

# Određivanje parametara kvalitete odabranih vrsta meda iz sezone 2021.

---

Čupić, Anita

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:146971>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-28**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Anita Čupić**  
0058215969

**ODREĐIVANJE PARAMETARA KVALITETE  
ODABRANIH VRSTA MEDA IZ SEZONE 2021.**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Analitika prehrambenih proizvoda

**Mentor:** prof. dr. sc. Ksenija Marković

**Zagreb, 2022.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Određivanje parametara kvalitete odabranih vrsta meda iz sezone 2021.**

**Anita Čupić, 0058215969**

**Sažetak:** Zbog različitih klimatskih uvjeta i raznolikosti vegetacije, na području Republike Hrvatske postoje povoljni uvjeti za proizvodnju različitih vrsta meda. U ovom istraživanju su analizirani parametri kvalitete 8 uzoraka medljikovca, 6 uzoraka meduna i 6 uzoraka šumskog meda, podrijetlom iz Republike Hrvatske iz sezone 2021. Fizikalno-kemijski parametri su pri tome uključivali: maseni udio vode, električnu provodnost, kiselost, maseni udio hidroksimetilfurfurala, maseni udio reducirajućih šećera i maseni udio saharoze. Rezultati analiza, uspoređeni sa Pravilnikom o medu, pokazali su kako svi uzorci meda zadovoljavaju pravilnikom propisane vrijednosti za udio vode, električnu provodnost, kiselost, maseni udio hidroksimetilfurfurala i maseni udio saharoze. Svi uzorci, osim 2 uzorka šumskog meda, zadovoljavaju Pravilnikom propisane vrijednosti za maseni udio reducirajućih šećera.

**Ključne riječi:** med, medljikovac, šumski med, fizikalno-kemijski parametri

**Rad sadrži:** 32 stranice, 4 tablice, 47 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. Ksenija Marković

**Pomoć pri izradi:** ing. Renata Petrović, viši tehnički suradnik, Valentina Hohnjec, tehnički suradnik

**Datum obrane:** 18. srpnja 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate 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

**Determination of the quality parameters of selected types of honey from the 2021 season**

**Anita Čupić, 0058215969**

**Abstract:** Due to the different climatic conditions and the vegetation diversity, there are favourable conditions for the production of different types of honey in the territory of the Republic of Croatia. In this research, the quality parameters of 8 honeydew samples, 6 “*medun*” honey samples, and 6 forest honey samples, originating from the Republic of Croatia from the 2021 season, were analysed. Physicochemical parameters included: water content, electrical conductivity, acidity, hydroxymethylfurfural content, reducing sugars content and sucrose content. The results of the analyses, compared with the Croatian regulations, showed that all honey samples meet the values prescribed by the Croatian regulation for water content, electrical conductivity, acidity, hydroxymethylfurfural content and sucrose content. Also, all samples, except for 2 samples of forest honey, meet the values prescribed by the Croatian regulation for the reducing sugars content.

**Keywords:** honey, honeydew honey, forest honey, physicochemical parameters

**Thesis contains:** 32 pages, 4 tables, 47 references

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** Ksenija Marković, PhD, Full Professor

**Technical support and assistance:** Eng. Renata Petrović, Technical associate, Valentina Hohnjec, Technical associate

**Thesis defended:** July 18<sup>th</sup> 2022

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. KEMIJSKA SVOJSTVA MEDA.....	2
2.1.1. Ugljikohidrati.....	2
2.1.2. Voda .....	2
2.1.3. Proteini i aminokiseline .....	2
2.1.4. Organske kiseline.....	3
2.1.5. Enzimi.....	3
2.1.6. Fenolni spojevi.....	3
2.1.7. Hidroksimetilfurfural .....	4
2.2. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA .....	4
2.2.1. Električna provodnost .....	4
2.2.2. Kristalizacija .....	5
2.2.3. Viskoznost.....	5
2.2.4. Optička aktivnost .....	6
2.3. MEDLJKOVAC, MEDUN I ŠUMSKI MED.....	6
2.4. PATVORENJE MEDA .....	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	9
3.1. MATERIJALI .....	9
3.1.1. Uzorci.....	9
3.1.2. Laboratorijsko posuđe i uređaji .....	9
3.1.3. Reagensi.....	9
3.2. METODE.....	10
3.2.1. Priprema uzorka za analizu.....	10
3.2.2. Određivanje udjela vode u medu .....	11
3.2.3. Određivanje električne provodnosti meda .....	12
3.2.4. Određivanje kiselosti .....	13
3.2.5. Određivanje udjela hidroksimetilfurfurala.....	13

3.2.6. Određivanje udjela reducirajućih šećera .....	15
3.2.7. Određivanje udjela saharoze .....	17
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	19
4.1. FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI ANALIZIRANIH UZORAKA MEDA .....	20
4.2. MASENI UDIO VODE .....	23
4.3. ELEKTRIČNA PROVODNOST .....	23
4.4. KISELOST .....	24
4.5. MASENI UDIO HMF-a .....	24
4.6. MASENI UDIO REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA .....	25
4.7. MASENI UDIO SAHAROZE .....	25
5. ZAKLJUČCI .....	26
6. POPIS LITERATURE .....	27

## 1. UVOD

Med je prirodna slatka tvar koju proizvodi svega šest do jedanaest, od 20 000 vrsta pčela, iz nektara cvijeća i medne rose. Važan je sastavni dio prehrane zbog nutritivne vrijednosti vezano uz sadržaj vitamina, enzima, proteina, aminokiselina, polifenola, organskih kiselina i mineralnih tvari. Sastav i kvaliteta meda su promjenjivi i ovise o botaničkom izvoru nektara iz kojeg se dobiva, o geografskom položaju, klimatskim uvjetima i načinu prerade i skladištenja (Pavlova i sur., 2018). Čest je sastojak slastica, mliječnih proizvoda i voćnih sokova kao zaslađivač koji doprinosi i aromi. Med je funkcionalna namirnica uz izražena antimikrobna, antioksidacijska i antibakterijska svojstva, a pomaže i pri zacjeljivanju rana (Seraglio i sur., 2019).

Cilj ovog rada bio je analizirati parametre kvalitete uzoraka meda medljikovca, meduna i šumskog meda podrijetlom iz Republike Hrvatske, uključenih u Međunarodno natjecanje pčelara u kvaliteti meda - Zzzagimed 2021, i usporediti ih sa važećim Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) te dostupnim rezultatima drugih istraživanja.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. KEMIJSKA SVOJSTVA MEDA**

#### 2.1.1. Ugljikohidrati

Fruktoza i glukoza su monosaharidi koji su u najvećoj mjeri zastupljeni u medu od medljike, a zajedno sa saharozom mogu se koristiti kao pokazatelji zrelosti. Sadržaj saharoze ne smije prelaziti 5 g u 100 g, a ako je udio saharoze veći, to može biti pokazatelj da je berba meda prerano provedena i saharoza nije u potpunosti prevedena u glukozu i fruktozu. Veći udio saharoze od dopuštene vrijednosti može biti rezultat patvorenja meda s komercijalnim šećernim sirupom tijekom proizvodnje meda (Tischer Seraglio i sur., 2019; Boussaid i sur., 2018; Schlabitzi i sur., 2010). Med od medljike različitog botaničkog podrijetla karakterizira viša koncentracija oligosaharida, a naročito trisaharida rafinoze i melezitose, koji se obično ne nalaze ili se nalaze u vrlo niskim koncentracijama u cvjetnom medu (Azevedo i sur., 2017).

#### 2.1.2. Voda

Voda je jedan od najvažniji sastojaka meda koja utječe na trajnost meda, enzimsku aktivnost, sposobnost mikroorganizama za preživljavanjem i rastom. Na sadržaj vode u medu utječu stupanj zrelosti meda do kojeg dolazi u košnici, klimatski uvjeti, godišnje doba, geografsko i botaničko podrijetlo, uvjeti prerade i skladištenja. Udio vode u medu može se odrediti gravimetrijskom metodom nakon sušenja u sušioniku i indirektnom metodom koja se temelji na procjeni sadržaja topljivih čvrstih tvari određivanjem indeksa refrakcije. Karl Fischerova titracija predstavlja alternativnu pouzdanu tehniku koja ne ovisi o sastavu meda, te se može primjenjivati na isti način na različite vrste meda. Ova tehnika se temelji na oksidaciji sumporovog dioksida jodom u prisutnosti vode s metanolom (Tahoun i Shehata, 2015).

#### 2.1.3. Proteini i aminokiseline

Najveći udio proteina u medu potječe od pčela, a naročito su zastupljeni enzimi i glavni protein matične mliječi. Procjenjuje se da se oko 40 do 65 % ukupnog dušika u medu nalazi u proteinima, a ostatak u slobodnim aminokiselinama (Girolamo i sur., 2012). Prolin je najzastupljenija aminokiselina u medu medljike, te čini 90 % ukupnog sadržaja slobodnih



masnih kiselina (Seraglio i sur., 2019).

#### 2.1.4. Organske kiseline

Med sadrži mali udio organskih kiselina niske molekulske mase, koje se mogu koristiti kao pokazatelji kvalitete, svježine i autentičnosti meda (Navarrete i sur., 2005.; Nozal i sur., 2003; Tezcan i sur., 2011) te doprinose senzorskim i fizikalno-kemijskim svojstvima meda (Mato i sur., 2003; Tezcan i sur., 2011). Iako su organske kiseline međuprodukti metabolizma mikroorganizama, ciklusa limunske kiseline i enzimskih reakcija, podrijetlo organskih kiselina u medu smatra se nepoznatim. Glukonska kiselina je najzastupljenija, a nastaje pretvorbom monosaharida D-glukoze uz djelovanje enzima D-glukoza oksidaze koji se nalazi u hipofarinksu pčelinje žlijezde (Cherchi i sur., 1994 Mato i sur., 1997). Limunska kiselina se može koristiti za razlikovanje meda prema botaničkom i zemljopisnom podrijetlu, pri čemu medljikovac sadrži viši udio limunske kiseline, a cvjetni med niži udio (Mato i sur., 1998; Sanz i sur., 2005).

#### 2.1.5. Enzimi

Med sadrži različite vrste enzima koji potječu iz pčelinjih žlijezda, a najčešće su prisutni dijastaza i glukoza oksidaza. Enzimi su pokazatelji svježine meda, mogu doprinijeti antimikrobnim svojstvima meda kao antioksidansi te ukazuju na zemljopisno i botaničko podrijetlo meda. Aktivnost enzima može biti posljedica izlaganja meda visokim temperaturama tijekom prerade i skladištenja (Chua i Adnan, 2014).

#### 2.1.6. Fenolni spojevi

Fenolni spojevi prisutni u medu nalaze se u udjelu od 5 do 1500 mg galne kiseline  $\text{kg}^{-1}$ , pri čemu je viši udio fenolnih spojeva prisutan u medu medljike. Flavonoidi koji se obično nalaze u medu su: apigenin, pinocembrin, kamferol, kvercetin, krizin, pinobanksin, galangin, luteolin i hesperitin. Najveći udio flavonoida nalazi se u peludi, oko 0,5 %, i u propolisu, oko 10 % (Kesić i sur., 2020).

### 2.1.7. Hidroksimetilfurfural

Hidroksimetilfurfural (HMF) je heterociklički organski spoj, derivat furana, koji nastaje razgradnjom jednostavnih šećera tijekom skladištenja meda. Moguće ga je odrediti spektrofotometrijski ili tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (engl. *High Performance Liquid Chromatography*; HPLC), kod koje se razdvajanje HMF-a može odvijati po principu kromatografske tehnike obrnutih faza, a kao mobilna faza može se koristiti voda i metanol (Basumallick i Rohrer, 2016). Hidroksimetilfurfural se koristi kao parametar kvalitete meda kojim se ograničava toplinska obrada meda jer izlaganjem meda visokoj temperaturi dolazi do povećanja udjela HMF-a. Obzirom da se med mora toplinski tretirati u tehnološke svrhe kako bi se uklonili kristali ili tijekom pasterizacije, potrebno je tretiranje provesti na određenoj temperaturi što kraće vrijeme. Temperature više od 130 °C čak i tijekom kratkog perioda zagrijavanja uzorkuju povećanje udjela HMF-a iznad vrijednosti koje su propisane međunarodnim normama (Tosi i sur., 2002). Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) najveća dopuštena količina HMF-a u medu ne smije prelaziti 40 mg kg<sup>-1</sup>. Iznimke su vrste meda koje potječu iz regija tropske klime i njihove mješavine kod kojih maseni udio HMF-a ne smije prelaziti 80 mg kg<sup>-1</sup>.

## 2.2. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

### 2.2.1. Električna provodnost

Električna provodnost je dobar pokazatelj botaničkog podrijetla meda, a koristi se za rutinske kontrole kao zamjenska metoda za određivanje pepela jer je brza, jednostavna i zahtijeva jeftinu instrumentaciju (Adenekan i sur., 2010). Mjerenje električne provodnosti ovisi o sadržaju mineralnih tvari i kiselina u medu, a što je viši udio mineralnih tvari i kiselina, to je viša vrijednost električne provodnosti meda (El Sohaimy i sur., 2015). Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) definirane su vrijednosti koje mora zadovoljavati med koji se stavlja na tržište. Za medljikovac i med od kestena i njihove mješavine vrijednost električne provodnosti mora iznositi minimalno 0,8 mS cm<sup>-1</sup>, a za sve ostale ne smije prelaziti 0,8 mS cm<sup>-1</sup>. Iznimke su med od eukaliptusa (*Eucalyptus spp.*), lipe (*Tilia spp.*), vrijesa (*Erica spp.*), planike (*Arbutus unedo*), manuke (*Leptospermum scoparium*), vrijeska (*Calluna vulgaris*) i čajevca (*Melaleuca spp.*), kod kojih električna provodnost pokazuje znatne prirodne varijacije.

### 2.2.2. Kristalizacija

Voda u medu je uglavnom vezana na glukozu i fruktozu vodikovim vezama. Tijekom kristalizacije meda glukoza kristalizira stvaranjem glukoza monohidrata jer je najmanje topljivi šećer. Svaka vrsta meda različito kristalizira, pri čemu mogu kristalizirati vrlo sporo, brzo, mogu kristalizirati u fine kristale ili u velika kristalna zrna, dok neke vrste meda nikada ne kristaliziraju. Kristalizacija meda utječe i na stabilnost meda, jer će nekristalizirani dio sadržavati veći udio vode i zbog toga će biti podložniji rastu kvasaca. Kristalizacija meda je inhibirana u zatvorenoj ćeliji saće uslijed zaštićenosti od vlage, prašine i drugih kontaminanata (Crane, 1980). Tijekom prerade, med se zagrijava na temperaturu između 70 i 75 °C, 5 do 10 minuta kako bi se kristali glukoze otopili. Nakon topljenja svih kristala i jezgri, med može ostati u tekućem obliku nekoliko mjeseci (Gupta i sur., 1992; White 1978). Prema stupnju rasta, kristali meda mogu biti u obliku igle, ravne ploče ili u obliku zvijezde (White 1978; Dyce 1978). Ravni pločasti oblik kristala je karakteristika fine granulacije, što daje glatki osjećaj na jeziku. Brzina nukleacije i rast kristala ovise o temperaturi. Izlaganjem meda nižim temperaturama dolazi do formiranja kristala manje veličine zbog ograničene pokretljivosti molekula (Lupano, 1997; Wilson i Marvin 1931). Kristalizacija meda se može zaustaviti skladištenjem meda na temperaturi smrzavanja (-40 °C), toplinskom obradom meda kako bi se otopili kristali i jezgre kristala, uklanjanjem mjehurića zraka, prašine, čestica peludi filtracijom, uporabom ultrazvuka, dodavanjem inhibitora kao što su izomaslačna i sorbinska kiselina i prilagođavanjem omjera glukoze i fruktoze ili sadržaja vode (Bhandari i sur., 1999).

### 2.2.3. Viskoznost

Viskoznost je jedno od najvažnijih svojstava meda, te se smatra kritičnim parametrom tijekom skladištenja, rukovanja i obrade. Na svojstvo tečenja meda utječe nekoliko čimbenika kao što su sastav meda, temperatura, količina i veličina kristala, sastav pojedinih šećera, količina i vrsta koloida i vlažnost kao jedan od najvažnijih čimbenika (Bhandari i sur., 1999). Veći udio vlage rezultira smanjenjem viskoznosti. Karakteristike viskoznosti se mogu regulirati duljinom molekularnog lanca prisutnih šećera u medu, pri čemu disaharidi doprinose većoj viskoznosti od monosaharida u sastavu otopine (Chirife i Buera, 1997). Temperatura ima najveći učinak na viskoznost, a najveći temperaturni učinak se postiže pri temperaturama ispod 15 °C.

#### 2.2.4. Optička aktivnost

Vodena otopina meda je optički aktivna, odnosno zakreće ravninu polarizirane svjetlosti. Optička aktivnost je funkcija udjela pojedinih šećera u medu, pri čemu fruktoza zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u lijevo, a glukoza, svi disaharidi, trisaharidi i viši oligosaharidi zakreću ravninu polarizirane svjetlosti u desno. Zbog višeg udjela fruktoze, nektar meda zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u lijevo i pokazuje negativnu optičku aktivnost, a zbog višeg sadržaja oligosaharida, medljikovac zakreće ravninu polarizirane svjetlosti u desno i pokazuje pozitivnu optičku aktivnost. Mjerenje specifičnog kuta rotacije može se koristiti za razlikovanje cvjetnog meda od medljikovca (Kesić i sur., 2020).

### 2.3. MEDLJKOVAC, MEDUN I ŠUMSKI MED

Med od medljike, medljikovac, i medun proizvode pčele od izlučevina biljaka ili iz izlučevina insekata koji se hrane biljkama. Proizvodnja meda od medljike je ekološki važan proces kojim se osigurava mutualizam te se povećava kuženje tvari u prirodi (Moir i sur., 2018). Mikroskopskom analizom moguće je u medu otkriti prisustvo spora gljivica, konidije, hife, plijesni, jednostanične alge, vosak kao i peludna zrnca biljaka bez nektara (Atanassova i sur., 2016). Za proizvodnju medljike koriste se različite vrste hrastova, jela, smreka i vrba, a populacijska dinamika proizvođača medljike ovisi o klimatskim uvjetima što u konačnici utječe na proizvodnju meda. Medljikovac karakteriziraju specifična fizikalno-kemijska, senzorska i mikroskopska svojstva, koja ovise o vrsti insekata i biljaka iz kojih se med dobiva. Karakterizira ga tamnija boja, manji sadržaj monosaharida a veći sadržaj proteina, mineralnih tvari, felonih spojeva i oligosaharida u usporedbi sa cvjetnim medom (Seraglio i sur., 2019). Med od medljike karakteriziraju visoke vrijednosti električne provodnosti i pH (Persano Oddo i Piro, 2004) kao i visoka antioksidacijska aktivnost u odnosu na druge vrste meda. pH vrijednost meda ovisi o sadržaju aminokiselina i organskih kiselina koje med sadrži, a u istraživanju koje su proveli Atanassova i suradnici (2016) ta vrijednost je varirala u intervalu od 4,10 do 4,90. Sadržaj mineralnih tvari u medu od medljike je općenito viši u odnosu na cvjetni med, a najzastupljenija mineralna komponenta je kalij. Medljikovac karakterizira i značajno viši udio ukupnih fenola i flavonoida u odnosu na druge vrste meda kao i visok sadržaj prolina koji predstavlja mjeru razine ukupno prisutnih aminokiselina, a može poslužiti i kao

kriterij za procjenu zrelosti meda i indikator patvorenja meda šećerom (Lamien-Meda i sur., 2005). Flavonoidi imaju iznimno široki spektar pozitivnih učinaka na ljudski organizam na način da djeluju antibakterijski, protuupalno, antialergijski, antitrombotično, a neka istraživanja su pokazala i njihovu moguću ulogu u prevenciji srčanožilnih bolesti i raka. Flavonoidi djeluju kao antioksidansi pri čemu su uključeni u izravno hvatanje reaktivnih vrsta kisika, inhibiciju enzima koji su odgovorni za proizvodnju superoksidnih aniona i sprječavanje peroksidacijskog procesa redukcijom alkoksilnih i peroksilnih radikala (Pyrzynska i Biesaga, 2009). Med također pruža vlažno okruženje za pravilno zacjeljivanje rana, zbog fizikalnog svojstva osmoze (Majtan i sur., 2013). Med od medljike se prema istraživanju koje su proveli Majtan i suradnici (2013) može koristiti za liječenje ulkusa rožnice koji može biti uzrokovan nošenjem kontaktnih leća kao i za liječenje endoftalmitisa (Cernak i sur., 2012).

Lokacija i tip košnice uvelike utječu na fizikalno-kemijske parametre šumskog meda, kao što su sadržaj reducirajućih šećera, sadržaj pepela, kiselost, udio hidroksimetilfurfurala i specifična rotacija, dok sadržaj vlage, saharoze, pH vrijednost i električna provodnost nisu pod utjecajem lokacije i tipa košnice (Belay i sur., 2013). Bez obzira na geografsko podrijetlo, med je kiselkast zbog prisustva organskih kiselina. pH vrijednost ima veliki utjecaj na okus i aromu meda. U šumskom medu su prisutne formatna, vinska, maleinska, limunska, jantarna, maslačna, mliječna i oksalna kiselina (Kamal i Klein, 2011). Kiselost šumskog meda utječe na antimikrobno djelovanje, a niska kiselost može inhibirati rast bakterija i na taj način produžiti trajnost meda (Mandal i sur., 2010). Boja meda je važan pokazatelj kvalitete za potrošače te utječe na cijenu meda na svjetskom tržištu. Šumski med se na temelju klasifikacije smatra tamnim medom. Također, tamni med ima viši sadržaj mineralnih tvari i fenolnih spojeva od svijetlog meda. Na raznoliku boju meda utječe nekoliko čimbenika kao što su biljno podrijetlo, sadržaj mineralnih tvari, antioksidativni pigmenti (karotenoidi i flavonoidi), temperatura i rok trajanja. Poboljšanje boje može biti postignuto smanjenjem sadržaja vlage i povećanjem sadržaja komponenti koje su odgovorne za boju meda, kao što su mineralne tvari (Syahriati i sur., 2021).

## **2.4. PATVORENJE MEDA**

Najjednostavnije i najjeftinije metode kojima se određuje autentičnost meda su metode kojima se određuju fizikalno-kemijska svojstva meda, a koja su sastavni dio odgovarajućih

propisa. Navedene metode uključuju instrumentalne analize, kao što su HPLC metode za određivanje udjela šećera ili HMF-a i klasične analize kao što su titracijske i refraktometrijske metode. Parametri koji se određuju mogu uključivati udio vode u medu, udio šećera, netopljivih tvari, HMF-a, kiselost, električnu provodnost i aktivnost dijastaze. U fizikalno-kemijske parametre kvalitete mogu biti uključeni hlapljivi ili fenolni spojevi kako bi se poboljšali modeli predviđanja podrijetla meda. Senzorska analiza u kombinaciji sa određivanjem fizikalno-kemijskih parametara može predstavljati alternativni pristup u određivanju autentičnosti meda (Tsagkaris i sur., 2021). U određivanju autentičnosti meda potencijalne oznake autentičnosti mogu predstavljati prisutni fenolni spojevi koji mogu biti određeni tehnikom tekućinske kromatografije. Pri tome se za praćenje analita mogu se koristiti različiti tekućinsko-kromatografski sustavi kojima se postiže učinkovito razdvajanje nepolarnih flavonoida ili pak polarnih fenolnih kiselina (Tsagkaris i sur., 2021). Plinsko kromatografske tehnike mogu se koristiti za određivanje hlapljivih frakcija u uzorcima meda, pri čemu su hlapljivi sastojci izravno povezani s botaničkim vrstama sa kojih pčele prikupljaju nektar ili medljiku. Hlapljivi sastojci prisutni u medu često uključuju: aldehide, ketone, estere, etere, furane, alkohole, karboksilne kiseline, alkane, terpene, norizoprenoide i derivate pirena. Također, u procjeni autentičnosti hrane često se koriste tehnike usmjerene na genetički materijal. Genetski podaci kodirani u DNA mogu dati i informacije o zemljopisnom te botaničkom podrijetlu. Lančana reakcija polimeraze (engl. *Polymerase Chain Reaction*; PCR) pri tome predstavlja osjetljivu tehniku koja uključuje umnožavanje specifičnih dijelova molekule DNA. Nadalje, za određivanje autentičnosti meda može se koristiti i tehnika nuklearne magnetske rezonancije (NMR). Pri tome NMR spektroskopija omogućuje detekciju sastojaka u složenim smjesama, kao što je i med, bez prethodnog pročišćavanja uz jednostavnu pripremu uzoraka ili bez pripreme uzoraka (Tsagkaris i sur., 2021).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

##### 3.1.1. Uzorci

U ovom istraživanju analizirano je 20 uzoraka meda, ujedno uključenih u Međunarodno natjecanje pčelara u kvaliteti meda - Zzzagimed 2021. Svi uzorci bili su podrijetlom iz Republike Hrvatske iz sezone 2021., a obuhvaćali su med medljikovac (n = 8), medun (n = 6) i šumski med (n = 6).

##### 3.1.2. Laboratorijsko posuđe i uređaji

- Analitička vaga, Shimadzu AX200, Kyoto, Japan
- Konduktometar, Mettler-Toledo 8603, Mettler-Toledo GmbH, Schwerzenbach, Švicarska
- Laboratorijsko posuđe (laboratorijske čaše, menzure, stakleni štapići, odmjerne tikvice, birete, Erlenmeyerove tikvice, stakleni lijevci, staklene epruvete, automatska pipeta, kivete promjera 1 cm)
- Refraktometar, Model I, Carl Zeiss, Jena, Njemačka
- Spektrofotometar UV-1280, Shimadzu, Kyoto, Japan
- Tehnička vaga, tip ET 1111, Tehtnica, Železiniki
- Vodena kupelj, Inko, Zagreb
- Zračna sušnica tip ST-01/02, Instrumentaria Zagreb

##### 3.1.3. Reagensi

- Bakrov (II) sulfat pentahidrat, Gram-mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska
- Barbiturna kiselina, Gram-mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska
- Cinkov acetat, Fisher Scientific UK Ltd, Loughborough, Ujedinjeno Kraljevstvo
- Kalijev heksacijanoferat (II), Gram-mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska
- Kalijev natrijev tartarat, Gram-mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska
- Klorovodična kiselina, CARLO ERBA Reagents S.A.S., Val-de-Reuil, Francuska
- Ledena octena kiselina, CARLO ERBA Reagents S.A.S., Val-de-Reuil, Francuska
- Metilensko modro bojilo, Kemika d.d., Zagreb, Hrvatska

- Natrijev hidroksid, Gram-mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska
- Otopina natrijevog hidroksida,  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$  bez karbonata, Gram – mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska
- 2-propanol, Lach-Ner s.r.o., Neratovice, Češka
- *p*-toluidin, 99 % crystalline molten mass, Njemačka
- 1 %-tna otopina fenolftaleina (m/V) u etanolu, neutralizirana

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Priprema uzorka za analizu

Uzorci meda za analizu pripremljeni su na nekoliko načina, u ovisnosti o njihovoj konzistenciji.

Tekući uzorak meda potrebno je polagano protresti ili izmiješati staklenim štapićem prije početka analize.

Ukoliko je uzorak meda granuliran, potrebno je posudu s uzorkom zatvoriti i zagrijavati u vodenoj kupelji tijekom 30 minuta, na temperaturi od 60 °C do 65 °C. Tijekom zagrijavanja, uzorak meda se može kružno protresti ili promiješati staklenim štapićem, a potom ga je potrebno brzo ohladiti.

Med se ne smije zagrijavati ukoliko se određuje udio hidroksimetilfurfurala.

Uzorak meda u kojem su prisutne strane tvari, poput voska, dijelova saća i pčela, podvrgava se zagrijavanju pri temperaturi od 40 °C u vodenoj kupelji. Nakon zagrijavanja uzorak je potrebno procijediti kroz tkaninu, koja se postavlja na toplom vodom zagrijavano ljepljivo.

Za pripremu uzorka meda koji se nalazi u saću, neophodno je saće otvoriti i procijediti kroz žičano sito koje se sastoji od kvadratnih otvora promjera 0,5 mm x 0,5 mm. Ako tijekom ovog postupka dio voska ili saća prođe kroz sito, uzorak je potrebno zagrijavati na temperaturi od 60 °C, a prema potrebi i pri 65 °C tijekom 30 minuta u vodenoj kupelji. Kao i kod granuliranog uzorka, tijekom zagrijavanja med je potrebno protresti ili promiješati staklenim štapićem, a nakon toga brzo ohladiti.

Uzorak granuliranog meda u saću potrebno je zagrijavati kako bi se vosak otopio. Dobivena smjesa se promiješa i ohladi, a vosak se izdvoji iz uzorka (IHC, 2009).



### 3.2.2. Određivanje udjela vode u medu

Određivanje udjela vode u medu zasniva se na refraktometrijskom mjerenju (IHC, 2009).

#### *Postupak određivanja i izračun*

Indeks refrakcije uzorka odredi se pomoću refraktometra pri konstantnoj temperaturi od 20 °C. Uz pomoć tablica za izračun udjela vode u medu, izračuna se količina vode (% m/m) na temelju indeksa refrakcije (tablica 1). Ukoliko se indeks refrakcije ne odredi pri temperaturi od 20 °C, potrebno je provesti korekciju temperature, na način da se temperaturi višoj od 20 °C doda 0,00023 za svaki °C, a temperaturi manjoj od 20 °C se oduzima 0,00023 za svaki °C (IHC, 2009).

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

Indeks refrakcije (20°C)	Udio vode (%)	Indeks refrakcije (20 °C)	Udio vode (%)	Indeks refrakcije (20°C)	Udio vode (%)
1,5044	13,0	1,4935	17,2	1,4830	21,4
1,5038	13,2	1,4930	17,4	1,4825	21,6
1,5033	13,4	1,4925	17,6	1,4820	21,8
1,5028	13,6	1,4920	17,8	1,4815	22,0
1,5023	13,8	1,4915	18,0	1,4810	22,2
1,5018	14,0	1,4910	18,2	1,4805	22,4
1,5012	14,2	1,4905	18,4	1,4800	22,6
1,5007	14,4	1,4900	18,6	1,4795	22,8
1,5002	14,6	1,4895	18,8	1,4790	23,0
1,4997	14,8	1,4890	19,0	1,4785	23,2
1,4992	15,0	1,4885	19,2	1,4780	23,4
1,4987	15,2	1,4880	19,4	1,4775	23,6
1,4982	15,4	1,4875	19,6	1,4770	23,8
1,4976	15,6	1,4870	19,8	1,4765	24,0

**Tablica 1.** Tablica za izračun udjela vode u medu (*nastavak*)

1,4971	15,8	1,4865	20,0	1,4760	24,2
1,4966	16,0	1,4860	20,2	1,4755	24,4
1,4961	16,2	1,4855	20,4	1,4750	24,6
1,4956	16,4	1,4850	20,6	1,4745	24,8
1,4951	16,6	1,4845	20,8	1,4740	25,0
1,4946	16,8	1,4840	21,0		
1,4940	17,0	1,4835	21,2		

### 3.2.3. Određivanje električne provodnosti meda

Električna provodnost otopine meda određuje se mjerenjem električne otpornosti koja predstavlja recipročnu vrijednosti njenog električnog otpora, a mjeri se pomoću konduktometra (IHC, 2009).

#### *Postupak određivanja*

Odvaži se oko 20 g meda, na tehničkoj vagi, u plastičnu čašicu, i otopi u deioniziranoj vodi. Pripremljena otopina meda se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. 40 mL pripremljene 20 %-tne otopine meda se prelije u laboratorijsku čašu i uroni se elektroda konduktometra, pri čemu se mjerenje provodi pri 20 °C. Nakon svakog mjerenja, elektrodu je potrebno isprati destiliranom vodom i osušiti staničevinom.

#### *Izračun i prikaz rezultata*

Električna provodnost se izračuna iz sljedećeg izraza:

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

gdje  $S_H$  predstavlja električnu otpornost meda ( $\text{mS cm}^{-1}$ ),  $K$  je konstanta elektrode ( $1 \text{ cm}^{-1}$ ), a  $G$  predstavlja električnu provodnost ( $\text{mS}$ ) (IHC, 2009).

### 3.2.4. Određivanje kiselosti

Određivanje kiselosti meda se temelji na titracijskoj metodi, pri čemu se otopina meda titrira otopinom natrijeva hidroksida, uz indikator fenolftalein do pojave svijetlo ružičastog obojenja (IHC, 2009).

#### *Postupak određivanja*

Odvaži se 10 g uzorka u Erlenmeyerovu tikvicu i otopi se u 75 mL destilirane vode. U pripremljeni uzorak meda doda se 4-5 kapi fenolftaleina i titrira se natrijevim hidroksidom, koncentracije  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , do pojave svijetlo ružičaste boje koja se mora zadržati 10 sekundi.

#### *Izračun i prikaz rezultata*

Kiselost se izračuna iz sljedećeg izraza:

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

gdje  $V$  predstavlja volumen utrošenog natrijeva hidroksida ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) koji je potreban za neutralizaciju 10 g meda (IHC, 2009).

### 3.2.5. Određivanje udjela hidroksimetilfurfurala

Udio hidroksimetilfurfurala je određen fotometrijskom metodom po Winkleru, koja se temelji na reakciji hidroksimetilfurfurala s barbiturnom kiselinom i *p*-toluidinom. Nastalo ružičasto obojenje se mjeri na spektrofotometru pri 550 nm (IHC, 2009).

#### *Priprema p-toluidina*

Odvaži se 10 g *p*-toluidina i otopi se u 50 mL 2-propanola polaganim zagrijavanjem u vodenoj kupelji. Dobivena otopina se sa nekoliko mL 2-propanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL i pomiješa sa 10 mL ledene octene kiseline. Otopinu je potrebno ostaviti na sobnoj temperaturi kako bi se ohladila, a potom se odmjerna tikvica ohlađene otopine nadopuni do oznake 2-propanolom i ostavi na tamnom mjestu, najmanje 24 sata prije upotrebe. Otopinu je moguće koristiti najviše 3 dana nakon pripreme.

#### *Priprema barbiturne kiseline*

Odvaži se 0,5 g barbiturne kiseline i doda 70 mL deionizirane vode u odmjernu tikvicu

od 100 mL. Barbiturna kiselina se otopi u destiliranoj vodi zagrijavanjem začepljene tikvice u vodenoj kupelji. Zatim se tikvica ohladi na sobnu temperaturu i dopuni do oznake destiliranom vodom.

#### *Carrezova otopina I*

Odvažuje se 15 g kalijevog heksacijanoferata (II) i otopi u 100 mL deionizirane vode.

#### *Carrezova otopina II*

Odvažuje se 30 g cinkovog acetata i otopi u 100 mL deionizirane vode.

#### *Priprema otopine uzorka*

10 g meda se odvažuje u plastičnu čašicu i otopi u 20 mL deionizirane vode. Otopina se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL, potom se doda 1 mL otopine Carrez I i dobro se promiješa, a zatim i 1 mL otopine Carrez II i ponovno se promiješa. Tikvica se nadopuni destiliranom vodom do oznake i još jednom se promiješa. Dodatkom 1 kapi etanola sprječava se moguće pjenjenje. Otopina se profiltrira kroz filter papir, pri čemu se prvih 10 mL filtrata baci, a ostatak se koristi za provedbu analize. Ukoliko su uzorci vrlo bistri nije potrebno pročišćavanje dodatkom Carrezovih otopina.

#### *Postupak određivanja*

Po 2 mL pripremljene otopine uzorka se otpipetira u dvije epruvete i u obje se doda po 5 mL otopine *p*-toluidina. U jednu epruvetu koja će služiti kao slijepa proba doda se 1 mL destilirane vode, a u drugu epruvetu se doda 1 mL otopine barbiturne kiseline, uz polagano miješanje. Svi reagensi moraju biti dodani bez prekida tijekom 1 do 2 minute. Kada intenzitet boje dosegne svoj maksimum, što se obično događa nakon 3 do 4 minute, otopine se prebace u kivete promjera 1 cm i mjeri se apsorbancija na spektrofotometru pri valnoj duljini od 550 nm (IHC, 2009).

#### *Izračun i prikaz rezultata*

Udio hidrosimetilfurfurala se izračuna iz sljedećeg izraza:

$$HMF = \frac{192xAx10}{m} \quad [3]$$

gdje A predstavlja apsorbanciju, 192 faktor razrjeđivanja i koeficijent apsorbancije, a m masu meda (g) (IHC, 2009).

### 3.2.6. Određivanje udjela reducirajućih šećera

Određivanje reducirajućih šećera se provodi titracijskom metodom, koja se zasniva na redukciji Fehlingove otopine otopinom reducirajućih šećera iz meda, uz indikator metilensko modro bojilo (IHC, 2009).

#### *Standardna otopina invertnog šećera*

Odvaži se 9,5 g čiste saharoze u odmjernu tikvicu od 100 mL i doda 5 mL otopine klorovodične kiseline (oko 36,5 %), te se odmjerna tikvica nadopuni destiliranom vodom do oznake. Otopinu je moguće čuvati nekoliko dana nakon pripreme ovisno o temperaturi. Ukoliko je temperatura na kojoj čuvamo otopinu između 12 °C i 15 °C moguće je otopinu pohraniti do 7 dana, a ako je temperatura nešto viša, između 20 °C i 25 °C, do 3 dana. Pripremljenoj otopini moguće je dodati maksimalno do 1 L vode. Prije upotrebe, odgovarajuća količina otopine se neutralizira otopinom natrijeva hidroksida koncentracije 1 mol L<sup>-1</sup>, a potom se razrijedi do potrebne koncentracije od 2 g L<sup>-1</sup>.

#### *Fehlingova otopina*

Za pripremu otopine A odvaži se 69,28 g bakrenog (II) sulfata pentahidrata (CuSO<sub>4</sub> x 5 H<sub>2</sub>O) i otopi u 1 L destilirane vode.

Za pripremu otopine B odvaži se 346 g kalijevog natrijevog tartarata (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>KNaO<sub>6</sub> x 4 H<sub>2</sub>O) i 100 g natrijeva hidroksida te otopi u 1 L destilirane vode, a potom se dobivena otopina profiltrira.

#### *Otopina metilenskog modrila*

Odvaži se 2 g metilenskog modrog bojila i otopi u destiliranoj vodi, a potom se dobivena otopina razrijedi 1 L destilirane vode.

#### *Stipsa (alaun)*

Pripremi se hladna zasićena otopina (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> x 24 H<sub>2</sub>O) u vodi, a potom se dodaje amonijev hidroksid, uz konstantno miješanje staklenim štapićem, dok otopina ne

postane alkalna što se ispituje lakmus papirom. Sve dok je voda slabo pozitivna na sulfate, što se ispituje otopinom barijeva klorida kada se otopina slegne, provodi se ispiranje vodom uz dekantiranje. Suvišak vode se odlije, a dobivena pasta se čuva u boci s brušenim čepom.

### *Priprema uzorka*

#### Postupak I

a) odvaži se 25 g ( $W_1$ ) homogeniziranog meda i kvantitativno se prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL, doda se 5 mL stipse i tikvica se nadopuni deioniziranom vodom do oznake, pri temperaturi od 20 °C. Tako pripremljena otopina se profiltrira.

b) 10 mL uzorka pod a) se otpipetira u odmjernu tikvicu od 500 mL, a potom se tikvica nadopuni deioniziranom vodom do oznake.

#### Postupak II

a) odvaži se 2 g homogeniziranog uzorka meda ( $W_2$ ) u čaši i otopi se u deioniziranoj vodi. Otopina se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 200 mL i nadopuni se deioniziranom vodom do oznake. Tako pripremljena otopina predstavlja otopinu meda.

### *Standardizacija Fehlingove otopine*

Za standardizaciju Fehlingove otopine potrebno je otpipetirati 5 mL Fehlingove otopine A i pomiješati je sa 5 mL Fehlingove otopine B. Pripremljena otopina mora u potpunosti reagirati s 0,050 g invertnog šećera, koji se dodaje u volumenu od 25 mL kao standardna otopina invertnog šećera koncentracije 2 g L<sup>-1</sup>.

### *Prethodna titracija*

Budući da je Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) propisano da med mora sadržavati najmanje 60 % reducirajućih šećera, nužno je provesti prethodnu titraciju kako bi se odredio točan volumen vode koji je potrebno dodati, da bi se tijekom analize osigurala redukcija pri konstantnom volumenu. Kako bi postiglo da ukupni volumen nakon titracije bude 35 mL, potrebno je u prethodnoj titraciji oduzeti utrošeni volumen razrijeđene otopine meda od 25 mL. Pipetom se otpipetira 5 mL Fehlingove otopine A u Erlenmeyerovu tikvicu, doda se 5 mL Fehlingove otopine B, 7 mL deionizirane vode i 15 mL razrijeđene otopine meda. Otopina se zagrijava do vrenja, te je potrebno tu temperaturu održavati 2 minute, tijekom koje se dodaje 1 mL 0,2 %-tne otopine metilenskog modrog bojila. Titracija se završi kada ponovnim dodatkom razrijeđene otopine meda nestane boja indikatora. Utrošeni volumen razrijeđene otopine meda

koji je u potpunosti reduciran označi se sa „X mL“.

#### *Postupak određivanja*

Pipetom se otpipetira 5 mL Fehlingove otopine A u Erlenmeyerovu tikvicu od 250 mL, doda se 5 mL Fehlingove otopine B, volumen deionizirane vode određen u prethodnoj titraciji i razrijeđena otopina meda tako da za cijelu titraciju ostane oko 1,5 mL („X mL“ – 1,5 mL). Pripremljena otopina se zagrijava na plameniku do vrenja, te se temperatura vrenja održava 2 minute, tijekom koje se dodaje 1 mL 0,2 %-tne otopine indikatora metilenskog modrog bojila. Titracija se provodi maksimalno 3 minute sve dok se otopina ne obezboji, a potrošeni volumen razrijeđene otopine meda se označava sa „Y mL“.

#### *Izračun i prikaz rezultata*

Udio invertnog šećera se određuje u ovisnosti da li je uzorak pripremljen prema postupku I ili prema postupku II.

Ukoliko je uzorak pripremljen prema postupku I, udio invertnog šećera se određuje prema sljedećem izrazu:

$$C = \frac{25}{W_1} \times \frac{1000}{Y_1} \quad [4]$$

gdje C predstavlja invertni šećer (g),  $W_1$  masu uzetog uzorka (g), a  $Y_1$  utrošeni volumen razrijeđene otopine meda (mL).

Ukoliko je uzorak pripremljen prema postupku II, udio invertnog šećera se određuje prema sljedećem izrazu:

$$C = \frac{2}{W_2} \times \frac{1000}{Y_2} \quad [5]$$

gdje C predstavlja invertni šećer (g),  $W_2$  masu uzetog uzorka (g), a  $Y_2$  utrošeni volumen razrijeđene otopine meda (mL) (IHC, 2009).

#### 3.2.7. Određivanje udjela saharoze

Metoda za određivanje saharoze se zasniva na hidrolizi saharoze, redukciji Fehlingove otopine titracijom reduciranim šećerom iz hidrolizata meda uz indikator metilensko modro bojilo.

### *Priprema otopine uzorka*

Odvaže se 2 g homogeniziranog meda u čašu i otopi se u deioniziranoj vodi. Otopina se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 200 mL i nadopuni se deioniziranom vodom do oznake. Pripremljena otopina predstavlja otopinu meda.

### *Hidroliza uzorka*

Otpipetira se 50 mL otopine meda u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i doda se 25 mL deionizirane vode. Pripremljeni uzorak se zagrijava u kipućoj vodenoj kupelji do temperature od 65 °C tijekom 10 minuta, a tijekom prve 3 minute potrebno ga je miješati. Nakon što se pripremljeni uzorak zagrije na odgovarajuću temperaturu, tikvica se izvadi iz vodene kupelji i doda se 2 mL klorovodične kiseline i ostavi se da se ohladi. Zatim se provede neutralizacija otopinom natrijeva hidroksida koncentracije 5 mol L<sup>-1</sup> uz lakmus papir kao indikator. Otopina se ponovno ohladi na temperaturu od 20 °C te se tikvica nadopuni deioniziranom vodom do oznake.

### *Postupak određivanja*

Određivanje udjela saharoze provodi se na isti način kao i određivanje udjela reducirajućih šećera, odnosno provodi se prethodna titracija i postupak određivanja količine invertnog šećera prije inverzije.

### *Izračun i prikaz rezultata*

Za izračun udjela saharoze prvo se izračuna udio invertnog šećera nakon inverzije, pri čemu se koristi izraz za određivanje udjela invertnog šećera prije inverzije.

Udio saharoze se zatim izračuna iz sljedećeg izraza:

$$\text{masa saharoze (g /100 g)} = (\text{količina invertnog šećera nakon inverzije} - \text{količina invertnog šećera prije inverzije}) \times 0,95 \quad [6]$$

(IHC, 2009).



#### **4. REZULTATI I RASPRAVA**

Ovim istraživanjem su analizirani fizikalno-kemijski parametri 20 uzoraka meda medljikovaca (n = 8), meduna (n = 6) i šumskog meda (n = 6). Analizirani uzorci meda ujedno su bili uključeni u Međunarodno natjecanje pčelara u kvaliteti meda - Zzzagimed 2021, a podrijetlom su iz Republike Hrvatske. Dobiveni rezultati su prikazani u tablicama 2, 3 i 4. Fizikalno-kemijski parametri koji su određeni ovim istraživanjem su udio vode, električna provodnost, udio hidrokсимetilfurfurala, kiselost, maseni udio reducirajućih šećera i maseni udio saharoze. Vrijednosti dobivene analizom su statistički obrađene u programu Microsoft Excel.

#### 4.1. FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI ANALIZIRANIH UZORAKA MEDA

Tablica 2. Fizikalno-kemijski parametri uzoraka meda medljikovca (n = 8)

Uzorak/ oznaka uzorka	Maseni udio vode (%)	Električna provodnost (mS cm <sup>-1</sup> )	Kiselost (mEq kg <sup>-1</sup> )	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)	Maseni udio HMF-a (mg kg <sup>-1</sup> )
1/8	15,47	0,96	32,30	62,78	1,22	4,61
2/28	15,53	1,84	33,96	61,57	2,05	0,77
3/29	15,53	0,88	23,16	69,66	0,91	2,30
4/37	15,84	1,17	29,35	65,96	0,85	2,69
5/53	16,72	1,31	22,11	63,59	2,28	15,36
6/83	14,88	1,32	28,35	63,43	1,79	17,28
7/93	16,32	1,57	31,74	61,57	1,03	0,38
8/96	16,24	1,13	23,41	59,46	1,18	2,50
<b>Srednja vrijednost</b>	15,82	1,27	28,05	63,50	1,41	5,74
<b>Standardna devijacija</b>	0,59	0,32	4,62	63,50	1,41	5,74
<b>Varijanca</b>	0,34	0,10	21,30	9,76	0,30	44,58
<b>Koeficijent varijabilnosti</b>	3,71	24,73	16,46	4,92	38,81	116,40
<b>Zahtjevi pravilnika</b>	≤20	≥0,8	≤50	≥45	≤5	≤40

U tablici 2. su prikazani fizikalno-kemijski parametri za med medljikovac. Vrijednosti masenog udjela vode za med medljikovac se kreću u rasponu od 14,88 do 16,72 %, sa srednjom vrijednosti 15,82 %, dok su vrijednosti električne provodnosti analiziranih uzoraka u rasponu

između 0,88 i 1,84 mS cm<sup>-1</sup>, sa srednjom vrijednosti 1,27 mS cm<sup>-1</sup>. Kiselost analiziranih uzoraka se kreće u rasponu od 22,11 do 33,96 mEq kg<sup>-1</sup>, sa srednjom vrijednosti od 28,05 mEq kg<sup>-1</sup>. Maseni udio hidrokсиметилфурфурала je u rasponu između 0,77 i 17,28 mg kg<sup>-1</sup>, sa srednjom vrijednosti analiziranih uzoraka od 5,74 mg kg<sup>-1</sup>, dok je maseni udio reducirajućih šećera u rasponu od 59,46 do 69,66 %, sa srednjom vrijednosti 63,50 %. Vrijednosti masenog udjela saharaže su u rasponu od 0,85 do 2,28 %, a srednja vrijednost iznosi 1,41 %.

**Tablica 3.** Fizikalno-kemijski parametri uzoraka meduna (n = 6)

Uzorak/ oznaka uzorka	Maseni udio vode (%)	Električna provodnost (mS cm <sup>-1</sup> )	Kiselost (mEq kg <sup>-1</sup> )	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharaže (%)	Maseni udio HMF-a (mg kg <sup>-1</sup> )
1/10	17,56	0,81	39,64	70,57	0,00	6,14
2/45	17,64	1,10	25,87	61,57	2,05	1,73
3/46	15,92	1,12	19,34	64,25	2,33	4,03
4/81	15,76	1,16	31,68	61,57	2,05	2,69
5/89	16,40	1,42	35,66	68,32	0,95	3,84
6/103	15,00	1,12	26,47	62,78	1,29	0,77
<b>Srednja vrijednost</b>	16,38	1,12	29,78	64,84	1,45	3,20
<b>Standarna devijacija</b>	1,05	0,19	7,36	3,77	0,88	1,90
<b>Varijanca</b>	1,10	0,04	54,13	14,18	0,77	3,62
<b>Koeficijent varijabilnosti</b>	6,39	17,24	24,71	5,81	60,90	59,48
<b>Zahtjevi pravilnika</b>	≤20	≥0,8	≤50	≥60	≤5	≤40

U tablici 3. su prikazani fizikalno-kemijski parametri za medun. Maseni udjeli vode analiziranih uzoraka su u rasponu od 15,00 do 17,64 %, sa srednjom vrijednosti od 16,38 %, dok su vrijednosti električne provodnosti u rasponu od 0,81 do 1,42 mS cm<sup>-1</sup>, sa srednjom vrijednosti od 1,12 mS cm<sup>-1</sup>. Vrijednost kiselosti je u rasponu od 19,34 do 39,64 mEq kg<sup>-1</sup>, sa srednjom vrijednosti od 29,78 mEq kg<sup>-1</sup>, dok su vrijednosti masenog udjela HMF-a u rasponu od 0,77 do 6,14 mg kg<sup>-1</sup>, pri čemu srednja vrijednost iznosi 3,20 mg kg<sup>-1</sup>. Maseni udjeli reducirajućih šećera su u rasponu od 61,57 do 70,57 %, sa srednjom vrijednosti 67,84 %, a maseni udjeli saharoze se kreću u rasponu između 0,00 i 2,33 %, pri čemu srednja vrijednost iznosi 1,45 %.

**Tablica 4.** Fizikalno-kemijski parametri uzoraka šumskog meda (n = 6)

Uzorak/ oznaka uzorka	Maseni udio vode (%)	Električna provodnost (mS cm <sup>-1</sup> )	Kiselost (mEq kg <sup>-1</sup> )	Maseni udio reducirajućih šećera (%)	Maseni udio saharoze (%)	Maseni udio HMF-a (mg kg <sup>-1</sup> )
1/16	15,53	1,67	37,05	62,86	0,06	2,88
2/31	15,76	1,19	24,70	59,46	2,04	1,54
3/36	16,32	1,18	28,11	61,57	1,35	1,15
4/42	14,68	1,39	28,03	60,78	2,84	1,54
5/52	15,40	1,45	27,92	57,36	2,26	1,54
6/112	15,84	1,02	20,36	62,78	0,14	0,00
<b>Srednja vrijednost</b>	15,59	1,32	27,70	60,80	1,45	1,44
<b>Standarna devijacija</b>	0,55	0,23	5,49	2,12	1,15	0,92
<b>Varijanca</b>	0,30	0,05	30,12	4,45	1,32	0,85
<b>Koeficijent varijabilnosti</b>	3,50	17,46	19,82	3,48	79,29	64,08
<b>Zahtjevi pravilnika</b>	≤20	≥0,8	≤50	≥60	≤5	≤40

U tablici 4. su prikazani fizikalno-kemijski parametri za šumski med. Vrijednosti analiziranih uzoraka za udio vode se kreću u rasponu između 14,68 % i 16,32 %, sa srednjom vrijednosti 15,59 %, dok su vrijednosti električne provodnosti u rasponu od 1,02 do 1,67 mS cm<sup>-1</sup>, sa srednjom vrijednosti 1,32 mS cm<sup>-1</sup>. Izmjerene vrijednosti kiselosti su u rasponu od 20,36 do 37,05 mEq kg<sup>-1</sup>, sa srednjom vrijednosti od 27,70 mEq kg<sup>-1</sup>. Maseni udjeli HMF-a su u rasponu od 0,00 do 2,88 mg kg<sup>-1</sup>, a srednja vrijednost iznosi 1,44 mg kg<sup>-1</sup>. Maseni udjeli reducirajućih šećera se kreću u rasponu od 57,36 do 62,86 %, pri čemu uzorci sa oznakama 2/31 i 5/52 ne zadovoljavaju kriterije Pravilnika (Pravilnik, 2015), kojim je propisano da maseni udio reducirajućih šećera mora iznositi najmanje 60 %, a za ova dva navedena uzorka iznosi 59,46 % i 57,36 %. Vrijednost masenog udjela saharoze se kreću u rasponu od 0,06 do 2,84 %, sa srednjom vrijednosti od 1,45 %.

#### **4.2. MASENI UDIO VODE**

Udio vode u medu je jedan od parametara kvalitete, na osnovu kojeg se procjenjuje stabilnost meda i otpornost na kvarenje uzrokovano fermentacijom osmofilnih kvasaca. Što je viši udio vode, veća je i mogućnost fermentacije meda tijekom skladištenja i kvarenje. Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) maseni udio vode u medu medljikovac, medun i šumski med ne smije prelaziti 20 %. U istraživanju koje su proveli Denžić i suradnici (2017) analizirani su različiti uzorci meda u razdoblju od 2012. do 2016. godine podrijetlom iz Republike Hrvatske, pri čemu je udio vode u medljikovcu nešto viši (16,80 %) nego udio vode dobiven u ovom istraživanju (15,81 %) (tablica 2). Iz priloženih rezultata može se zaključiti da svi analizirani uzorci zadovoljavaju Pravilnik o medu (2015). Srednja vrijednost masenog udjela vode za medun je nešto viša (16,38 %) u odnosu na medljikovac (15,82 %) i šumski med (15,59 %).

#### **4.3. ELEKTRIČNA PROVODNOST**

Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) vrijednost električne provodnosti mora biti najmanje 0,80 mS cm<sup>-1</sup>. Srednja vrijednost električne provodnosti analiziranih uzoraka medljikovca u ovom istraživanju iznosila je 1,27 mS cm<sup>-1</sup>, a u istraživanju koje su proveli

Denžić i suradnici (2017) je bila nešto niža i iznosila je  $1,14 \text{ mS cm}^{-1}$ . U istraživanju koje su proveli Živkov Baloš i suradnici (2018) srednja vrijednost električne provodnosti za šumski med je iznosila  $1,12 \text{ mS cm}^{-1}$  što je nešto niže od vrijednosti dobivene u ovom istraživanju ( $1,32 \text{ mS cm}^{-1}$ ). Vrijednosti električne provodnosti za šumski med dobivene u istraživanju koje su proveli Srećković i suradnici (2019) također je nešto niža ( $1,07 \text{ mS cm}^{-1}$ ) u odnosu na vrijednosti koje su dobivene ovim istraživanjem ( $1,32 \text{ mS cm}^{-1}$ ). Iz priloženih rezultata vidljivo je da svi uzorci meda ispunjavaju zahtjeve Pravilnika (Pravilnik, 2015). Uzorci šumskog meda ( $1,32 \text{ mS cm}^{-1}$ ) i medljikovca ( $1,27 \text{ mS cm}^{-1}$ ) imaju nešto višu srednju vrijednost električne provodnosti u odnosu na uzorke meduna ( $1,12 \text{ mS cm}^{-1}$ ).

#### 4.4. KISELOST

U istraživanju koje su proveli Živkov Baloš i suradnici (2018) na različitim uzorcima meda podrijetlom iz Vojvodine dobivena je značajno niža vrijednost kiselosti za šumski med ( $19,33 \text{ mEq kg}^{-1}$ ) u odnosu na srednju vrijednost izmjerene kiselosti dobivene u ovom istraživanju ( $27,70 \text{ mEq kg}^{-1}$ ). Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) vrijednost kiselosti ne smije prelaziti  $50 \text{ mEq kg}^{-1}$ , pri čemu je iz rezultata vidljivo da svi uzorci zadovoljavaju Pravilnik. Uzorci meduna imaju nešto višu srednju vrijednost kiselosti ( $29,78 \text{ mEq kg}^{-1}$ ) u odnosu na medljikovac ( $28,05 \text{ mEq kg}^{-1}$ ) i šumski med ( $27,70 \text{ mEq kg}^{-1}$ ).

#### 4.5. MASENI UDIO HMF-a

U istraživanju koje su proveli Šarić i suradnici (2008) na različitim uzorcima meda podrijetlom iz Republike Hrvatske, srednja vrijednost HMF-a za uzorke medljikovca je bila značajno niža ( $1,70 \text{ mg kg}^{-1}$ ) od srednje vrijednosti masenog udjela HMF-a dobivene ovim istraživanjem ( $5,74 \text{ mg kg}^{-1}$ ). U istraživanju koje su proveli Primorac i suradnici (2009) srednja vrijednost masenog udjela HMF-a u uzorcima medljikovca, podrijetlom iz Republike Hrvatske, je također bila niža ( $0,80 \text{ mg kg}^{-1}$ ) u odnosu na vrijednost koja je dobivena ovim istraživanjem ( $5,74 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Srećković i suradnici (2019) su analizirali nekoliko vrsta meda podrijetlom iz Srbije, te su za uzorke šumskog meda dobili srednju vrijednost masenog udjela HMF-a  $1,27 \text{ mg kg}^{-1}$ , što je nešto niža vrijednost od dobivene vrijednosti u ovom istraživanju ( $1,44 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Svi uzorci ispunjavaju zahtjeve Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015) kojim je propisano da

maseni udio hidroksimetilfurfurala ne smije prelaziti  $40 \text{ mg kg}^{-1}$ . Srednja vrijednost masenog udjela HMF-a za medljikovac znatno je viša ( $5,74 \text{ mg kg}^{-1}$ ) u odnosu na medun ( $3,20 \text{ mg kg}^{-1}$ ) i šumski med ( $1,44 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

#### **4.6. MASENI UDIO REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA**

Srednja vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera za uzorke medljikovca (63,50 %) se podudara sa srednjom vrijednosti dobivenom u istraživanju koje su proveli Čalopek i suradnici (2016), a iznosila je 64,85 %. Svi uzorci, osim uzoraka sa oznakama 2/31 i 5/52 šumskog meda, zadovoljavaju zahtjeve Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015), prema kojem medljikovac mora sadržavati minimalno 45 % reducirajućih šećera, a medun i šumski med minimalno 60 %. Srednja vrijednost masenog udjela reducirajućih šećera za med medun (64,84 %) i medljikovac (63,50 %) je viša u odnosu na šumski med (60,80 %).

#### **4.7. MASENI UDIO SAHAROZE**

Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) maseni udio saharoze ne smije prelaziti 5 %. U istraživanju koje su proveli Čalopek i suradnici (2016) srednja vrijednost masenog udjela saharoze za uzorke medljikovca je viša (1,65 %) od vrijednosti koje su dobivene ovim istraživanjem (1,41 %). Primorac i suradnici (2009) su analizirali uzorke medljikovca iz Republike Hrvatske i Makedonije, te su dobili srednju vrijednost masenog udjela saharoze za uzorke iz Republike Hrvatske 1,40 %, što se poklapa sa rezultatima dobivenim ovim istraživanju, dok su uzorci iz Makedonije imali srednju vrijednost udjela saharoze 2,10 %. Svi analizirani uzorci ispunjavaju zahtjeve Pravilnika o medu (Pravilnik, 2015) za navedeni parametar. Srednja vrijednost masenog udjela saharoze za medljikovac je nešto niža (1,41 %) u odnosu na medun (1,45 %) i šumski med (1,45 %).

## 5. ZAKLJUČCI

U ovom istraživanju provedene su analize uzoraka meda medljikovca, meduna i šumskog meda, te se na osnovu rezultata fizikalno-kemijskih parametara koji su određeni mogu donijeti sljedeći zaključci:

1. Svi uzorci meda zadovoljavali su Pravilnikom propisane vrijednosti za udio vode, električne provodnosti, kiselosti, udio hidrokсимetilfurfurala i udio saharoze.
2. Zahtjev Pravilnika o masenom udjelu reducirajućih šećera zadovoljavaju svi analizirani uzorci meda, osim dva uzorka šumskog meda (oznaka 2/31 i 5/52).
3. Rezultati fizikalno-kemijskih analiza meda medljikovca, meduna i šumskog meda u skladu su s drugim istraživanjima.



## 6. POPIS LITERATURE

Adenekan MO, Amusa NA, Lawal AO, Okpeze VE (2010) Physico-chemical and microbiological properties of honey samples obtained from Ibadan. *J Microbiol Antimicrobial* **2**, 100–104. <https://doi.org/10.5897/JMA.9000044>

Atanassova J, Lazarova M, Yurukova L (2016) Significant parameters of Bulgarian honeydew honey. *J Cent Eur Agric* **17**, 640-651. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/17.3.1756>

Basumallick L, Rohrer J (2016) Determination of Hydroxymethylfurfural in Honey and Biomass. *Dionex Corporation Application Note 270*, Thermo Fisher Scientific, Sunnyvale, CA, USA.

Belay A, Solomon WK, Bultossa G, Adgaba N, Melaku S (2013) Physicochemical properties of the Harena forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chem* **141**, 3386-3392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.035>

Bhandari BR, D'Arcy BR, Chow S (1999) Rheology of some Australian honeys. *J Food Eng* **41(1)**, 65-68. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(99\)00078-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00078-3)

Boussaid A, Chouaibi M, Rezig L, Hellal R, Donsi F, Ferrari G, Hamdi S (2018) Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arab J Chem* **11**, 265–274. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.08.011>

Cernak M, Majtanova N, Cernak A, Majtan J (2012) Honey prophylaxis reduces the risk of endophthalmitis during perioperative period of eye surgery. *Phytother Res* **26**, 613–616. <https://doi.org/10.1002/ptr.3606>

Cherchi A, Spanedda L, Tuberoso C, Cabras P (1994) Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of organic acids in honey. *J Chromatogr A* **669**, 59–64. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(94\)80336-6](https://doi.org/10.1016/0021-9673(94)80336-6)

- Chirife J, Buera MP (1997) A simple model for predicting the viscosity of sugar and oligosaccharide solutions. *J Food Eng* **33**, 221-226. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(97\)00060-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(97)00060-5)
- Chua LS, Adnan NA (2014) Biochemical and nutritional components of selected honey samples. *Acta Sci Pol Technol Aliment* **13**, 169-179. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2014.2.6>
- Crane E (1980) *A Book of Honey*, Oxford University Press, Melbourne, str. 40-65.
- Čalopek B, Marković K, Vahčić N, Bilandžić N (2016) Procjena kakvoće osam različitih vrsta meda. *Veterinarska stanica* **47**, 317 – 325.
- Denžić Lugomer M, Pavliček D, Kiš M, Končurat A, Majnarić D (2017) Quality assessment of different types of Croatian honey between 2012 and 2016. *Veterinarska stanica* **48**, 93 – 99.
- Dyce EJ (1975) *Honey: a Comprehensive Survey*. Crane, E. ed. Heinemann, London, str. 293-313.
- Di Girolamo F, D'Amato A, Righetti PG (2012) Assessment of the floral origin of honey via proteomic tools. *J Proteom* **75**, 3688–3693. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.029>.
- El Sohaimy SA, Masry SHD, Shehata MG (2015) Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Ann Agric Sci* **60**, 279-287. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2015.10.015>
- Gupta JK, Kaushik R, Joshi VK (1992) Influence of different treatments, storage temperature and period on some physico-chemical characteristics and sensory qualities of Indian Honey. *J Food Sci Technol* **29**, 84-87.
- International Honey Commission (2009) *Harmonised methods of the International Honey Commission*. <https://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf> Pristupljeno 17. svibnja 2022.
- Kamal MA, Klein P (2011) Determination of sugars in honey by liquid chromatography. *Saudi J Biol Sci* **18**, 17-21. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.09.003>

Kesić A, Čelan S, Ibršimović Mehmedinović N, Šestan A (2020) Optical activity, total phenolic content and color intensity of nectarian honey and honeydew. *EJFST* **8**, 12-33.

Lamien-Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo JF (2005) Determination of the total phenolic, flavonoid and proline Contents in Burkina Fasan Honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem* **91**, 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>

Lupano CE (1997) DSC study of honey granulation stored at various temperatures. *Int Food Res J* **30**, 683-688. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(98\)00030-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(98)00030-1)

Majtan J, Bohova, J, Horniackova, M, Klaudiny, J (2013) Anti-biofilm effects of honey against wound pathogens *Proteus mirabilis* and *Enterobacter cloacae*. *Phytother Res*, **75**, 69–75. <https://doi.org/10.1002/ptr.4957>

Mandal S, DebMandal M, Pal NK, Saha K (2010) Antibacterial activity of honey against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella enterica* serovar Typhi *Asian Pac J Trop Med* **3**, 961–964. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60009-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60009-6)

Mato I, Huidobro JF, Cendon V, Muniategui S, Fernandez-Muino MA, Sancho MT (1998) Enzymatic Determination of Citric Acid in Honey by Using Polyvinylpyrrolidone clarification. *J Agric Food Chem* **46**, 141–144. <https://doi.org/10.1021/jf970418p>

Mato I, Huidobro JF, Sanchez MP, Muniategui S, Fernandez-Muino MA, Sancho MT (1997) Enzymatic determination of total D-gluconic acid in honey. *J Agric Food Chem* **45**, 3550–3553. <https://doi.org/10.1021/jf970012c>

Moir ML, Renton M, Hoffmann B, Leng MC, Lach L (2018) Development and testing of a standardized method to estimate honeydew production. *PLoS ONE* **13**: e0201845. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201845>

Navarrete M, Casado S, Minelli M, Segura A, Bonetti A, Dinelli G, Fernandez A (2005) Direct determination of aliphatic acids in honey by coelectroosmotic capillary zone electrophoresis. *J Apic Res* **44**, 65–70. <https://doi.org/10.1080/00218839.2005.11101151>

Nozal MJ, Bernal JL, Diego JC, Gomez LA, Higes M (2003) HPLC determination of low molecular weight organic acids in honey with series-coupled ionexclusion columns. *J Liq Chromatogr Relat Technol* **26**, 1231–1253. <https://doi.org/10.1081/JLC-120020107>

Pavlova T, Stamatovska V, Kalevska T, Dimov I, Nakov G (2018) Quality characteristics of honey: a review. *Proceedings of University of Ruse* **57**, 32-7.

Persano Oddo L, Piro R, Bruneau E, Guyot-Declerck C, Ivanov T, Piškulova J i sur. (2004) Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* **35**, 38–81. <https://doi.org/10.1051/apido:2004049>

Pravilnik (2015) Pravilnik o medu. Narodne novine 53, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015\\_05\\_53\\_1029.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_05_53_1029.html) Pristupljeno 17. svibnja 2022.

Primorac Lj, Angelkov B, Mandić ML, Kenjeric D, Nedeljko M, Flanjak I, i sur. (2009) Comparison of the Croatian and Macedonian Honeydew Honey. *JCEA* **10**, 263-270.

Pyrzynska K, Biesaga M (2009) Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *TrAC* **28**, 893-902. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.03.015>

Sanz ML, Gonzalez M, de Lorenzo C, Sanz J, Martínez-Castro I (2005) A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chem* **91**, 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.013>

Schlabit C, da Silva SAF, de Souza, CFV (2010) Avaliacao de parametros fisico quimicos e microbiologicos em mel. *TBTA* **4**, 80–90. <https://doi.org/10.3895/S1981-36862010000100009>

Srećković NZ, Mihailović VB, Katanić Stanković JS (2019) Physico-chemical, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Three Different Types of Honey from Central Serbia. *Kragujevac J Sci* **41**, 53-68. <https://doi.org/10.5937/KgJSci1941053S>

Syahriati, Attahmid NFU, Latifah H, Nirwana (2021) Physicochemical and color characteristic of the Bawakaraeng Forest Honey, South Sulawesi. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci* **886**, 012057. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/886/1/012057>

Šarić G, Matković D, Hruškar M, Vahčić N (2008) Characterisation and Classification of Croatian Honey by Physicochemical Parametres. *Food Technol Biotechnol* **46**, 355-367.

Tahoun IF, Shehata AB (2015) Preparation of Honey Reference Material for Water Content by Karl Fisher and Refractometric Methods. *Mapan-J Metrol Soc India* **31**, 25-29. <https://doi.org/10.1007/s12647-015-0156-y>

Tezcan F, Kolayli S, Ulusoy HSE, Erim FB (2011) Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys. *J Food Nutr Res* **50**, 33–40.

Tischer Seraglio SK, Silva B, Bergamo G, Brugnerotto P, Gonzaga LV, Fett R, Oliveira Costa AC (2019) An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. *Int Food Res J*. **119**, 44-66. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.028>

Tosi E, Ciappini M, Rè E, Lucero H (2002) Honey thermal treatment effects on hydroxymethyl-furfural content. *Food Chem* **77**, 71-74.

Tsagkaris AS, Koulis GA, Danezis GP, Martakos I, Dasenaki M, Georgiou CA, i sur. (2021) Honey authenticity: analytical techniques, state of the art and challenges. *RSC Adv* **11**, 11273-11294. <https://doi.org/10.1039/D1RA00069A>

Wilson HF, Marvin, GE (1931) The effect of temperature on honey in storage. *J Econ Entomol* **24**, 589-596.

White Jr. JW (1978) Honey. *Adv Food Res* **24**, 287-374. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60160-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60160-3)

Živkov Baloš M, Popov N, Vidaković S, Ljubojević Pelić D, Pelić M, Mihaljev Ž, Jakšić S  
(2018) Electrical conductivity and acidity od honey. *Arhiv veterinarske medicine* **11**, 91 - 101.  
<https://doi.org/10.46784/e-avm.v11i1.20>

## Izjava o izvornosti

Ja Anita Čupić izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Anita Čupić

---

Vlastoručni potpis