

Fizikalno-kemijske karakteristike različitih vrsta meda hrvatskog i slovenskog podrijetla

Gjuračić, Dijana

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

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:128:069454>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-20**



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 REPOZITORIJ

Veleučilište u Karlovcu
Prehrambena tehnologija
Usmjerenje: prerada mlijeka

Dijana Gjuračić

**Fizikalno kemijske karakteristike različitih vrsta meda hrvatskog
i slovenskog podrijetla**

Završni rad

Karlovac, rujan 2016

Veleučilište u Karlovcu
Prehrambena tehnologija
Usmjerenje: prerada mlijeka

Dijana Gjuračić

**Fizikalno kemijske karakteristike različitih vrsta meda hrvatskog
i slovenskog podrijetla**

Završni rad

Mentor: Ines Cindrić, dipl. ing.

Matični broj studenta: 0314613017

Karlovac, rujan 2016

SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je utvrditi razlike u fizikalno-kemijskim parametrima između hrvatskog i slovenskog meda. Analiza je provedena na jedanaest uzoraka meda iz 2016. godine, a analiziran je cvjetni med, bagremov med, šumski med i kestenov med. Sve analize provedene su u sklopu projekta Biotehnološkog fakulteta u Ljubljani.

Određeni su slijedeći fizikalno-kemijski parametri: udio vode, električna provodnost, slobodna kiselost, laktonska kiselost, ukupna kiselost, sadržaj prolina te aktivnost dijastaze. Analizom je utvrđeno da svi uzorci zadovoljavaju Pravilnik o medu (NN 53/15) u sadržaju vode, vrijednosti električne provodnosti, sadržaju slobodnih kiselina i sadržaju prolina, a samo uzorak bagremovog meda iz Slovenije ne zadovoljava u aktivnosti dijastaze. S obzirom na geografsko podrijetlo meda, najveću sličnost pokazali su uzorci cvjetnog i kestenovog meda, malo manja sličnost u fizikalno-kemijskim parametrima utvrđena je kod šumskog meda, a najmanju sličnost pokazali su uzorci bagremovog meda.

Ključne riječi: fizikalno-kemijski parametri meda, Hrvatska, Slovenija

ABSTRACT

The aim of this study was to determine differences in the physico-chemical parameters between the Croatian and Slovenian honey. The analysis was conducted on eleven samples of honey from 2016. honeys that have been analyzed are: flower honey, acacia honey, forest honey and chestnut honey. All analyzes were conducted as part of project on University of Ljubljana, Biotechnology department.

Following physico-chemical parameters were determined: water content, electrical conductivity, free acidity, lactic acidity, total acidity, content of proline and diastase activity. The analysis showed that all samples meet the Ordinance on honey (NN 53/15) in the water content, the value of the electrical conductivity, the content of free acid and proline content, and only a sample of acacia honey from Slovenia does not meet the activity of diastase. Due to the geographical origin of honey, the greatest similarity showed samples of floral and chestnut honey, a little less similarity in the physico-chemical parameters was found in the samples of forest honey, and the lowest similarity showed samples of acacia honey.

Keywords: physico-chemical parameters of honey, Croatia, Slovenia

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO	3
2.1.	MED	4
2.1.1.	DEFINICIJA MEDA	4
2.1.2.	PODJELA MEDA	5
2.2.	KEMIJSKI SASTAV MEDA	5
2.2.1.	UGLJIKOHIDRATI	5
2.2.2.	VODA	6
2.2.3.	ORGANSKE KISELINE	7
2.2.4.	PROTEINI I AMINOKISELINE	7
2.2.5.	ENZIMI	8
2.2.6.	MINERALNE TVARI I VITAMINI	9
2.2.7.	FENOLNI SPOJEVI	9
2.3.	KONTROLA KVALITETE MEDA	10
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1.	MATERIJALI	13
3.1.1.	UZORCI MEDA	13
3.1.2.	KORIŠTEN PRIBOR	14
3.1.3.	KORIŠTENE KEMIJSKE TVARI	15
3.2.	METODE RADA	16
3.2.1.	REFRAKTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE VODE U MEDU	16
3.2.2.	ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA	17
3.2.3.	ODREĐIVANJE LAKTONA TE SLOBODNIH I UKUPNIH KISELINA, TITRACIJOM DO pH 8,3	18
3.2.4.	ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI DIJASTAZE PO SCHADE-u	19
3.2.5.	ODREĐIVANJE SADRŽAJA PROLINA U MEDU	20
4.	REZULTATI	22
5.	RASPRAVA	27
6.	ZAKLJUČAK	30
7.	LITERATURA	32
8.	PRILOZI	35

9. POPIS PRILOGA	44
-------------------------------	-----------

1. UVOD

Med je prirodni proizvod koji je sastavljen od različitih kemijskih spojeva. Njegov sastav i njegova svojstva mijenjaju se s obzirom na botaničko podrijetlo, geografsko podrijetlo, sezonu, okolinu, tretman pčela (od strane pčelara) te s obzirom na način skladištenja. Zbog svih tih faktora nemoguće je za očekivati da će npr. cvjetni med iz Hrvatske biti u potpunosti isti kao cvjetni med iz Slovenije. Da bi neki med bio deklariran kao cvjetni med on mora zadovoljiti određene kriterije. Pošto su i Slovenija i Hrvatska članice Europske unije ti kriteriji su jednaki. Stoga se ovom analizom, tj. usporedbom fizikalno-kemijskih parametara, očekuju slični rezultati bez obzira na geografsko podrijetlo meda.

Kakvoća meda u Sloveniji regulirana je Pravilnikom o medu („Uradni list, št. 4/2011“), a u Hrvatskoj Pravilnikom o medu („NN 053/2015“). Oba dva pravilnika usklađena su sa europskim zakonodavstvom; Direktiva vijeća 2001/110/EZ. Svrha tih zakona je utvrđivanje identiteta i minimalne kakvoće meda. Također ti propisi uzimaju u obzir senzorska i fizikalno-kemijska svojstva meda postavljanjem određene boje za određenu vrstu meda i minimalnog i maksimalnog iznosa određenih parametara. S obzirom na zrelost, određuje se sadržaj šećera i vlage, za čistoću određuje se sadržaj pepela, električna vodljivost i netopive krutine u vodi te za dokazivanje prekomjernog zagrijavanja te predugog i neadekvatnog skladištenja određuje se sadržaj hidroksimetilfurfurala (HMF), kiselost i aktivnost diastaze.

Cilj ovog rada bio je odrediti fizikalno-kemijske parametre slovenskog i hrvatskog meda prvenstveno radi dokazivanja da svojom kvalitetom zadovoljavaju Pravilnik o medu („NN 053/2015“) i radi usporedbe meda s obzirom na geografsko podrijetlo.

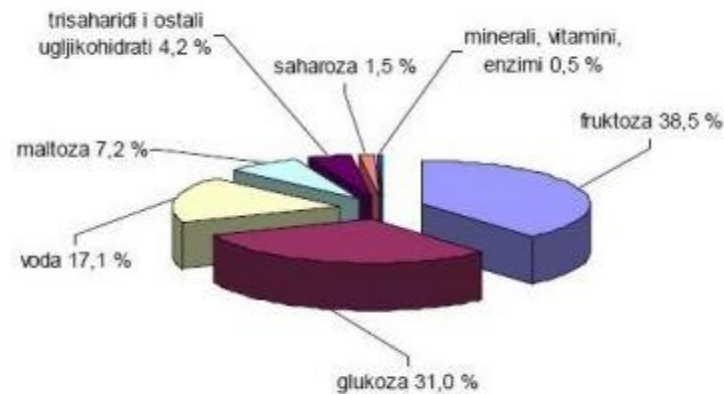
2. TEORIJSKI DIO

2.1. MED

2.1.1. DEFINICIJA MEDA

Med je slatka tvar koju pčele izrađuju tako da skupljaju sokove nektarija ili/i druge slatke sokove koji se nađu na živim dijelovima biljke, obogate ju tvarima svojega tijela, u tijelu je prerade, spreme u saće i puste da zori (Belčić i sur., 1979). Prema Pravilniku, 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 uglavnom sastoji od različitih šećera, pretežno fruktoze i glukoze, i vode, a osim šećera i vode on još sadrži minerale, proteine (enzime), vitamine, organske kiseline, fenolne spojeve i hlapive komponente. Zbog velikog broja tih manjih komponenti koje u med dolaze iz nektara ili od samih pčela, med posjeduje različite karakteristike.



Slika 1. Kemijski sastav meda

(Izvor: https://www.google.hr/search?q=KEMIJSKI+SASTAV+MEDA&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwias8vErfjOAhWF_ywKHYYaBTkQ_AUICCGb&biw=1366&bih=667#imgc=gyjydgahRD0ywm%3A)

2.1.2. PODJELA MEDA

Med se može razvrstati na dva načina: prema izvoru iz kojeg je dobiven i prema načinu na koji je dobiven (Belčić i sur., 1979).

Prema izvoru iz kojeg je dobiven med može biti cvjetni (nektarni) i med medljikovac (medun). Cvjetni med je med dobiven od nektara biljke (Pravilnik o medu, NN 53/15). On u većem dijelu potječe od cvijeća raznih biljaka, a u manjem dijelu iz tzv. izvancvjetnih nektarija (npr. grahorice). Dijeli se prema biljci s koje potječe, pa tako npr. postoji bagremov med, kestenov med, lipov med, ružmarinov med itd. Medljikovac je med dobiven uglavnom od izlučevina kukaca (*Hemiptera*) koji žive na živim dijelovima biljaka ili od sekreta živih dijelova biljaka (Pravilnik o medu NN 53/15). I meda medljikovca ima više vrsta pa tako npr. postoji medljikovac od vrbove medljike, hrastove medljike, bukove medljike itd.

Prema načinu na koji je med dobiven, med se dijeli na med u saću, med sa saćom ili med s dijelovima saća, cijeđeni med, vrcani med, prešani med i filtrirani med.



Slika 2. Boja meda s obzirom na vrstu (redom: bagrem, cvjetni, šumski i kestenov med)

(Izvor: autor rada)

2.2. KEMIJSKI SASTAV MEDA

2.2.1. UGLJIKOHIDRATI

Ugljikohidrati, odnosno šećeri, glavni su sastojci meda koji zauzimaju 73-83% od ukupne mase meda od čega 85% ukupnih ugljikohidrata zauzimaju najzastupljeniji šećeri u

medu: glukoza i fruktoza. Pored jednostavnih šećera med sadrži i disaharide poput saharoze, maltoze, izomaltoze, turanoze i nigeroze te nešto malo trisaharida i oligosaharida. Disaharidi i trisaharidi poput saharoze i maltotrioze enzimi u medu hidroliziraju na jednostavnije šećere, monosaharide. Takav sastav med čini koncentriranom otopinom šećera što rezultira karakterističnim fizikalnim svojstvima meda poput viskoznosti, gustoće, kristalizacije, higroskopnosti i otpornosti na neke vrste kvarenja. Sastav šećera najviše ovisi o biljnom i geografskom podrijetlu meda te klimi, preradi i skladištenju.

Dužim i neadekvatnim skladištenjem, ali i neadekvatnom preradom, u medu može doći do kemijskih ali i fizikalnih promjena kao što je npr. tamnija boja meda ili promjena u okusu meda. Primjer kemijske promjene je nastajanje neželjenih kemijskih spojeva poput furana. Furani nastaju raspadom pentoza i heksoza ukoliko se med zagrijava ili skladišti na duže vrijeme. Glavni furani koji nastaju su furfural (raspadom pentoza) i 5-hidroksi metilfurfural (raspadom heksoza). To su glavni produkti razgradnje šećera u medu i njihova prisutnost povezana je sa neenzimatskim reakcijama posmeđivanja (Maillard reakcije). Zbog toga se ti furani koriste kao indikatori za toplinsku obradu meda. Osim spomenutih furana, razgradnjom šećera mogu nastati i drugi spojevi poput 2-acetil furana te maltola i izomaltola. Ti spojevi nastaju kada je med izložen toplini uz prisutnost aminokiselina pri čemu dolazi do promjene boje, mirisa i okusa meda.

2.2.2. VODA

Voda je drugi najzastupljeniji sastojak meda poslije ugljikohidrata s udjelom između 13 i 25 %. Količina vode u medu predstavlja glavni parametar stabilnosti meda da ne kristalizira i ne fermentira, a ovisi o raznim čimbenicima poput biljnog podrijetla meda, tehnike obrade te uvjeta skladištenja. Postotak vlage u medu može varirati u područjima s visokom relativnom vlagom zraka, ili ovisno o godišnjem dobu, jer će med biti podložniji fermentaciji u kišnoj sezoni, nego u suhoj sezoni. Vлага u medu također se može povećati tijekom procesa obrade, kao i prilikom neadekvatnog skladištenja, pošto je med higroskopan i upija vlagu iz atmosfere.

Niski postotak vlage štiti med od mikrobiološke aktivnosti i zbog toga se med može očuvati na duže vrijeme. Općenito što je sadržaj vode u medu veći, veća je vjerojatnost da će doći do fermentacije, izazvane osmofilnim kvascima (*Saccharomyces spp.*). Fermentacijom dolazi do kemijskih promjena u medu i promjena u organoleptičkim svojstvima meda. Zbog

toga se Pravilnikom o medu ograničava sadržaj vode u medu na najviše 20% jer se smatra da do fermentacije teže dolazi ukoliko je sadržaj vode u medu ispod 20%, ali ta mogućnost se ne može potpuno isključiti čak ni kod sadržaja vode ispod 17,1%, jer na početak procesa fermentacije utječe i količina kvasaca u medu, temperatura čuvanja meda i raspodjela vode nakon kristalizacije meda (Vahčić i Matković, 2011).

2.2.3. ORGANSKE KISELINE

Kiseline u medu čine manje od 0,5% suhe tvari, ali unatoč tome doprinose mirisu, okusu i mikrobiološkoj stabilnosti meda. Također se koriste za dokazivanje biljnog i geografskog podrijetla meda. Organske kiseline nastaju iz šećera preko enzima koje izlučuju pčele kada pretvaraju nektar u med ili pomoću enzima koji dolaze direktno iz nektara. Neke od prisutnih organskih kiselina u medu su: asparginska kiselina, maslačna, octena, limunska, mravlja, glukonska, jabučna, propionska i oksalna. Dominantna među njima je glukonska kiselina. Njena prisutnost u medu potječe od glukoza oksidaze. Osim glukonske kiseline, u medu je u većoj količini prisutna i limunska kiselina, a koncentracija tih dviju kiselina koristi se za identifikaciju cvjetnog meda i medljike (razlike između njih). Organske kiseline imaju sposobnost građenja helata sa metalnim ionima i time poboljšavaju aktivnost drugih antioksidansa u medu, kao što su fenolne komponente. Također one doprinose organoleptičkim svojstvima meda, jer mnoge organske kiseline se u medu nalaze u obliku estera, i utječu na miris i okus meda.

Ukupna kiselost je važan pokazatelj kakvoće meda zbog njegove povezanosti sa fermentacijskim procesima, okusom i mirisom te baktericidnim svojstvima meda (Vahčić i Matković, 2011).

2.2.4. PROTEINI I AMINOKISELINE

Količina ukupnih proteina u medu iznosi 0 – 1,7%, a taj udio varira s obzirom na vrstu pčela. Proteini i aminokiseline u medu potječu od biljnih i životinjskih izvora. Uglavnom potječu od žlijezda slinovnica kojima pčele u mednom želucu prerađuju nektar i medljiku u

med. Drugi mogući izvori su nektar, koji sadrži minimalne količine proteina, i pelud (cvjetni prah) koji je bogat proteinima (10 – 35%), ali je njegova količina u medu neznatna.

Osim vezanih u obliku proteina, med sadrži i slobodne aminokiseline. Aminokiseline potječu uglavnom iz peluda, iako jedan dio dodaju i pčele tijekom prerade nektara. U medu je utvrđeno prisutstvo 26 aminokiselina, esencijalnih i neesencijalnih, a najzastupljenija aminokiselina u medu je prolin.

U medu, prolin zauzima ukupno 50-85% od svih aminokiselina, a njegov je sadržaj kriterij za procjenu kvalitete meda, te u nekim slučajevima služi i kao kriterij za procjenu zrelosti meda, kao i pokazatelj otkrivanja šećernog patvorenja. Sadržaj prolina nije zakonski obavezan parametar kvalitete meda, ali se u nekim laboratorijima koristi za kontrolu autentičnosti meda. Smatra se da sadržaj prolina u zreлом, autentičnom medu mora biti veći od 180 mg/kg (Bogdanov, 2009).

2.2.5. ENZIMI

Mali dio proteina u medu čine enzimi, kao što su invertaze, glukozidaze, katalaze, kisele fosfataze, dijastaze i glukoza oksidaze. Neke enzime u med dodaju pčele prilikom prerade nektara dok neki potječu iz peludi, nektara ili čak ponekad kvasaca i bakterija koje mogu biti prisutne u medu (White i sur., 1964). Enzimi su vrlo značajne komponente meda jer se njihova aktivnost smatra pokazateljem kakvoće, stupnja zagrijavanja i trajnosti te čuvanja meda (Vahčić i Matković, 2011).

Dijastaze su najznačajniji enzimi u medu koji se sastoje od α -amilaze, koja razlaže škrob na dekstrine i od β -amilaze koja ga razlaže na maltozu. Osjetljivi su na toplinu (termolabilni su) i time ukazuju na pregrijavanje proizvoda i stupanj očuvanosti. Zbog toga se aktivnost dijastaze uz sadržaj hidroksimetilfurfurala koristi kao pokazatelj kvalitete, stupnja zagrijavanja te uvjeta skladištenja meda (Vahčić i Matković, 2011). Aktivnost dijastaze odgovara aktivnošću enzima prisutih u 1 g meda, koji mogu hidrolizirati 0.01 g škroba u 1 satu pri 40 °C, a prikazuje se u obliku dijastaznog broja u Göthe jedinicama.

U tretmanima toplinom, pogotovo onima koji uključuju visoke temperature i kratko vrijeme, ne mora doći do uništenja enzima već može doći do reverzibilne inaktivacije. Stoga je

moguće da med koji je tretiran na visokoj temperaturi ne pokazuje značajno smanjenje količine enzima jer može doći do oporavka aktivnosti diastaze nakon zagrijavanja.

2.2.6. MINERALNE TVARI I VITAMINI

Sadržaj mineralnih tvari u medu kreće se u rasponu od 0,04% kod svjetlog meda do 0,2% kod tamnog meda. Dokazano je da su tamnije vrste meda bogatije mineralnim tvarima nego svjetlije, a najbogatiji mineralnim tvarima je medljikovac i šumski med (White i Doner, 1980). Zastupljene mineralne tvari u medu su kalij, kalcij, natrij, fosfor, magnezij, sumpor, željezo, bakar, mangan, aluminijski, kobalt, antimon, olovo i klor. Sastav meda odražava kemijska svojstva biljaka iz kojih pčele sakupljaju svoju hranu, tako da je sadržaj elemenata u tragovima koji su prisutni u medu ovisan o vrsti tla iz kojeg potječu biljke i nektar, te može dati informacije o biljnom podrijetlu određenog meda. Stoga je sadržaj mineralnih tvari u medu indikator geografskog te biljnog podrijetla meda i zagađenosti okoliša iz kojeg med potječe.

Vitamina u medu ima u malim količinama koje su nedovoljne za potrebe ljudskog organizma. Zastupljeni su C vitamin i neki vitamini B kompleksa (riboflavin, pantotenska kiselina, piridoksin, biotin, nikotinska kiselina), te mala količina vitamina K te E vitamina. Količina vitamina u medu ovisi o biljci s koje pčele sakupljaju nektar, zrelosti meda, peludi i uvjetima skladištenja (Tucak i sur., 2004.). Najveći izvor vitamina su peludna zrnca. Filtracijom dolazi do smanjenja sadržaja vitamina zbog skoro potpunog uklanjanja peluda. Još jedan faktor koji uzrokuje gubitak vitamina je oksidacija askorbinske kiseline sa vodikovim peroksidom (nastalim iz glukoza oksidaze).

2.2.7. FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi su spojevi koji imaju aromatski prsten sa jednom ili više hidroksilnih skupina u strukturi, što može varirati od jednostavne do složene molekule fenolnog polimera velike molekularne mase. Dijele se na ne-flavonoide (fenolne kiseline) i flavonoide (flavoni, flavonoli, flavanona, flavanola, antocijanidini, izoflavoni i halkoni). Ti spojevi djeluju kao antioksidansi, uklanjaju slobodne radikale i inhibiraju oksidaciju lipida, a u medu se koriste kao indikator za biljno podrijetlo meda.

Glavni funkcionalni sastojci meda su flavonoidi. Oni značajno doprinose ukupnom antioksidativnom djelovanju meda, čime povoljno djeluju i na zdravlje ljudi. Najčešći flavonoidi u medu su pinocembrin, apigenin, kamferol, kvercetin, galangin, krisin, pinobanksin, luteolin i hesperitin. Količina flavonoida u medu može iznositi do 6000 µg/kg, dok je njihov sadržaj veći u peludu (0,5%) i u propolisu (10%) (Tomas-Barberan i sur., 2001). Med sadrži i fenolne kiseline koje se mogu podijeliti na dvije grupe: hidroksi-benzojeve kiseline (galna i elaginska kiselina) i hidroksi-cinaminske kiseline (kofeinska, ferulna, p-kumarinska i sinapinska kiselina). Obje grupe su zastupljene u medu, kao i njihovi esteri.

Sadržaj fenola u medu ima značajan utjecaj na boju meda. Dokazano je da tamniji med ima više fenola od svjetlijeg meda.

2.3. KONTROLA KVALITETE MEDA

Pravilnik o medu NN 53/15 propisuje zahtjeve kakvoće kojima mora udovoljavati med u proizvodnji i stavljanju na tržište (Pravilnik o medu NN 53/15). Pravilnikom je propisano utvrđivanje slijedećih parametara: količina šećera u koju ulaze zbroj količine fruktoze i glukoze te količina saharoze u medu, zatim udio vode u medu, količina netopljivih tvari u vodi, električna provodnost, slobodne kiseline, aktivnost dijastaze te količina hidroksimetilfurfurala (HMF).

Određivanje sadržaja fruktoze i glukoze važno je radi predviđanja tendencije kristalizacije meda, a sadržaj saharoze važan je pokazatelj mogućeg patvorenja meda, dohranjivanja pčela (šećernim sirupima) te direktnog dodavanja šećera u med (radi povećanja prinosa meda).

Količina vode u medu pokazuje stabilnost meda i sposobnost meda da se odupre kvarenju (kvasci), jer što je veći udio vode u medu to je veća vjerojatnost da će med fermentirati. Količina vode u medu određuje se uz pomoć refraktometra, uređaja koji radi na principu loma svjetlosti kada prolazi kroz tekućinu. Otklon svjetlosti pokazuje stupanj gustoće šećera u medu (Belčić i sur., 1990).

Električna provodnost je kriterij kvalitete meda koji služi za određivanje biljnog podrijetla meda, a često se koristi i za razlikovanje cvjetnog meda od meda medljikovca. Sama provodnost ovisi o količini pepela u medu i o kiselosti meda jer što je veći njihov sadržaj biti će veća i električna provodnost.

Sadržaj pepela je parametar kvalitete meda kojim se određuje sadržaj mineralnih tvari u medu koji može biti pokazatelj onečišćenja okoliša i geografskog podrijetla meda.

Slobodna kiselost je važan pokazatelj pada kvalitete meda. Veće vrijednosti od dopuštenih mogu biti pokazatelj fermentacije šećera u organske kiseline. Veća kiselost također može upućivati na visok udio mineralnih tvari u medu. Također se u tu svrhu određuje i pH meda. Iako pH granica nije zadana, od strane regulatornih odbora, smatra se da pH meda mora biti negdje između 3,4 i 6,1.

Aktivnost dijastaze i količina HMF-a u medu pokazatelj je prekomjernog zagrijavanja meda tokom prerade meda (pri čemu dolazi do gubitka/inhibicije enzima) i dugog skladištenja meda (pri čemu dolazi do povećanja količine HMF).

U svrhu određivanja kvalitete meda i dokazivanja patvorenja meda mogu se još provesti analize određivanja količine prolina te određivanje specifičnog kuta zakretanja svjetlosti. Sadržaj prolina pokazuje zrelost meda i ponekad patvorenje meda te se smatra da sadržaj prolina u zreloom, autentičnom medu mora biti veći od 180 mg/kg (Bogdanov, 2009). Specifičnim kutem zakretanja određuje se patvorenje meda jer otopina meda postaje optički desno aktivna jer su otopina šećera i glukoze optički desno aktivni za razliku od prirodnog cvjetnog meda koji je optički lijevo aktivan.

Tablica 1. Dopuštene količine određenih fizikalno-kemijskih parametara prema Pravilniku o medu NN 53/15

PARAMETAR		ZADANE VRIJEDNOSTI
KOLIINA ŠEĆERA	fruktoza+glukoza	najmanje 60 g/100 g
	saharoza	najviše 5 g/100 g
KOLIČINA VODE		najviše 20%
KOLIČINA TVARI NETOPLJIVIH U VODI		najviše 0,1 g/100 g
ELEKTRIČNA PROVODNOST		najviše 0,8 mS/cm
SLOBODNE KISELINE		najviše 50 mEq kiseline na 1000 g
AKTIVNOST DIJASTAZE		najmanje 8 DN
KOLIČINA HMF		najviše 40 mg/kg

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. UZORCI MEDA

Ispitano je 11 uzoraka meda različitog geografskog podrijetla od kojih je 6 uzoraka podrijetlom iz Hrvatske, a 5 uzoraka podrijetlom iz Slovenije. Svi uzorci dobiveni su od lokalnih pčelara. Vrste meda koje su bile analizirane su cvjetni med, bagremov med, kestenov med i šumski med.

Tablica 2. Oznake i podrijetlo uzoraka

VRSTA MEDA I PODRIJETLO	OZNAKA UZORKA
Bagremov med, Zagrebačka županija, Hrvatska	HR-B1
Bagremov med, Zagrebačka županija, Hrvatska	HR-B2
Bagremov med, Primorska, Slovenija	SLO-B1
Cvjetni med, Zagrebačka županija, Hrvatska	HR-C1
Cvjetni med, Zagrebačka županija, Hrvatska	HR-C2
Cvjetni med, Dolenjska, Slovenija	SLO-C1
Cvjetni med, Dolenjska, Slovenija	SLO-C2
Kestenov med, Ličko-senjska županija, Hrvatska	HR-K1
Kestenov med, Podravska, Slovenija	SLO-K1
Šumski med, Ličko-senjska županija, Hrvatska	HR-Š1
Šumski med, Osrednjeslovenska, Slovenija	SLO-Š1



Slika 3. Bagremov med

(Izvor: autor rada)



Slika 4. Šumski med
(Izvor: autor rada)



Slika 5. Kestenov med
(Izvor: autor rada)



Slika 6. Cvjetni med
(Izvor: autor rada)

3.1.2. KORIŠTEN PRIBOR

- ručni optički refraktometar,
- čaša, 10, 50, 100 ml,
- konduktometar s termometrom, ECTestr 11 (dual range),
- odmjerna tikvica, 50, 100 ml,
- pipeta, 40 ml,
- papirnati ubrusi,
- vaga,
- žličica,
- pH metar MA 5736, staklena elektroda 4581 (Metrel, Slovenija),

- magnetna mješalica i magnet,
- Erlenmeyer tikvica, 250 ml,
- automatske birete,
- automatske pipete,
- vodena kupelj, $40,0 \pm 0,2$ °C, $70,0 \pm 0,2$ °C,
- štoperica,
- stalak s epruvetama,
- Vortex mješalica,
- čepovi za epruvete

3.1.3. KORIŠTENE KEMIKALIJE

- klorovodična kiselina, HCl, 0,05 M,
- natrijev hidroksid, NaOH, 0,05 M,
- otopine pufera (pH 4 i pH 7),
- natrijev klorid, NaCl, 0,5 M – 7,25 g NaCl (s) kvantitativno se pomoću prokuhane destilirane vode prenese u tikvicu od 250 ml i nadopuni s prokuhanom vodom do oznake,
- acetatni pufer, pH 5,3 – 43,5 g CH₃COONa otopi se u destiliranoj vodi u odmjerne tikvici od 250 ml, otopini se doda 5 ml ledene CH₃COOH i nadopuni se destiliranom vodom do oznake,
- matična otopina joda, I₂, 0,07 M – 8,8 g joda pomiješa se sa 22 g KI te otopi u 40 ml destilirane vode. Otopina se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 1 L i nadopuni destiliranom vodom do oznake,
- dnevna otopina joda, I₂, 0,0007 M – 20,0 g KI otopi se u 40 ml destilirane vode. Otopina se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 500 ml, doda se 2 ml matične otopine joda i nadopuni se destiliranom vodom do oznake,
- dnevna otopina škroba – 2,0 g škroba ekvivalentno bezvodnom škrobu otopi se u destiliranoj vodi. Otopina se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 ml i zagrije te pusti da vrije 3 minute. Otopina se zatim ohladi na sobnu temperaturu i nadopuni destiliranom vodom do oznake,
- 3% otopina ninhidrina – 3,0 g ninhidrina otopi se u 100 ml etilen glikol monometil eteru,

- standardna otopina prolina, 0,8 mg/ml – 40 mg osušenog prolina razrijedi se s destiliranom vodom do 50 ml,
- otopina prolina – 0,3 ml, 0,6 ml, 0,9 ml, 1,2 ml i 1,5 ml standardne otopine prolina odpipetira se u odmjernu tikvicu od 25 ml i nadopuni destiliranom vodom do oznake,
- 2-propanol (izopropanol), razrijeđen s destiliranom vodom u odnosu 1:1,
- mravlja kiselina, HCOOH

3.2. METODE RADA

Sve analize izvršene su prema metodama Internacionalne komisije za med (Harmonised Methods of the International Honey Commission, 2009). Refraktometrijsko određivanje vode u medu izvršeno je prema metodi 1, određivanje električne provodnosti prema metodi 2, određivanje slobodne kiselosti prema metodi 4.2, određivanje sadržaja prolina prema metodi 10 te određivanje aktivnosti dijastaze prema metodi 6.1.

3.2.1. REFRAKTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE VODE U MEDU

Sadržaj vode je vrijednost određena pomoću indeksa refrakcije meda. Određuje se pomoću refraktometra na kojem je očitana vrijednost refrakcije jednaka udjelu vode u medu (uz korekciju temperature).

METODA RADA:

Prizma refraktometra prije upotrebe ispere se destiliranom vodom i osuši papirnatim ubrusom. Na prizmu se pomoću plastične žlice nanese uzorak meda u jednakom sloju prekrivajući cijelu prizmu refraktometra, poklopi se sa pokrovnom pločom refraktometra i laganim pritiskom med se raširi po prizmi. Prizma se usmjeri prema izvoru svjetlosti, izoštri se slika okretanjem refraktometra i na crti noć/dan očita se količina vode, a na poledini refraktometra očita se temperatura koja se uzima u obzir kao korekcijski faktor. Nakon očitavanja prizma refraktometra se očisti pomoću destilirane vode i obriše sa papirnatim ubrusom prije slijedećeg mjerenja.

IZRAČUN:

$$W(H_2O) = R \pm T$$

Gdje je:

- $W(H_2O)$ = udio vode
- R = indeks refrakcije očitana na refraktometru
- T = temperatura u °C



Slika 7. Refraktometri

(Izvor: autor rada)

3.2.2. ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA

Električna provodnost meda definirana je kao provodnost 20% vodene otopine meda pri 20 °C gdje se 20% odnosi na suhu tvar meda. Određivanje električne provodnosti temelji se na mjerenju električne otpornosti što je recipročna vrijednost električne provodnosti.

METODA RADA:

20,0 g bezvodnog meda otopi se u 10 ml destilirane vode. Otopina se kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 100 ml i nadopuni destiliranom vodom do oznake. 40,0 ml pripremljene otopine meda prenese se u čašu od 50 ml. Sa ostatkom otopine meda isperu se elektrode

konduktometra, a zatim se konduktometar uroni u otopinu meda. Na konduktometru se očitava vrijednost temperature i električne provodnosti. Nakon upotrebe konduktometar se isperu destiliranom vodom i osuši papirnatim ubrusom.



Slika 8. Konduktometri

(Izvor: autor rada)

Za $T > 20^{\circ}\text{C}$ oduzeti 3,2% vrijednosti po $^{\circ}\text{C}$

Za $T < 20^{\circ}\text{C}$ dodati 3,2% vrijednosti po $^{\circ}\text{C}$

3.2.3. ODREĐIVANJE LAKTONA TE SLOBODNIH I UKUPNIH KISELINA, TITRACIJOM DO pH 8,3

Slobodna kiselost je kiselost dobivena kao rezultat titracije otopine sa NaOH do ekvivalentne točke. Laktonska kiselost odgovara kombinaciji kiselosti i nije direktno titrabilna, dok ukupna kiselost predstavlja sumu laktonske i slobodne kiselosti.

METODA RADA:

pH metar kalibrira se pomoću dvije otopine pufera. Nakon kalibracije, elektrode pH metra isperu se destiliranom vodom i obrišu papirnatim ubrusom. 10,0 g uzorka meda otopi se u 75 ml destilirane vode u Erlenmeyer tikvici. U otopinu se uroni magnet i tikvica se stavi na magnetnu mješalicu. U otopinu se uroni pH metar i otopina se titrira sa 0,05 M NaOH do pH 8,5. Nakon postignutog pH od 8,5 otopini se doda 10,0 ml NaOH i nastavi titrirati sa 0,05 M HCl do pada pH vrijednosti na 8,3.

IZRAČUN:

$$FA = [V(\text{NaOH})_1 - V(\text{NaOH})_{sp}] * c(\text{NaOH}) * 100$$

$$LA = [10 - V(HCl)] * c(HCl) * f(HCl) * 100$$

$$TA = FA + LA$$

Gdje je:

- FA = slobodna kiselost, LA = laktonska kiselost i TA = ukupna kiselost
- $V(\text{NaOH})_1$ = volumen 0,05 M otopine NaOH utrošen pri titraciji do pH 8,5
- $c(\text{NaOH})$ = koncentracija NaOH, 0,05 M
- $c(\text{HCl})$ = koncentracija HCl, 0,05 M
- $V(\text{HCl})$ = volumen 0,05 M otopine HCl utrošen pri titraciji do pH 8,3
- $f(\text{HCl})$ = faktor kiseline, $f = 1$

3.2.4. ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI DIJASTAZE PO SCHADE-U

Metoda se temelji na hidrolizi 1% otopine škroba enzimom iz 1 g meda pri temperaturi od 40 °C. Standardna otopina škroba razvija sa otopinom joda plavu boju čiji se intenzitet smanjuje i mjeri u određenim intervalima. Vrijeme potrebno za postizanje apsorbance od 0.235 određuje se iz dijagrama apsorbance/vrijeme ili iz jednadžbe regresije.

METODA RADA:

Određivanje plave vrijednosti – 5 ml dnevne otopine škroba doda se 10 ml destilirane vode i temperira se na 40 °C u vodenoj kupelji. U epruvete se odpipetira 12, 13 i 14 ml destilirane vode i u svaku epruvetu doda se 0,5 ml zagrijane otopine škroba i odmah po dodatku očita se apsorbance pri 660 nm. Količina vode potrebne za daljnje analize odredi se postizanjem apsorbance u opsegu $0,745 < A_{660} < 0,770$.

Slijepa proba – 10 ml otopini meda doda se 5 ml destilirane vode. 0,5 ml te otopine odpipetira se u čašu i doda joj se 5 ml otopine dnevnog joda i ona količina vode koja se odredi pomoću plave vrijednosti. Otopini se po dodatku vode odmah očita apsorbance pri 660 nm.

Uzorak meda – 10 ml otopine meda i 6 ml dnevne otopine škroba zagrije se u vodenoj kupelji na 40 °C. Nakon 15 minuta, 5 ml zagrijane otopine škroba doda se u zagrijanu otopinu meda, dobro promiješa i uključi štoperica. Nakon 5 minuta odpipetira se 0,5 ml alikvota te otopine u epruvetu, doda se 5 ml dnevne otopine joda i ona količina vode određena iz plave vrijednosti.

Otopina se promiješa i odmah joj se očita apsorbancu pri 660 nm. Nastavlja se uzimati alikvot (0,5 ml) sve dok se ne postignu 3-4 vrijednosti apsorbance unutar vrijednosti 0,155-0,456.

IZRAČUN:

$$DN = \frac{300}{t_x}$$

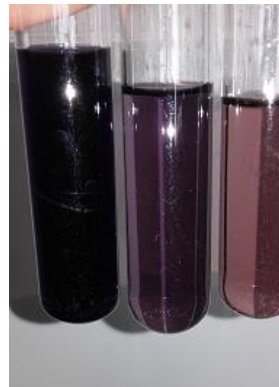
Gdje je:

- DN = dijastazni broj
- t_x = reakcijsko vrijeme u minutama



Slika 9. Spektrofotometar

(Izvor: autor rada)



Slika 10. Pad intenziteta boje

(Izvor: autor rada)

3.2.5. ODREĐIVANJE SADRŽAJA PROLINA U MEDU

Sadržaj prolina određuje se mjerenjem pada intenziteta boje nakon dodatka ninhidrina, jer prolin i ninhidrin tvore obojan kompleks, a izražava se kao omjer mase meda u mg/kg.

METODA RADA:

Baždarni dijagram – 0,5 ml pripremljene otopine prolina doda se 1 ml HCOOH i 1 ml otopine ninhidrina, otopina se dobro promiješa i očita joj se apsorbancu pri 510 nm. Postupak se ponovi za sve pripremljene otopine prolina različitih koncentracija.

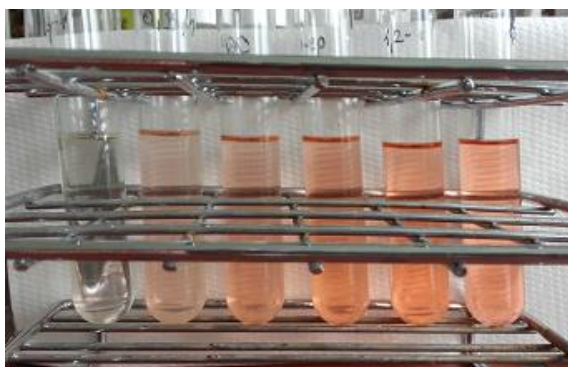
Uzorak meda – na 0,5 ml pripremljene otopine meda i 0,5 ml destilirane vode (slijepa proba) doda se 1 ml HCOOH i 1 ml otopine ninhidrina. Otopine se 15 minuta stave na stresalicu. Nakon 15 minuta otopine se 10 minuta zagrijavaju u vodenoj kupelji na 70 °C. U otopine se nakon zagrijavanja doda 5 ml izopropanola i otopine se puste 45 minuta da se hlade na sobnoj temperaturi. Nakon 45 minuta otopinama se izmjeri apsorbancu pri 510 nm.

IZRAČUN:

$$C_p = \left(\frac{A + a}{b} \right) * \frac{100.000}{m}$$

Gdje je:

- C_p = koncentracija prolina, mg/kg
- A = apsorbancu uzorka meda
- a = naklon krivulje iz baždarnog dijagrama
- b = sjecište krivulje sa osi y iz baždarnog dijagrama
- 100.000 = razrijeđenje
- m = masa uzorka

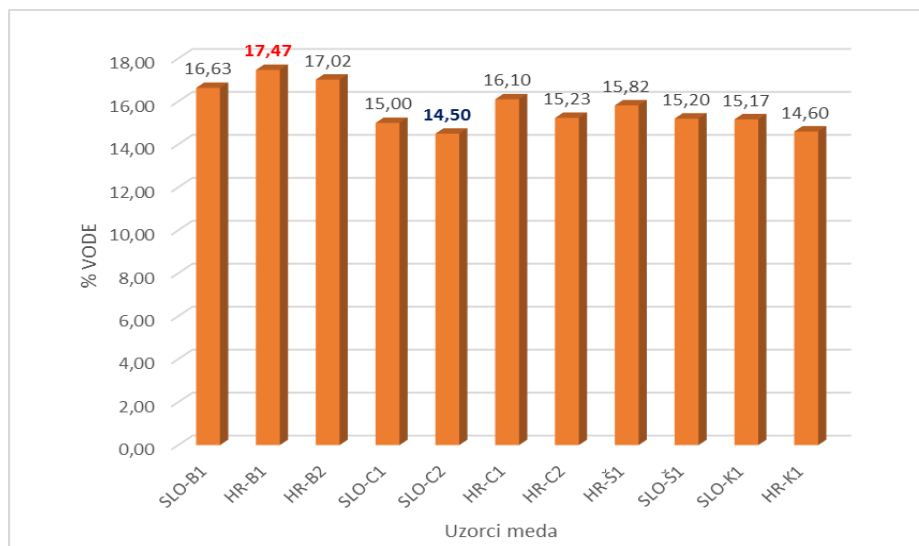


Slika 11. Uzorci meda za analizu sadržaja prolina (1. uzorak s lijeva je slijepi uzorak)

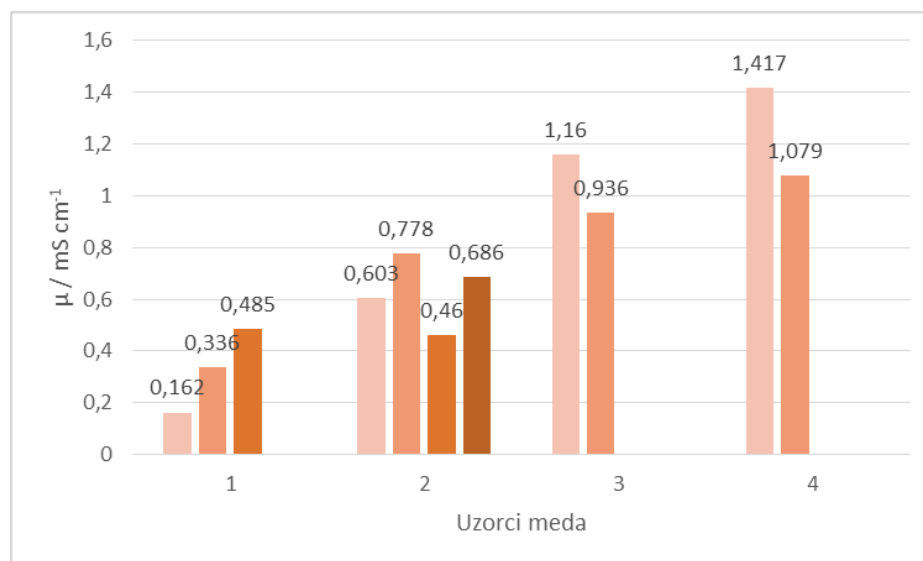
(Izvor: autor rada)

4. REZULTATI

U niže prikazanim grafičkim prikazima prikazani su rezultati ispitivanja fizikalno-kemijskih parametara uzoraka hrvatskog i slovenskog meda.

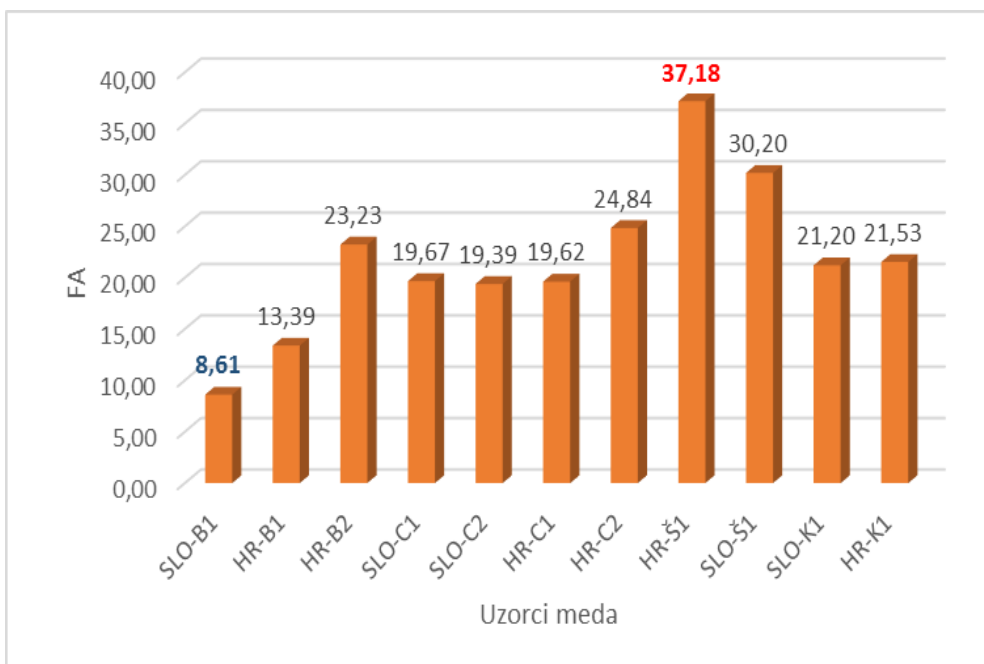


Slika 12. Udio vode u uzorcima meda

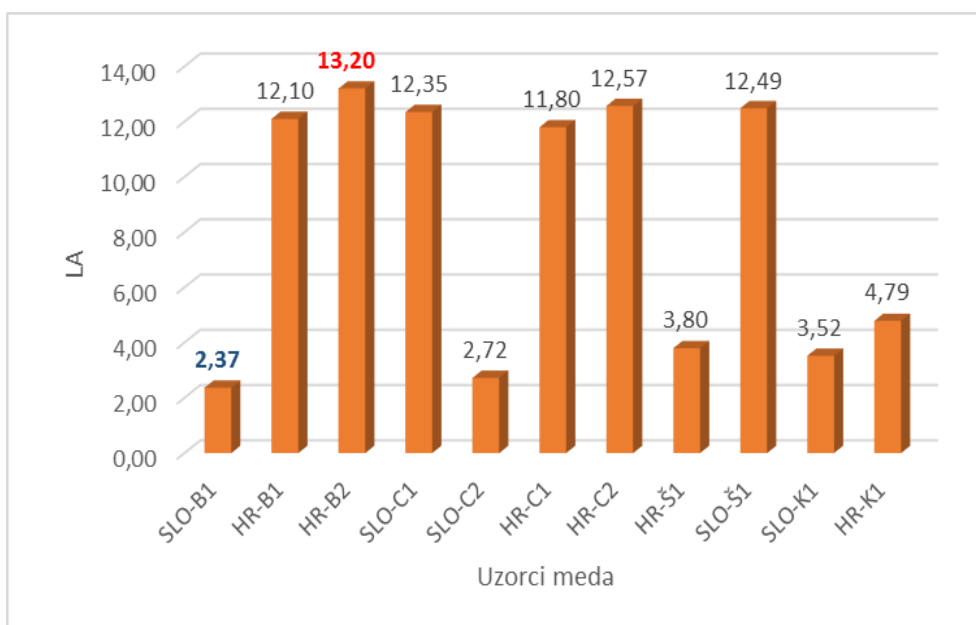


	1	2	3	4			
SLO-B1	0,162	SLO-C1	0,603	SLO-K1	1,16	SLO-Š1	1,417
HR-B1	0,336	SLO-C2	0,778	HR-K1	0,936	HR-Š1	1,079
HR-B2	0,485	HR-C1	0,46				
		HR-C2	0,686				

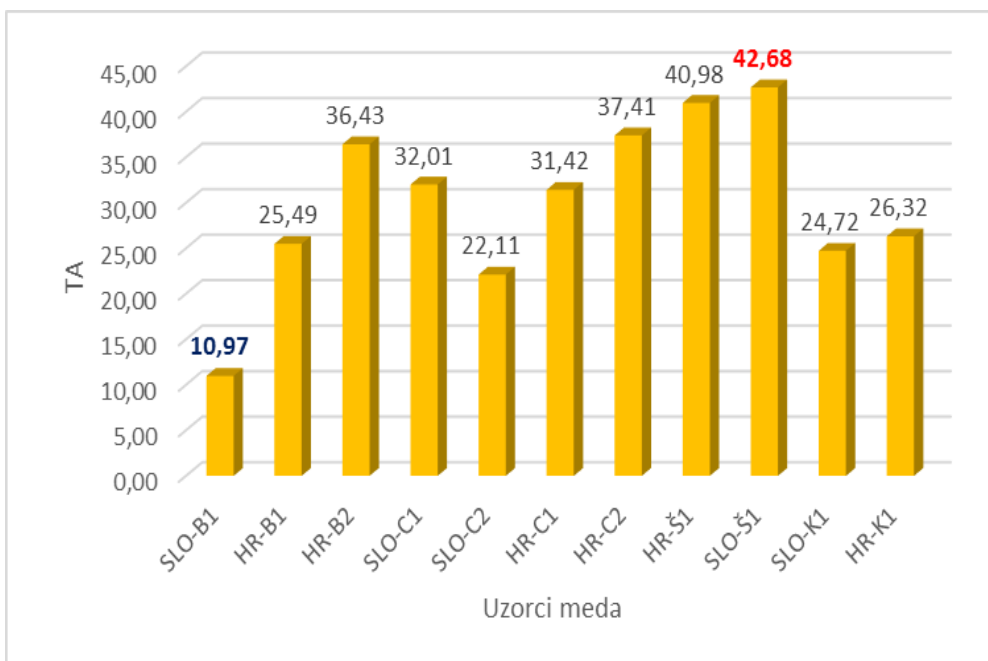
Slika 13. Električna provodnost uzoraka meda (u tabelarnom prikazu navedene su vrste meda iz grafičkog prikaza)



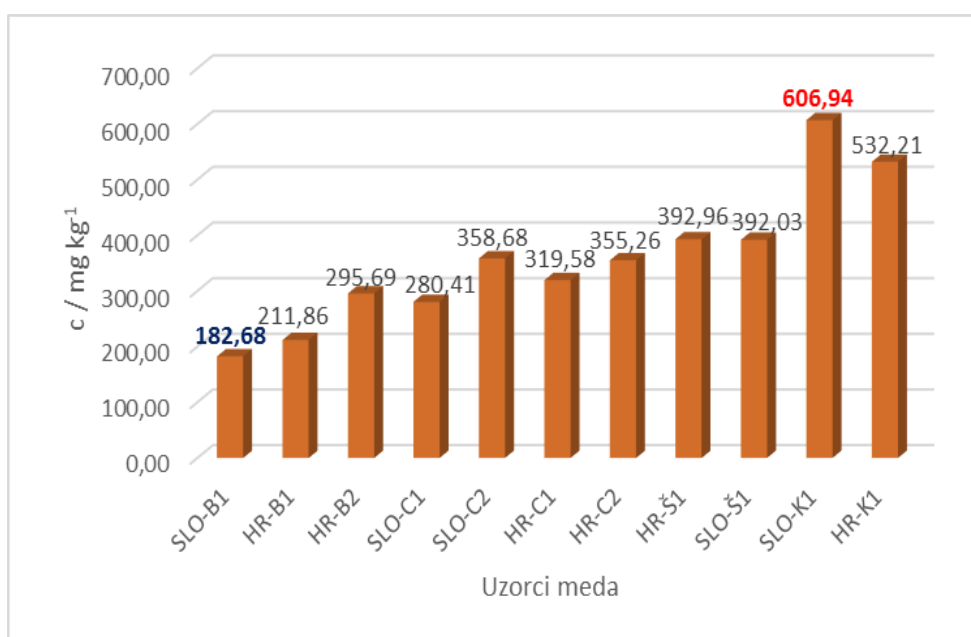
Slika 14. Sadržaj slobodne kiseline u uzorcima meda



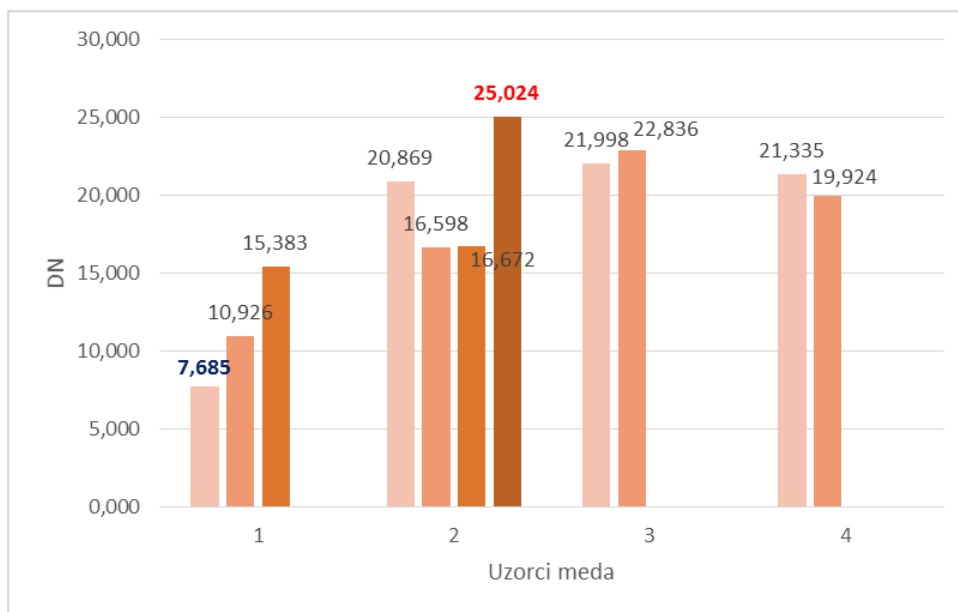
Slika 15. Sadržaj laktone kiseline u uzorcima meda



Slika 16. Sadržaj ukupne kiselosti u uzorcima meda



Slika 17. Sadržaj prolina u uzorcima meda



	1	2	3	4			
SLO-B1	7,685	SLO-C1	20,869	SLO-K1	21,998	SLO-Š1	21,335
HR-B1	10,926	SLO-C2	16,598	HR-K1	22,836	HR-Š1	19,924
HR-B2	15,383	HR-C1	16,672				
		HR-C2	25,024				

Slika 18. Aktivnost diastaze u uzorcima meda (u tabelarnom prikazu navedene su vrste meda iz grafičkog prikaza)

5. RASPRAVA

Prema Pravilniku o medu NN 53/15 svi uzorci meda zadovoljavaju propisane kriterije za vodu. Najviše vode ima uzorak HR-B1, dok najmanje vode ima uzorak SLO-C2. Također i svi uzorci zadovoljavaju kriterijima za električnu provodnost. Ona je manja od 0,8 mS/cm kod cvjetnog i bagremovog meda, a veća od 0,8 mS/cm kod kestenovog i šumskog meda. Najveću električnu provodnost ima uzorak SLO-K1, dok najmanju ima SLO-B1. Svi uzorci zadovoljavaju kriterij za slobodne kiseline. U prosjeku kiselost bagremovog meda iznosi 14,9, cvjetnog 20,4, kestenovog 21,1 i šumskog 34,6, od čega uzorak šumskog meda HR-Š1 ima najveću, a uzorak bagremovog meda SLO-B1 najmanju. U prosjeku najmanju laktonsku kiselost ima šumski med, a najveću cvjetni, dok u prosjeku ukupnih kiselina ima najmanje u bagremovom medu, a najviše u šumskom medu. Aktivnost dijastaze po Pravilniku o medu mora biti veća od 8. Taj kriterij zadovoljava 10 od 11 ispitanih uzoraka. Najveću aktivnost dijastaze ima uzorak cvjetnog meda HR-C2, dok najmanju, tj. onu koja ne zadovoljava kriterij, ima uzorak bagremovog meda SLO-B1. IHC-om (International Honey Commission) je predložen sadržaj prolina veći od 180 mg/kg meda i po tom kriteriju svi uzorci zadovoljavaju. Najveći sadržaj prolina ima uzorak kestenovog meda SLO-K1 dok najmanji sadržaj prolina ima uzorak bagremovog meda SLO-B1.

Analizom je utvrđeno da od 4 analiziranih vrsta meda (bez obzira na geografsko podrijetlo), najviše vode ima bagremov med, a najmanje kestenov med. Električnu provodnost, sadržaj prolina te aktivnost dijastaze najviše ima kestenov med, a najviše slobodnih kiselina šumski med. Najmanji sadržaj slobodnih kiselina, prolina, aktivnosti dijastaze te vrijednost električne provodnosti ima bagremov med.

U usporedbi hrvatskog i slovenskog meda kod bagremovog meda količina vode u hrvatskom medu malo je viša nego u slovenskom što znači da je hrvatski podložniji kvarenju. Električna provodnost oba dva hrvatska meda veća je od uobičajene za bagremov med. Iako nije rađena senzorska analiza meda, pri uzorkovanju bagremovog meda uočeno je da hrvatski bagremov med nema karakteristično žutu boju. Rezultat je to primjesa cvjetnog ili nekog drugog meda u hrvatskim uzorcima bagremovog meda stoga je i vrijednost električne provodnosti (koja je parametar za određivanje biljnog podrijetla meda) kod tih uzoraka veća. Moguće je da ti uzorci sadrže i više mineralnih tvari pošto električna provodnost raste s porastom mineralnih tvari u medu. Što se tiče slobodnih kiselina u medu, slovenski med ih ima manje nego hrvatski. Više slobodnih kiselina kod hrvatskog meda može biti prednost jer kiselina sredina inhibira rast mikroorganizama, ali također i ukazuje na fermentaciju meda (raspad šećera na organske kiseline). Sadržaj prolina kod slovenskog meda blizu je dopuštene granice

od minimalno 180 mg/kg meda. Ta niska vrijednost sadržaja prolina može biti pokazatelj patvorenja meda. Slovenski med nije zadovoljio kriterij za aktivnost dijastaze što je moguća posljedica prekomjernog zagrijavanja meda i/ili skladištenja. Kod cvjetnog meda i hrvatski i slovenski med zadovoljili su sve kriterije kvalitete meda. U prosjeku hrvatski med ima nešto veću količinu slobodnih kiselina te veću aktivnost dijastaze od slovenskog, a slovenski med ima veći sadržaj prolina od hrvatskog. Također i kod kestenovog meda, sadržaj slobodnih kiselina i aktivnost dijastaze nešto je veća nego kod slovenskog meda, a sadržaj prolina veći je kod slovenskog nego kod hrvatskog. Što se tiče šumskog meda, hrvatski med ima veću količinu slobodnih kiselina, ali manju aktivnost dijastaze i sadržaj prolina.

6. ZAKLJUČAK

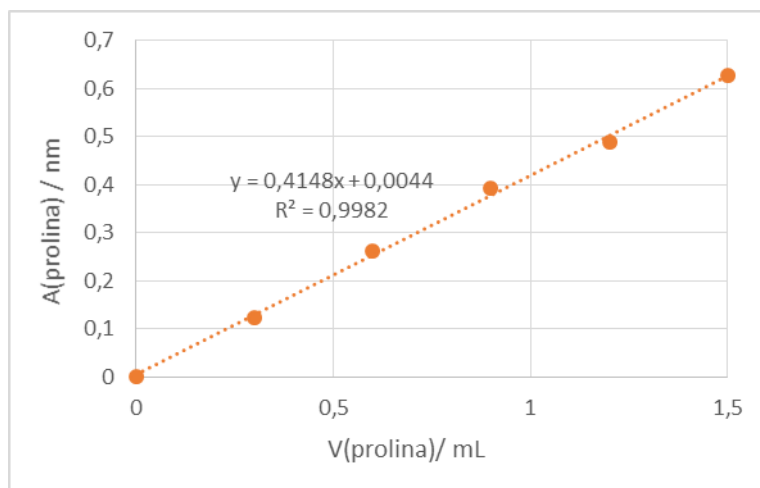
- napravljena je analiza 11 uzoraka meda, od čega 3 uzorka čine bagremov med (1 slovenski i 2 hrvatska), 4 uzorka čine cvjetni med (2 hrvatska i 2 slovenska), 2 uzorka čine kestenov med (1 hrvatski i 1 slovenski) te 2 uzorka čine šumski med (1 hrvatski i jedan slovenski)
- analiza je napravljena u cilju utvrđivanja zadovoljavanja kriterija za određene fizikalno-kemijske parametre po Pravilniku o medu NN 53/15 i radi usporedbe fizikalno-kemijskih parametra slovenskog i hrvatskog meda
- određeni su slijedeći fizikalno-kemijski parametri: udio vode, električna provodnost, sadržaj slobodnih kiselina, sadržaj prolina te aktivnost dijastaze
- od 11 ispitanih uzoraka svi uzorci zadovoljili su zadane kriterije kakvoće u količini vode, vrijednosti električne provodnosti, sadržaja slobodnih kiselina i sadržaja prolina, samo slovenski bagremov med nije zadovoljio kriterij za aktivnost dijastaze
- vrijednost električne provodnosti kod oba dva uzorka hrvatskog bagremovog meda bila je veća nego uobičajene za bagremov med (iako zadovoljava Pravilnik o medu) što je dokaz primjese cvjetnog ili neke druge vrste meda u tim uzorcima
- u usporedbi hrvatskog i slovenskog meda s obzirom na geografsko podrijetlo meda, slični su rezultati ispitanih fizikalno-kemijskih parametara. Najveću sličnost pokazali su uzorci cvjetnog i kestenovog meda, malo manja sličnost u fizikalno-kemijskim parametrima utvrđena je kod šumskog meda, a najmanju sličnost pokazali su uzorci bagremovog meda

7. LITERATURA

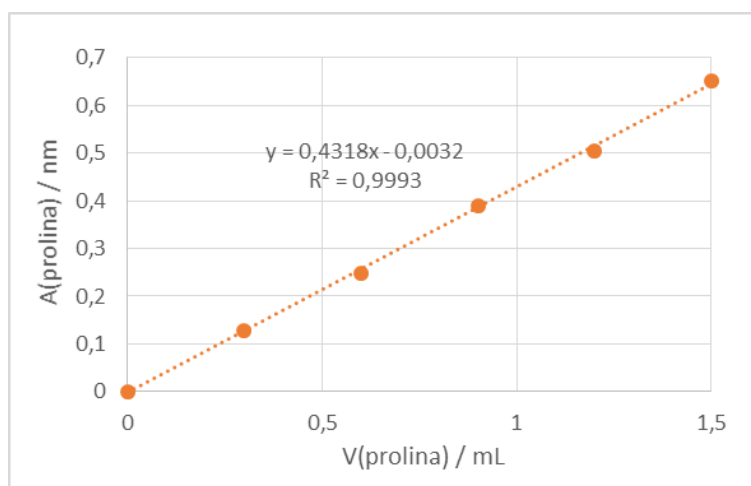
1. Acquarone, C., Buera, P., Elizald, B. (2004): Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys, *Food Chemistry*, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606001415>, pristupljeno [02.08.2016]
2. Belčić, J., Katalinić, J., Loc, D., Lončarević, S., Peradin, L., Sulimanović, Đ., Šimić, F., Tomašec, I. (1990): Pčelarstvo, Zagreb, str. 522-536
3. Bogdanov, S. (2009): Harmonised methods of the International Honey Commission, Switzerland, str. 4-6, 12-17, 23-24, 34-37 i 58-59.
4. Codex Alimentarius Commission (2001): Revised Codex Standard for Honey, Codex STAN 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001).
5. da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira Costa, A.C., Fett, R. (2015): Honey: Chemical composition, stability and authenticity, *Food Chemistry*, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615013941>, pristupljeno [06.08.2016]
6. El Sohaimy, S.A., Masry, S.H.D., Shehata, M.G. (2015): Physicochemical characteristics of honey from different origins, *Food Chemistry*, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0570178315000536>, pristupljeno [06.08.2016]
7. Pravilnik o medu (2015), Zagreb, Narodne novine broj 53 (NN 53/15)
8. Pravilnik o medu (2011), Uradni list RS, št. 4/2011, dostupno na: <https://www.uradni-list.si/1/content?id=101943>
9. Sakač, N., Sak-Bosnar, M. (2011): A rapid method for the determination of honey diastase activity, *Food Chemistry*, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003991401200104X>, pristupljeno [06.08.2016]
10. Tomas-Barberan, F.A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B.S., Anklam, E. (2001): HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of european unifloral honeys, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**, str. 485-496.
11. Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., Re, E. (2005): Honey diastase activity modified by heating, *Food Chemistry*, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607003767>, pristupljeno [06.08.2016]
12. Tucak, Z., Periškić, M., Škrivanko, M., Konjarevic, A. (2007): The influence of the botanic origin of honey plants on the quality of honey, *Agriculture* **13** (1), str. 234-236

13. Vahčić, N., Matković, D. (2009): Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda, <http://documents.tips/documents/kemijske-fizikalne-i-senzorske-karakteristike-meda.html>, pristupljeno [02.08.2016]
14. White, J.W., Doner, L.W. (1980): Honey Composition and Properties: Beekeeping in the United States, *Agriculture Handbook* **335**, str. 82–91.

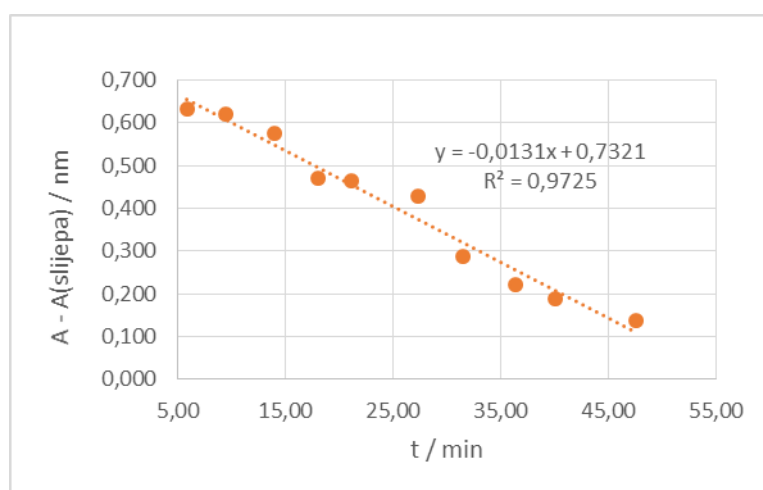
8. PRILOZI



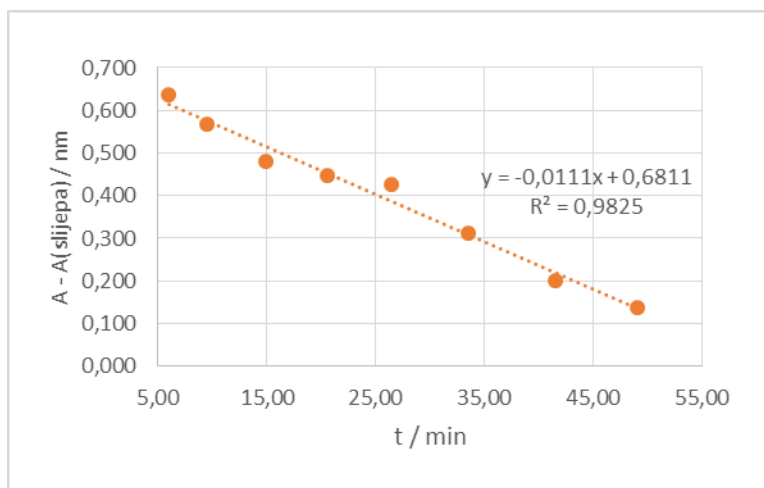
Slika 19. Baždarni dijagram za različite koncentracije prolina (datum analize 18.05.)



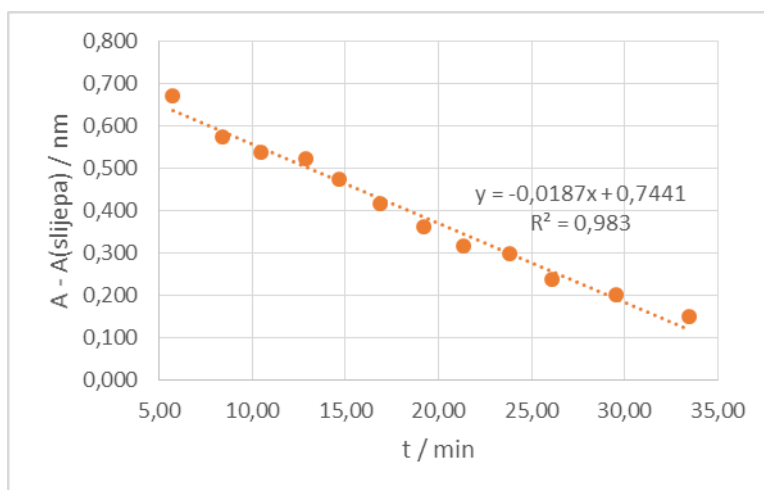
Slika 20. Baždarni dijagram za različite koncentracije prolina (datum analize 19.05.)



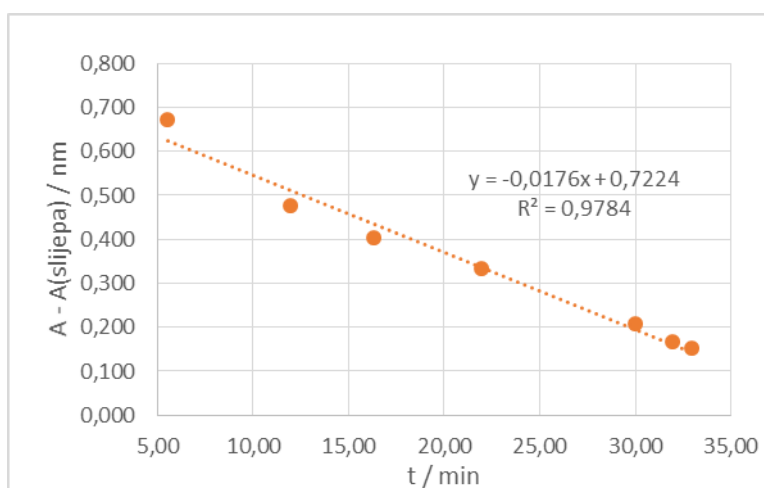
Slika 21. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-B1 (1)



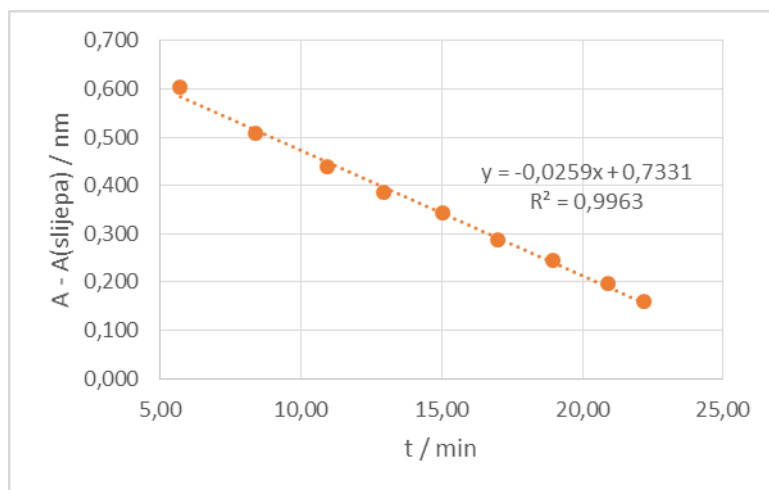
Slika 22. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-B1 (2)



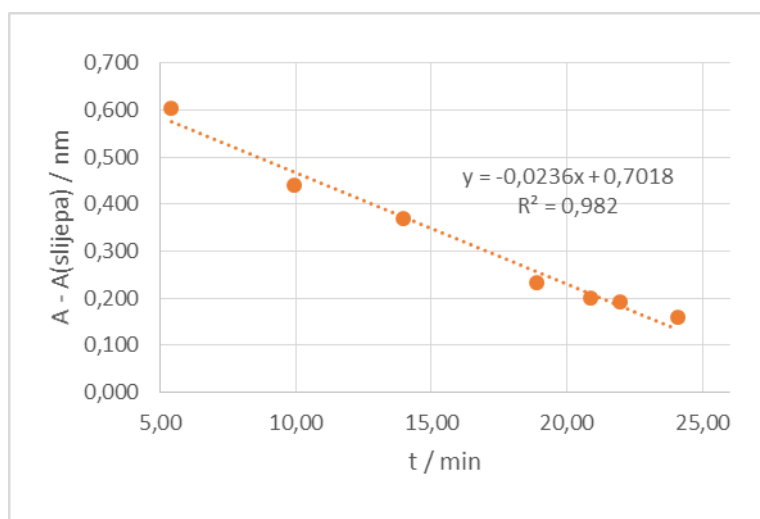
Slika 23. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-B1 (1)



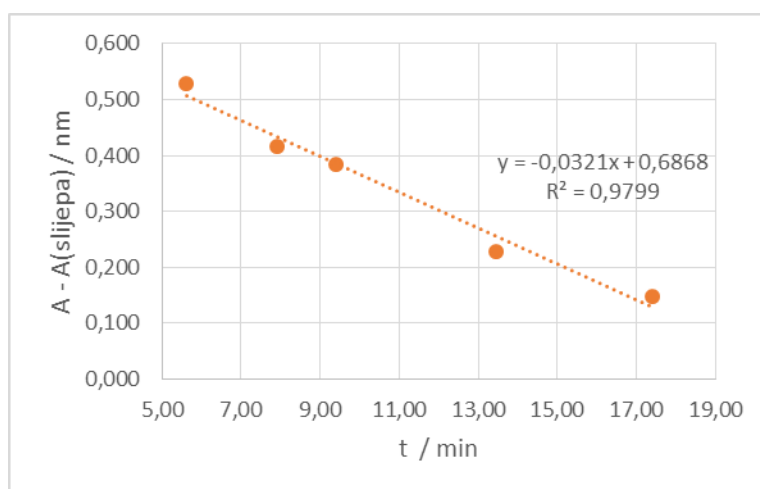
Slika 24. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-B1 (2)



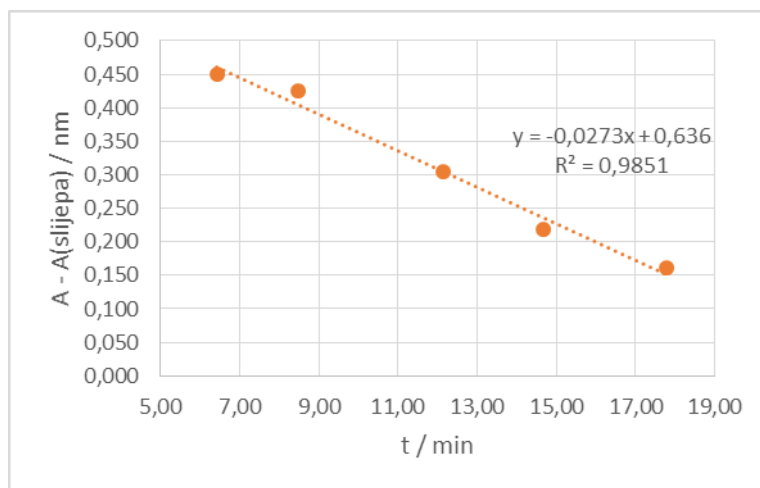
Slika 25. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-B2 (1)



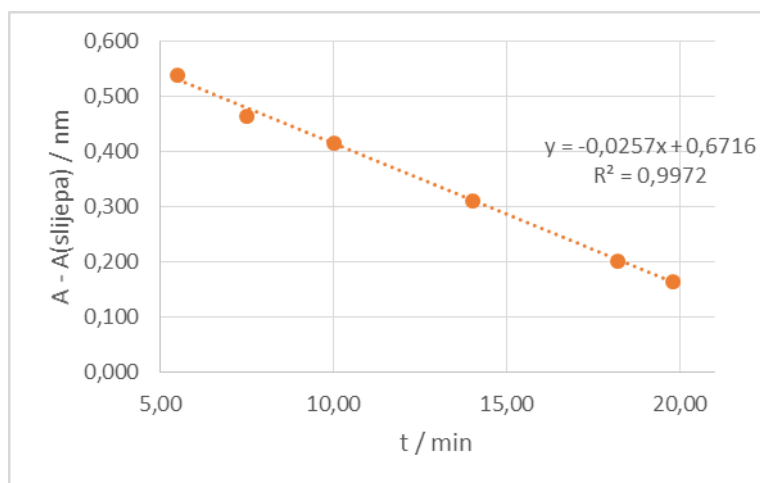
Slika 26. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-B2 (2)



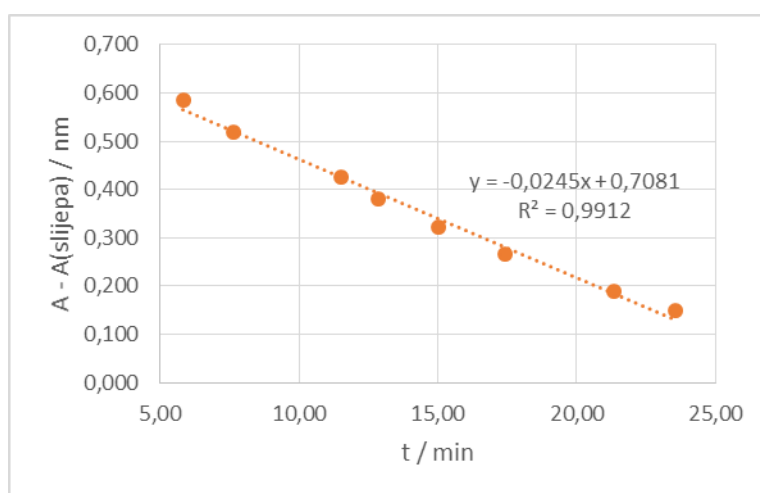
Slika 27. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-C1 (1)



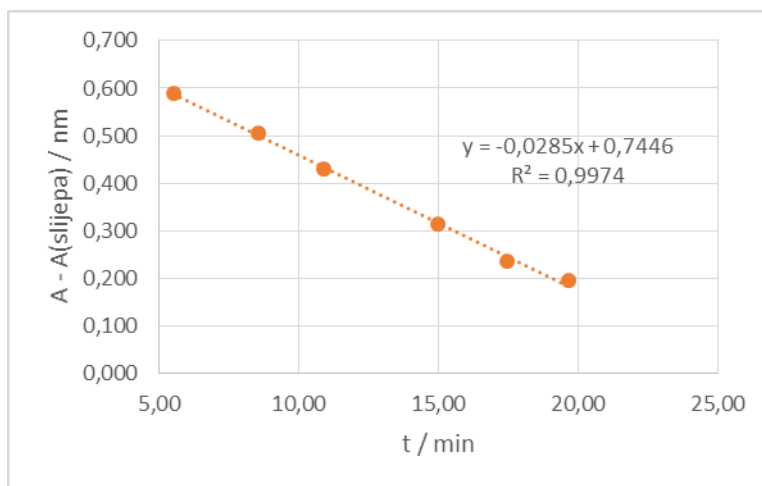
Slika 28. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-C1 (2)



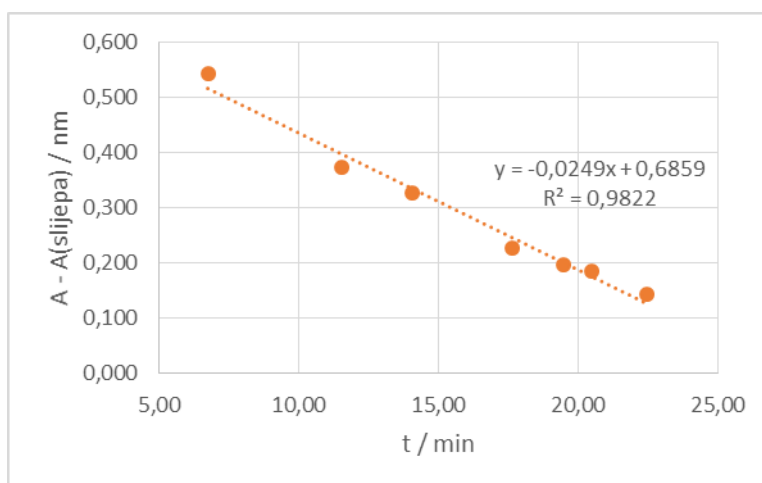
Slika 29. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-C2 (1)



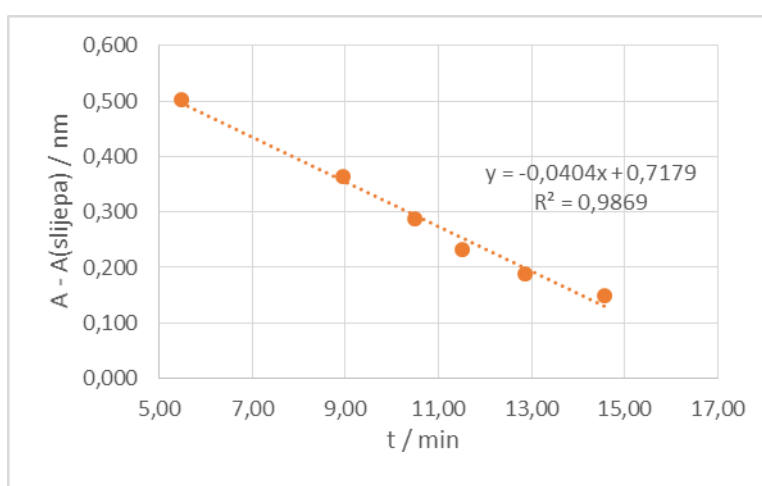
Slika 30. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-C2 (2)



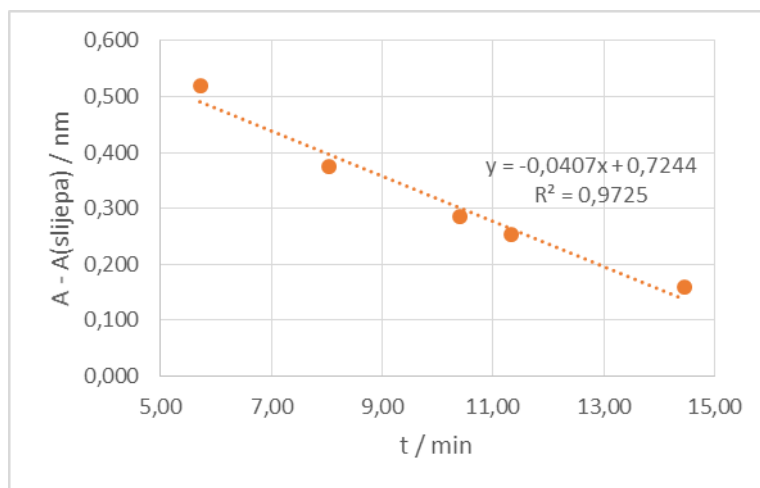
Slika 31. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-C1 (1)



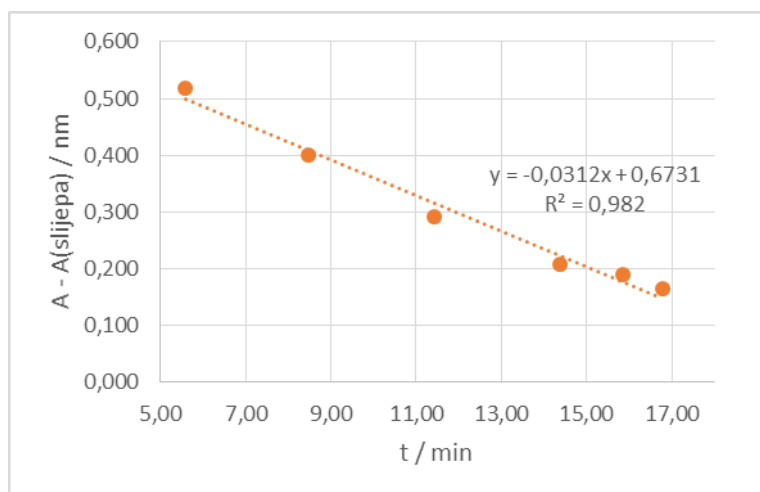
Slika 32. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-C1 (2)



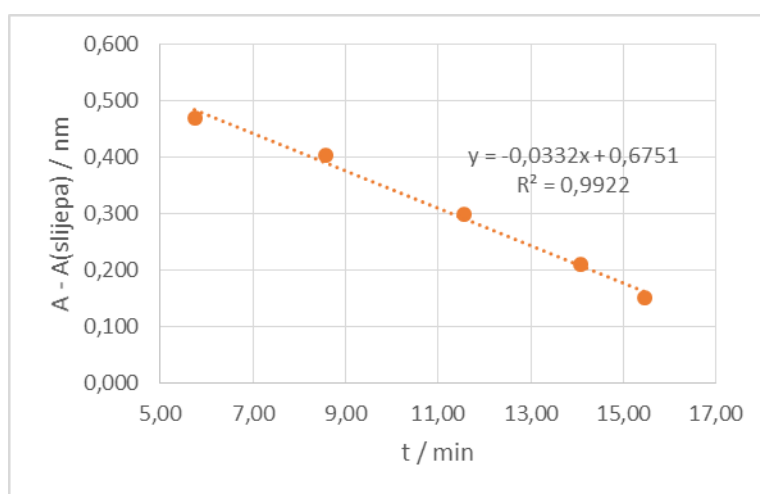
Slika 33. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-C2 (1)



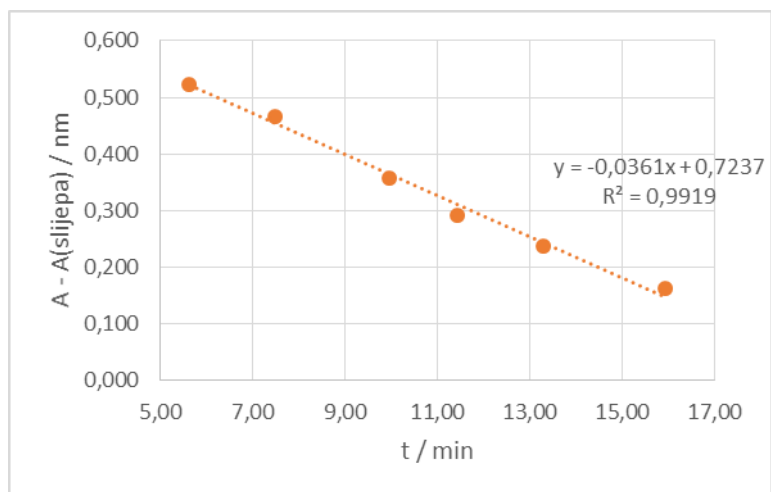
Slika 34. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-C2 (2)



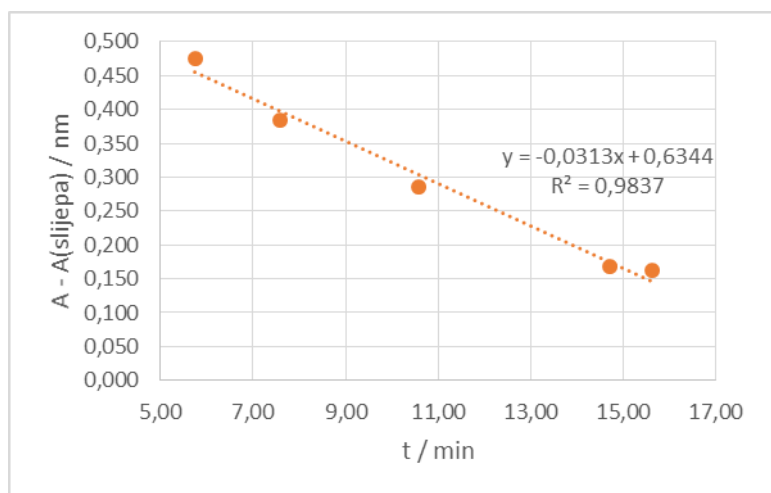
Slika 35. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-K1 (1)



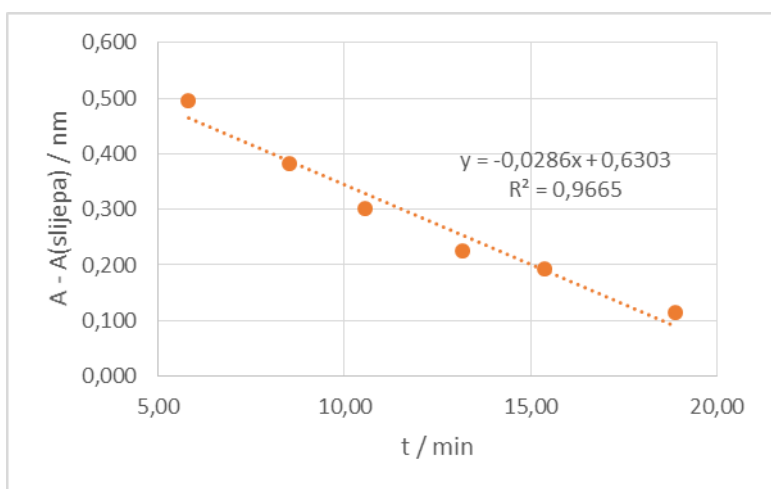
Slika 36. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-K1 (2)



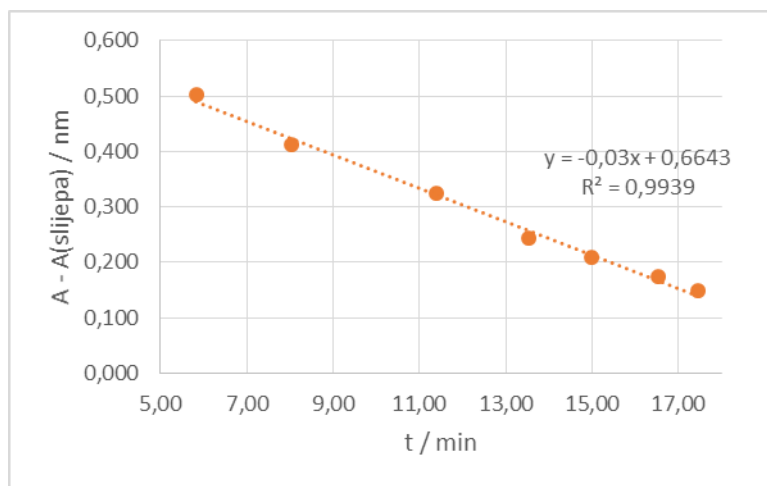
Slika 37. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-K1 (1)



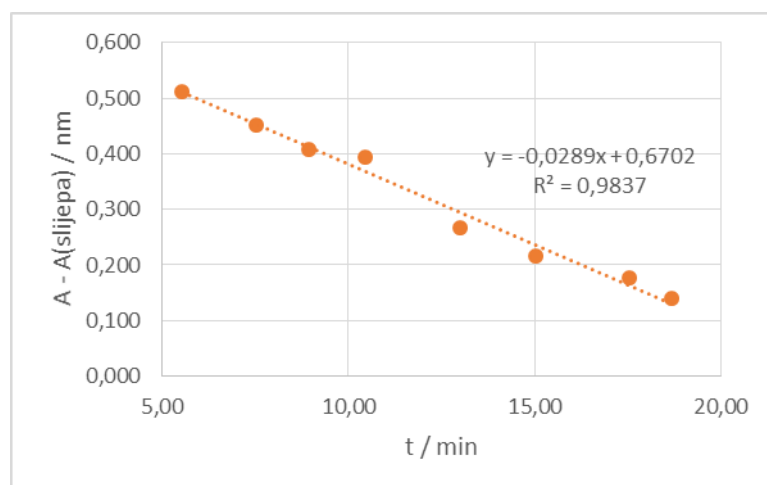
Slika 38. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-K1 (2)



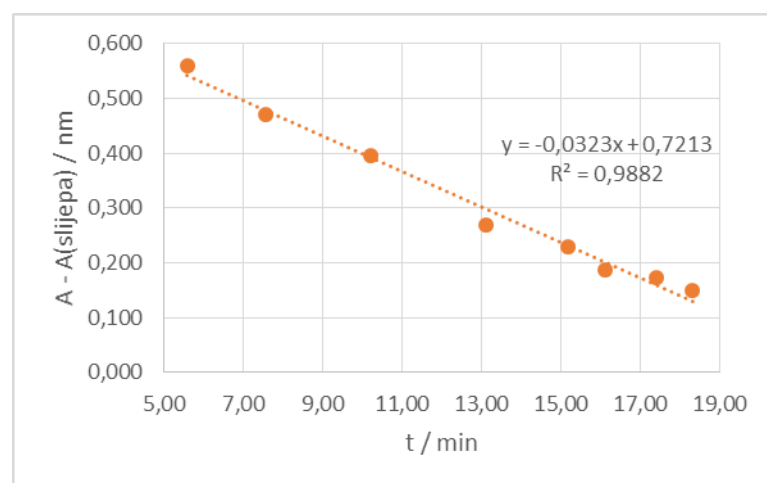
Slika 39. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-Š1 (1)



Slika 40. Ovisnosti aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-Š1 (2)



Slika 41. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-Š1 (1)



Slika 42. Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-Š1 (2)

9. POPIS PRILOGA

POPIS SLIKA:

1. **Slika 1.** Kemijski sastav meda, izvor: https://www.google.hr/search?q=KEMIJSKI+SASTAV+MEDA&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwias8vErfjOAhWF_ywKHYYaBTkQ_AUICCGb&biw=1366&bih=667#imgrc=gyjydgahRD0ywM%3A, pristupljeno [02.09.2016]
2. **Slika 2.** Boja meda s obzirom na vrstu (redom: bagrem, cvjetni, šumski i kestenov med), izvor: autor rada
3. **Slika 3.** Bagremov med, izvor: autor rada
4. **Slika 4.** Šumski med, izvor: autor rada
5. **Slika 5.** Kestenov med, izvor: autor rada
6. **Slika 6.** Cvjetni med, izvor: autor rada
7. **Slika 7.** Refraktometri, izvor: autor rada
8. **Slika 8.** Konduktometri, izvor: autor rada
9. **Slika 9.** Spektrofotometar, izvor: autor rada
10. **Slika 10.** Pad intenziteta boje, izvor: autor rada
11. **Slika 11.** Uzorci meda za analizu sadržaja prolina (1. uzorak s lijeva je slijepi uzorak), izvor: autor rada
12. **Slika 12.** Udio vode u uzorcima meda
13. **Slika 13.** Električna provodnost uzoraka meda (u tabelarnom prikazu navedene su vrste meda iz grafičkog prikaza)
14. **Slika 14.** Sadržaj slobodne kiselosti u uzorcima meda
15. **Slika 15.** Sadržaj laktonske kiselosti u uzorcima meda
16. **Slika 16.** Sadržaj ukupne kiselosti u uzorcima meda
17. **Slika 17.** Sadržaj prolina u uzorcima meda
18. **Slika 18.** Aktivnost dijastaze u uzorcima meda (u tabelarnom prikazu navedene su vrste meda iz grafičkog prikaza)
19. **Slika 19.** Baždarni dijagram za različite koncentracije prolina (datum analize 18.05.)
20. **Slika 20.** Baždarni dijagram za različite koncentracije prolina (datum analize 19.05.)
21. **Slika 21.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-B1 (1)
22. **Slika 22.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-B1 (2)
23. **Slika 23.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-B1 (1)
24. **Slika 24.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-B1 (2)
25. **Slika 25.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-B2 (1)
26. **Slika 26.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-B2 (2)

27. **Slika 27.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-C1 (1)
28. **Slika 28.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-C1 (2)
29. **Slika 29.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-C2 (1)
30. **Slika 30.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-C2 (2)
31. **Slika 31.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-C1 (1)
32. **Slika 32.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-C1 (2)
33. **Slika 33.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-C2 (1)
34. **Slika 34.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-C2 (2)
35. **Slika 35.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-K1 (1)
36. **Slika 36.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-K1 (2)
37. **Slika 37.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-K1 (1)
38. **Slika 38.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-K1 (2)
39. **Slika 39.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-Š1 (1)
40. **Slika 40.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak SLO-Š1 (2)
41. **Slika 41.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-Š1 (1)
42. **Slika 42.** Ovisnost aktivnosti dijastaze o vremenu za uzorak HR-Š1 (2)

POPIS TABLICA:

1. **Tablica 1.** Dopuštene količine određenih fizikalno-kemijskih parametara prema Pravilniku o medu NN 53/15, izvor: obrada autora rada prema Pravilniku o medu NN 53/15
2. **Tablica 2.** Oznake i podrijetlo uzoraka, izvor: autor rada