

Fizikalno-kemijski parametri cvjetnog meda kontinentalne Hrvatske

Petričko, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:229007>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

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



VELEUČILIŠTE U KARLOVCU
Karlovac University of Applied Sciences

Repository / Repozitorij:

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Veleučilište u Karlovcu
Prehrambena tehnologija
Usmjerenje prerada mlijeka

Petra Petričko

Fizikalno-kemijski parametri cvjetnog meda kontinentalne

Hrvatske

Završni rad

Karlovac, rujan 2015.

Veleučilište u Karlovcu
Prehrambena tehnologija
Usmjerenje prerada mlijeka

Petra Petričko

**Fizikalno-kemijski parametri cvjetnog meda kontinentalne
Hrvatske**

Završni rad

Mentor : Ines Cindrić, dipl. ing.

Karlovac, rujan 2015.

Sažetak

Cilj ovog rada bio je utvrditi fizikalno-kemijske karakteristike cvjetnog meda s područja kontinentalne Hrvatske. Uzorci su donirani od malih obiteljskih proizvođača. Istraživanje je odrađeno na pet uzoraka meda iz 2015. godine. Određeni sljedeći fizikalno-kemijski parametri: udio vode, električna provodljivost, slobodna kiselost, udio ugljikohidrata te udio hidroksimetilfurfurala.

Ključne riječi: cvjetni med, fizikalno-kemijski parametri meda, kontinentalna Hrvatska

Abstract

The aim of this work was to determine physicochemical characteristics of multifloral honey produced in the continental part of Croatia. Honey samples were donated from several small family farms. Research was done with five samples of honey from 2015. Following physicochemical parameters were determined: water content, electrical conductivity, free acidity, sugar content and hydroxymethylfurfural content.

Key words: multifloral honey, physicochemical parameters, continental part of Croatia

Sadržaj

| | |
|---------------------------------------|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 2 |
| 2.1. DEFINICIJE I PODJELE MEDA | 2 |
| 2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA..... | 3 |
| 2.2.1. UGLJIKOHIDRATI | 4 |
| 2.2.2. VODA | 4 |
| 2.2.3. PROTEINI I AMINOKISELINE | 5 |
| 2.2.4. ENZIMI | 5 |
| 2.2.5. VITAMINI..... | 7 |
| 2.2.6. MINERALNE TVARI..... | 7 |
| 2.2.7. ORGANSKE KISELINE | 7 |
| 2.2.8. HIDROKSIMETILFURFURAL | 8 |
| 2.2.9. FITOKEMIJE..... | 9 |
| 2.2.9.1. Antioksidansi..... | 9 |
| 2.2.9.2. Flavonoidi | 9 |
| 2.3. SVOJSTVA MEDA..... | 10 |
| 2.3.1. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA | 10 |
| 2.3.1.1. Električna vodljivost..... | 10 |
| 2.3.1.2. Viskoznost | 11 |
| 2.3.1.3. Kristalizacija | 11 |
| 2.3.1.4. Higroskopnost meda..... | 11 |
| 2.3.1.5. Optička aktivnost meda | 12 |
| 2.3.1.6. Indeks refrakcije | 12 |
| 2.3.1.7. Specifična masa | 12 |
| 2.3.2. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA..... | 13 |
| 2.3.2.1. Boja meda | 13 |
| 2.3.2.2. Miris/aroma meda..... | 16 |
| 2.3.2.3. Okus | 16 |
| 2.4. KONTROLA KVALITETE MEDA..... | 17 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 18 |
| 3.1. MATERIJALI..... | 18 |
| 3.1.1. UZORCI MEDA | 18 |

| | | |
|--------|---|----|
| 3.1.2. | KORIŠTENE KEMIČALIJE | 18 |
| 3.1.3. | KORIŠTENI PRIBOR | 19 |
| 3.2. | METODE..... | 20 |
| 3.2.1. | ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU REFRAKTOMETRIJSKI | 20 |
| 3.2.2. | ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA | 21 |
| 3.2.3. | ODREĐIVANJE UGLJIKOHIDRATA U MEDU TEKUĆINSKOM KROMATOGRAFIJOM VISOKE DJELOTVORNOSTI (HPLC) | 21 |
| 3.2.4. | ODREĐIVANJE SLOBODNE KISELOSTI MEDA TITRACIJOM DO pH 8,3 | 23 |
| 3.2.5. | ODREĐIVANJE HIDROKSIMETILFURFURALA PO WHITE-U | 23 |
| 4. | REZULTATI..... | 25 |
| 5. | RASPRAVA | 28 |
| 6. | ZAKLJUČAK | 29 |
| 7. | LITERATURA | 30 |
| 8. | POPIS SLIKA I TABLICA..... | 32 |

1. UVOD

Med ima izuzetno složen kemijski sastav te se može reći da zapravo ne postoje dva ista uzorka. Neke sastojke u med dodaju same pčele, dok neki sastojci meda imaju podrijetlo od biljaka, a neki nastaju tijekom zrenja meda u saću. Osim što ovisi o tehnologiji samog pčelarenja kvaliteta i fizikalne-kemijske karakteristike meda vezane su iz uz zemljopisno i botaničko podrijetlo meda. Med je prirodni proizvod koji ima brojna povoljna djelovanja na zdravlje. Kao posljedica izuzetno složenog kemijskog sastava med je jedna od najprobavljivijih i najiskoristivijih namirnica. Budući da sadrži velik udio jednostavnih šećera od kojih prevladavaju fruktoza i glukoza, ubrajamo ga u energetske namirnice. Obiluje i drugim nutritivnim i ljekovitim tvarima. Oligosaharidi iz meda imaju prebiotički učinak jer potiču rad bifidobakterija i laktobacila u probavnom sustavu. Ima snažno antioksidativno djelovanje jer je bogat izvor fitokemikalija poput flavonoida i fenola. U medu nalazimo i vitamine čiji se udio razlikuje o vrsti meda. Najviše obiluje vitaminom C te vitaminima iz B skupine zbog čega ima povoljan utjecaj na rad metaboličkog sustava. Med je i izvor minerala, čije količine variraju ovisno o vrsti. Poznato je da med ima i antimikrobna svojstva, inhibira rast mikroorganizama i gljivica. Mehanizam antimikrobnog djelovanja leži u visokoj osmolalnosti meda, kiselosti i udjelu brojnih inhibirajućih tvari koje sadrži poput vodikovog peroksida, flavonoida i fenolnih kiselina. Zbog relativno visoke cijene u odnosu na druga sladila med se često pokušava patvoriti. Stoga je svrha kontrole meda, praćenjem fizikalno-kemijskih parametra ukazati na moguće propuste u njegovoj proizvodnji, kao i spriječiti pokušaje patvorenja.

Cilj ovog rada je odrediti fizikalno-kemijske karakteristike cvjetnog meda s različitog područja kontinentalne Hrvatske, te da se utvrdi da li svojom kvalitetom zadovoljavaju Pravilnik o medu NN 53/15.

Analiza uzoraka je rađena u Laboratoriju za kontrolu kvalitete meda, u sklopu Hrvatske poljoprivredne agencije.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJE I PODJELE MEDA

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 (Pravilnik o Medu NN 53/15).

Med se dijeli na nekoliko osnovnih vrsta:

a) prema podrijetlu:

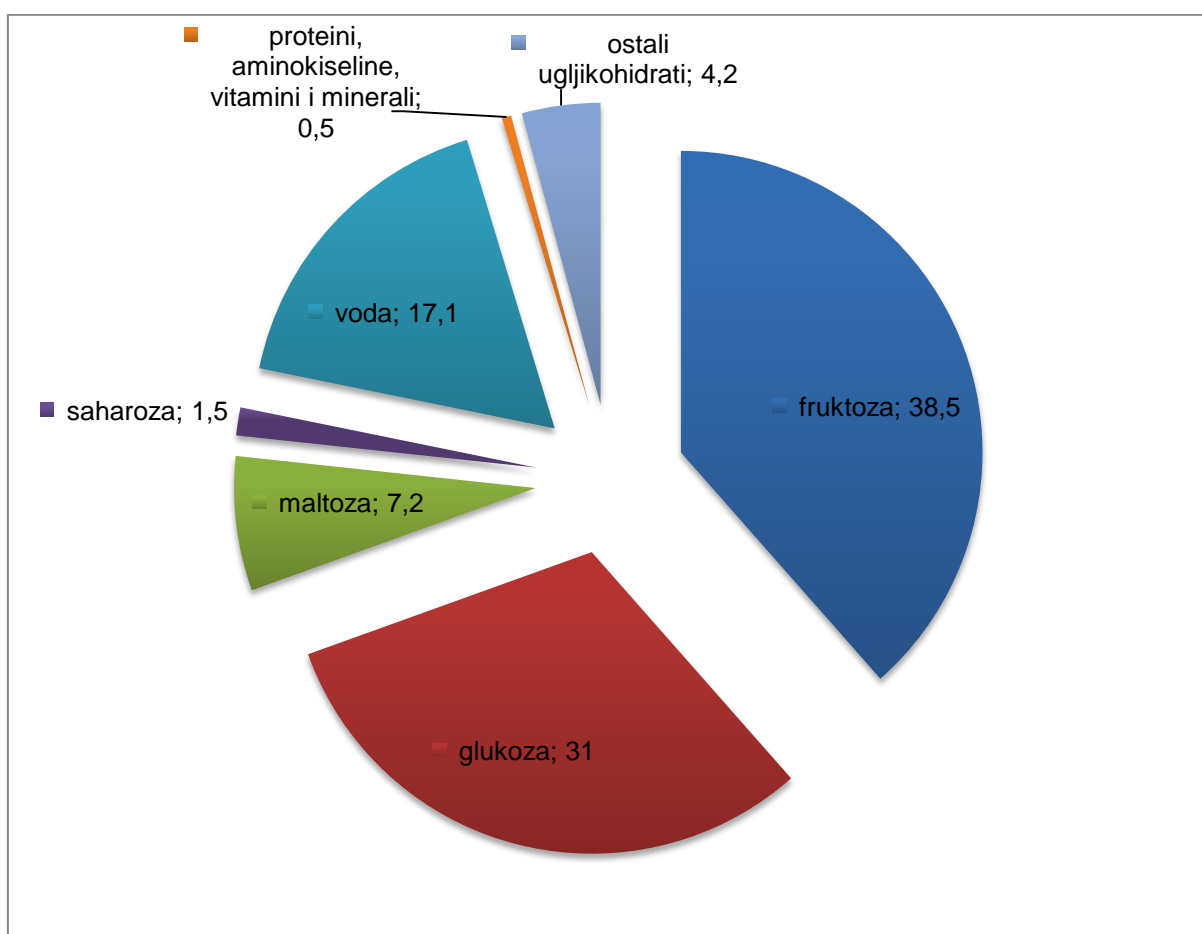
- cvjetni ili nektarni med koji je dobiven od nektara biljaka
- medljikovac ili medun koji je dobiven uglavnom od izlučevina kukaca (Hemiptera) koji žive na živim dijelovima biljaka ili od sekreta živih dijelova biljaka

b) prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja:

- med u saću kojeg pčele u stanicama svježe izgrađenog saća bez legla ili u satnim osnovama izgrađenim isključivo od pčelinjeg voska, koji se prodaje u poklopljenom saću ili sekcijama takvog saća
- med sa saćem ili med s dijelovima saća je med koji sadrži jedan ili više komada meda u saću
- cijedeni med koji se dobiva cijedenjem otklopljenog saća bez legla
- vrcani med koji se dobiva vrcanjem (centrifugiranjem) otklopljenog saća bez legla
- prešani med dobiven prešanjem saća bez legla, sa ili bez korištenja umjerene temperature koja ne smije prijeći 45°C
- filtrirani med je med dobiven postupkom odstranjivanja stranih anorganskih ili organskih tvari kao rezultat značajnog smanjenja udjela peludi u medu

2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA

U kemijskom pogledu med predstavlja jako složenu smjesu više od 70 različitih sastojaka. Neke od njih u med dodaju pčele, neke imaju podrijetlo od medonosne biljke, a neke nastaju tokom zrenja meda u saću (Krell, 1996). Različite vrste meda, kao i med unutar jedne vrste razlikuju se po svom sastavu u ovisnosti o biljnom i geografskom podrijetlu, klimatskim uvjetima, pasmini pčela te o sposobnosti samog pčelara (kako će doraditi i skladištiti med) (Škenderov i Ivanov, 1986). Najzastupljeniji sastojci su ugljikohidrati, i to većinom fruktoza i glukoza, te voda koji zajedno čine više od 99 % meda. Ostatak čine proteini (uključujući enzime), mineralne tvari, vitamini, organske kiseline, fenolni spojevi, tvari arome (hlapljivi spojevi) i razni derivati klorofila. Iako je udio tih tvari u medu vrlo mali (< 1 %) one su odgovorne kako za senzorska tako i za nutritivna svojstva meda (Vahčić i Matković, 2009).



Slika 1. Prosječan kemijski sastav meda

2.2.1. UGLJIKOHIDRATI

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda te njihov udjel iznosi 73-83%. Najzastupljeniji su fruktoza s prosječnim udjelom 39,1 % i glukoza sa 30,3% (Škenderov i Ivanov, 1986). Fruktoza i glukoza zajedno čine prosječno 88-95 % ukupnih ugljikohidrata. 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. Također je prisutno i 12 oligosaharida: erloza, melecitoza, α - i β - izomaltozilglukoza, maltotrioza, 1-kestoza, panoza, centoza, izopanoza i rafinoza te izomaltotetroza i izomaltopentoza. Većina ovih ugljikohidrata se ne nalazi u nektaru već u medu nastaju djelovanjem pčelinjih enzima ili organskih kiselina na jednostavne šećere. Količina i odnos između pojedinih ugljikohidrata u medu ovise prije svega o njegovom botaničkom i geografskom podrijetlu, ali i o sastavu i intenzitetu lučenja nektara, klimatskim uvjetima i fiziološkom stanju i pasmini pčela. Fruktoza i glukoza medu daju slatkoću, energetska vrijednost te najviše utječu na njegova fizikalna svojstva kao što su viskoznost, gustoća, ljepljivost sklonost kristalizaciji, higroskopsnost i mikrobiološku aktivnost. Omjer fruktoze i glukoze te omjer glukoze i vode u medu su vrlo bitni jer se pomoću njih može odrediti i predvidjeti tendencija kristalizacije meda. Budući da je 95% šećera prisutnih u medu je fermentabilno, taj podatak je vrlo važno znati prilikom proizvodnje meda i prilikom samog skladištenja. Dokazano je da med sa udjelom šećera višim od 83% i udjelom vode ispod 17,1% neće podlijeći fermentaciji ukoliko se pravilno skladišti. Određivanje saharoze je važno kako bi se utvrdilo eventualno patvorenje meda, hranjenje pčela šećerom (saharozom) ili direktno dodavanje šećera u med (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.2. VODA

Voda je nakon ugljikohidrata drugi najzastupljeniji sastojak meda. Sadržaj vode je najvažniji parametar kakvoće meda jer utječe na čuvanje i kakvoću meda budući da određuje stabilnost meda i otpornost na mikrobiološko kvarenja (fermentaciju) tijekom čuvanja. Ovisi o brojnim čimbenicima: botaničkom podrijetlu, klimatskim uvjetima, intenzitetu izlučivanja nektara, intervenciji pčelara i uvjetima čuvanja.

Sadržaj vode se kreće u udjelu između 15 i 23 %. Zbog higroskopnosti meda količina vode u njemu nije stalna veličina, već se za vrijeme čuvanja u ovisnosti o vlažnosti zraka mijenja. Do fermentacije neće doći ukoliko je udjel vode u medu ispod 18% iako se ta mogućnost ne može potpuno isključiti čak ni kod udjela vode ispod 17,1% budući da ovisi i o količini kvasaca u medu, temperaturi meda te raspodjeli i raspoloživosti vode nakon kristalizacije meda (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.3. PROTEINI I AMINOKISELINE

Proteini i aminokiseline koje se nalaze u medu su podrijetlom od pčela ili iz peludi. Proteini u medu mogu biti u obliku prave otopine aminokiselina ili u obliku koloida, malih laganih čestica proteina koje lebde u medu a utječu na formiranje nekih spojeva meda poput stvaranje pjene i mjehurića, tamnjenje, zamućenje ili kristalizaciju meda (Belčić i sur., 1979). Aminokiseline kondenzacijom sa šećerima tvore žute i smeđe produkte što se očituje tamnjenjem meda a do reakcije dolazi pri dugotrajnom skladištenju ili zagrijavanjem. Udio proteina u medu kreće se od 0 – 1,7% (White, 1978). Osim vezanih u obliku proteina, med sadrži i slobodne aminokiseline. Iako je udio ukupnih proteina u medu mali, u njemu se nalazi otprilike 18 esencijalnih i neesencijalnih aminokiselina čiji omjeri variraju ovisno o biljnoj vrsti. Utvrđena je prisutnost sljedećih aminokiselina: prolin, lizin, histidin, arginin, asparaginska kiselina, treonin, serin, glutaminska kiselina, glicin, alanin, cistein, valin, metionin, izoleucin, leucin, tirozin, fenilalanin te triptofan. Najzastupljenija aminokiselina je prolin koji čini 80-90% udjela svih aminokiselina. On većinom potječe od pčela i u med dospjeva tijekom prerade nektara u med, a njegov udjel jedan je od indikatora zrelosti meda, te u nekim slučajevima i mogućeg patvorenja meda, ukoliko mu je udio manji od 180 mg/kg (Batinić i Palinić, 2014).

2.2.4. ENZIMI

Prisutnost enzima u medu razlikuje ga od ostalih zaslađivača. Sadrži invertazu, dijastazu, glukoza oksidazu, katalazu, kiselu fosfatazu, peroksidazu, polifenoloksidazu, esterazi, inulazu i proteolitičke enzime (Škenderov i Ivanov

1986). Neke enzime u med dodaju pčele prilikom prerade nektara dok neke potječu iz peludi, nektara ili čak ponekad kvasaca i bakterija koje mogu biti prisutne u medu (White i sur., 1964). Enzimi zajedno sa proteinima medu daju takva svojstva koja se umjetnim putem ne mogu proizvesti ni nadomjestiti (Singhal i sur., 1997). Uloga dijastaze (α - i β -amilaza) je razgradnja škroba na druge ugljikohidrate. Aktivnost dijastaze predstavlja jedan od glavnih parametara u određivanju intenziteta zagrijavanja meda tijekom prerade i skladištenja. Prilikom zagrijavanja aktivnost dijastaze se smanjuje. Invertaza ima glavnu ulogu u biokemijskim procesima pri preradi nektara, kao i kod promjena na ugljikohidratima tijekom čuvanja meda. To se prije svega odnosi na hidrolizu saharoze na glukozu i fruktozu uz nastajanje manje količine kompleksnih šećera (Škenderov i Ivanov, 1986). Glukoza oksidaza katalizira oksidaciju glukoze u glukonsku kiselinu pri čemu kao produkt nastaje vodikov peroksid koji je glavni nosioc antimikrobne aktivnosti meda (Schepartz, 1965). Katalaza razgrađuje vodikov peroksid na vodu i kisik, a uglavnom potječe iz peludi stoga i količina katalaze ovisi o tome koliko je pčela sakupila peludi, zatim o vrsti biljke s koje pelud potječe te o katalaznoj aktivnosti u peludu (Škenderov i Ivanov, 1986). Aktivnost katalaze raste za vrijeme fermentacije. U medu su prisutni i enzimi koji hidroliziraju estere fosfatne kiseline - fosfataze (kisela fosfataza). Optimalna pH vrijednost joj je između 5.0-5.6. Enzim dopijeva u med isključivo iz peluda i nektara. Pčelinji med sadrži i određenu količinu esteraza, čija je aktivnost povezana s prirodom supstrata, odnosno esteraze hidroliziraju esterske veze (Vahčić i Matković, 2009).

Tablica 1: Najvažniji enzimi prisutni u medu

| NAZIV ENZIMA | REAKCIJA KOJU KATALIZIRA |
|--|---|
| Dijastaza (α - i β -amilaza) | Razgrađuje škrob na druge ugljikohidrate |
| Invertaza (α -glukozidaza) | Razgrađuje saharozu na glukozu i fruktozu (invertni šećer) uz nastajanje manjih količina kompleksnih šećera |
| Glukoza oksidaza | U oksidativnoj reakciji prevodi glukozu u glukolakton |
| Kisela fosfataza | Hidrolizira estere fosfatne kiseline |

| | |
|--|---|
| Proteaze | Hidroliziraju proteine i polipeptide na manje peptide |
| Esteraza | Hidrolizira esterske veze |
| β -glukozidaza | Prevodi β -glukane u oligosaharide i glukozu |

2.2.5. VITAMINI

Med sadrži male količine vitamina, stoga ga se ne smatra značajnim izvorom vitamina u prehrani ljudi. Budući da je med vodena otopina šećera, u medu su prisutni vitamini topljivi u vodi, vitamini B skupine i C vitamin. Njihovo se podrijetlo pripisuje peludnim zrnima koji se nalaze u medu te je njihova zastupljenost povezana s botaničkim podrijetlom meda (Anonymous, 1999).

2.2.6. MINERALNE TVARI

Mineralne tvari u medu su količinski slabo zastupljene (do 0,2%), no med sadrži čitav niz mineralnih tvari od kojih su neke vrlo važne za pravilan rad ljudskog organizma. Prevladavaju kalcij, fosfor, natrij, kalij, željezo, cink, magnezij, selen, bakar i mangan (Škenderov i Ivanov, 1986). Općenito, tamnije vrste meda su bogatije mineralima. Udjel mineralnih tvari u medu ponajviše ovisi o njegovom botaničkom podrijetlu, ali također i o klimatskim uvjetima i sastavu tla na kojem je rasla medonosna biljka. Karakterističan sastav tla određene regije očituje se u mineralnom sastavu medonosne biljke odnosno mineralnom sastavu njenog nektara i peluda. Također, iz istog razloga, udjel metala prepoznat je kao pokazatelj stupnja onečišćenja okoliša (Vahčić i Matković, 2009).

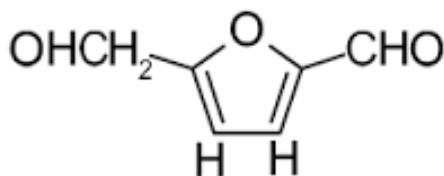
2.2.7. ORGANSKE KISELINE

Med sadrži čitav niz organskih kiselina. Udjel organskih kiselina u medu kreće se u rasponu od 0,17 do 1,17 % prosječno 0,57 % (Krell, 1996). Kiseline prisutne u medu: mravlja, oksalna, maslačna, octena, limunska, vinska, jabučna, piroglutaminska, mliječna, benzojeva, maleinska, glukonska, valerijanska, jantarna, pirogroždana, α -ketoglutarina, glikolna, 2,3-fosfogliceratna. Najzastupljenija je glukonska kiselina koja u medu nastaje iz glukoze djelovanjem

enzima glukoza oksidaze. Veliki broj organskih kiselina u medu nalazi se u obliku estera, a dokazana je i prisutnost anorganskih iona poput fosfata, klorida i sulfata. Neke kiseline se unose u med nektarom i medljikom a neke nastaju i tijekom čuvanja. Zbog povezanosti udjela kiselina u medu sa fermentacijskim procesima, okusom i mirisom (mnoge organske kiseline u medu se nalaze u obliku estera te tako uvelike utječu na miris i okus) te baktericidnim svojstvima meda (niska pH vrijednost inhibira rast mikroorganizama), ukupna kiselost je važan pokazatelj kakvoće meda. Ona se kreće od 8,7-59,5 meq/kg, prosječno 29,1 a osim što ovisi o vrsti meda, povezana je i sa uvjetima skladištenja i temperaturnom obradom meda. pH vrijednost meda kreće se od 3,2 do 6,5. Previsoka kiselost meda uglavnom znači da je med neko vrijeme fermentirao što je rezultiralo pretvorbom alkohola kao produkta fermentacije u organsku kiselinu (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.8. HIDROKSIMETILFURFURAL

Hidroksi-2-furaldehid ili hidroksimetilfurfural je ciklički aldehid (Slika 2.) koji nastaje dehidracijom fruktoze i glukoze u kiselom mediju, a može nastati i u Maillardovim reakcijama (reakcija neenzimatskog posmeđivanja). Hidroksimetilfurfural se dalje razlaže na levulinsku i mravlju kiselinu. Na nastanak hidroksimetilfurfurala utječu: temperatura, vrijeme zagrijavanja, uvjeti skladištenja, uporaba metalne ambalaže, izloženost svjetlosti te kemijske karakteristike koje zavise od biljnog podrijetla meda (pH, ukupna kiselost, aktivitet vode i količina mineralnih tvari). Povišena temperatura i duže vrijeme zagrijavanja povoljno utječu na stvaranje hidroksimetilfurfurala. Međutim, dokazano je da se dužim skladištenjem pri nižim temperaturama i dalje povećava udio hidroksimetilfurfurala, ali manjom brzinom. U tim slučajevima je povećanje količine hidroksimetilfurfurala rezultat Maillardovih reakcija (Vahčić i Matković, 2009).



Slika 2. Strukturna formula hidroksimetilfurfurala

2.2.9. FITOKEMIKALIJE

U kemijskom sastavu meda nalazimo i fitokemikalije koje potječu iz biljaka s kojih su pčele skupljale nektar ili mednu rosu. Dokazano je da mnogi spojevi iz skupine fitokemikalija pozitivno utječu na zdravlje čovjeka. U fitokemikalije ubrajamo antioksidanse i flavonoide.

2.2.9.1. Antioksidansi

Antioksidansi su spojevi koji smanjuju rizik o oksidativnih oštećenja stanica koja nastaju djelovanjem slobodnih radikala. Slobodni radikali su nusproizvodi koji nastaju prilikom metaboliziranja kisika, vrlo su reaktivne molekule koje mijenjaju strukturu drugih molekula poput proteina, lipida, nukleinskih kiselina. Posljedica djelovanja slobodnih radikala je oštećenje stanica koje dalje uzrokuje starenje organizma i zdravstvene probleme. Antioksidansi prisutni u medu, ali i drugim namirnicama, sprečavaju kvarenje uzrokovano oksidativnim promjenama uslijed djelovanja svjetlosti, topline i nekih metala.

Antioksidansi mogu biti:

- a) enzimatski – katalaza, glukoza- oksidaza
- b) neenzimatski – organske kiseline, produkti Maillardovih reakcija, aminokiseline, proteini, flavonoidi, fenoli, vitamin E i C, karotenoidi

Količina antioksidansa, posebice neenzimatskih, prvenstveno ovisi o botaničkom podrijetlu meda (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.9.2. Flavonoidi

Flavonoidi se nalaze u biljkama i povezani su uz proces fotosinteze, pa su tako prisutni u voću, povrću, sjemenkama i cvijeću, ali i u medu. Funkcije flavonoida u biljkama su raznolike kao razvijanje boje koja privlači oprašivače te zaštita od patogenih mikroorganizama i UVB zračenja. U flavonoide spadaju spojevi poput katehina, antocijanidina, proantocijanidina, flavona i flavonola. Osim što imaju antioksidativni učinak, djeluju antimikrobno, inhibiraju razne enzime, imaju citotoksični antitumorni učinak te djeluju kao estrogini (Cushnie i Lamb, 2005). Flavonoidi koji se najčešće nalaze u medu su pinocembrin, apigenin, kamferol,

kvercetin, galangin, krisin, pinobanksin, luteolin i hesperitin. Količina flavonoida u medu može iznositi i do 6000 µg/kg, dok je njihov udio puno veći u peludu (0,5%) i u propolisu (10%). Osim flavonoida, med sadrži i druge fenolne spojeve od kojih se najviše ističu fenolne kiseline poput galne, kumarinske, kafeinske, elaginske i furelične te njihovi esteri. Udjel fenolnih tvari u medu ovisi prvenstveno o njegovom botaničkom podrijetlu (Vahčić i Matković, 2009).

2.3. SVOJSTVA MEDA

Svojstva meda se mogu podijeliti na fizikalna svojstva meda, te na senzorska svojstva. U fizikalna svojstva meda ubrajaju se kristalizacija, viskoznost, higroskopnost, električna vodljivost, optička svojstva, indeks refrakcije i specifična masa. Najvažnija senzorska svojstva meda su boja, okus i miris.

2.3.1. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

Fizikalna svojstva meda su usko povezana sa kemijskim sastavom meda. Zbog razlika u sastavu meda vrijednosti ovih parametara mogu biti specifične i različite (Škenderov i Ivanov, 1986). Pojedini sastojci meda utječu na određeno svojstvo ili istovremeno na nekoliko njih. Dokazano je da o udjelu vode ovisi viskoznost, indeks refrakcije i specifična masa. Optička aktivnost je povezana sa sastavom i udjelom pojedinih ugljikohidrata, dok električna vodljivost prije svega ovisi o udjelu mineralnih tvari (Lazaridou i sur., 2004).

2.3.1.1. Električna vodljivost

Električna vodljivost je karakteristika neke tvari da može provoditi električnu struju. Jedinica za mjerenje je milisimens po centimetru (mS/cm), a mjeri se konduktometrom. Električnu struju u medu provode disocirane kiseline i minerali koji se nalaze u ionskom obliku.

2.3.1.2. Viskoznost

Viskoznost tvari je fizikalna veličina koja predstavlja otpor tekućine prema tečenju. Viskoznost meda ovisi o sadržaju vode. Što je veća relativna gustoća, a manji postotak vode veća je viskoznost meda. Osim vode na viskoznost utječu količina i odnos između monosaharida i oligosaharida te sadržaj proteina. Zbog toga dva meda mogu imati različitu viskoznost iako im je isti postotak vode. Na viskoznost jako utječe temperatura. Viskoznost se smanjuje porastom temperature, a raste s padom temperature (Kezić i sur., 2013).

2.3.1.3. Kristalizacija

Kristalizacija je prirodno svojstvo meda. Med kristalizira jer je prezasićena otopina glukoze. Zato spontano prelazi u stanje ravnoteže kristalizacijom suvišne količine glukoze u otopini. Glukoza gubi vodu (postaje glukoza monohidrat) i prelazi u kristalni oblik (Kezić i sur., 2013). Voda koja je prije bila vezana na glukozu, postaje slobodna tako da se povećava sadržaj vode u nekristaliziranim dijelovima meda. Zbog toga med postaje skloniji fermentaciji i kvarenju. Fruktosa ostaje u tekućem stanju i čini tanak sloj oko kristala glukoze. Med mijenja boju, postaje svjetliji, više nije proziran, a mijenja i okus (Vahčić i Matković, 2009). Brzina kristalizacije ovisi o odnosu udjela glukoze i fruktoze. Ako med sadrži više glukoze u odnosu na fruktozu kristalizacija je brža i nastaju finiji kristali. Obrnuto ako je više fruktoze u odnosu na glukozu kristalizacija je sporija pri čemu nastaju krupni i nepravilni kristali. Kod temperatura iznad 25°C kristalizacija se usporava i zaustavlja, dok se pri temperaturama višim od 30°C počinje događati dekristalizacija meda (Kezić i sur., 2013).

2.3.1.4. Higroskopnost meda

Higroskopnost meda je osobina da u ovisnosti o relativnoj vlažnosti zraka i udjelu vode na sebe privlači ili otpušta vodu. Proces je uvjetovan velikom količinom šećera. Taj proces traje do nastanka ravnoteže (58 % vlažnosti zraka i 17,4 % vode u medu) (Škenderov i Ivanov, 1986). Zbog velike viskoznosti meda gibanje apsorbirane vode s površinskih slojeva u unutrašnjost meda vrlo je sporo tako da

se promjene koje nastaju zbog higroskopnosti očituju uglavnom na površini. Visok udjel fruktoza čini med higroskopnim. Fruktoza je higroskopnija od glukoze i drugih šećera. Higroskopnost je od velikog značaja, kako za pčelare, tako i za potrošače meda jer čuvanjem u vlažnim prostorijama dolazi do povećanja masenog udjela vode u medu. Posljedica je toga da je med podložniji fermentaciji i kvarenju (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.1.5. Optička aktivnost meda

Med posjeduje svojstvo skretanja ravnine polarizirane svjetlosti zbog različitog sastava ugljikohidrata. Od ugljikohidrata koji se nalaze u medu fruktoza skreće ravninu polarizirane svjetlosti ulijevo, a glukoza, svi di- i tri-, te oligosaharidi udesno. Ovo se svojstvo koristi u analitici za razlučivanje meda medljikovca od nekatarnog meda. Optička aktivnost kod nektarnih sorti meda zbog većeg udjela fruktoze je negativna jer zakreće svjetlost ulijevo. Dok je kod meda medljikovca pozitivna zbog većeg udjela ugljikohidrata prije svega melecitoze i erloze te dolazi do zakretanja svjetlosti udesno (Kezić i sur., 2013).

2.3.1.6. Indeks refrakcije

Udjel vode odnosno topljive suhe tvari u medu određuje se mjerenjem indeksa refrakcije. Mjerenje se provodi refraktometrom koji radi na principu loma svjetlosti kad ona prolazi kroz otopinu. Mjerenje se provodi najčešće pri 20°C, a dobiveni rezultati se razlikuju ovisno o temperaturi mjerenja. Budući da se indeksi refrakcije meda razlikuje od onog izmjerenog za otopinu saharoze iste koncentracije moraju se koristiti posebne tablice za tu svrhu (Batinić i Palinić, 2014).

2.3.1.7. Specifična masa

Specifična masa meda predstavlja omjer mase meda prema masi iste količine vode i ovisi prvenstveno o udjelu vode u medu. Tako med s 15 % vode pri 20 °C ima specifičnu masu 1,4350, s 18 % vode ta vrijednost iznosi 1,4171a s 21 % vode specifična masa iznosi 1,397. Specifična masa kvalitetnih vrsta meda veća je

od 1,42. Medonosno bilje od kojeg potječe nektar može lagano utjecati na specifičnu masu meda (Vahčić i Matković, 2009).

2.3.2. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA

Boja, okus i miris su najvažnija senzorska svojstva meda koja najviše ovise o biljnom podrijetlu meda te o uvjetima prerade i čuvanja, a njihova analiza ima značajnu ulogu u definiranju ukupnih svojstva meda (Vahčić, 2008).

2.3.2.1. Boja meda

Boja meda može se razlikovati ovisno o botaničkom podrijetlu (svijetložuta, žuta, smeđa do tamnosmeđa). Izrazito svijetlom bojom skoro bijelo zelenkastom očituje se bagremov, a tamnosmeđom kestenov med. Boja ostalih medova kreće se između te dvije krajnosti. Osim bagremovog meda svijetlom bojom odlikuju se i livadni med i med od djeteline, crvenkastom bojom lipa, tamnožutom vrijesak, jantarnožutom suncokretov med i med uljane repice, kadulja je žućkasto smeđe boje, a medljikovci i heljdin med su tamne boje. Med postaje svjetliji poslije kristalizacije (budući da su kristali glukoze bijeli), ali potamni tijekom čuvanja i to intenzivnije potamni ako se čuva pri višoj temperaturi. Utvrđeno je da postoji veza između boje i kemijskog sastava meda. Boja je određena i udjelom karotenoida (karotin i ksantofil - žuta boja), flavonoida, klorofila, antocijanina (ružičasta boja), tanina (tamna boja) i šećera. Med postaje tamniji pri kondenzaciji proteina i aminokiselina s reducirajućim šećerima (Maillardove reakcije), pri čemu se stvaraju melanoidi kao i uslijed prisustva produkata dobivenih razgradnjom fruktoze. Osim toga, u Maillardove reakcije mogu ući i polifenoli, askorbinska kiselina te drugi karbonilni spojevi koji se mogu naći u medu ovisno o njegovom botaničkom porijeklu. Boja meda je povezana i sa količinom pepela, pogotovo željeza, bakra i mangana. Prozirnost i jasnoća ovisi o količini čestica kao što je pelud. Općenito proljetni je med svjetliji, a kasni ljetni tamniji. Boja meda se najčešće izražava se u milimetrima ljestvice po Pfundu, ili prema klasifikaciji Američkog odjela za poljoprivredu (Vahčić, 2008).



Slika 3. Različite vrste meda poredanog po rastućem intenzitetu obojenja



Slika 4. Med bagrema



Slika 5. Cvjetni med



Slika 6. Livadni med



Slika 7. Med kestena



Slika 8. Šumski med

2.3.2.2. Miris/aroma meda

Med sadržava preko pedeset spojeva koji mu daju miris. Kod monoflornog meda, karakteristike okusa i arome svojstveni su određenoj biljnoj vrsti dok poliflorni med ima neodređen okus i miris. Miris meda u većini slučajeva ovisi o biljci od koje je dobiven. Mirisne tvari su lakohlapljive pa čuvanjem ili zagrijavanjem, miris slabi ili nestaje. Neke vrste meda nemaju specifičan miris, dok neke poput kestena i lavande karakterizira miris po medonosnoj biljci.

Mirisne tvari mogu se podijeliti u tri skupine, u koje spada i hidroksimetilfurfural:

- a) karbonilni spojevi (aldehidi i ketoni) - acetaldehid, propilaldehid, aceton, metiletilketon i drugi
- b) alkoholi - propanol, izopropanol, etanol, butanol, izobutanol, pentol, fenol i drugi
- c) esteri - metilni i etilni spojevi mravlje, octene, propionske, benzojeve i drugih kiselina

Aroma meda potječe od esencijalnih ulja, terpena, aromatičnih aldehida, diacetila, metilacetilkarbamata, hlapljive i nehlapljive kiseline. Svježi med je aromatičniji. Aroma slabi čim med kristalizira jer se eterična ulja uklapaju u kristale. U Maillardovim reakcijama kao produkti razgradnje fenolnih kiselina nastaju aromatski karbonili kao vanilin, anisolaldehid, benzaldehid, fenilacetilaldehid i acetofenon. Oni snažno pridonose aromi meda, a nađeni su u vrlo malim količinama u medu od suncokreta, kestena, naranče, bagrema i eukaliptusa. Istraživanjima hlapljivih sastojaka u medu i nektaru i međusobnim usporedbama, dokazano je da hlapljivih komponenti meda potječe iz biljke iako neke potječu i od samih pčela. Do sada je u medu otkriveno više od šesto različitih hlapljivih komponenata no mnoge od njih još nisu identificirane i kvantificirane. Kako se monoflorni medovi međusobno razlikuju po senzorskim svojstvima pretpostavljeno je da će se analiza hlapljivih spojeva omogućiti njihovu klasifikaciju (Vahčić, 2008).

2.3.2.3. Okus

Sam okus meda povezan je i s mirisom. Punoću i prepoznatljivost okusa čini slatkoća, koja ovisi o udjelu i omjeru glukoze, fruktoze, aminokiselina, eteričnih ulja i organskih kiselina. Tako se okus meda kreće se od slatkog do gorkog. Kako i

miris, tako se i okus meda može promijeniti zagrijavanjem što narušava njegova dobra senzorska svojstva. Nakon fermentacije med poprima kiseli okus. Dakle ukoliko se s medom ne postupa na pravilan način doći će do tamnjenja, i slabljenja arome, mirisa i do pojave nepoželjnih okusa (Vahčić, 2008).

2.4. KONTROLA KVALITETE MEDA

Pravilnikom o medu NN 53/15 je određen kriterij sastava meda kojem mora udovoljavati med koji se stavlja na tržište kao med ili upotrebljava u bilo kojem proizvodu namijenjenom za konzumaciju. Kako bi kvaliteta meda bila u skladu s traženim zahtjevima najmanje što je potrebno odrediti je udio šećera, od koji su najznačajniji glukoza i fruktoza te saharoza, zatim količinu vode u medu, električnu vodljivost meda, slobodnu kiselost, te aktivnost hidrosimetilfurfurala. Ostali parametri važni za kontrolu kvalitete meda koji se mogu određivati su aktivnost dijastaze, te količina tvari netopljivih u vodi.

Tablica 2. Kriteriji sastava meda prema važećem Pravilniku medu NN 53/15 koji su određivani u ovom radu u svrhu kontrole kvalitete meda

| ANALIZIRANI SASTOJCI ILI FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA | PROPISANE KOLIČINE ILI VRIJEDNOSTI |
|--|------------------------------------|
| Količina šećera | |
| a) količina fruktoze i glukoze (zbroj) | |
| • cvjetni med | najmanje 60g/100g |
| a) količina saharoze | |
| • općenito | najviše 5g/100g |
| Količina vode | |
| • općenito | najviše 20% |
| Električna vodljivost | |
| • cvjetni med | najviše 0,8 mS/cm |
| Slobodne kiseline | |
| • općenito | najviše 50 mEq kiseline na 1000g |
| Aktivnost hidrosimetilfurfurala (HMF) | najviše 40 mg/kg |

3. EKSPIREMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. UZORCI MEDA

Za sve uzorke meda napravljena je peludna analiza kako bi se potvrdilo da se radi o cvjetnom medu. U Tablici 3. prikazano je podrijetlo pojedinog uzorka.

Tablica 3. Podrijetlo uzoraka meda

| BROJ UZORKA | PODRIJETLO UZORKA |
|-------------|-------------------|
| 1 | Turopolje |
| 2 | Repišće |
| 3 | Moslavina |
| 4 | Slunj |
| 5 | Sveta Nedjelja |

3.1.2. KORIŠTENE KEMIKALIJE

- acetonitril
- metanol
- standardne otopine pH vrijednosti 4.01, 7.00 i 9.21; Mettler Toledo
- destilirana voda bez CO₂ dobivena kuhanjem, a zatim ohlađena
- otopina 0,1 mol/l natrij hidroksida
- 1%-tna otopina fenolftaleina u etanolu, neutralizirana

priprema: u tikvicu od 100mL odvagati 1g fenolftaleina i otopiti u malo 96% etanola, pa doliti etanol do donjeg meniskusa nominalnog volumena tikvice

- Karezova otopina 1

priprema: otopiti 15 g kalij heksacijanoferata (II) u destiliranoj vodi i dopuniti do 100 ml destiliranom vodom

- Karezova otopina 2

priprema: otopiti 30 g cink acetata, i dopuniti do 100 ml destiliranom vodom

- otopina natrij bisulfita (0,20 g/100g)

priprema: otopiti 0,20 g čvrstog natrij hidrogen sulfita u destiliranoj vodi i razrijediti do 100 ml. Ovu otopinu potrebno je pripremati na dan analize

3.1.3. KORIŠTENI PRIBOR

- tikvica od 50 ml, sa čepom
- vodena kupelj
- pipete
- propipete
- plastične žlice različitih veličina
- konduktometar, Mettler Toledo
- Erlenmeyer tikvice od 100 ml ili laboratorijske čaše od 100 ml
- analitička vaga, Mettler Toledo
- male bočice za uzorke
- kalibrirane tikvice od 100 ml
- 25 ml pipete
- membranski filteri za vodene otopine veličine pora 0,45 μm
- držač membranskih filtera prikladnih za špricu
- magnetna mješalica, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG
- magneti
- HPLC, Shimadzu
- Erlenmeyer tikvica od 250 ml
- vaga, Mettler Toledo
- pH metar, Mettler Toledo
- spektrofotometar, Perkins
- 1 cm kvarcne kivete.
- epruvete
- odmjerne tikvice različitih volumena
- stalak za epruvete
- Vortex mješalica, Stuart
- Filter papir (za opću upotrebu)

3.2. METODE

Analize fizikalno-kemijskih parametara izvršene su prema Harmonised Methods of the International Honey Commission (IHC) iz 2009, koje se temelje na protokolima Bogdanova i suradnika iz 1997.

Mjereni su slijedeći parametri:

1. udio vode - rađeno je prema metodi 1
2. električna provodnost - rađeno je prema metodi 2
3. određivanje ugljikohidrata u medu - odrađeno je prema metodi 7.2.
4. udio hidrosimetilfufuruala- rađeno je prema metodi 5.2.
5. slobodna kiselost meda - odrađeno je prema metodi 4.1.

Metode korištene za određivanje fizikalno-kemijskih parametara meda akreditirane su prema normi HRN EN ISO/IEC 17025:2007.

3.2.1. ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU REFRAKTOMETRIJSKI

Priprema uzorka

Ukoliko je uzorak u tekućem stanju, potrebno ga je samo promiješati pomoću plastične žlice. Kristalizirane uzorke potrebno je zagrijati u vodenoj kupelji na 50°C ($\pm 0,2^\circ\text{C}$) sve dok se ne otope kristali šećera. Nakon zagrijavanja uzorke je potrebno ohladiti na sobnu temperaturu nakon čega je potrebno promiješati sam uzorak radi homogenizacije sastojaka. Tikvice je potrebno čvrsto zatvoriti kako ne bi ulazio zrak.

Postupak određivanja

Neposredno prije analize provjeriti da li je prizma refraktometra suha i čista. Uzorak se stavlja na prizmu refraktometra, odmah nakon homogenizacije, u količini od 0,5 ml pomoću pipete, pazeći da na prizmi ne zaostanu mjehurići zraka. Svaki uzorak ispituje se u paraleli tj. provode se dvije uzastopne analize istog uzorka jednog za drugim. Nakon svakog očitavanja, odnosno provedene analize uzoraka potrebno je pažljivo očistiti med s prizme mekanim upijajućim papirom i

isprati deioniziranom vodom nekoliko puta te pobrisati mekanim upijajućim papirom pazeći pritom da se ne ošteti površina prizme.

3.2.2. ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA

Priprema uzorka

Odvažuje se 20 g bezvodnog meda, čijoj količini odgovara tablična vrijednost, odnosno količina meda potrebnog za pripremu uzorka ovisi o utvrđenom udjelu vode u dotičnom uzorku meda koji se ispituje.

Postupak određivanja

Odvažuje se potrebna količina meda u Erlenmeyer tikvicu od 100 ml ili laboratorijsku čašu i miješanjem otopi u malo deionizirane vode. Nakon što se uzorak otopi ulije se deionizirane vode do oznake tikvice od 100 ml. Zatim se uroni sonda i izmjeri provodnost (pri 20°C otopine). Ako sonda za mjerenje nema temperaturnu kompenzaciju, tada treba zabilježiti izmjerenu vrijednost električne provodnosti i temperaturu otopine pri kojoj se mjeri provodnost i za svaki stupanj iznad 20°C oduzeti 3,2% vrijednosti, a za svaki stupanj ispod 20°C treba dodati 3,2% vrijednosti. Svaki uzorak se ispituje u duplikatu, a kao konačni rezultat uzima se prosječna vrijednost dva uzastopna mjerenja istog uzorka. Nakon svakog mjerenja elektrodu je potrebno isprati destiliranom vodom i obrisati.

3.2.3. ODREĐIVANJE UGLJIKOHIDRATA U MEDU TEKUĆINSKOM KROMATOGRAFIJOM VISOKE DJELOTVORNOSTI (HPLC)

Priprema uzorka

Za pripremu uzorka je potrebno odvagati 5 g meda u odmjernim tikvicama, nadopuniti ih sa 40 ml vode, dobro izmješati pomoću magnetne mješalice, te se otpipetira 25 ml metanola, nakon čega se tikvica nadopunu do oznake sa vodom, i ponovno se promiješa.

Postupak određivanja

Prije pripreme samih uzoraka meda koji se analiziraju potrebno je napraviti standardne otopine koje sadržavaju šećere koji će se određivati. Potrebno je odvagati 2,0 g fruktoze, 1,5 g glukoze i 0,250 g saharoze u posebne odmjerne tikvice koje se zatim dopune sa 25 ml metanola, dobro promiješaju i nadopune do oznake od 100 ml sa destiliranom vodom. Tako pripremljeni uzorci se pomoću šprice na koju je postavljen membranski filter ubrizgaju u bočice za uzorke (10 μ m) i postavljaju na mjesto predviđeno za uzorke u samom HPLC uređaju. Preko membranskih filtera i šprice, uzorci se ubrizgaju u bočice za uzorke nakon čega su spremni za analizu.

Izračun

Šećeri u medu se identificiraju i kvantitativno određuju usporedbom retencijskog vremena i površinama i visinama pikova koji su dobiveni u kromatogramu, s obzirom na standardne otopine šećera koje smo koristili. Vrhovi su identificirani na temelju vremena zadržavanja. Određivanje same količine šećera provodi se pomoću usporedbe visine pikova i površine samih pikova otopina poznatih količina koje se koriste kao standardne otopine sa otopinama samih uzoraka.

Udio šećera računa se prema formuli: $W = \frac{A_1 \times V_1 \times m_1}{A_2 \times V_2 \times m_0} \times 100$, gdje je:

A_1 – površina ispod maksimuma pika danog šećera u otopini uzorka izražen kao jedinice površine

A_2 - površina ispod maksimuma pika standardnog šećera u otopini uzorka izražen kao jedinice površine

V_1 – ukupni volumen otopine u ml

V_2 – ukupni volumen otopine standarda u ml

m_1 - masa standardnih šećera u gramima u ukupnom volumenu standarda V_2

m_0 – masa uzorka u g

Rezultat se izražava zaokruživanjem na tri decimale, a izražavamo ga u gramima na 100 grama uzorka (g/100g).

3.2.4. ODREĐIVANJE SLOBODNE KISELOSTI MEDA TITRACIJOM DO pH 8,3

Priprema uzorka

Na vagi u Erlenmeyer tikvicu od 250 mL odvagati 10 g uzorka i otopiti u 75 ml prokuhane destilirane vode s time da se pH vrijednost prokuhane vode za pripremu uzoraka mora kretati u rasponu od 6,5 do 7,5 pri 25°C. Provjeru vode vršiti svaki puta prije određivanja slobodne kiselosti.

Postupak određivanja

U slučaju kada se mjeri pH do 8,3, Erlenmeyer tikvicu sa pripremljenom otopinom uzorka staviti na magnetnu mješalicu i pri konstantnom miješanju uroniti elektrodu pH metra u otopinu uzorka i vršiti titraciju do promjene pH na 8,3.

Izračun

Slobodna kiselost se izračunava na način: slobodna kiselost = $10 \times V$ (mmol/kg), pri čemu je V - broj utrošenih mL 0,1 mol/l NaOH za neutralizaciju 10 g meda, a izražava se i prikazuje na jedno decimalno mjesto. Uzorci se ispituju u triplikatu, a rezultat se prikazuje kao prosječna vrijednost izražena u mmol/kg.

3.2.5. ODREĐIVANJE HIDROKSIMETILFURFURALA PO WHITE-U

Priprema uzorka

Potrebno je obratiti posebnu pažnju da u uzorak uđe što je manje moguće zraka prilikom miješanja. Uzorak za određivanje sadržaja hidrosimetilfurfurala se ne smije zagrijavati. Precizno izvagati približno 5 g meda u tikvicu volumena 50 ml. Otopiti uzorak u približno 25 ml vode i kvantitativno prenijeti u 50 ml-sku volumetrijsku bocu. Dodati 0,5 ml Karezove otopine I i miješati. Dodati 0,5 ml Karezove otopine II i dopuniti do oznake volumena tikvice (50ml) destiliranom vodom. Filtrirati kroz filter papir, a prvih 10 ml filtrata potrebno je baciti. Otpipetirati

5,0 ml filtrata u svaku od dvije epruvete. U jednu epruvetu dodati 5,0 ml vode i dobro promiješati na Vortex miješalici (otopina uzorka). U drugu epruvetu dodati 5,0 ml 0,2 %-tne otopine natrij bisulfita i dobro promiješati na Vortex miješalici (referentna otopina).

Postupak određivanja

Pripremljeni uzorci stavljaju se u kvarcne kivete. Kivete se umeću u odgovarajuće utore spektrofotometra. Spektrofotometar se podesi tako da očitava asorbanciju otopina pri 284 i 336 nm.

Izračun

Sadržaj hidroksimetilfurfurala (HMF) se izračunava prema slijedećoj formuli:

$HMF [mg/kg] = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5 \times D/W$, gdje je:

A_{284} – vrijednost absorbancije na 284 nm

A_{336} – vrijednost absorbancije na 336 nm

faktor 149,7 – $126 \times 1000 \times 1000 / 16830 \times 10 \times 5$, gdje je :

126 – absorbancija na 284 nm

16830 – molarna absorptivnost HMF-a na 284 nm

1000 – konverzija grama u miligrame

10 – konverzija 5 u 50 ml

1000 – konverzija grama meda u kilograme

5 – teoretska nominalna težina uzorka

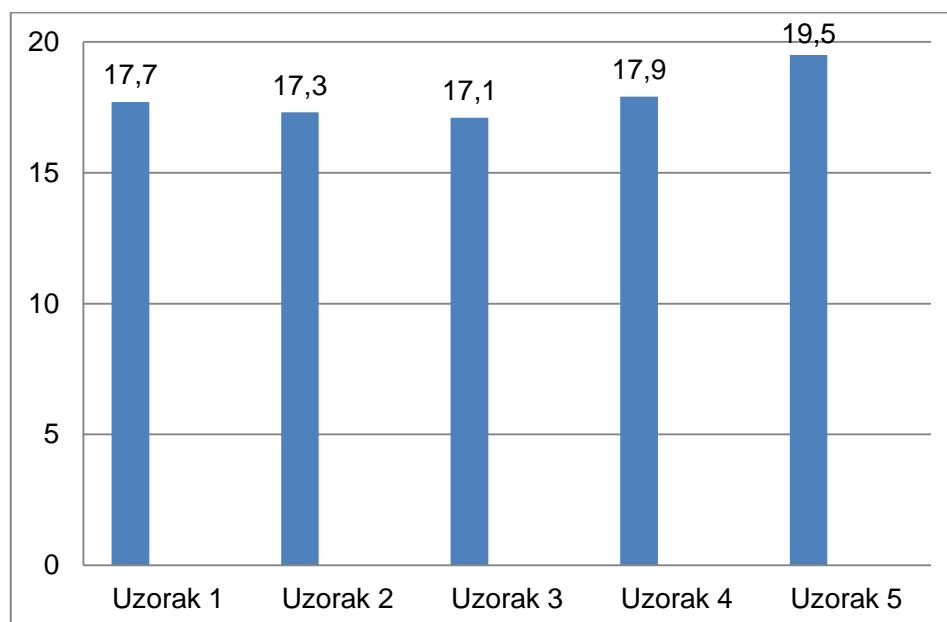
D – faktor razrjeđenja, ukoliko je razrjeđenje potrebno

W – težina u gramima uzorka meda

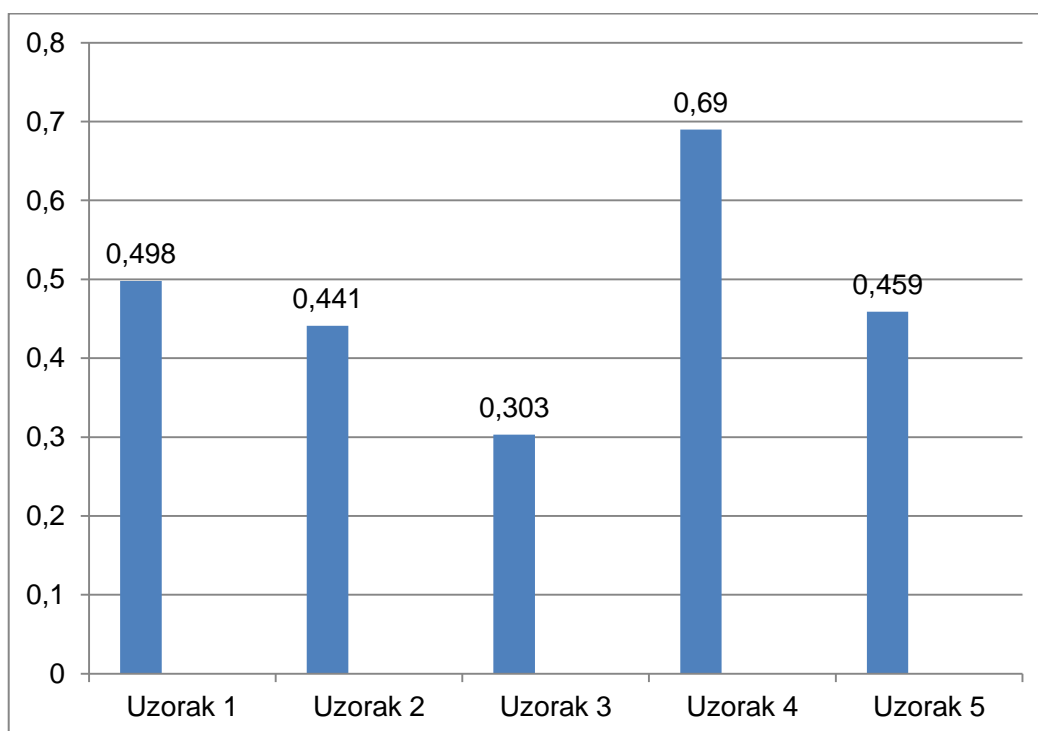
Rezultati se izražavaju u mg/kg zaokruženi na jedno decimalno mjesto.

4. REZULTATI

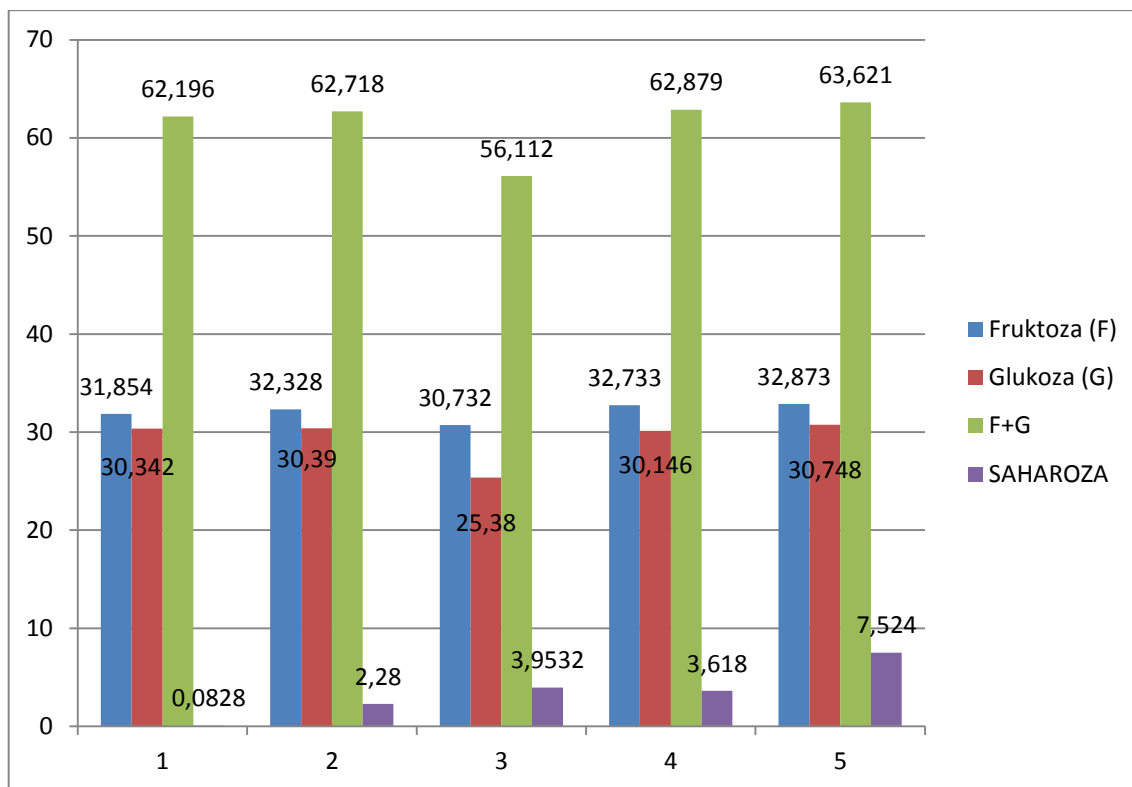
U niže prikazanim grafičkim prikazima prikazani su rezultati ispitivanja fizikalno-kemijskih parametara cvjetnog meda.



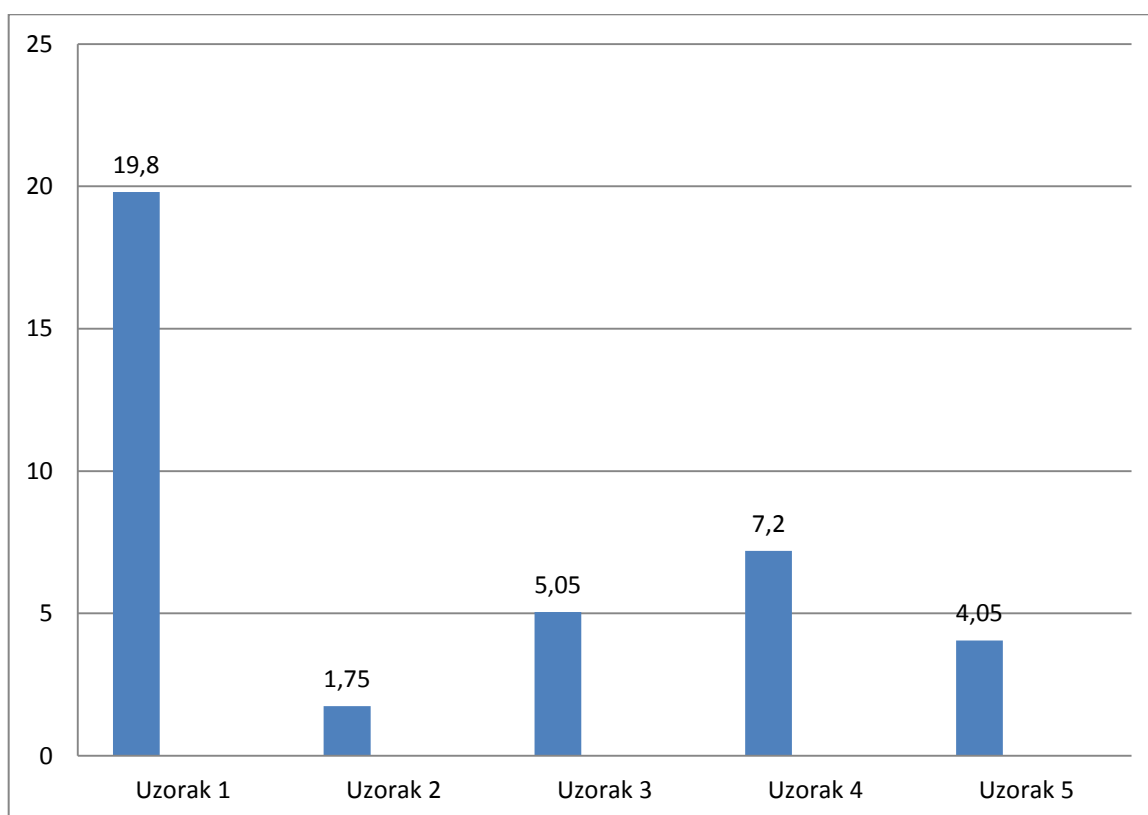
Grafički prikaz 1. Udio vode u medu



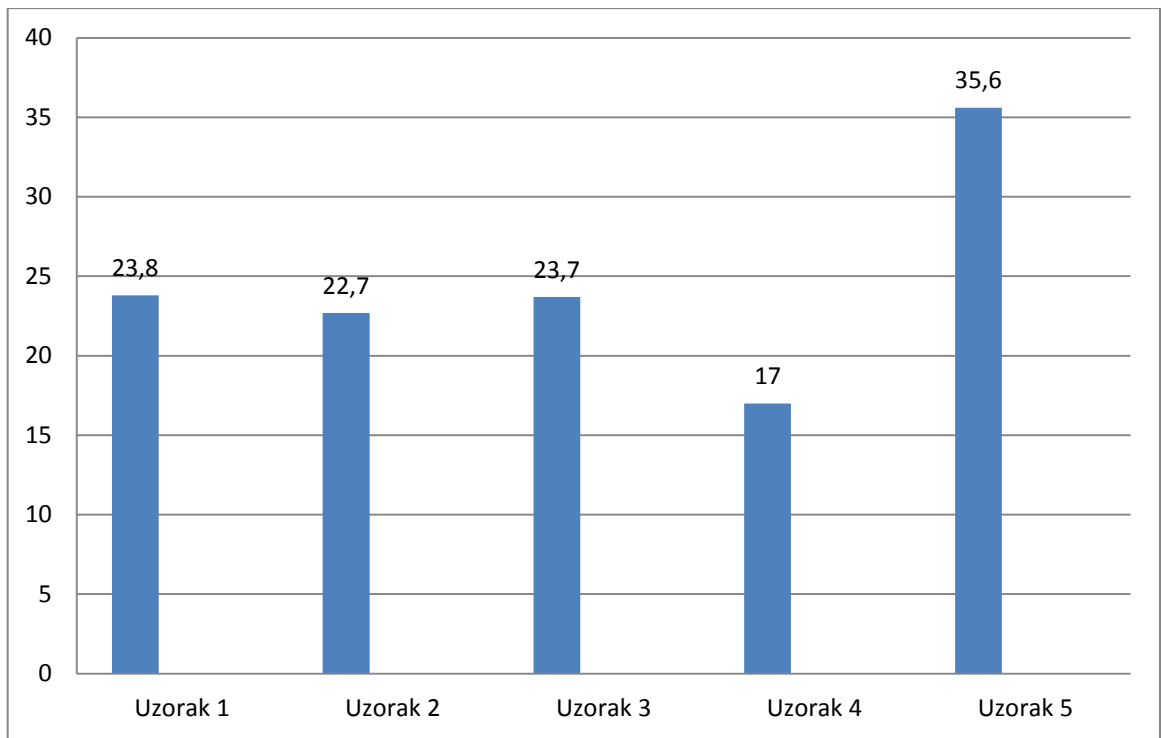
Grafički prikaz 2. Električna provodnost uzoraka meda



Grafički prikaz 3. Udio ugljikohidrata u medu



Grafički prikaz 4. Udio hidrokсиметилфурфурала u medu



Grafički prikaz 5. Slobodna kiselost meda

5. RASPRAVA

Prema važećem Pravilniku o medu NN 53/15 iz dobivenih analiza i već poznatih podataka o cvjetnom medu vidljivo je da su vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara uzoraka u propisanim granicama. Kod uzorka 5 je prisutna veća količina saharoze od dozvoljene što je znak patvorenja meda bilo dodatkom saharoze u med ili je pretjerano sa dohranjivanjem pčela u zimskom periodu. Kod uzorka 3 zbroj udjela fruktoze i glukoze ne prelazi 60g/100 g meda što pak ukazuje na prerano vrcanje meda. Najmanju količinu saharoze ima uzorak 1, dok najveću koja je u propisanim granicama ima uzorak 3. Najmanje fruktoze ima uzorak 3, a najviše uzorak 5. Najmanje glukoze sadrži uzorak 3, a najviše uzorak 5. Podaci o maloj količini hidroksimetilfurfurala pokazuju da su uzorci 2, 3, 4 i 5 ovogodišnji medovi, dok je u uzorku 1 prisutna veća količina hidroksimetilfurfurala koji je u dozvoljenim granicama, ali upućuje na nepravilno skladištenje i/ili na zagrijavanje meda. Udio vode u svim analiziranim uzorcima meda je do 20% pa i u toj točki svi uzorci zadovoljavaju kriterije Pravilnika o medu NN 53/15. Najmanji udio vode je kod uzorka 3, a najveći kod uzorka 5, a prosječni udio vode u uzorcima iznosi 17,9 %. Električna provodnost cvjetnog meda u pravilu ne prelazi preko 0,8 mS/cm što je slučaj i kod ispitivanih uzoraka. Najveća provodnost je prisutna kod uzorka meda 4, dok je najmanja provodnost kod uzorka meda 3. U prijašnjim istraživanjima dokazana je povezanost količine minerala sa električnom provodljivošću meda, tako med koji ima veću električnu provodnost sadrži veće količine minerala. Slobodna kiselost analiziranih medova nije veća od 40 mmol na kg meda. Najveću kiselost ima uzorak 5, dok najmanju kiselost meda ima uzorak 4.

6. ZAKLJUČAK

- određeno je pet fizikalno-kemijskih parametara cvjetnog meda iz kontinentalne Hrvatske
- određivani parametri su: udio vode, električna provodnost, slobodna kiselost, udio ugljikohidrata te udio hidroksimetilfurfurala
- u usporedbi sa važećim Pravilnikom o medu NN 53/15 utvrđeno je da dva od pet uzoraka ne zadovoljavaju propisane kriterije koji su se u oba slučaja odnosili na udio ugljikohidrata
- kod uzorka 3 zbroj udjela fruktoze i glukoze je 56,112 g/100g meda, dok je propisana vrijednost najmanje 60g/100g
- kod uzorka 5 količina saharoze iznosi 7,524 g/100g meda, dok propisana vrijednost iznosi najviše 5g/100g

7. LITERATURA

1. Pravilnik o medu (2015), Zagreb, Narodne novine broj 53 (NN 53/15)
2. KRELL, R. (1996): Value-added products from beekeeping. Ch. 2 FAO Agricultural Services Bulletin No. **124**
3. ŠKENDEROV, S., IVANOV, C. (1986): Pčelinji proizvodi i njihovo korišćenje (preveli Stamenović, B., Ivanova, K., Petrov, J.) Nolit, Beograd
4. VAHČIĆ, N., MATKOVIĆ, D. (2009): Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda, <http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> pristupljeno 20.6.2015.
5. Anonymous, (1999): Composition of honey, <http://www.honey-well.com/composit.html> pristupljeno 15.6.2015
6. BATINIĆ, K., PALINIĆ, D. (2014): Priručnik o medu, Agronomski i prehrambeno tehnološki fakultet, Sveučilište u Mostaru, Suton d.o.o., Široki Brijeg
7. CUSHNIE, T.P.T., LAMB, A.J. (2005) Antimicrobial activity of flavonoids. Int. J. Antimicrob. Ag. **26**, 343-356.
8. LAZARIDOU, A., BILIADERIS, C.G., BACANDRITSOS, N., SABATINI, A. G. (2004): Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys. J. Food Eng. **64**, 9-21.
9. 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, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, 130-157.
10. BELČIĆ, J., KATALINIĆ, J., LOC, D., LONČAREVIĆ, S., PEREDIN, L., ŠIMUNIĆ, F., TOMAŠEC, I. (1979): Pčelarstvo, 4.izd., Nakladni zavod Znanje, Zagreb
11. WHITE, J.W. (1978): Honey composition and properties. Honey advances in food research **24**, 289-374.
12. WHITE, J., KUSHNIR, I., SUBERS, M.H. (1964): Effects of storage and processing temperatures on honey quality. Food Technol. **18**, 153-156

13. SINGHAL, R.S., KULKARNI, P.R., REGE, D.V. (1997): Handbook of indices of food quality. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 358-379
14. SCHEPARTZ, A.I. (1965): The glucose oxidase of honey. Kinetics and stoichiometry of the reaction. *Biochim. Biophys. Acta* **99**, 161-164
15. VAHČIĆ, N. (2008): Značaj senzorske analize u procjeni kvalitete hrvatskih medova, Prehrambeno biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu
<http://www.zzjzpgz.hr/obavijesti/natjecaj2008/Vahcic.pdf> pristupljeno 27.6.2015
16. International Honey Commission www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf pristupljeno 25.5.2015.
17. BOGDANOV, S., MARTIN, P., LULLAMANN, C. (1997): Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie (extra issue)* 1-59
18. Codex Alimentarius Commission (2001). Revised Codex Standard for Honey, Codex STAN 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001).
19. Direktiva vijeća 2001/110/EZ od 20. prosinca 2001. o medu
20. ŠARIĆ, G., MATKOVIĆ, D., HRUŠKAR, M., VAHČIĆ, N. (2008): Characterization and Classification of Croatian Honey by Physicochemical Parameters. *Food Technol. Biotechnol.* **46**, 355-367

8. POPIS SLIKA I TABLICA

1. Slika 1. Prosječan kemijski sastav meda; izvor: obrada autora prema www.honey-well/composit.html
2. Slika 2. Strukturna formula hidroksimetilfurfurala; izvor: Njemačka pčelarska udruga http://www.diehonigmacher.de/kurs3/seite_42500.html pristupljeno 26.6.2015.
3. Slika 3. Različite vrste meda poredanog po rastućem intenzitetu obojenja
Izvor: Pčelinjak <http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> pristupljeno 20.6.2015.
4. Slika 4. Med bagrema; Izvor: Pčelinjak
<http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> pristupljeno 20.6.2015.
5. Slika 5. Cvjetni med; Izvor: Pčelinjak
<http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> pristupljeno 20.6.2015.
6. Slika 6. Livadni med; Izvor: Pčelinjak
<http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> pristupljeno 20.6.2015.
7. Slika 7. Med kestena; Izvor: Pčelinjak
<http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> pristupljeno 20.6.2015.
8. Slika 8. Šumski med; Izvor: Pčelinjak
<http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> pristupljeno 20.6.2015.
9. Tablica 1. Najvažniji enzimi prisutni u medu; Izvor: Pčelinjak
<http://www.pcelinjak.hr/OLD/index.php/Prehrana-i-biotehnologija/kemijske-fizikalne-i-senzorske-znaajke-med.html> pristupljeno 20.6.2015.
10. Tablica 2. Kriteriji sastava meda prema važećem Pravilniku medu NN 53/15 koji su određivani u ovom radu u svrhu kontrole kvalitete meda; Izvor: obrada autora rada prema Pravilniku o medu NN 53/15
11. Tablica 3. Podrijetlo uzoraka med; Izvor: autor rada