

Analiza fizikalno kemijskih parametara cvjetnog meda sezona 2022

Ferić, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:159:628820>

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

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, ožujak 2023.

Tea Ferić

**ANALIZA FIZIKALNO-
KEMIJSKIH PARAMETARA
CVJETNOG MEDA - SEZONA 2022**

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

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Marini Krpan na vodstvu, susretljivosti i pruženoj pomoći prilikom izrade rada te prof. dr. sc. Nadi Vahčić, Renati Petrović, ing. i Valentini Hohnjec, teh. sur. koje su mi uveliko pomogle prilikom izvođenja eksperimentalnog dijela. Također, od srca veliko hvala mojoj obitelji koja me motivirala i bila podrška do samog kraja.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

ANALIZA FIZIKALNO-KEMIJSKIH PARAMETARA CVJETNOG MEDA
– SEZONA 2022

Tea Ferić, univ. bacc. ing. techn. aliment./0058213964

Sažetak: Med je jedna od najpopularnijih funkcionalnih namirnica kojoj se pripisuju antibakterijska, antioksidativna, antivirusna, antikancerogena te mnoga druga svojstva. Cilj ovog rada bio je odrediti fizikalno-kemijske parametre 53 uzorka cvjetnog meda prikupljenih u svrhu natjecanja „Zzzagimed 2022“ na temelju kojih se, uz senzorska svojstva, ocjenjuje kvaliteta meda. Određivali su se sljedeći fizikalno-kemijski parametri: maseni udjeli vode, hidroksimetilfurfurala, reducirajućih šećera, saharoze te slobodne kiseline i električna vodljivost. Analize su pokazale da svi uzorci zadovoljavaju propise o medu, što se tiče masenih udjela vode, hidroksimetilfurfurala, saharoze i slobodnih kiselina. Kada je riječ o električnoj vodljivosti, 2 uzorka nisu zadovoljila kriterij propisan Pravilnikom o medu (NN 53/2015), dok je 1 uzorak cvjetnog meda sadržavao niži maseni udjel reducirajućih šećera od dozvoljenog.

Ključne riječi: *Cvjetni med, fizikalno-kemijski parametri, kvaliteta*

Rad sadrži: 46 stranica, 8 slika, 2 tablice, 65 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Marina Krpan

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Nada Vahčić
2. izv. prof. dr. sc. Marina Krpan
3. prof. dr. sc. Zvonimir Štalić
4. prof. dr. sc. Ines Panjkota Krbavčić

Datum obrane: 31. ožujka 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Graduate university study programme: Food Engineering

ANALYSIS OF PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS OF FLOWER HONEY – SEASON 2022

Tea Ferić, univ. bacc. ing. techn. aliment. /0058213964

Abstract: Honey is one of the most popular functional foods to which antibacterial, antioxidant, antiviral, anticancer and many other properties are attributed. The aim of this work was to determine the physico-chemical parameters of 53 flower honey samples collected for the purpose of the "Zzzagimed 2022" competition, on the basis of which, in addition to sensory properties, honey quality is evaluated. The following physicochemical parameters were determined: mass fractions of water, hydroxymethylfurfural, reducing sugars, sucrose and free acid and electrical conductivity. The analyzes showed that all samples meet the regulations on honey, as far as the mass fractions of water, hydroxymethylfurfural, sucrose and free acids are concerned. When it comes to electrical conductivity, 2 samples did not meet the criterion prescribed by the Ordinance on Honey (Official Gazette 53/2015), while 1 sample of flower honey contained a lower mass proportion of reducing sugars than allowed.

Keywords: *Flower honey, physical and chemical parameters, quality*

Thesis contains: 46 pages, 8 figures, 2 tables, 65 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Marina Krpan, PhD, Associate professor

Reviewers:

1. Nada Vahčić, PhD, Full professor
2. Marina Krpan, PhD, Associate professor
3. Zvonimir Šatalić, PhD, Full professor
4. Ines Panjkota Krbavčić, PhD, Full professor

Thesis defended: March 31st, 2023

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. DEFINICIJA I PODJELA MEDA	2
2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA	3
2.2.1. Ugljikohidrati.....	3
2.2.2. Voda.....	4
2.2.3. Proteini i aminokiseline.....	4
2.2.4. Enzimi.....	5
2.2.5. Organske kiseline	5
2.2.6. Vitamini i mineralne tvari.....	6
2.2.7. Fenolni spojevi	6
2.2.8. Hidroksimetilfurfural.....	7
2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA.....	9
2.3.1. Viskoznost	9
2.3.2. Kristalizacija.....	9
2.3.3. Higroskopnost.....	10
2.3.4. Električna vodljivost	10
2.3.5. Optička aktivnost	10
2.3.6. Indeks refrakcije	11
2.3.7. Specifična masa	11
2.4. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA.....	11
2.4.1. Boja meda.....	11
2.4.2. Okus meda	12
2.4.3. Miris meda.....	12
2.5. ZDRAVSTVENA VRIJEDNOST MEDA.....	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. MATERIJALI	16
3.2. METODE RADA.....	17
3.2.1. Priprema uzoraka za analizu.....	17
3.2.2. Određivanje masenog udjela vode u medu	17
3.2.3. Određivanje masenog udjela hidroksimetilfurfurala u medu	19
3.2.4. Određivanje električne vodljivosti meda	21
3.2.5. Određivanje slobodnih kiselina meda.....	23
3.2.6. Određivanje masenog udjela reducirajućih šećera u medu	24
3.2.7. Određivanje masenog udjela saharoze.....	28

3.2.8. Obrada podataka	29
4. REZULTATI I RASPRAVA	30
5. ZAKLJUČCI.....	40
6. LITERATURA.....	41

1. UVOD

Med je gust i viskozan proizvod specifičnog okusa i mirisa, sastavljen od šećera, peludi, proteina, aminokiselina i mineralnih tvari. Također, prirodno je sladilo koje proizvode pčele iz nektara cvijeća ili drugih slatkih biljnih sokova te im dodaju vlastite specifične tvari pa ga odlažu u saće da sazrije. Med se široko koristi u cijelom svijetu, a njegovi kemijski sastojci su detaljno analizirani. Med je jedna od najpopularnijih funkcionalnih namirnica kojoj se pripisuju antibakterijska, antioksidativna, antivirusna, antikancerogena te mnoga druga svojstva. Smatra se da se koristi od pojave ljudske civilizacije, a u današnje vrijeme postaje sve konkurentniji u odnosu na šećer zbog svojih brojnih zdravstvenih prednosti i niskog glikemijskog indeksa. Njegova je uporaba i potražnja sve raširenija u različitim aspektima čovjekova života, što pčelarima daje veći poticaj za još masovniju i kvalitetniju proizvodnju, unatoč svim problemima s kojima se susreću, poput klimatskih promjena, geografskog podrijetla, načina rukovanja, skladištenja i dr. U današnje vrijeme razlikujemo vrste medova prema botaničkom podrijetlu i načinu proizvodnje, a kvaliteta njihovih parametara, određuje se različitim senzorskim, analitičkim i fizikalno-kemijskim metodama. Kako bi se spriječilo patvorenje meda, potrebno je na neki način regulirati način stavljanja meda na tržište. Kontrola i ispitivanje kvalitete meda je obavezno, primarno radi zaštite potrošača, a kriteriji za sigurnost na području Republike Hrvatske propisani su Pravilnikom o medu (NN 53/2015).

Cilj ovog rada bio je odrediti fizikalno-kemijske parametre 53 uzorka cvjetnog meda prikupljenih u svrhu natjecanja „Zzzagimed“ na temelju kojih se, uz senzorska svojstva ocjenjuje kvaliteta meda u sezoni 2022. Dobiveni rezultati, odnosno sličnosti i razlike unutar svakog parametra usporedit će se s rezultatima prijašnjih istraživanja na sličnim uzorcima te će se utvrditi sukladnost dobivenih rezultata s Pravilnikom o medu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA I PODJELA MEDA

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

Osnovne vrste meda možemo podijeliti prema podrijetlu i prema načinu proizvodnje.

1. Prema podrijetlu razlikujemo:

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

2. Prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja:

- 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 podtočke 1. ove točke;
- cijedeni med - med koji se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla;
- vrcani med - med dobiven vrcanjem (centrifugiranjem) otklopljenog saća bez legla;
- prešani med - med dobiven prešanjem saća bez legla, sa ili bez korištenja umjerene temperature koja ne smije prijeći 45 °C;
- filtrirani med - med dobiven na način koji tijekom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari dovodi do značajnog uklanjanja peludi.

- pekarski med – med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje i može imati: strani okus ili miris, ili biti u stanju vrenja ili prevrio, ili biti pregrijan (Pravilnik, 2015).

2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA

Glavne komponente meda su voda i ugljikohidrati koji čine oko 95 % suhe mase meda. Osim toga, identificiran je još gotovo 181 sastojak u medu, kao što su: amino i organske kiseline, vitamini, mineralne tvari, alkoholi, aromatski spojevi, koloidi, tvari slične karotenoidima i određeni enzimi (glukoza oksidaza, katalaza), a svi skupa čine otprilike 2,1 % sastava (Hossen i sur., 2017). Također je zabilježeno da med sadrži mješavinu dušičnih spojeva, laktona, proteina, inhibina bogatog antibioticima, fenolnih antioksidansa, aromatskih spojeva, glukonske kiseline, fenolne kiseline, flavonoida, 5- hidroksimetilfurfural (HMF) i druge fitokemikalije. Sastav meda varira ovisno o cvjetnom, geografskom i etnomološkom izvoru, a osim toga, vanjske značajke, kao što su sezonski i okolišni čimbenici, obrada meda te vrijeme i uvjeti skladištenja imaju ključne učinke na sastav meda (Shapla i sur., 2018). Kvaliteta meda značajno varira budući je pelud sakupljena na tijelima pčela, dok se kreću od biljke do biljke, jednako raznolika kao i biljke koje posjećuju. Zahvaljujući različitom botaničkom podrijetlu, medovi se razlikuju i po izgledu, osjetilnoj percepciji i sastavu. Istraživači su utvrdili da je glavni razlog za raznolikost boju, okus i funkcionalna svojstva meda uglavnom zbog njegovog fenolnog sastava, a ne varijacija u drugim komponentama, kao što su ugljikohidrati i proteini (Yordi i sur., 2012).

2.2.1. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda i njihov udjel iznosi 73-83 %, što med čini prezasićenom otopinom šećera. Monosaharidi glukoza (27–45 %) i fruktoza (33–42 %), glavni sastojci meda, daju medu slatkoću, energetska vrijednost te najviše utječu na njegova fizikalna svojstva kao što su gustoća, viskoznost, ljepljivost, higroskopnost te sklonost kristalizaciji, no tijekom kristalizacije meda uglavnom kristalizira glukoza, za razliku od fruktoze koja je topljivija i dulje ostaje u otopini (Barhate i sur., 2003). Osim ova dva monosaharida, u medu je identificirano 11 disaharida; saharoza, maltoza, izomaltoza, nigerzoza, turanoza, kobioza, laminoriboza, α - i β -trehaloza, i gentiobioza maltuloza i izomaltuloza melibioza, te također 12 oligosaharida: erloza,

melecitoza, α - i β - izomaltozilglukoza, maltotrioza, 1- kestoza, panoza, centoza, izopanoza i rafinoza te izomaltotetroza i izomaltopentoza (Sanz i sur., 2004). Omjer fruktoze i glukoze (F/G) karakterističan je za pojedine vrste meda i u većini je slučajeva veći od 1,0. Omjer fruktoze i glukoze te omjer glukoze i vode (G/W) u medu su vrlo bitni jer se pomoću njih može odrediti i predvidjeti tendencija kristalizacije meda (Escuredo i sur., 2014).

2.2.2. Voda

Voda je nakon ugljikohidrata drugi najznačajniji sastojak meda. Udjel vode u medu ovisi o okolišnim uvjetima i rukovanju pčelara u razdoblju berbe te može varirati od godine do godine. Voda vezana za glukoze vodikovim vezama u otopini se oslobađa tijekom procesa kristalizacije, što rezultira povećanjem aktivnosti vode. Medovi s većim udjelom vode ponekad se odvajaju na kristaliziranu fazu na dnu i tekuću fazu na vrhu; sloj koji sadrži visok udjel vode povećava rizik od kvarenja meda fermentacijom. Aktivitet vode određuje mikrobiološku stabilnost meda tijekom skladištenja. Na njega duboko utječe kristalizacija jer glukoza veže šest molekula vode u tekućem medu, ali kristalizira uglavnom u monohidratnom obliku. Kristalizacija tako potiče koncentraciju vode u tekućoj fazi, što zauzvrat dovodi do povećanja aktivnosti vode, koja stvara povoljne uvjete za rast osmofilnih kvasaca (Gleiter i sur., 2006). Količina vode u medu definirana je Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) i iznosi maksimalno 20 % (izuzetak vrijesak i pekarski med).

2.2.3. Proteini i aminokiseline

Ovisno o vrsti pčele, glavni proteini u medu imaju različite molekularne mase. Proteini i aminokiseline su sastojci koji su u medu prisutni u tragovima (0,2 – 0,3 %), a mogu biti životinjskog ili biljnog izvora, potjecati iz nektara tj. medljike ili iz peludi koja se nalazi u medu (Mujić i sur., 2014). Proteini u medu prisutni su u dva oblika; oblik prave otopine aminokiselina ili u obliku koloida, koji lebde u medu i utječu na formiranje nekih svojstava meda poput stvaranja pjene, zračnih mjehurića, zamućenja ili kristalizacije meda, te tamnjenja koje je posljedica Maillardovih reakcija do kojih dolazi prilikom dugog zagrijavanja. Medljikovac sadrži veći udjel proteina od nektarnog meda (Belčić i sur., 1979). Osim vezanih u obliku proteina, med sadrži i slobodne aminokiseline. Iako je udjel aminokiselina u medu mali, u njemu se nalazi otprilike 9 esencijalnih i 9 neesencijalnih aminokiselina čiji omjeri variraju ovisno o biljnoj vrsti. Značajan dio slobodnih aminokiselina u medu potječe od pčela, stoga

imamo velike razlike u aminokiselinskom sastavu unutar jedne vrste meda te je na taj način otežana kvantitativna i kvalitativna analiza aminokiselinskog sastava meda, koja služi za određivanje njegovog botaničkog podrijetla (Vahčić i Matković, 2009). Najzastupljenija aminokiselina u medu je prolin, koja čini 80 do 90 % svih aminokiselina u medu, a najviše je nastaje pri pretvorbi nektara u med u žlijezdama slinovnica pčela (Missio da Silva i sur., 2016; Truzzi i sur., 2014). Udjel prolina jedan je od indikatora zrelosti meda, u nekim slučajevima i patvorenja meda, ukoliko mu je udjel < 180 mg/kg (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.4. Enzimi

Karakteristika po kojoj se med razlikuje od ostalih zaslađivača jest prisustvo enzima, koji su vrlo značajna komponenta, a zajedno s proteinima medu daju svojstva koja se umjetnim putem ne mogu proizvesti niti nadomjestiti (Singhal i sur., 1997). Enzimi su složene molekule čija funkcija je da ubrzavaju kemijske reakcije u živom organizmu. Med u svom sastavu sadrži enzime: invertazu, dijastazu, glukoza oksidazu, katalazu, kiselu fosfatazu, peroksidazu, polifenoloksidazu, esterazu, inulazu i proteolitičke enzime (Škenderov i Ivanov, 1986). Enzimi su vrlo značajne komponente meda budući da se njihova aktivnost smatra pokazateljem kakvoće, stupnja zagrijavanja, trajnosti te čuvanja meda (White i sur., 1963). Podrijetlo enzima u medu može biti direktno od pčela koje ih dodaju tijekom prerade nektara ili potjecati od peludi, nektara, kvasaca ili bakterija prisutnih u medu. Invertaza ima glavnu ulogu u preradi nektara te hidrolizira saharozu na fruktozu i glukožu, a njezina aktivnost se smatra mjerilom svježine i stupnja zagrijavanja meda (Vahčić i Matković, 2009). Dijastaza je enzim koji razgrađuje škrob i proizvodi dekstrine i maltozu, a prema Pravilniku o medu njezina aktivnost mora iznositi najmanje 8 dijastaznih jedinica (izuzetak vrste meda s niskom prirodnom količinom enzima i količinom HMF ne većom od 15 mg/kg) (Pravilnik, 2015).

2.2.5. Organske kiseline

Kiselost meda dolazi od organskih kiselina koje potječu iz različitih izvora nektara, djelovanja enzima glukoza oksidaze odgovornog za stvaranje glukonske kiseline, djelovanja mikroorganizama tijekom dozrijevanja te mineralnih tvari koje su prisutne u medu. Udjel organskih kiselina u medu kreće se u rasponu od 0,17 % do 1,17 % (Mădaş i sur., 2019; Missio da Silva i sur., 2016). Kiselost u medu izračunava se kao slobodna, laktonska i ukupna kiselost (Downey i sur., 2005). Brojne organske kiseline u medu prisutne su u obliku estera i tako utječu na miris i okus. Bagremov, kestenov i livadni med karakterizira mala količina organskih

kiselina, dok tamniji medovi imaju veću kiselost. Osim glukonske kiseline, u medu su još zastupljene: limunska, mravlja, octena, maslačna, mliječna, vinska, jabučna, oksalna i benzojeva (Čalopek i sur., 2016; Anupama i sur., 2003). Koncentracija limunske kiseline može se koristiti kao jedan od parametara razlikovanja medljikovca i cvjetnog meda, a količina slobodnih kiselina određena je Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015), gdje je propisano da med koji se stavlja na tržište ne smije imati više od 50 meq slobodnih kiselina na 1000 grama meda (izuzetak je pekarski med).

2.2.6. Vitamini i mineralne tvari

Med ne predstavlja značajan izvor vitamina i mineralnih tvari za ljudski organizam, no glavni izvori vitamina u medu su pelud i nektar, čija zastupljenost ovisi o botaničkom podrijetlu meda. U medu su prisutni vitamini B skupine; tiamin (vitamin B₁), riboflavin (vitamin B₂), nikotinska kiselina ili niacin, pantotenska kiselina, piridoksin (vitamin B₆), biotin i folna kiselina (Rao i sur., 2016). Osim vitamina B, u medu su prisutni još retinol (vitamin A), tokoferol (vitamin E), posebice u livadnom medu, vitamin C i vitamin K (Ball, 2007; Balen, 2003). Med sadrži niz mineralnih tvari neophodnih za funkcioniranje živog organizma. Udjel mineralnih tvari u medu najviše ovisi o njegovom botaničkom podrijetlu, no isto tako i o klimatskim uvjetima i sastavu tla na kojem je rasla medonosna biljka (Vahčić i Matković, 2009). Općenito, tamnije vrste meda poput medljikovca i kestena, bogatije su mineralnim tvarima, za razliku od svijetlih bagrema (Bogdanov i sur., 2007). Najzastupljeniji mineral je kalij, u manjim količinama nalaze se još bakar, cink, kalcij, klor, krom, fosfor, magnezij, mangan, natrij, silicij, sumpor i željezo (Ball, 2007). Med u svom sastavu sadrži još i toksične teške metale poput arsena, kadmija, olova, titana i žive, čija je kvantifikacija važna u procjeni učinka na ljudsko zdravlje, budući je u uzorcima s industrijskih područja uočena njihova povećana koncentracija (Tanković i sur., 2017). Mineralne tvari su za razliku od vitamina i aminokiselina, stabilnije, ne podliježu razgradnji djelovanjem svijetla, topline, oksidacijskih sredstava, pH i drugih čimbenika (Missio da Silva i sur., 2016).

2.2.7. Fenolni spojevi

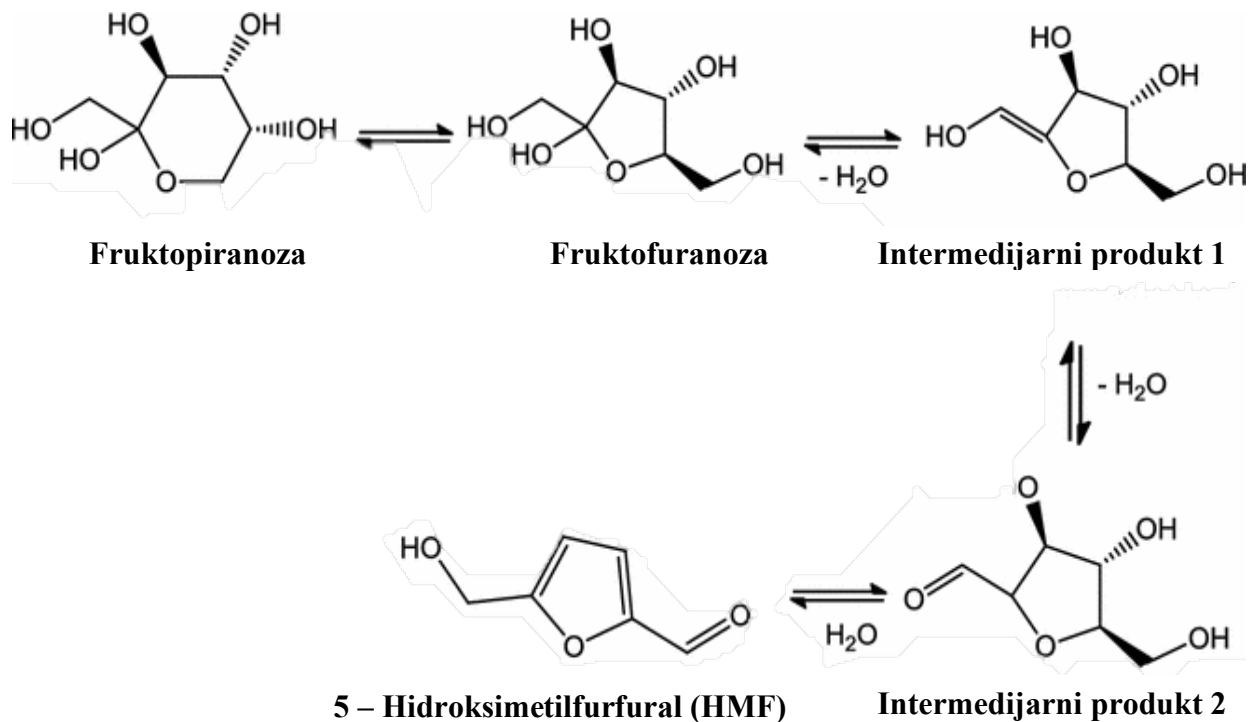
Med sadrži mnogo aktivnih sastojaka i antioksidansa poput polifenola. Polifenoli su važna skupina spojeva koja utječe na izgled i funkcionalna svojstva meda te predstavlja obećavajući način proučavanja cvjetnog i geografskog podrijetla meda. *In vitro* istraživanja na kulturama

ljudskih stanica i mnoga istraživanja na životinjama potvrđuju zaštitni učinak polifenola iz meda na brojne bolesti kao što su kardiovaskularne bolesti, dijabetes, rak, neurodegenerativne bolesti, plućne bolesti, bolesti jetre i tako dalje (Hossen i sur., 2017; Bogdanov i sur., 2008). Utvrđeno je da su među glavnim skupinama polifenola samo flavonoidi i fenolne kiseline prisutne u medu. Unutar skupine fenolnih kiselina; hidroksibenzojeve kiseline (kao što su metil siringat, galna kiselina, elagična kiselina, protokatehuinska kiselina, siringična kiselina, benzojeva kiselina i 4-hidroksibenzojeva kiselina), podklase hidroksicimetne kiseline (kao što su klorogenska, vanilična, kafeinska, p-kumarinska i ferulna kiselina) i hidroksi-feniloctene kiseline (kao što su homogentizinska i feniloctena kiselina) otkrivene su u različitim uzorcima meda (Hossen i sur., 2017).

2.2.8. Hidroksimetilfurfural

5-hidroksimetilfurfural je heterociklički organski spoj sa šest atoma ugljika koji sadrži i aldehidnu i alkoholnu funkcionalnu skupinu. HMF je čvrsta, žuta tvar koja ima nisko talište, ali je visoko topljiva u vodi i nastaje dehidracijom iz reducirajućih šećera u medu i raznim procesiranim namirnicama, u kiselim sredinama, kada se zagrijavaju putem Maillardovih reakcija. HMF se smatra najvažnijim međuproizvodom nastalim tijekom dvije reakcije: razgradnje heksoze katalizirane kiselinom i razgradnje 3-deoksiozona (slika 1) u Maillardovoj reakciji (Fallico i sur., 2004). Osim prerade, uvjeti skladištenja utječu na stvaranje HMF-a, a HMF je postao pogodan pokazatelj kvalitete meda. HMF se lako apsorbira iz hrane kroz gastrointestinalni trakt, a nakon što se metabolizira u različite derivate, izlučuje se urinom. U većini prijašnjih istraživanja uočeno je da HMF ima negativne učinke na ljudsko zdravlje, poput citotoksičnosti prema sluznicama, koži i gornjim dišnim putovima, mutagenosti, kromosomske abnormalnosti i kancerogenosti za ljude i životinje. Međutim, u novijim opsežnim istraživanjima dokazano je da HMF ima širok raspon pozitivnih učinaka, kao što su antioksidativni, antialergijski i protuupalni (Shapla i sur., 2018). Pojava i udjel HMF-a u medu ovise o vrsti meda, njegovoj pH-vrijednosti, udjelu kiselina i vlage, te o izloženosti svjetlu (Spano i sur., 2005). Prisutnost jednostavnih šećera poput glukoze i fruktoze te mnogih kiselina i mineralnih tvari, u medu može dodatno pospješiti proizvodnju HMF-a. Udjel HMF-a može poslužiti kao parametar koji utječe na svježinu meda jer ga obično nema ili je prisutan u vrlo malim količinama u svježem medu < 1 mg/kg, dok njegova koncentracija ima tendenciju porasta tijekom obrade i/ili zbog starenja (Vahčić i Matković, 2009). Prethodna istraživanja su pokazala da med pohranjen na niskim temperaturama i/ili u svježim uvjetima ima niske ili

minimalne koncentracije HMF-a, dok odležani i/ili med pohranjen na relativno višoj ili srednjoj temperaturi ima visoke koncentracije HMF-a. Uz uvjete skladištenja, upotreba metalnih spremnika i izvor cvjetnog meda kritični su čimbenici koji utječu na razine HMF-a, stoga veća koncentracija HMF-a ukazuje na loše uvjete skladištenja i/ili prekomjerno zagrijavanje meda (Fallico i sur., 2004). Osim povišenja temperature, na udjel HMF-a u medu znatno djeluje i pH-vrijednost te je dokazano da vrste meda s nižom pH-vrijednošću imaju veći udjel HMF-a. Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) dozvoljeni udjel HMF-a u medu iznosi najviše 40 mg/kg (iznimka su medovi s označenim podrijetlom iz regija tropske klime i mješavine takvih medova te pekarski med).



Slika 1. Kemijske reakcije tvorbe 5-hidroksimetilfurfurala u medu (prema Shapla i sur., 2018)

2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

2.3.1. Viskoznost

Viskoznost je fizikalna veličina koja predstavlja stupanj otpora tekućine prema tečenju, a čimbenici koji utječu na viskoznost meda su temperatura, udjel vode, prisutnost kristala i koloidnih čestica u proizvodu. Brojni istraživači su proučavali viskoznost meda kao funkciju temperature pri specifičnom sadržaju vlage, čijim porastom se smanjuje viskoznost i obrnuto (Sopade i sur., 2003). Što je veća relativna gustoća, a manji postotak vode, veća je viskoznost meda, a osim vode, na viskoznost utječu količina i odnos između monosaharida i polisaharida te sadržaj proteina, pa tako dva meda unatoč istom postotku vode mogu imati različitu viskoznost (Kezić i sur., 2013). Med je gusta viskozna nenevtonovska tekućina koja pokazuje pseudoplastično ponašanje (Lovrić, 2003). Viskoznost je jedna od najznačajnijih fizičkih i senzorskih karakteristika meda, koja utječe na kvalitetu proizvoda, kao i na dizajn opreme za preradu meda. U procesnom inženjerstvu ključna je važnost ovog parametra u svim fazama proizvodnje meda, počevši od vrcanja meda iz saća, cijedenja, miješanja različitih tipova meda do pumpanja, prerade i pakiranja (Yanniotis i sur., 2006).

2.3.2. Kristalizacija

Kristalizacija je proces koji se prirodno događa u medu i nije pokazatelj patvorenja meda. Nastali kristali razlikuju se u veličini i morfološkom obliku, a sam proces kristalizacije se može podijeliti u tri faze: fazu prezasićenja, nukleacije i fazu rasta kristala (Mavračić, 2013). Med je prezasićena otopina koja u najvećem postotku sadrži glukozu i fruktozu (70-80 %) te manje količine drugih šećera. Kristalizacija meda prirodni je fenomen koji se događa tijekom skladištenja i uključuje samo glukozu, budući da fruktozu karakterizira veća topljivost. Optimalna temperatura za pojavu kristalizacije meda je oko 14 °C, dok se na temperaturama nižim od 5 °C i višim od 25 °C neće odvijati. Na brzinu kristalizacije utječu mnogi čimbenici, među kojima su: količina glukoze, fruktoze, vode, temperatura, razina prezasićenosti glukozom, viskoznost i prisutnost prethodno formiranih kristala ili nečistoća (Venir i sur., 2010). Brzina kojom će doći do kristalizacije glukoze u medu ovisi o omjeru glukoze i vode (G/W) (Escuredo i sur., 2014). Kada je omjer G/W manji od 1,7 dolazi do spore kristalizacije meda, a kada je taj omjer veći od 2,0 dolazi do brze i potpune kristalizacije (Dobre i sur., 2012).

2.3.3. Higroskopnost

Higroskopnost je fizikalno svojstvo meda, koje ovisno o relativnoj vlažnosti zraka i udjelu vode na sebe veže ili otpušta vodu. Zahvaljujući visokom udjelu šećera med je higroskopan i u kontaktu s vlažnim zrakom može apsorbirati određenu količinu vode, a u pekarstvu se zbog tog svojstva upotrebljava kao sredstvo za zadržavanje vlage (Mujić i sur., 2014). Visoki udjel vode u medu može uzrokovati probleme prilikom obrade, procesiranja i skladištenja (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.4. Električna vodljivost

Električna vodljivost je fizikalno svojstvo neke tvari da provodi električnu struju. Prema Pavliček i sur. (2022) električna vodljivost meda definira se kao vodljivost 20 % vodene otopine meda kod 20 °C, pri čemu se 20 % odnosi na suhu tvar meda. Električna vodljivost se mjeri konduktometrijski i temelji se na određivanju električne otpornosti otopine, koja predstavlja njezinu recipročnu vrijednost. Električna vodljivost predstavlja parametar koji se sve više koristi u rutinskoj kontroli kvalitete meda, a može se smatrati valjanim kriterijem za određivanje botaničkog podrijetla meda, točnije, za razlikovanje nektara od medljike (Šarić i sur., 2008). Električna vodljivost meda ovisi o udjelu mineralnih tvari, tj. pepela i kiselina u medu, što su udjeli veći, veća je i električna vodljivost i obrnuto (Mujić i sur., 2014). Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) određivanje električne vodljivosti je obavezan parametar za procjenu kvalitete meda i stavljanje na tržište, prema kojem su za cvjetni med propisane dopuštene vrijednosti električne vodljivosti od najviše 0,8 mS/cm.

2.3.5. Optička aktivnost

Optička aktivnost je svojstvo zakretanja smjera titranja polarizirane svjetlosti kod mnogih kristala i molekula. Mnogi prirodni spojevi su optički aktivni, poput šećera, aminokiselina, proteina, nukleinskih kiselina, enzima i hormona. Med ima svojstvo optičke rotacije, odnosno u svom sastavu sadrži optički aktivne tvari koje zakreću polariziranu svjetlost pod određenim kutom. Specifični kut ovisi o količini i omjeru između glavnih sastojaka šećera; lijevorotirajuća fruktoza (-) i desnorotirajuća glukoza (+). Različita niska količina tvari u medu s velikim pozitivnim ili negativnim kutovima rotacije mogu značajno doprinosti njegovoj ukupnoj specifičnoj rotaciji (Zielinska i sur., 2021). Uočeno je kako je veliki broj medljikovca desnorotirajuće dok cvjetni; nektarni medovi imaju negativne specifične kuteve jer fruktoza

uzrokuje zakretanje ravnine polarizirane svjetlosti ulijevo, a glukoza i ostali oligosaharidi udesno (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.6. Indeks refrakcije

Indeks refrakcije je bezdimenzionalna fizikalna veličina koja se definira kao omjer brzine svjetlosti u vakuumu i brzine svjetlosti u nekoj tvari, a mjeri refraktometrom koji radi na principu loma svjetlosti pri prolasku svjetlosti kroz otopinu te je u direktnoj vezi s udjelom vode, odnosno udjelom suhe tvari u medu (Anonymus 1, 2023). Mjerenje se obično provodi na 20 °C, a dobiveni rezultati razlikuju se ovisno o temperaturi mjerenja (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.7. Specifična masa

Specifična masa meda je omjer mase meda prema masi iste količine vode i ovisi o udjelu vode u medu. Povećanjem udjela vode u medu, smanjuje se specifična masa pa tako primjerice med s 15 % vode pri 20 °C ima specifičnu masu 1,4350, dok med s 21 % vode ima specifičnu masu 1,395 (Mujić i sur., 2014). Kvalitetnim vrstama meda smatraju se one čija je specifična masa veća od 1,42. (Vahčić i Matković, 2009).

2.4. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA

Senzorska analiza je znanost koja se bavi procjenom organoleptičkih svojstava proizvoda pomoću osjetila (ISO 5492, 2008).

2.4.1. Boja meda

Boja je fizikalno svojstvo koje potrošači prvo uoče promatrajući pakovanje meda, a obično ovisi o čimbenicima kao što su: sadržaj pigmenata u nektaru; karotenoidi i flavonoidi, sadržaj fenola, starost, botaničko podrijetlo, tlo, kontakt s metalima i način rukovanja (Moniruzzaman i sur., 2013). Paleta boja najčešće varira od bistre i bezbojne, primjerice bagrem, žute, jantarne, crvene pa sve do tamnosmeđe, primjerice jelov i kestenov med, pa čak i crne boje. Livadni med je svijetlije boje, vrijesak tamnožute, dok med uljane repice i suncokreta ima više žuto-jantarnu boju. Za razliku od njih, kadulja i medljikovac su nešto tamniji, odnosno žućkasto-smeđi i smeđi te sadrže više mineralnih tvari. Zahvaljujući bijelim kristalima glukoze, med nakon kristalizacije postaje svjetliji (Škenderov i Ivanov, 1986). Skladištenje meda je od velike

važnosti, ako se čuva u metalnim posudama, doći će do oksidacije i promjene boje meda. Bistoću meda možemo ocjeniti ovisno o količini suspendiranih čestica i peludi. Boja i okus meda variraju od godine do godine, čak i na istoj lokaciji, uz utjecaj ostalih biljaka koje cvatu u vrijeme glavne paše (Mujić i sur., 2014).

2.4.2. Okus meda

Okus meda također ovisi o podrijetlu. Različiti udjel i omjer glukoze i fruktoze te aminokiselina, eteričnih ulja i organskih kiselina čine prepoznatljiv okus meda, koji se kreće od slatkog do gorkog. Primjer koji predstavlja najgorču vrstu jest planikin med kojeg pčelari obično ne stavljaju u prodaju. Kestenov med je također gorak, dok kadulju i mentu karakterizira oštar okus. Nasuprot njima, najslađi med je onaj u kojem prevladava fruktoza, primjerice bagrem. Starenjem i nakon fermentacije med poprima kiseo okus (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.3. Miris meda

Miris meda je specifičan za svaku vrstu meda, ovisno o biljkama iz kojih je dobiven, a ovisi o sadržaju hlapljivih tvari. Aromatske kiseline pridonose specifičnom mirisu meda, a mirisne tvari mogu se podijeliti u tri skupine: esteri, aldehidi i ketoni te alkoholi, čijim čuvanjem ili zagrijavanjem, miris slabi ili nestaje. U medu je nađeno više od 50 spojeva koji mu daju miris (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.5. ZDRAVSTVENA VRIJEDNOST MEDA

Apiterapija je primjena pčelinjih proizvoda zbog njihovih ljekovitih i farmakoloških svojstava. Često se naziva i alternativnom medicinom, a u novijim istraživanjima potvrđuje se njezina prava terapijska vrijednost. Koristi se u prevenciji i liječenju određenih zdravstvenih tegoba, poput bolesti: dišnog sustava, srca i krvnih žila, probavnog sustava, šećernih bolesti, debljine i nesanice, bolesti mokraćnog sustava i prostate, reumatskih i autoimunih bolesti, kožnih bolesti, otvorenih rana i trovanja (Weis i sur., 2022).

U različitim vrstama meda identificirani su brojni važni bioaktivni sastojci, poput fenola, proteina, vitamina, ugljikohidrata, organskih kiselina i tako dalje, koji imaju važne biološke aktivnosti i fiziološke učinke poput antimikrobnih, imunomodulatornih, antioksidativnih, antitoksičnih, zacjeljivanja rana, i mnogih drugih. Uz to, med ima potencijal za ublažavanje mnogih poremećaja životnog stila, ublažavanje štetnih učinaka lijekova te pruža zdravu

prehranu, a mogao bi biti i alternativa saharozi za dijabetičare zbog nižeg glikemijskog indeksa (Hossen i sur., 2017).

Današnja medicina je dokazala učinkovito antiseptičko i protuupalno djelovanje meda, zahvaljujući visokoj kiselosti, antioksidativnom sastavu i vodikovom peroksidu koji se trajno stvara u medu. Med se pokazao djelotvornim u zarastanju rana, poput: opekotina, inficiranih rana, kirurških rana, ogrebotina, posjekotina i dubokih rana, čireva, gangrene, rana na zglobovima, malignih rana i brojnih drugih. Med pospješuje čišćenje rana osmotskim učinkom, a protubakterijskim djelovanjem smanjuje broj bakterija kod inficiranih rana i neutralizira njihov neugodan miris (Yaghoobi i sur., 2013). Russo i sur. (2023) su u svojim istraživanjima dokazali antimikrobnu učinkovitost meda kod; Gram pozitivnih bakterija: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* i Gram negativnih bakterija: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, kao i bakterija i gljivica u ustima poput; *Streptococcus mutans* i *Candida albicans*, te *Helicobacter pylori* uzročnika čira želuca.

Atwa i sur. (2014) su u svojim istraživanjima opazili da lokalna primjena meda može promijeniti pH te smanjiti broj i inhibirati rast bakterija, te da žvakanje meda može kod pacijenata podvrgnutim ortodontskom liječenju, pomoći u sprječavanju gingivitisa, karijesa i zubnog plaka.

Larocca i sur. (1995) i Hanasaki i sur. (1994) su u svojim istraživanjima uočili da kvercetin, kafeinska kiselina, kempferol i apigenin prisutni u medu mogu biti važni u liječenju kardiovaskularnih bolesti. Ovi spojevi smanjuju oksidativni stres na razne načine. Primjerice, kvercetin smanjuje oksidativni stres hvatanjem slobodnih radikala, keliranjem metalnih iona, inhibicijom ksantin oksidaze i peroksidacije lipida. Kod štakora s povišenim željezom, kafeinska kiselina inhibira oksidativni stres smanjivanjem peroksidacije lipida i povećavajući razine vitamina E u plazmi (Lafay i sur., 2005).

Vauzour i sur. (2007) su u svojim istraživanjima uočili da polifenoli koji se nalaze u medu mogu spriječiti neurodegenerativne bolesti na načine koji uključuju oksidativnu zaštitu neurona, poboljšanje funkcije i regeneracije neurona, njihovu zaštitu od A β -inducirane neuronske ozljede i neurotoksičnosti, zaštitu stanica hipokampusa od toksičnosti izazvane dušikovim oksidom i modulaciju signalnih puteva neurona i glija stanica (Hossen i sur., 2017). Zahvaljujući svojoj visokoj energetske vrijednosti (100g ~ 320 kcal) med se preporučuje sportašima kao izvor energije. Još jedna prednost meda je što potiče probavu i pomaže kod

bolesti probavnog sustava. Med ima povoljne učinke na liječenje refluksa, bolesti želuca i dvanaesnika, hemoroida, gastritisa, čireva, kroničnih upala tankog i debelog crijeva, gastrointestinalnih krvarenja, nedostatka folne kiseline, bolesti gušterače i jetre. Brojna dosadašnja istraživanja dokazuju da med ima protutumorski i protumetastatski učinak. Slično lijekovima za liječenje raka, med utječe na depolarizaciju mitohondrijske membrane i stimulira ekspresiju kaspaze u stanicama raka, čime inducira njihovu apoptozu (Fauzi i sur., 2011).

Uz prethodno navedena pozitivna svojstva meda, nažalost postoje i neka negativna svojstva, poput prisutnosti ostataka metala u medu koji mogu biti agrokemijskog ili industrijskog podrijetla. Konzumacija meda i pčelinjih proizvoda kontaminiranih različitim zagađivačima u visokim koncentracijama, može izazvati ozbiljne zdravstvene probleme, uslijed akumulacije toksičnih tvari u tijelu. Mititelu i sur. (2022) su u visoko industrijaliziranom području uočili da gotovo svi analizirani uzorci meda imaju koncentracije iznad dopuštenih granica za Cu, Cd, Zn i Pb te predstavljaju umjereni rizik za nefrotoksičnost, kardiotoksičnost i demineralizaciju kostiju. Također, štetne učinke na zdravlje ljudi i medonosnih pčela može izazvati korištenje antibiotika u pčelarstvu. Wang i sur. (2022) su u svojim istraživanjima ukazali na opasnost od opsežnih rezidua antibiotika u medu na kineskom tržištu, koji su varirali ovisno o prodajnoj cijeni i mjestu proizvodnje, a ukupno 13 od 20 ciljnih antibiotika pronađeno je u 84,0 % meda. El-Nahhal (2020) je u analiziranim uzorcima meda iz 27 zemalja pronašao 92 ostatka pesticida koji pripadaju I-IV klasi toksičnosti. Izračunati indeksi opasnosti upućuju na visoku potencijalnu zdravstvenu opasnost od reproduktivne toksičnosti, narušavajući kvalitetu sjemena kod muškaraca i žena, kao i eksperimentalnih životinja nakon konzumacije meda.

Cvjetni med- ovisno o vrsti biljaka i udjelu medljikovitog meda, boja varira od zlatno žute do smeđe, punog je okusa. Cvjetni med bogat je vitaminima i lako probavljiv, ljekovit za mnoge bolesti, poput kardiovaskularnih oboljenja, a povoljno djeluje i na sve osobe kojima je potreban oporavak i dodatna energija. Također, medicinski je dokazano da ovaj med blagotvorno djeluje u liječenju probavnih, plućnih i bubrežnih tegoba (Kapš, 2013).

Livada- zlatnožute boje, blagog mirisa, slatkog do pomalo trpkog okusa. Blago djeluje na dišni sustav, zbog svojeg jedinstvenog sastava, povoljno utječe na regulaciju masnih kiselina u organizmu te brzo kristalizira (Kapš, 2013).

Vrijeskov med- tamno jantarne ili crvenkastosmeđe boje, slatko-gorkog okusa. Preporučuje se kod bolesti bubrega i mokraćnih puteva te anemije (Zammit-Young i Blundell, 2023).

Kaduljin med- zlatnožute do smeđe boje, aromatičnog okusa i mirisa. Preporučuje se u terapiji bolesti dišnog sustava te ima umirujuće djelovanje i smanjuje stres.

Bagremov med- skoro bijeli do blijedo zlatno-žute boje, slatkog, nježnog okusa i mirisa. Preporučuje se dojenčadi, djeci i starijim osobama i ubraja se u najcjenjenije vrste meda. Pomaže u smirivanju živčanog sustava te protiv nesаницe, a mjesecima ostaje u tekućem stanju te vrlo sporo kristalizira, što je posljedica većeg udjela fruktoze od glukoze u svom sastavu (Persano Oddo i Piro, 2004).

Lipov med- bistar, gotovo proziran, svijetlo žuti do svjetlo jantarne boje, ugodna mirisa i vrlo blaga okusa, uzrokuje znojenje pa ga se preporučuje konzumirati tijekom prehlada, upala dišnih i probavnih organa. I kada je razrijeđen u omjeru 1:160, djeluje uništavajuće na streptokoke i stafilokoke. Neizmjerne značenje ima u izbacivanju štetnih tvari iz organizma jer pospešuje metabolizam (Kapš, 2013).

Medljika-medun- slatka i ljepljiva prevlaka na biljnim listovima koju pčele proizvode od medne rose bjelogoričnog i crnogoričnog drveća. U usporedbi s medom nastalim od nektara cvjetova, znatno je bogatiji mineralnim tvarima, osobito željezom te se preporuča slabokrvnim osobama, trudnicama, djeci i sportašima. Karakterizira ga tamna jantarna boja, jak i bogat okus. (Zammit-Young i Blundell, 2023; Bogdanov i sur., 2007).

Kestenov med- karakterizira ga tamna jantarna boja koja varira ovisno o podneblju i godini, prepoznatljivog je mirisa i oštrog, pomalo gorkog okusa (Zammit-Young i Blundell, 2023). Konzumacija kestenovog meda preporučuje se protiv bolesti probavnih organa, prostate i slabokrvnosti. Čisti med od kestena ostaje dugo u tekućem stanju, zbog visokog udjela fruktoze i niskog udjela glukoze, a za medonosne pčele predstavlja jedan od najboljih izvora nektara i peludi (Persano Oddo i Piro, 2004).

Med u saću- karakterizira izvanredni okus i aroma koja potječe od peludnih zrnaca, tragova propolisa i voska. Konzumacija saća preporučuje se kod alergija te kao prevencija upale grla i desni (Atwa i sur., 2014).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

Cilj ovog diplomskog rada bio je odrediti kvalitetu meda pomoću analize fizikalno-kemijskih parametara cvjetnog meda u sezoni 2022.

Fizikalno-kemijski parametri određivani u uzorcima su: maseni udjel vode, maseni udjel hidroksimetilfurfurala (HMF), maseni udjel reducirajućih šećera, maseni udjel saharoze te slobodne kiseline i električna vodljivost.

3.1. MATERIJALI

U ovom diplomskom radu provedena je analiza fizikalno-kemijskih parametara 53 uzorka cvjetnog meda od ukupno 232 pristigla (slika 2), podrijetlom iz Hrvatske i inozemstva u sklopu 18. međunarodnog natjecanja pčelara u kvaliteti meda „Zzzagimed 2022“ koje organizira Pčelarsko društvo Zagreb u suradnji s Prehrambeno-biotehnoškim fakultetom Sveučilišta u Zagrebu.



Slika 2. Uzorci meda za analizu u sklopu natjecanja Zzzagimed 2022 (vlastita fotografija)

3.2. METODE RADA

3.2.1. Priprema uzoraka za analizu

Uzorci meda se ovisno o svojoj konzistenciji pripremaju na različite načine:

Ukoliko je med u tekućem stanju, potrebno ga je prije analize polagano izmiješati štapićem i protresti.

Ukoliko je med granuliran, zatvorena posuda s uzorkom se stavlja u vodenu kupelj i termički obrađuje 30 minuta na temperaturi od 60 °C, a prema potrebi i na 65 °C. Tijekom zagrijavanja poželjno je uzorak promiješati ili kružno protresti, a zatim brzo ohladiti.

Kod određivanja dijastaze ili hidrosimetilfurfurala, med se ne zagrijava.

Ukoliko med sadržava strane tvari poput voska, dijelova pčela ili dijelova saća, uzorak se u vodenoj kupelji termički obrađuje na temperaturi od 40 °C i procjeđuje kroz tkaninu, stavljenu na ljepilo zagrijavano toplom vodom.

Ukoliko je med u saću, saće se otvori i procjeđuje kroz žičano sito s kvadratnim otvorima promjera 0,5 mm x 0,5 mm. Ako se dogodi da dio saća ili voska prođe kroz sito, uzorak je potrebno termički obraditi u vodenoj kupelji na temperaturi od 60 °C, a prema potrebi i 30 minuta na temperaturi od 65 °C. Tijekom zagrijavanja uzorak se promiješa sa štapićem ili protrese kružnim pokretima, a potom brzo ohladi.

Ukoliko je med u saću granuliran, zagrijava se kako bi se vosak otopio, zatim se miješa i ohladi. Vosak se nakon hlađenja odstrani (IHC, 2009).

3.2.2. Određivanje masenog udjela vode u medu

Princip:

Metoda se temelji na refraktometrijskom određivanju (IHC, 2009).

Aparatura i pribor:

- stakleni štapić
- refraktometar Model I, Carl Zeiss (Jena, Njemačka).
- boca štrcaljka s destiliranom vodom

Reagensi:

- etanol, 96%, Gram – mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)

Određivanje i izračun:

Indeks refrakcije uzorka mjeri se refraktometrom pri stalnoj sobnoj temperaturi od 20 °C, a na temelju dobivenog indeksa refrakcije i uz pomoć tablice 1 za proračun udjela vode u medu izračuna se količina vode (% m/m) u medu. Leću refraktometra potrebno je nakon svakog uzorka očistiti, prebrisati etanolom i dobro posušiti.

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

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

Korekcija temperature - indeks refrakcije:
-temperatura viša od 20 °C - dodati 0.00023 za svaki °C
-temperatura do 20 °C - oduzeti 0.00023 za svaki °C

3.2.3. Određivanje masenog udjela hidrosimetilfurfurala u medu

Princip:

Metoda određuje koncentraciju 5-(hidrosimetil-)furan-2-karbaldehida kao sastojka meda, koji ulazi u reakcije s barbiturnom kiselinom i *p*-toluidinom i temelji se na originalnoj metodi po Wrinkleru.

Pomiješaju se alikvoti otopina meda, *p*-toluidina i barbiturne kiseline, a pri tome nastala boja mjeri se u odnosu na slijepu probu u kivetama promjera 1 cm na valnoj duljini od 550 nm (IHC, 2009).

Aparatura i pribor:

- spektrofotometar za mjerenje apsorbancije na 550 nm UV-1280, Shimadzu (Kyoto, Japan).
- kivete promjera 1 cm
- odmjerne tikvice volumena 50 i 100 mL
- staklene epruvete
- staklena laboratorijska čaša volumena 50 mL
- filter papiri
- analitička vaga , osjetljivost $\pm 0,0001$ g, tip Shimadzu AX200 (Kyoto, Japan)
- stakleni štapići
- boca štrcaljka s destiliranom vodom
- automatske pipete
- stakleni lijevci
- stalak za epruvete

Reagensi:

- otopina *p*-toluidina, 99 %, *crystalline molten mass* (Njemačka)
- 2 – propanol, Lach – Ner s.r.o. (Neratovice, Češka)
- octena kiselina, CARLO ERBA Reagents S.A.S. (Val-de-Reuil, Francuska)
- barbiturna kiselina, Gram – mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- kalij-heksacijanoferat (II), $K_4Fe(CN)_6 \times 3H_2O$, Gram – mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- cinkov acetat, $Zn(CH_3COO)_2 \times 2H_2O$, Fisher Scientific UK Ltd (Loughborough, Ujedinjeno Kraljevstvo).

Priprema reagensa:

a) Otopina *p*-toluidina

50 g *p*-toluidina se otopi u 300 mL 2-propanola laganim grijanjem u digestoru. Otopina se s nekoliko mL 2-propanol prenosi u odmjernu tikvicu od 500 mL i pomiješa s 50 mL ledene octene kiseline. Zatim se tikvica hladi na sobnu temperaturu i do oznake puni 2-propanolom. Ostavlja se na tamnom mjestu najmanje 24 sata prije uporabe i baca nakon 3 dana ili pojave neprikladnog obojenja.

b) Otopina barbiturne kiseline

125 g barbiturne kiseline se prenosi s 70 mL vode u odmjernu tikvicu od 250 mL i lagano otopi grijanjem odčepljene tikvice u vodenoj kupelji. Nakon toga se hladi na sobnu temperaturu i puni do oznake.

c) Carrezova otopina I

37,5 g kalij-heksacijanoferata (II), $K_4Fe(CN)_6 \times 3H_2O$ se otopi u 250 mL vode

d) Carrezova otopina II

70 g cinkovog acetata, $Zn(CH_3COO)_2 \times 2H_2O$ se otopi u 250 mL vode

e) Otopina uzorka

U plastičnu čašicu se odvaži 10 g meda i otopi u otprilike 20 mL vode uz miješanje. Staklenim štapićem se kvantitativno prenosi u odmjernu tikvicu od 50 mL, dodaje se 1 mL otopine Carrez I i promiješa. Nakon toga se dodaje 1 mL otopine Carrez II i puni vodom do oznake, uz ponovno miješanje. Otopina se filtrira kroz filter papir, prvih 10 mL filtrata se baca, dok se ostatak koristi dalje za analizu.

Određivanje:

U dvije staklene epruvete otpipetira se po 2 mL uzorka i po 5 mL otopine *p*-toluidina. U jednu epruvetu, koja služi kao slijepa proba, dodaje se 1 mL vode, a u drugu 1 mL otopine barbiturne kiseline, uz lagano miješanje. Nakon toga, u vremenu od 1 do 2 minute dodaju se reagensi bez prekida, a nakon 3 do 4 minute, kad intenzitet boje postigne maksimum, u kiveti promjera 1 cm očita se apsorbancija na 550 nm (IHC, 2009).

Izračun:

Maseni udjel HMF-a (mg/kg) određuje se prema sljedećoj formuli:

$$\text{HMF} = \frac{192 \times A \times 10}{m} [1]$$

gdje je:

A – apsorbancija

192 – faktor razrjeđivanja i koeficijent apsorbancije

m – masa meda u gramima

3.2.4. Određivanje električne vodljivosti meda

Princip:

Električna vodljivost meda mjeri se pomoću konduktometra. Određivanje se bazira na mjerenju električne otpornosti koja je obrnuto proporcionalna električnoj vodljivosti.

Metoda se koristi za određivanje električne vodljivosti meda u rasponu od 0,1 do 3 mS/cm (IHC, 2009).

Aparatura i pribor:

- boca štrcaljka s destiliranom vodom
- odmjerne tikvice volumena 100 mL
- stakleni štapić
- staklena čaša
- staklena menzura volumena 100 mL

- konduktometar Mettler – Toledo 8603, Mettler – Toledo GmbH (Schwerzenbach, Švicarska).
- plastične čašice za odvagu uzorka
- tehnička vaga tip ET 1111, Tehnica, Železniki

Određivanje:

Oko 20 g suhe tvari meda pri temperaturnim uvjetima od 20 °C (koja odgovara tabličnoj vrijednosti utvrđenoj po udjelu vode za ispitivani uzorak) izvaže se u plastičnu čašicu i otopi s destiliranom vodom u odmjerne tikvici od 100 mL i dopuni do oznake. Pripremljena 20 %-tna otopina meda prelije se u staklenu čašu od 40 mL i uroni se kalibrirana elektroda konduktometra. Nakon svakog uzorka, elektroda se ispiri destiliranom vodom i obriše. Vrijednost električne vodljivosti očitava se pri temperaturi od 20°C u mS. U slučaju da konduktometar nema automatsku kompenzaciju temperature, provodi se korekcija; za svaki stupanj iznad 20°C potrebno je oduzeti 3,2 % vrijednosti, dok za svaki stupanj ispod 20 °C potrebno je dodati 3,2 % vrijednosti (IHC, 2009).

Izračun:

Električna vodljivost se izračunava prema formuli:

$$S_H = K \times G \text{ [2]}$$

gdje je:

S_H – električna otpornost meda (mS/cm)

K – konstanta elektrode (1/cm)

G – provodnost (mS)

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

3.2.5. Određivanje slobodnih kiselina meda

Princip:

Metoda određivanja se temelji na titraciji uzorka meda otopinom 0,1 mol/L NaOH, uz dodatak par kapi fenolftaleina kao indikatora, do pojave blago ružičastog obojenja (IHC, 2009).

Aparatura i pribor:

- bireta
- stakleni štapić
- staklena čaša
- Erlenmayerove tikvice volumena 100 mL
- staklena menzura volumena 100 mL
- boca štrcaljka s destiliranom vodom
- tehnička vaga tip ET 1111, Tehnica, Železniki

Reagensi:

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

Određivanje:

10 g uzorka se izvaže i otopi u 75 mL destilirane vode. Pripremljeni uzorak se titrira sa 0,1 mol otopinom (NaOH)/L, uz dodatak 4-5 kapi fenolftaleina kao indikatora, do pojave blago ružičaste boje, koja na kraju titracije mora biti postojana barem 10 sekundi.

Kod tamnijih uzoraka važe se manja količina.

Alternativno je moguće upotrijebiti pH-metar i uzorak titrirati do pH-8,3.

Izračun:

Slobodne kiseline se izražavaju u miliekvivalentima ili milimolima kiseline/kg prema formuli:

$$\text{Slobodne kiseline} = 10 \times V [3]$$

gdje je:

V – količina utrošenih mL 0,1 mol (NaOH)/L za neutralizaciju 10 g meda (IHC, 2009).

3.2.6. Određivanje masenog udjela reducirajućih šećera u medu

Princip:

Metoda korištena za određivanje udjela reducirajućih šećera u medu se temelji na redukciji Fehlingove otopine titracijom pomoću otopine reducirajućih šećera iz meda uz upotrebu metilenskog modrog bojila kao unutarnjeg indikatora (IHC, 2009).

Aparatura i pribor:

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

Reagensi:

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

Priprema reagensa:

a) Fehlingova otopina modificirana po Soxhlet-u

Otopina A: otopi se 69,28 g bakrenog sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) u 1L deionizirane vode. Otopina se priprema 24 sata prije titracije.

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

b) Standardna otopina invertnog šećera (10 g/L vode)

Izvaže se 9,5 g čiste saharoze u odmjernu tikvicu volumena 100 mL, kojoj se dodaje 5 mL 36,5 % otopine solne kiseline i nadopuni do oznake. Otopina se može skladištiti nekoliko dana, ovisno o temperaturnim uvjetima: na temperaturi od 12 °C do 15 °C do sedam dana te na temperaturi od 20 °C do 25 °C tri dana. Pripremljena otopina se razrjeđuje do volumena od 1L. Neposredno prije upotrebe otopina se neutralizira 1 mol otopinom NaOH/L, a potom razrijedi do željene koncentracije (2 g/L) za standardizaciju.

c) Otopina metilenskog modrog bojila

Otopi se 2 g metilenskog modrog bojila u destiliranoj vodi i potom dodaje voda do volumena od 1L.

d) Stipsa (otopina stipse)

Pripremi se hladno zasićena otopina $\text{K}_2\text{SO}_4\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \times 24\text{H}_2\text{O}$ u vodi. Nakon toga se uz stalno miješanje staklenim štapićem dodaje amonijev hidroksid dok otopina ne postane alkalna, što se utvrđuje lakmus papirom. Zatim se pusti da se otopina slegne, provodi se ispiranje vodom

uz dekantiranje sve dok je voda slabo pozitivna pri testu na sulfate, što utvrđujemo otopinom barijeva klorida. Višak vode se odlije, a preostala pasta pohrani u boci s brušenim zatvaračem.

e) Priprema uzorka

Postupak I - primjenjiv na med s nečistoćama:

- Izvaži se 25 g (W_1) homogeniziranoga meda i prenosi u odmjernu tikvicu od 100 mL, dodaje se 5 mL stipse i tikvica se nadopuni vodom do oznake (pri temperaturi od 20 °C). Nakon toga se otopina promiješa i profiltrira.
- U odmjernu tikvicu od 500 mL otpipetira se 10 mL pripremljenog uzorka i razrjeđuje destiliranom vodom do oznake na tikvici.

Postupak II - primjenjiv na med bez nečistoća:

- Izvaži se 2 g (W_2) homogeniziranog meda i prenosi u odmjernu tikvicu od 200 mL,, gdje se otapa u destiliranoj vodi i puni do oznake.
- U odmjernu tikvicu od 100 mL otpipetira se 50 mL pripremljenog uzorka i razrjeđuje destiliranom vodom do oznake na tikvici.

f) Standardizacija Fehlingove otopine:

Fehlingova otopina se standardizira tako da se prvo otpipetira 5 mL Fehlingove otopine A, zatim 5 mL Fehlingove otopine B, nakon čega se otopine pomiješaju. Pripremljena otopina mora reagirati u potpunosti s 0,050 g invertnog šećera koji se dodaje u količini od 25 mL kao standardna otopina invertnog šećera (2 g/L).

Prethodna titracija:

Prije početka titracije dodaje se određena količina vode iz razloga što ukupni volumen tvari na kraju redukcijske titracije mora biti 35 mL. Također, budući se Pravilnikom za med propisuje više od 60 % reduciranih šećera (računatih kao invertni šećer), potrebno je najprije obaviti titraciju, kako bi se utvrdio točan volumen vode što se dodaje da bi se u postupku analize osigurala redukcija pri stalnom volumenu. Volumen potrebne količine vode dobiva se odbijanjem potrošenog volumena razrijeđene otopine meda u prethodnoj titraciji ("X mL") od 25 mL (25 mL - "X mL"). U stožastu Erlenmeyerovu tikvicu od 250 mL otpipetira se 5 mL Fehlingove otopine A, nakon čega se dodaje 5 mL Fehlingove otopine B, 7 mL destilirane vode,

malo plovuĉca i 15 mL razrijeđene otopine meda iz birete. Dobivena otopina se zagrijava do vrenja, ostavi dvije minute da polako vrije i za to vrijeme dodaje se 1 mL 0,2 %-tne otopine metilenskog modrog bojila. Titracija se završava u roku tri minute, ponovnim dodavanjem razrijeđene otopine meda, sve dok ne nestane boja indikatora. Potrošeni volumen razrijeđene otopine meda koji je potpuno reduciran obiljeŹava se s "X mL".

Određivanje:

U stoŹastu Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL otpipetira se 5 mL Fehlingove otopine A i dodaje se 5 mL Fehlingove otopine B. Nakon toga se dodaje (25 mL - "X mL") destilirane vode uz malo kamena plovuĉca i iz birete razrijeđene otopine meda, tako da za kompletnu titraciju ostane oko 1,5 mL ("X mL" -1,5 mL). Hladna otopina zagrijava se do vrenja i nakon postizanja se odrŹava umjereno vrenje 2 minute. Tijekom vrenja dodaje se 1 mL 0,2 %-tne otopine metilenskoga modrog bojila. Titracija se mora završiti u roku tri minute od dodavanja razrijeđene otopine meda do obezbojenja indikatora. Potrošena koliĉina razrijeđene otopine meda obiljeŹava se s "Y mL" (IHC, 2009).

Izraĉun:

Invertni šećer izraŹava se u g/100g i izraĉunava prema sljedećim formulama, ovisno o naĉinu pripreme uzorka (postupak I ili postupak II):

$$\text{postupak I: } c = \frac{25}{W_1} \times \frac{1000}{Y_1} \quad [4]$$

$$\text{postupak II: } c = \frac{2}{W_2} \times \frac{1000}{Y_2} \quad [5]$$

gdje je:

c - invertni šećer (g)

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

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

3.2.7. Određivanje masenog udjela saharoze

Princip:

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

Reagensi:

- Fehlingova otopina (A i B), utvrđena metodom određivanja reducirajućih šećera
- standardna otopina invertnog šećera, utvrđena metodom određivanja reducirajućih šećera
- klorovodična kiselina c (HCl) = 6,34 mol/L, CARLO ERBA Reagents S.A.S. (Val- de-Reuil, Francuska)
- otopina natrijeva hidroksida c (NaOH) = 5 mol/L, Gram – mol d.o.o. (Zagreb, Hrvatska)
- 2 %-tna otopina metilenskoga modrog bojila (2 g/L), Kemika d.d. (Zagreb, Hrvatska).

Priprema uzorka:

U odmjernu tikvicu od 200 mL se prenosi pomoću staklenog štapića prethodno otopljena 2 g homogeniziranog meda, nakon čega se tikvica nadopuni do oznake, začepi i promiješa.

Hidroliza uzorka:

50 mL otopine meda se pomoću staklenog štapića prenosi u tikvicu od 100 mL te dodaje 25 mL destilirane vode. Tako pripremljeni uzorak se zagrijava u vodenoj kupelji uz kontrolu toplomjerom do temperature od 65 °C (3 minute miješamo, 7 minuta ostavimo da stoji). Nakon toga se tikvica izvadi iz kupelji i dodaje se 2 mL klorovodične kiseline. Otopina se hladi 15 minuta pod mlazom vode. Nakon što se otopina ohladi na temperaturu od 20 °C, neutralizira se otopinom 5 mol NaOH/L uz upotrebu lakmus papira kao indikatora. Tikvica se ponovno ohladi na 20 °C, nakon čega se nadopuni vodom do oznake.

Određivanje:

Određivanje se provodi istom metodom kao određivanje reducirajućih šećera, a odnosi se na prethodnu titraciju i postupak određivanja količine invertnog šećera prije inverzije (IHC, 2009).

Izračun:

Prvo se izračuna postotak invertnog šećera nakon inverzije, a kod računanja koristimo formulu 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 [6]

3.2.8. Obrada podataka

Pomoću Microsoft Excel programa provedena je statistička analiza rezultata, a metodama deskriptivne statistike izračunate su: srednja vrijednost (AVERAGE), standardna devijacija (STDEV), koeficijent varijabilnosti % (STDEV/AVERAGE x 100) i varijanca (VAR).

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu provedene su analize fizikalno-kemijskih parametara na 53 različita uzorka cvjetnog meda s područja Republike Hrvatske (52) i Bosne i Hercegovine (1) u sklopu 18. međunarodnog natjecanja pčelara u kvaliteti meda „Zzzagimed 2022“. U tablici 2 prikazani su dobiveni rezultati fizikalno-kemijskih analiza; masenog udjela vode (%), masenog udjela hidroksimetilfurfurala (mg/kg), slobodnih kiselina (meq/1000 g), električne vodljivosti (mS/cm), masenog udjela reducirajućih šećera (%) i masenog udjela saharoze (%) u cvjetnom medu. U tablici 2, također su vidljive dozvoljene vrijednosti definirane Pravilnikom o medu (Pravilnik, 2015) za analizirane parametre koje se koriste u svrhu usporedbe, te rezultati statističke analize fizikalno-kemijskih parametara koje uključuju srednju vrijednost, standardnu devijaciju, koeficijent varijabilnosti i varijancu. Na slikama 3., 4., 5., 6., 7., 8. uspoređivani su rezultati srednjih vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara cvjetnog meda (maseni udjel vode, maseni udjel HMF-a, maseni udjel reducirajućih šećera, maseni udjel saharoze te električna vodljivost i slobodne kiseline) iz ovog istraživanja, s drugim sličnim istraživanjima u Hrvatskoj i inozemstvu na cvjetnim medovima te s Pravilnikom o medu.

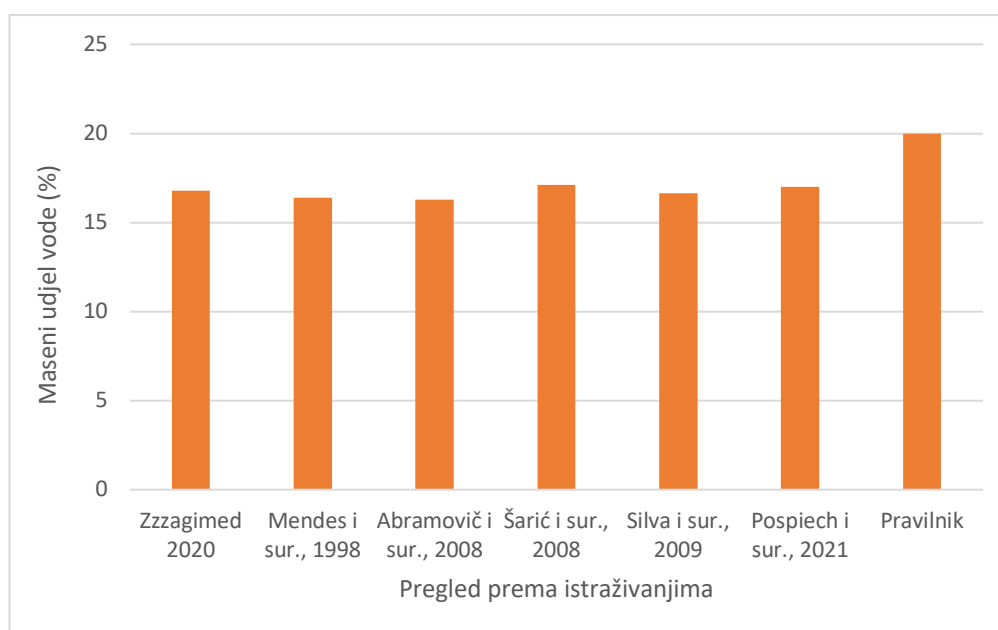
Tablica 2. Rezultati analiza fizikalno-kemijskih parametara u uzorcima cvjetnog meda

Broj uzorka cvjetnog meda	Maseni udjel vode (%)	Maseni udjel HMF-a (mg/kg)	Električna vodljivost (mS/cm)	Slobodne kiseline (meq/1000g)	Maseni udjel reducirajućih šećera (%)	Maseni udjel saharoze (%)
1	14,68	5,90	0,541	21,57	70,36	2,26
2	16,24	3,20	0,344	18,00	70,23	2,88
3	17,20	4,28	0,429	20,77	71,37	2,41
4	17,40	6,80	0,724	25,69	69,01	2,19
5	16,12	0,00	0,454	17,71	64,37	2,23
6	15,53	4,02	0,735	14,78	64,13	2,55
7	15,57	4,41	0,768	29,52	67,73	1,66
8	17,44	2,08	1,316	25,53	67,22	1,55
9	17,80	0,00	1,363	24,85	67,21	1,45
10	16,80	0,00	0,751	24,42	58,08	2,30
11	16,76	1,13	0,443	13,86	68,17	2,62
12	15,53	0,00	0,622	25,66	67,07	1,99
13	16,60	2,07	0,345	18,62	71,02	2,12
14	17,32	1,54	0,689	22,72	67,66	1,92
15	18,12	3,24	0,635	21,08	67,42	1,69
16	16,76	3,77	0,314	16,69	69,33	2,35
17	15,57	3,82	0,26	10,77	70,66	2,06
18	17,40	5,19	0,556	20,12	67,55	1,85
19	17,32	4,19	0,477	23,21	65,24	2,10
20	16,80	2,67	0,292	18,22	65,04	2,24
21	16,83	5,77	0,567	27,49	67,54	1,90
22	16,76	1,24	0,497	19,13	66,57	2,02
23	16,12	2,28	0,411	17,00	68,20	2,13
24	15,43	0,00	0,321	15,00	70,19	3,14
25	16,16	0,00	0,314	13,04	69,23	2,64
26	16,16	0,00	0,604	19,11	69,43	2,33
27	16,83	0,95	0,502	19,19	68,28	2,22
28	16,80	5,82	0,584	29,38	67,76	1,81
29	15,36	3,43	0,719	27,08	64,20	0,06

Tablica 2. Rezultati analiza fizikalno-kemijskih parametara u uzorcima cvjetnog meda-
nastavak

30	16,16	4,92	0,528	24,90	67,77	2,04
31	17,00	8,50	0,493	23,21	72,91	1,85
32	18,92	4,50	0,743	25,92	70,11	1,80
33	18,76	10,33	0,434	27,14	68,38	1,58
34	15,53	3,81	0,293	14,93	62,03	3,27
35	17,92	2,24	0,543	25,82	68,65	3,70
36	17,96	0,00	0,534	28,36	61,99	1,25
37	16,12	2,15	0,442	18,27	64,09	2,17
38	16,76	0,75	0,731	17,17	67,44	1,61
39	18,72	2,64	0,541	25,13	69,57	1,99
40	16,08	2,47	0,255	15,76	67,40	2,52
41	19,92	7,50	0,274	18,04	66,24	1,25
42	16,64	0,00	0,272	12,84	65,05	2,89
43	16,28	0,00	0,769	15,02	60,78	2,31
44	16,56	3,64	0,413	18,75	64,79	2,04
45	16,83	2,71	0,628	26,46	62,83	1,74
46	17,28	4,87	0,351	17,78	64,36	2,00
47	14,92	4,64	0,365	20,22	62,14	3,71
48	17,32	4,03	0,606	24,60	60,32	1,88
49	15,84	6,32	0,659	49,74	71,42	0,25
50	18,00	3,48	0,681	20,83	62,98	1,47
51	16,48	1,74	0,651	27,83	61,72	1,85
52	16,64	4,42	0,395	16,85	64,14	2,12
53	17,32	1,11	0,678	16,98	63,08	1,71
Srednja vrijednost	16,78	3,11	0,540	21,37	66,61	2,07
Standardna devijacija	1,04	2,40	0,22	6,24	3,26	0,65
Koeficijent varijabilnosti (%)	6,20	77,17	40,74	29,20	4,89	31,40
Varijanca	1,08	5,76	0,05	38,94	10,62	0,42
Zahtjevi pravilnika	< 20	< 40	> 0,8	< 50	> 60	< 5

Na slikama 3.,4.,5.,6.,7.,8. može se vidjeti usporedba rezultata ovog i drugih različitih istraživanja s Pravilnikom o medu za cvjetni med koji definira kriterije; maseni udjel vode mora biti niži od 20 %, maseni udjel HMF-a mora biti niži od 40 mg/kg, električna vodljivost niža od 0,8 mS/cm, slobodne kiseline niže od 50 meq/1000 g, maseni udjel reducirajućih šećera ne smije bit niži od 60 % te maseni udjel saharoze ne smije bit viši od 5 %.

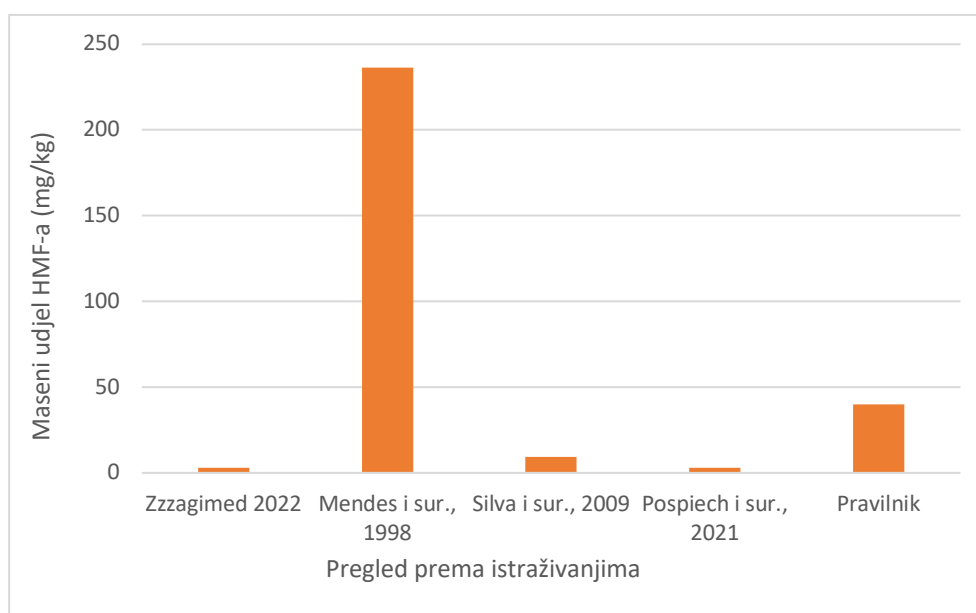


Slika 3. Usporedba srednje vrijednosti masenih udjela vode u cvjetnom medu iz različitih istraživanja

Kao što je prikazano u tablici 2, u analiziranim uzorcima cvjetnog meda, maseni udjel vode kreće se od 14,68 – 19,92 % sa srednjom vrijednosti 16,78 %. Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) najveći dozvoljeni maseni udjel vode u cvjetnom medu iznosi 20 %, te je vidljivo iz priloženih rezultata u tablici 2 da sve vrijednosti masenog udjela vode udovoljavaju zahtjevima Pravilnika o medu. Za usporedbu, dvadeset i pet uzoraka komercijalnog meda nasumično kupljenih na portugalskom tržištu, uključivalo je 18 uzoraka proizvedenih u različitim regijama Portugala, tri uzorka iz Australije, dva uzorka iz Španjolske, jedan uzorak iz Grčke i jedan uzorak označen kao iz različitih zemalja. 18 uzoraka meda proizvedenih u Portugalu uključivalo je neke uniflorne medove poput meda od ružmarina (*Rosmarinus officinalis L.*), meda od vrijeska (*Calluna, Erica sp.*) te multiflorne medove. Uvezeni medovi su također bili multiflorni. U istraživanjima su dobiveni slični rezultati za maseni udjel vode od 13,6 - 19,2 % (Mendes i sur., 1998). Uzorci dobiveni od pčelara u četiri različita geografska područja Slovenije uključivali su 75 cvjetnih medova (38 uzoraka proizvedeno je 2004. godine,

37 uzoraka 2005. godine). Na slici 3 je vidljivo da su u istraživanju masenog udjela vode u navedenim medovima, dobiveni slični rezultati, gdje se vrijednosti masenog udjela vode za cvjetni med kreću između 14,0 - 18,6 % (Abramović i sur., 2008). Šarić i sur. (2008) proveli su istraživanje fizikalno-kemijskih parametara cvjetnog meda proizvedenog u raznim dijelovima Hrvatske tijekom tri sezone berbe (2003., 2004. i 2005.). Prosječni maseni udjeli vode redom za godine iznose: 16,15 %, 17,5 %, 17,6 %. Slična srednja vrijednost masenog udjela vode od 17 % zabilježena je u češkom medu (Pospiech i sur., 2021). U istraživanjima fizikalno-kemijskih parametara cvjetnih medova u Portugalu srednja vrijednost masenog udjela vode bila je približno jednaka ovom istraživanju, a iznosi 16,65 % (Silva i sur., 2009).

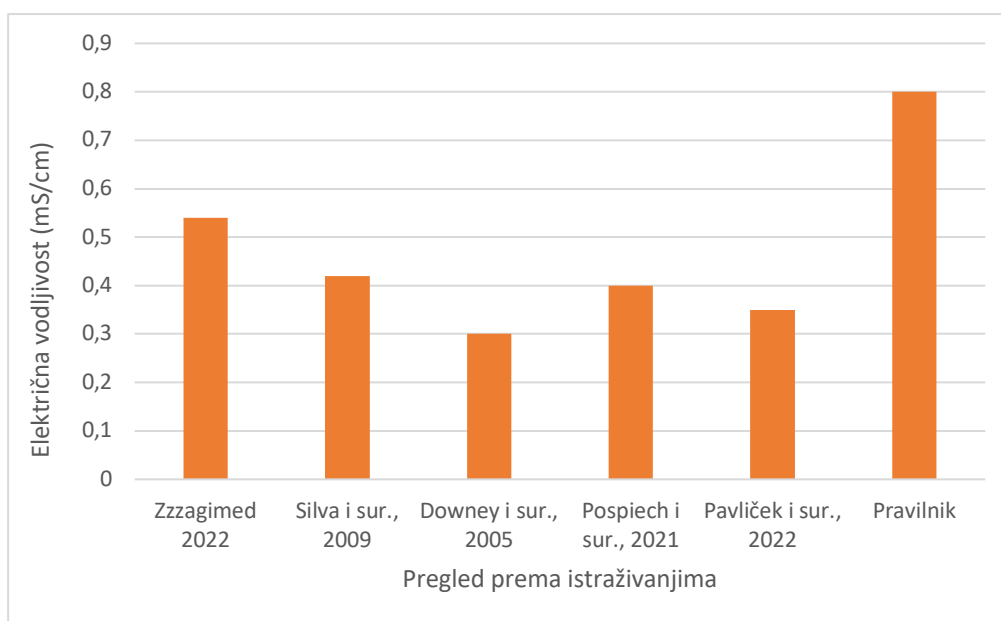
Usporedbom rezultata ovog istraživanja s ostalim istraživanjima, zaključuje se da se vrijednosti masenih udjela vode cvjetnih medova značajno ne razlikuju, te su u skladu s Pravilnikom, a maseni udjel vlage u medu ovisi o sezoni berbe i stupnju zrelosti postignutom u košnici.



Slika 4. Usporedba srednje vrijednosti masenih udjela HMF-a u cvjetnom medu iz različitih istraživanja

U tablici 2 vrijednosti masenog udjela hidrosimetilfurfurala u cvjetnom medu kreću se od 0,00 – 10,33 mg/kg sa srednjom vrijednosti 3,11 mg/kg. Iz priloženih rezultata vidljivo je da se sve vrijednosti masenog udjela HMF-a nalaze unutar dopuštene granice, a uzorci koji ne sadrže HMF smatraju se tek iscijeđenima i svježim, budući je HMF pokazatelj starosti meda. Za usporedbu, kao što je vidljivo na slici 4, Pospiech i sur. (2021) u svojim istraživanjima

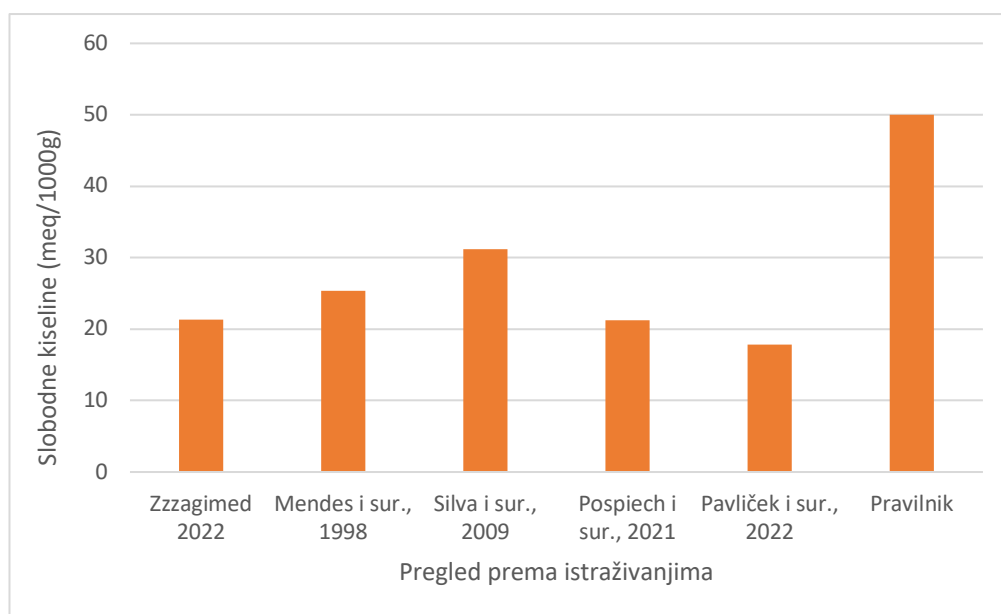
parametara cvjetnih medova su dobili jednaku srednju vrijednost masenog udjela HMF-a od 3,1 mg/kg. U portugalskim cvjetnim medovima maseni udjel HMF-a kreće se od 1,7 do 471 mg/kg, time 12 od 25 uzoraka ne zadovoljava kriterije Pravilnika o medu (Mendes i sur., 1998). U drugom istraživanju portugalskih medova određena je srednja vrijednost masenog udjela HMF-a od 9,41 mg/kg (Silva i sur., 2009). Danas se udjel HMF-a koristi kao pokazatelj pregrijavanja meda, a izrazito visoke vrijednosti iznad 100 mg/kg još uvijek mogu indicirati krivotvorenje meda (Vahčić i Matković, 2009). Baroni i sur. (2006) su svojim radovima dokazali da razlike u koncentraciji HMF-a u uzorcima meda prikupljenim tijekom istog razdoblja mogu biti posljedica varijacija klimatskih uvjeta između dva različita područja.



Slika 5. Usporedba srednje vrijednosti električne vodljivosti u cvjetnom medu iz različitih istraživanja

Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) električna vodljivost cvjetnog meda mora biti manja od 0,8 mS/cm. U tablici 2 vrijednosti električne vodljivosti kreću se od 0,260 – 0,769 mS/cm, uz izuzetak električne vodljivosti uzoraka 8 i 9 čije su vrijednosti 1,316 mS/cm i 1,363 mS/cm, veće od dopuštenih Pravilnikom o medu. Srednja vrijednost električne vodljivosti cvjetnog meda iznosi 0,54 mS/cm. Razlog tome može biti veći udjel mineralnih tvari, organskih kiselina te proteina koje utječu na povišenje električne vodljivosti. 207 uzoraka cvjetnog meda prikupljeno je 2019. i 2020. od pčelara u Češkoj. Sakupljanje meda obavljeno je izravno iz saća i vrcano je za svaki uzorak posebno. U istraživanjima fizikalno-kemijskih parametara dobivene su srednje vrijednosti električne vodljivosti od 0,4 mS/cm (Pospiech i sur., 2021). Čalopek i

sur. (2016) su u istraživanjima dobili vrijednosti za 63 uzorka meda bagrema, cvjetnog, livadnog i meda kadulje u kojima je određena električna vodljivost ispod 0,8 mS/cm, dok je vodljivost iznad 0,8 mS/cm utvrđena u 4 uzorka cvjetnog meda. Silva i sur. (2009) proveli su istraživanje fizikalno-kemijskih parametara kako bi ocijenili kvalitetu 38 uzoraka cvjetnog meda iz regije Luso (Portugal). Rezultati za srednju vrijednost električne vodljivosti iznosili su 0,42 mS/cm, u usporedbi s irskim medom, gdje je prosječna vodljivost bila 0,3 mS/cm (Downey i sur., 2005). Srednja vrijednost električne vodljivosti, kao što je vidljivo na slici 5, u hrvatskim medovima iznosila je 0,35 mS/cm (Pavliček i sur., 2022).

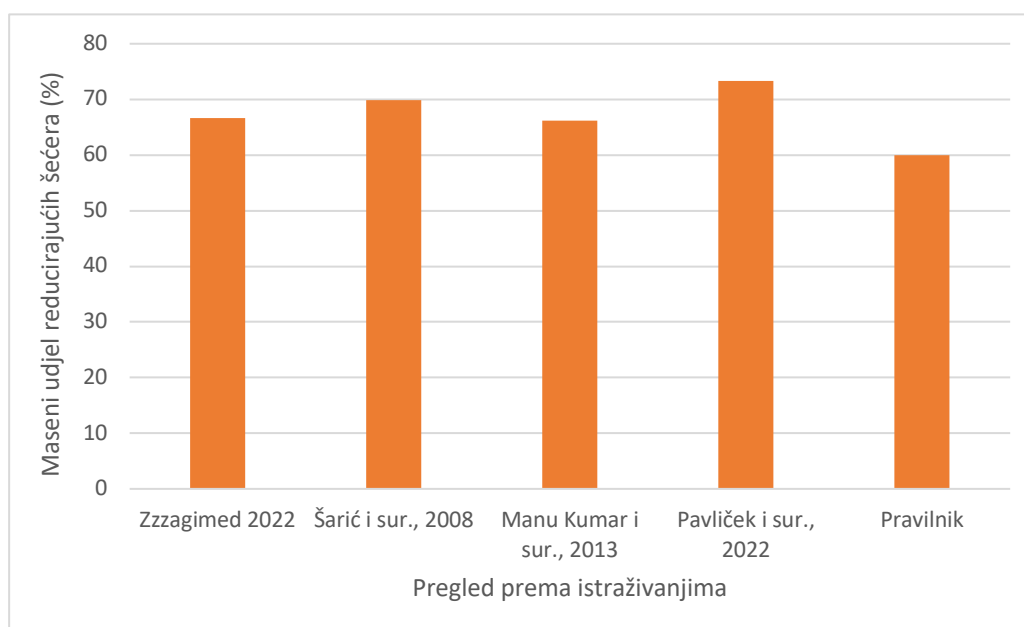


Slika 6. Usporedba srednje vrijednosti slobodnih kiselina u cvjetnom medu iz različitih istraživanja

Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015) slobodne kiseline u medu ne smiju prelaziti vrijednost veću od 50 meq/1000g. U analiziranim uzorcima cvjetnog meda slobodne kiseline se kreće u rasponu od 12,84 - 49,74 meq/1000g, sa srednjom vrijednosti 21,37 meq/1000g. Iz priloženih rezultata u tablici 2 vidljivo je da su sve vrijednosti slobodnih kiselina u cvjetnom medu unutar dopuštene granice. Mendes i sur. (1998) su također u istraživanjima dobili slične rezultate za slobodne kiseline cvjetnog meda u rasponu 12,0 - 38,7 meq/1000g. Na slici 6 vidi se da je srednja vrijednost slobodnih kiselina kod češkog cvjetnog meda 21,2 meq/1000g, odnosno približno jednaka vrijednostima dobivenima u ovom radu. Medovi iz regije Luso imaju visoku razinu kvalitete, što dokazuje činjenica optimalne srednje vrijednosti za slobodne

kiseline u medu koja iznosi 31,2 meq/1000g. Pavliček i sur. (2022) su u svojim istraživanjima dobili najnižu srednju vrijednost kiselosti u cvjetnom medu od 17,8 mmol/kg.

Kiselost meda posljedica je prisutnosti organskih kiselina, uglavnom glukonske kiseline, koja je u ravnoteži s odgovarajućim laktonima ili unutarnjim esterima, te anorganskih iona, poput fosfata, sulfata i klorida (Echingo i Takenaka, 1974). Na kiselost meda utječe sastav organskih kiselina iz botaničkih izvora; više koncentracije organskih kiselina uglavnom ukazuju na fermentaciju meda. Povoljan učinak niskog pH meda, jest inhibicija prisutnosti i rasta mikroorganizama. Isto tako, kiselost pomaže u klasifikaciji meda, a varijacija ukupne kiselosti može se pripisati sezoni žetve.

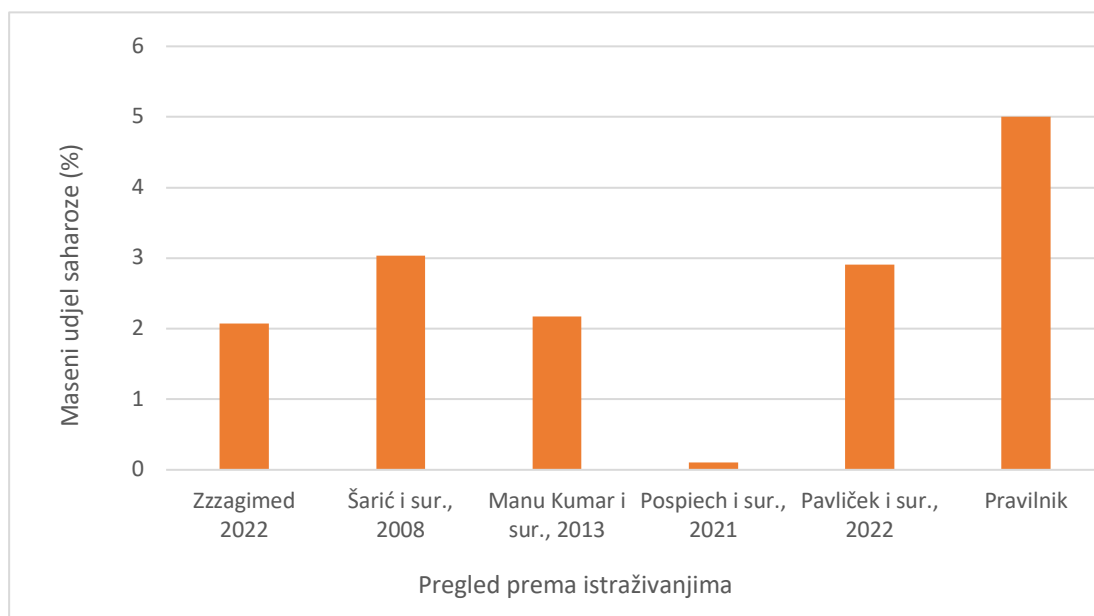


Slika 7. Usporedba srednje vrijednosti masenog udjela reducirajućih šećera u cvjetnom medu iz različitih istraživanja

Prema Pravilniku o medu (Pravilnik, 2015), udjel reducirajućih šećera u cvjetnom medu mora biti najmanje 60 %, a udjel saharoze ne veći od 5 %. Rezultati istraživanja u tablici 2, pokazuju da je u ispitivanom uzorku pod rednim brojem 10 udjel reducirajućih šećera ispod 60 %, točnije 58,08 %, što ne zadovoljava uvjete Pravilnika, dok se u ostalim uzorcima cvjetnog meda maseni udjel kretao u rasponu od 60,32 – 72,91 % sa srednjom vrijednosti 66,61 %. Slične vrijednosti masenog udjela reducirajućih šećera u cvjetnom medu kretale su se u istraživanjima Šarić i sur. (2008) u rasponu od 66,6 – 75,8 % tijekom sezone 2003., nešto više vrijednosti zabilježene su tijekom sezone 2004. od 67,4 – 75,1 %, dok su 2005. bile zabilježene najviše vrijednosti od

63,9 – 70,6 %. Prema istraživanju kojeg su proveli indijski znanstvenici, može se vidjeti da se udjel reducirajućih šećera kreće u rasponu od 62,2 - 70,24 % (Manu Kumar i sur., 2013). Nešto viša srednja vrijednost reducirajućih šećera od 73,3 %, kao što je vidljivo na slici 7, zabilježena je u ispitivanju kakvoće medova na hrvatskom tržištu, uzorkovanih u razdoblju od 2019. do 2021. godine (Pavliček i sur., 2022). Prema Rybak-Chmielewska (2007) maseni udjel reducirajućih šećera može ovisiti o botaničkom i geografskom podrijetlu meda, klimi, vremenu i načinu skladištenja i prerade.

Vrijednost reducirajućih šećera može biti indikator brzine kristalizacije i pomoći pri klasifikaciji, te može biti pokazatelj patvorenja meda.



Slika 8. Usporedba srednje vrijednosti masenog udjela saharoze u cvjetnom medu iz različitih istraživanja

U tablici 2 se vidi da je od ukupno 53, u svim uzorcima cvjetnog meda utvrđeno da zadovoljavaju postavljeni kriterij za saharozu, a vrijednosti se kreću u rasponu od 0,06 – 3,71 %, uz srednju vrijednost 2,07 %. Na slici 8 se vidi da je u istraživanju koje su proveli Pospiech i sur. (2021) srednja vrijednost udjela saharoze kod češkog meda 0,1 %. Prema istraživanju koje su proveli Šarić i sur. (2008), vrijednosti masenog udjela saharoze u uzorku cvjetnog meda iznosile su 2,0 – 5,2 % tijekom sezone 2003., kada je zabilježen jedan uzorak s vrijednosti višom od one zadane Pravilnikom o medu, 1,8 – 4,8 % tijekom sezone 2004., te 0 – 4,4 % tijekom 2005., kada su zabilježena 2 uzorka bez saharoze. Slična srednja vrijednost masenog

udjela saharoze u cvjetnom medu od 2,17 % uočena je u medovima s različitih područja Indije, gdje se vrijednosti kreću između 1,76 - 2,58 % (Manu Kumar i sur., 2013). U 30 analiziranih uzoraka cvjetnog meda na hrvatskom tržištu uočena je također slična srednja vrijednost saharoze od 2,91% (Pavliček i sur., 2022).

Povišene vrijednosti ovog parametra mogu biti pokazatelj patvorenja meda prihranom pčela šećerom, odnosno saharozom ili direktnim dodavanjem šećera u med.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata fizikalno-kemijskih parametara cvjetnog meda može se zaključiti:

1. Kod svih uzoraka cvjetnog meda je zadovoljen kriterij Pravilnika za maseni udjel vode koji ne smije biti veći od 20 %. Srednja vrijednost masenog udjela vode u medu iznosila je 16,78 %, a ovisi o okolišnim uvjetima i rukovanju pčelara u sezoni berbe.
2. Deset uzoraka cvjetnog meda ne sadrži HMF, što ukazuje na izrazitu svježinu, a ostali analizirani uzorci također zadovoljavaju zahtjeve Pravilnika vrijednostima masenog udjela HMF-a manjim od 40 mg/kg. Niska srednja vrijednost masenog udjela HMF-a od 3,11 mg/kg ukazuje na dobre uvjete skladištenja i pokazatelj je da nije došlo do pregrijavanja meda.
3. Pravilnik o medu obzirom na zahtjev o vrijednosti električne vodljivosti cvjetnog meda nisu zadovoljila 2 analizirana uzorka, čija je vrijednost bila viša od maksimalno dopuštene vrijednosti koja iznosi 0,8 mS/cm. Razlog tome može biti veći udjel mineralnih tvari, organskih kiselina i proteina koje utječu na povišenje električne vodljivosti.
4. Slobodne kiseline su za sve uzorke cvjetnog meda bile u skladu sa zahtjevima Pravilnika, a on propisuje da slobodnih kiselina ne smije biti više od 50 meq/1000g. Optimalna srednja vrijednost slobodnih kiselina od 21,37 meq/1000g pokazatelj je da nije došlo do fermentacije meda.
5. Jedan analizirani uzorak cvjetnog meda ne zadovoljava kriterij Pravilnika za maseni udjel reducirajućih šećera, budući mu je vrijednost niža od 60 %. Razlog tome može biti botaničko podrijetlo ili neadekvatno vrijeme i način skladištenja i prerade.
6. Maseni udjel saharoze kod svih uzoraka odgovara Pravilniku koji zahtjeva vrijednosti niže od 5 %. Optimalna srednja vrijednost od 2,07 % pokazatelj je da nema patvorenih uzoraka meda.

6. LITERATURA

Abramovič H, Jamnik M, Burkan L, Kač M (2008) Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food Control* **19**(11), 1086–1090. doi:10.1016/j.foodcont.2007.11.008

Anonymus 1 (2023) Indeks refrakcije https://hr.wikipedia.org/wiki/Indeks_loma Pristupljeno 10. veljače 2023.

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

Atwa ALDA, AbuShahba RY, Mostafa M, Hashem MI (2014) Effect of honey in preventing gingivitis and dental caries in patients undergoing orthodontic treatment. *Saudi Dent J* **26**(3), 108-114.

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

Ball DW (2007) The chemical composition of honey. *J Chem Educ* **84**, 1643-1646.

Barhate RS, Subramanian R, Nandini KE, Hebbar HU (2003) Processing of honey using polymeric microfiltration and ultrafiltration membranes. *J Food Eng* **60**(1), 49-54.

Baroni MV, Nores ML, Díaz Mdel P, Chiabrando GA, Fassano JP, Costa C, i sur. (2006) Determination of volatile organic compound patterns characteristic of five unifloral honey by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry coupled to chemometrics. *J Agric Food Chem* **54**(19), 7235-41. doi: 10.1021/jf061080e.

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

Bogdanov S, Haldimann M, Luginbühl W, Gallmann P (2007) Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *J Apic Res and Bee World* **46**, 269-275.

Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, Gallmann P (2008) Honey for nutrition and health: a review. *J Am Coll Nutr* **27**(6), 677-689.

Čalopek B, Marković K, Vahčić N, Bilandžić N (2016) Procjena kakvoće osam različitih vrsta meda. Veterinarska stanica 47(4), ><https://veterina.com.hr/?p=56692#Literatura1>< Pristupljeno 28. veljače 2023.

Dobre I, Georgescu LA, Alexe P, Escuredo O, Seijo MC (2012) Rheological behavior of different honey types from Romania. *Food Res Int* **49**, 126 – 132.

Downey G, Hussey K, Daniel Kelly J, Walshe TF, Martin PG (2005) Preliminary Contribution to the Characterisation of Artisanal Honey Produced on the Island of Ireland by Palynological and Physico-Chemical Data. *Food Chem* **91**, 347–354.

Echingo T, Takenaka T (1974) Production of organic acids in honey by honey bees, *J Agric Chem Soc Jpn* **48**, 225–230.

El-Nahhal Y (2020) Pesticide residues in honey and their potential reproductive toxicity, *Sci Total Environ* **741**, 139953. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139953>.

Escuredo O, Dobre I, Fernández-González M, Seijo MC (2014) Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chem* **149**, 84 – 90.

Fallico B, Zappalà M, Arena E, Verzera A (2004) Effects of heating process on chemical composition and HMF levels in Sicilian monofloral honeys. *Food Chem* **85**, 305–313.

Fauzi AN, Norazmi MN, Yaacob NS (2011) Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines. *Food Chem Toxicol* **49**(4), 871-878.

Gleiter RA, Horn H, Isengard HD (2006). Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey. *Food Chem* **96**(3), 441–445.

Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S (1994) The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med* **16**, 845-50.

Hossen MS, Ali MY, Jahurul MHA, Abdel-Daim MM, Gan SH, Khalil MI (2017) Beneficial roles of honey polyphenols against some human degenerative diseases: A review. *Pharmacol Rep* **69**(6), 1194–1205. doi:10.1016/j.pharep.2017.07.002

IHC (2009) Harmonised methods of the International Honey Commission. IHC- International Honey Commission, www.ihc-platform.net Pristupljeno 26. veljače 2023.

ISO 5492: 2008, Sensory analysis, Vocabulary (Senzorska analiza, Rječnik)

Kapš P (2013) Apiterapija-Liječenje pčelinjim proizvodima, Geromar d.o.o., Bestovje.

Kezić N, Bubalo D, Grgić Z, Dražić M, Barisić D, Filipi J, Ševar M, Krakar D, Tretinjak V (2013) Konvencionalno i ekološko pčelarenje, Interna skripta, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 130-157.

Lafay G, Rayssiguier M, Rémésy S (2005) Caffeic acid inhibits oxidative stress and reduces hypercholesterolemia induced by iron overload in rats. *Int J Vitam Nutr Res* **75**, 119-25.

Larocca LM, Teofili L, Sica S, Piantelli M, Maggiano N, Leone G, i sur. (1995) Quercetin inhibits the growth of leukemic progenitors and induces the expression of transforming growth factor-beta 1 in these cells. *Blood* **85**, 3654-61.

Lovrić T (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva. Hinus, Zagreb

Madas MN, Marghitas LA, Dezmirean DS, Bobis O, Abbas O, Danthine S, i sur. (2019) Labeling Regulations and Quality Control of Honey Origin: A Review. *Food Rev Int* **36**, 215-240.

Manu Kumar H, Ananda AP, Vishwanathan D, Siddagangaiah (2013) Study of Physicochemical parameters and Antioxidant in Honey collected from different locations of India. *Int J Of Pharm Life Sci* **4**, 3159-3165. https://www.researchgate.net/publication/299562808_Physicochemical_parameters_and_Antioxidant_in_Honey_Collected_from_Different_Locations_of_India

Mavračić J (2013) Kristalizacija u otopini - nukleacija, rast kristala i metode, Završni rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, <<https://www.bib.irb.hr/676138>>. Pristupljeno 28. veljače 2023.

Mendes E, Brojo Proença E, Ferreira IMPLV, Ferreira M (1998) Quality evaluation of Portuguese honey. *Carbohydr Polym* **37**(3), 219–223. doi:10.1016/s0144-8617(98)00063-0org/10.1016/j.foodchem.2005.03.051.

Missio da Silva P, Gauche C, Gonzaga LV, Oliveira Costa AC, Fett R (2016) Honey: chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem* **196**, 309-323.

Mititelu M, Udeanu DI, Docea AO, Tsatsakis A, Calina D, Arsene AL, i sur. (2022) New method for risk assessment in environmental health: The paradigm of heavy metals in honey. *Environ Res*, 115194, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.115194>

Moniruzzaman M, Sulaiman AS, Khalil IM, Gan HS (2013) Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chem Cent J* **7**, 138.

Mujić I, Alibabić V, Travljanin D (2014) Prerada meda i drugih pčelinjih proizvoda, 1. izdanje, Veleučilište u Rijeci, Rijeka.

Pavliček D, Furmeg S, Jaki Tkalec V, Denžić Lugomer M, Novosel T (2022) Ispitivanje kakvoće meda na hrvatskom tržištu u razdoblju 2019.-2021. godine. *Veterinarska stanica* **53**(5), 513-523.

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

Pospiech M, Javůrková Z, Hrabec P, Čížková H, Titěra D, Štarha P. i sur. (2021) Physico-Chemical and Melissopalynological Characterization of Czech Honey. *Appl Sci* **11**, 4989. <https://doi.org/10.3390/app11114989>

Pravilnik (2015) Pravilnik o medu. *Narodne novine* 53, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_05_53_1029.html Pristupljeno 25. veljače 2023.

Rao PV, Krishnan KT, Salleh N, Gan SH (2016) Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Rev Bras Farmacogn* **26**, 657-664.

Russo N, Di Rosa AR, Pino A, Mazzeo G, Liotta L, Caggia C, i sur. (2023) Assessment of sensory properties and in vitro antimicrobial activity of monofloral Sicilian honey. *Food Biosci* **52**, 102449.

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

Sanz ML, González M, de Lorenzo C, Sanz J, Martínez-Castro I (2004) Carbohydrate composition and physico chemical properties of artisanal honeys from Madrid (Spain): occurrence of Echimium sp honey. *J Sci Food Agric* **84**, 1577- 1584.

Shapla UM, Solayman M, Alam N, Khalil MI, Gan SH (2018) 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chem J* **12**, 35. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0408-3>

Silva LR, Videira R, Monteiro AP, Valentao P, Andrade PB (2009): Honey from Luso region (Portugal): physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchem J* **93**, 73-77.

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

Sopade PA, Halley P, Bhandari B, D' Arcy B, Doebler C, Caffin N (2003) Application of the Williams–Landel–Ferry model to the viscosity–temperature relationship of Australian honeys. *J Food Eng* **56**, 67–75.

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

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

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

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

Tanković S, Jelušić V, Bilandžić N, Čalopek B, Sedak M, Ferizbegović J (2017) Koncentracije teških metala i elemenata u različitim vrstama meda iz Bosne i Hercegovine. *Veterinarska stanica* **48**(1), 1-12. <https://hrcak.srce.hr/file/323321>

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

Vahčić N, Matković D (2009) Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda, www.pcelinjak.hr Pristupljeno 5. prosinca 2022.

Vauzour D, Vafeiadou K, Rice-Evans C, Williams RJ, Spencer JP (2007) Activation of pro-survival Akt and ERK1/2 signalling pathways underlie the anti-apoptotic effects of flavanones in cortical neurons. *J Neurochem* **103**, 1355- 67.

Venir E, Spaziani M, Maltini E (2010) Crystallization in “Tarassaco” Italian honey studied by DSC. *Food Chem* **122**(2), 410–415. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.012>.

Wang Y, Dong X, Han M, Yang Z, Wang Y, Qian L, i sur. (2022) Antibiotic residues in honey in the Chinese market and human health risk assessment. *J Hazard Mater* **440**, 129815. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129815>.

Weis WA, Ripari N, Lopes Conte F, da Silva Honorio M, Sartori AA, Matucci RH, i sur. (2022) An overview about apitherapy and its clinical applications. *Phytomedicine* **2**(2), 100239.

White JW, Subers MH, Schepartz AI (1963) The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in honey glucoseoxidase system. *Biochim Biophys Acta* **73**, 57-70.

Yaghoobi R, Kazerouni A, Kazerouni O (2013) Evidence for Clinical Use of Honey in Wound Healing as an Anti-bacterial, Anti-inflammatory Anti-oxidant and Anti-viral Agent: A Review. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* **8**(3), 100-104.

Yanniotis S, Skaltsi S, Karaburnioti S (2006) Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures. *J Food Eng* **72**(4), 372–377. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.12.017

Yordi EG, Pérez EM, Matos MJ, Villares EU (2012) Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. *Nutrition, Well-Being and Health*, 23-48. <http://dx.doi.org/10.5772/29471>

Zammit Young GW, Blundell R (2023) A review on the phytochemical composition and health applications of honey. *Heliyon* **9**(2), 12507.

Zielinska S, Wesołowska M, Bilek M, Kaniuczak J, Dzugan M (2021) The saccharide profile of Polish honeys depending on their botanical origin. *J Microbiol Biotechnol Food Sci* **3**, 387–390.

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Tea Ferić