochemical Parameters. *Food Technology and Biotechnology* **46**: 355-367.

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

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

Vahčić, N., Matković, D. (2009) Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda.

<<http://www.pcelinjak.hr>>, Pristupljeno lipanj, 2018.

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.

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.

Alma Marevi

ime i prezime studenta