Fizikalno kemijska analiza meda kestena, lipe i livade

Herceg, Filip

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:224048

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Filip Herceg

6694/PT

FIZIKALNO-KEMIJSKA ANALIZA MEDA KESTENA, LIPE I LIVADE

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Analitika prehrambenih proizvoda

Mentor: Prof. dr. sc. *Nada Vahčić*

Zagreb 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda

Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

Znanstveno područje: biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Fizikalno-kemijska analiza meda kestena, lipe i livade

Filip Herceg, 0058202878

Sažetak: Tema ovog rada bila je odrediti fizikalno-kemijska svojstva u 30 uzoraka meda kestena, lipe i livade. Maseni udio vode, kiselost, električna provodnost, maseni udjeli reducirajućih šećera i saharoze te maseni udio hidroksimetilfurfurala su određivani na svim uzorcima. Metode za određivanje pojedinih svojstava propisane su od strane Međunarodne komisije za med. Iz dobivenih rezultata vidi se da je većina uzoraka u skladu sa Pravilnikom.

Ključne riječi: fizikalno-kemijska svojstva, kesten, lipa, livada, med

Rad sadrži: 31 stranica, 3 tablice, 27 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, 10000 Zagreb

Mentor: Dr. sc. *Nada Vahčić*, red. prof.

Pomoć pri izradi: *Renata Petrović, ing. , Valentina Hohnjec teh. sur.*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1.

2.

3.

4.

Datum obrane: srpanj, 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Food Technology

Department of Food Quality Control

Laboratory for Food Quality Control

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Physicochemical analysis od honey made of chestnut, linden and meadow

Filip Herceg, 0058202878

Abstract: The topic of this paper was to determine the physicochemical properties in 30 samples of honey of these plants chestnut, linden and lawn. Mass fraction of water, acidity, electrical conductivity, mass fraction of reducing sugars and sucrose, and hydroxymethylfurfural fraction mass were determined on all samples. Methods for determining certain properties are prescribed by the International Commission for Honey. From the results obtained it is seen that most of the samples comply with Croatian Ordinary on honey.

Keywords: chestnut, honey, linden, meadow, physicochemical analysis

Thesis contains: 31 pages, 3 tables, 27 references

Original in: croatian

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

Mentor: Dr. sc. *Nada Vahčić*, red. prof.

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

Defence date: july, 2017.

SADRŽAJ

1. **UVOD** 1
2. **TEORIJSKI DIO** 2
   - 2.1. **DEFINICIJA MEDA** 2
   - 2.2. **VRSTE I PODJELA MEDA** 2
     - 2.2.1. **NEKTARNI MED** 3
     - 2.2.2. **MEDLJIKOVAC** 5
   - 2.3. **KEMIJSKI SASTAV MEDA** 6
     - 2.3.1. **UGLJIKOHIDRATI** 6
     - 2.3.2. **VODA** 7
     - 2.3.3. **PROTEINI I AMINOKISELINE** 7
     - 2.3.4. **VITAMINI** 8
     - 2.3.5. **ENZIMI** 8
     - 2.3.6. **ORGANSKE KISELINE** 8
     - 2.3.7. **MINERALNE TVARI** 9
     - 2.3.8. **FITOKEMIKALIJE** 9
     - 2.3.9. **HIDROKSIMETILFURFURAL** 10
   - 2.4. **FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA** 10
     - 2.4.1. **VISKOZNOST** 10
     - 2.4.2. **KRISTALIZACIJA** 11
     - 2.4.3. **HIGROSKOPNOST** 11
     - 2.4.4. **ELEKTRIČNA VODLJIVOST** 12
     - 2.4.5. **OPTIČKA AKTIVNOST** 12
     - 2.4.6. **INDEKS REFRAKCIJE** 13
     - 2.4.7. **SPECIFIČNA MASA** 13
   - 2.5. **SENZORSKA SVOJSTVA MEDA** 13
3. **EKSPERIMENTALNI DIO** 15

3.1. **MATERIJALI** 15
3.2. **METODE RADA** 15
3.2.1. **PRIPREMA UZORKA ZA ANALIZU** 15
3.2.2. **ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU** 16
3.2.3. **ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI** 16
3.2.4. **ODREĐIVANJE KISELOSTI MEDA** 17
3.2.5. **ODREĐIVANJE UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA U MEDU** 17
3.2.6. **ODREĐIVANJE UDJELA REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA U MEDU** 19
3.2.7. **ODERĐIVANJE UDJELA SAHAROZE U MEDU** 22
4. **REZULTATI I RASPRAVA** 24
5. **ZAKLJUČAK** 29
6. **LITERATURA** 30

1. UVOD

Med se prema nekim izvorima navodi kao najsavršeniji proizvod prirode jer sadrži gotovo sve sastojke koji grade ljudski organizam. Danas se upotreba meda polako povećava zbog sve popularnijeg zdravog načina prehrane gdje se med koristi umjesto jeftinijeg rafiniranog bijelog šećera. Također vrlo je cijenjen u ljudskoj prehrani zbog svog pozitivnog učinka na ljudsko zdravlje a pripisuje mu se i antibakterijsko, antiseptičko i antioksidacijsko djelovanje. Često se koristi i za osnaživanje organizma posebno kod djece i starijih.

Smatra se jednom od najprobavljivijih i najiskoristivijih namirnica zbog svog jednostavnog sastava. Sadrži znatan udio jednostavnih šećera fruktoze i glukoze pa se prvenstveno ubraja u energetske namirnice. Ovisno o vrsti bilja s kojih pčele skupljaju nektar za proizvodnju meda razlikovat će se i fizikalno-kemijska svojstva tih medova.

Cilj ovog rada je odrediti fizikalno-kemijska svojstva u 30 uzoraka meda iz 2016. godine, te na temelju dobivenih vrijednosti procijeniti njihovu kvalitetu u odnosu na zahtjeve Pravilnika o medu te utvrditi sličnosti i razlike unutar svakog parametra s obzirom na vrstu meda.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. DEFINICIJA MEDA

Prema Pravilniku o medu med je sladak, gust, viskozni, tekući ili kristaliziran 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, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja (NN 53/15).

Codex standard med definira kao prirodnu slatku tvar koju od nektara biljaka ili izlučevina živih dijelova biljaka, odnosno izlučevina kukaca koji sišu sokove na živim dijelovima biljaka, proizvode pčele medarice (*Apis mellifera*), na način da iste skupljaju, preinačuju dodajući im vlastite specifične tvari, odlažu, isušuju, pohranjuju i ostavljaju u saću da sazriju (Codex stan 12-1981).

2.2. VRSTE I PODJELA MEDA

Prema Pravilniku med se prema podrijetlu dijeli na cvjetni ili nektarni med, koji je dobiven od nektara biljaka, te na medljikovac ili medun, koji je dobiven uglavnom od izlučevina kukaca (*Homoptera*) koji žive na živim dijelovima biljaka ili od sekreta živih dijelova biljaka.

Prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja med dijelimo na:

- med u saću - med kojeg skladište pčele u stanicama svježe izgrađenog saća bez legla ili u satnim osnovama izgrađenim isključivo od pčelinjeg voska, koji se prodaje u poklopljenom saću ili u sekcijama takvog saća
- med sa saćem ili med s dijelovima saća - med koji sadrži jedan ili više proizvoda iz pod točke 1. ove točke
- cijeđeni med - med koji se dobiva ocjeđivanjem otklopljenog saća bez legla
- vrcani med - med dobiven vrcanjem (centrifugiranjem) otklopljenog saća bez legla
- prešani med - med dobiven prešanjem saća bez legla, sa ili bez korištenja umjerene temperature koja ne smije prijeći 45°C
- filtrirani med - med dobiven na način koji tijekom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari dovodi do značajnog uklanjanja peludi.

Pekarski med je med koji se koristi u industriji ili kao sastojak hrane koja se potom prerađuje i može imati strani okus ili miris, ili biti u stanju vrenja ili prevrio, ili biti pregrijan (NN 53/15).

2.2.1. NEKATARNI MED

Nektarni med pčele proizvode od nektara, slatke tekućine koju izlučuju biljne žlijezde nektarije. Po kemijskom sastavu nektar je vodena otopina brojnih šećera, a najčešće su to saharoza, glukoza i fruktoza. U sastavu nektara mogu se naći i oligosaharidi poput rafinoze, melebioze itd., vitamini, organske kiseline, pigmenti, aromatski spojevi, mineralne tvari, enzimi, dušikovi i fosforni spojevi (Škenderov i Ivanov, 1986).

Razlikujemo dvije vrste nektarnog meda: monoflorni i poliflorni. Ukoliko pčele prilikom skupljanja nektara obilaze biljke iste vrste, dobije se monoflorni med. S druge strane, ako skupljaju nektar na različitim biljkama, dobije se livadni med, voćni med i dr. (poliflorni med). Bez obzira o kojoj je vrsti meda riječ nisu dostupni uzorci koji su 100% monoflorni već uvijek osim dominantne sadrže i peludna zrnca neke druge biljne vrste. Proizvodnja 100% monoflornog meda mogla bi se ostvariti eventualno na velikim kompleksima odnosno plantažama jednorodnih kultura, kao npr. u SAD - u (Nedialkov i sur, 1986.). Monoflorni med je onaj koji u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 45 % peludnih zrnaca iste biljne vrste s izuzecima pitomog kestena (*Castanea sativa*) gdje udjel peludnih zrnaca u netopivom sedimentu iznosi najmanje 85 %, lucerne (*Medicago sp.*) 30 %, ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) 30 %, lipe (*Tilia sp.*) 25 %, kadulje (*Salvia sp.*) 20 %, bagrema (*Robinia pseudacacia*) 20% i lavande (*Lavandula sp.*) 20 %.

Najznačajnije vrsta nektarnog meda i medonosnog bilja u Republici Hrvatskoj:

- Bagrem (*Robinia pseudoacacia*) je kratkotrajna, ali najizdašnija paša u kontinentalnim dijelovima Hrvatske. Ovisno o nadmorskoj visini, cvjeta u drugoj polovici svibnja i početkom lipnja, 10 - 12 dana. Najprije počne mediti na zaštićenijim nižim terenima, a kasnije na višim. Korištenjem visinske razlike ponegdje je moguće dobiti raniju i kasniju bagremovu pašu, u ukupnoj cvatnji do 20 dana. Bagremova paša nerijetko zna podbaciti budući da u vrijeme cvjetanja u kontinentalnim krajevima vremenske prilike često mogu biti nepovoljne (hladno i kišovito ili jako toplo i vjetrovito). U Hrvatskoj se najveće bagremove šume nalaze u Baranji, Podravini i na Moslavačkoj gori. Čisti bagremov med, bez primjesa, vrlo je svijetao, slabog mirisa i ugodnog okusa po biljci. Sporo kristalizira (Šimić, 1980).

- Kadulja (*Salvia officinalis*) je višegodišnji drvenasti grm i poslije bagrema je najvrjednija pčelinja paša. U Hrvatskoj je široko raširena na područjima primorskog i dalmatinskog krša te u nekim predjelima Istre. Kaduljin med je svijetložute, malo zelenkaste boje koja može varirati ovisno o prisutnosti peludi vinove loze koja istodobno cvate. Ugodnog je do blago gorkog okusa i ima izraziti miris po cvijetu biljke. Sporo kristalizira u srednje krupne kristale, ali ni tada nije previše tvrd (Persano Oddo i Piro, 2004; Šimić, 1980).
- Kesten (*Castanea sativa Mill.*) je jednodomna biljka visokog i razgranatog stabla i raste u samoniklim šumama od kojih su najveće u okolici Petrinje, Hrvatske Kostajnice, Dvora na Uni, Zagreba (Medvednica) i u Istri. Najmedonosnija je voćna vrsta (zbog vrijednih plodova kesten se ubraja u voćke) i jedina koja spada u biljke glavne pčelinje paše. Med je tamne boje, vrlo jakog i oštrog mirisa po samoj biljci. Karakterističnog je trpko - gorkog okusa, zbog kojeg ga mnogi potrošači ne vole. Brzo kristalizira (Šimić, 1980).
- Lipa (*Tilia L.*) spada među najmedonosnije biljke. U Hrvatskoj veće površine pod lipom nalaze se na području Bilogore. Lipov med je svijetložut do blago zelenkast, ugodnog, malo gorkastog okusa s izrazitim mirisom po cvijetu. Sporo kristalizira, pa se ostavlja pčelama za ishranu tijekom zime (Šimić, 1980; Janković, 1979).
- Lavanda (*Lavandula officinalis L.*) je višegodišnji gust grm s uskim, svijetlim listovima i ljubičasto - modrim cvjetovima skupljenim pri vrhu grančica u obliku prividnog klasa. Lavandin med je svijetložut, bistar i proziran, jakog mirisa po biljci i oštrog okusa zbog čega mnogim potrošačima nije omiljen (Persano Oddo i Piro, 2004).
- Ružmarin (*Rosmarinus officinalis L.*) je zimzeleni samonikli grm visine do 2 m, sa vrlo niskim zadebljanim listovima i modrim cvjetovima smještenim u pršljenovima između listova. Kod nas raste na dalmatinskim otocima, ponekad sam, a češće izmiješan s drugim grmljem u makiji. Ružmarinov med je svijetao i proziran poput ulja. Bez mirisa je, ugodnog i blagog okusa i brzo kristalizira u fine sitne kristale. U čvrstom je stanju potpuno bijel (Šimić, 1980).
- Suncokret (*Helianthus annuus L.*) je jednogodišnja biljka koja se uzgaja zbog proizvodnje ulja i u Hrvatskoj je najrašireniji u Slavoniji. Suncokretov med je jantarnožut, slabog mirisa po biljci, slatkog do malo trpkog okusa. Poslije vrcanja brzo kristalizira (Petrović Jojriš, 1979).
- Amorfa (*Amorpha fructicosa L.*) je grm visine do 2 m na čijim vrhovima grančica se nalaze tamnocrveni do ljubičasti cvjetovi. Zove se još kineski bagrem ili bagremac. U

Hrvatskoj amorfe dosta ima u šumama pored rijeke Odre, zatim između Novske i Okučana. Amorfin med je tamno crvenkast, blagog mirisa i okusa (Šimić, 1980).

- Livadni med je med od različitog livadnog cvijeća. U njemu se može manje ili više naći i medljike, lipe, unosa s raznih korova ili čega drugoga što cvate u isto vrijeme. Boja i okus kao i sklonost kristalizaciji ovise o biljnoj vrsti koja prevladava u medu. Upravo zbog toga što potječe od nektara mnogo vrsta biljaka, nosi u sebi sve osobine dobrog i vrijednog meda (Šimić, 1980).

2.2.2. MEDLJIKOVAC

Medljika ili medna rosa je slatka tvar koja se javlja na listovima i ostalim dijelovima crnogoričnog i bjelogoričnog drveća, a proizvod je, tj. izlučevina kukaca iz reda jednakokrilaca (*Homoptera*) od kojih su za pčelarstvo najznačajnije lisne i štitaste uši.

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

Najznačajnije vrste medljikovca jesu:

- Jelov medljikovac - tamnosive do smeđe boje s tamnozelenom nijansom, ugodna okusa i mirisa. Spada u najcjenjenije medove Europe. Medljiku luče lisne uši iz roda Cinara od polovice lipnja do, ovisno o klimi i položaju, kasne jeseni. Najznačajnija područja pod jelom su Gorski Kotar te Velika i Mala Kapela (Persano Oddo i Piro, 2004).
- Smrekov medljikovac - tamno jantarne boje sa crvenkastom nijansom, intenzivnog mirisa po smoli. Medljiku luče štitaste uši roda Physokermes obično u svibnju i lipnju, dakle prije jelovog. Najveće smrekove šume nalaze se u Gorskom Kotaru (Šimić, 1980).
- Hrastov medljikovac je tamno crvene boje, slabog mirisa po hrastu, opornog okusa i pali u grlu. Gust - i rastezljiv, pa se teško vrca iz saća. Kod nas je manje cijenjen, ali je traženi izvozni artikl. Najveće površine pod hrastom su u Slavoniji, Turopolju, te okolici Jasenovca i Siska (Persano Oddo i Piro, 2004).

- Medljikovac od medljike medećeg cvrčka (*Metcalfa pruinosa* (Say)) - mutne smeđe boje, ponekad skoro crn. Neki znanstvenici ga svrstavaju u posebnu skupinu budući da se po nekim fizikalno - kemijskim parametrima razlikuje od ostalih medljikovaca. Okusom podsjeća na suho voće i melasu, te iako nema izraženu slatkoću dugo zadržava okus u ustima. Karakterističan je za Istru (Persano Oddo i Piro, 2004; Lauterer, 2002).

2.3. KEMIJSKI SASTAV MEDA

Med predstavlja izvanredno složenu smjesu više od 70 različitih komponenata. Neke od njih u med dodaju pčele, neke vode podrijetlo od medonosne biljke, a neke nastaju tijekom zrenja meda u saću (Krell, 1996).

Najzastupljeniji sastojci su ugljikohidrati, i to uglavnom fruktoza i glukoza, te voda koji zajedno čine više od 99 % meda. Ostatak čine proteini (uključujući enzime), mineralne tvari, vitamini, organske kiseline, fenolni spojevi, tvari arome (hlapljivi spojevi) i razni derivati klorofila. Iako je udio tih tvari u medu vrlo mali (< 1 %) one su uvelike odgovorne, kako za senzorska tako i za nutritivna svojstva meda (Singhal i sur, 1997).

2.3.1. UGLJIKOHIDRATI

Ugljikohidrati su glavni sastojak meda i njihov udio iznosi 73-83 %, što med čini prezasićenom otopinom šećera. Najzastupljeniji su fruktoza i glukoza koje čine prosječno 88-95 % ukupnih ugljikohidrata. Daju medu slatkoću, energetsku vrijednost te najviše utječu na njegova fizikalna svojstva kao što su viskoznost, gustoća, ljepljivost, sklonost kristalizaciji te higroskopnost (Barhate i sur., 2003).

Omjer fruktoze i glukoze (F/G) karakterističan je za pojedine vrste meda i u većini je slučajeva veći od 1,0. Omjer fruktoze i glukoze te omjer glukoze i vode u medu su vrlo bitni jer se pomoću njih može odrediti i predvidjeti tendencija kristalizacije meda. Osim dva monosaharida u medu je identificirano 11 disaharida: saharoza, maltoza, izomaltoza, nigeroza, 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 (Sanz i sur., 2004).

2.3.2. VODA

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

Zbog higroskopnosti meda, količina vode u njemu nije stalna veličina, već se mijenja za vrijeme čuvanja u ovisnosti o vlažnosti zraka. Može se reći da je udio vode najvažniji parametar kakvoće meda budući da određuje stabilnost meda i otpornost na mikrobiološko kvarenje (fermentaciju) tijekom čuvanja (Bogdanov i sur., 1999). 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 najvjerojatnije neće doći ukoliko je udjel vode ispod 18%., 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, 2009).

2.3.3. PROTEINI I AMINOKISELINE

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 svojstava meda poput stvaranja pjene i zračnih mjehurića, tamnjenje, zamućenje ili kristalizaciju meda. Udjel proteina u medu kreće se od 0% do 1,7 %, a medljikovac sadrži više proteina od nektarnog. 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. Najzastupljenija aminokiselina 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 zrelom, autentičnom medu mora biti veći od 180 mg/kg (Bogdanov, 2009). Proteini i aminokiseline u medu mogu biti životinjskog (od pčela) i biljnog (iz peludi) podrijetla (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.3.4. VITAMINI

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 peludi. Još jedan faktor koji uzrokuje gubitak vitamina je oksidacija askorbinske kiseline sa vodikovim peroksidom (nastalim iz glukoza oksidaze).

2.3.5. ENZIMI

Jedna od karakteristika po kojoj se med razlikuje od ostalih sladila je i prisustvo enzima. Med sadrži invertazu, dijastazu (amilaza), glukoza oksidazu, katalazu, kiselu fosfatazu, peroksidazu, polifenoloksidazu, esterazu, inulazu i proteolitičke enzime (Škenderov i Ivanov, 1986). Enzimi su vrlo značajne komponente meda budući da se njihova aktivnost smatra pokazateljem kakvoće, stupnja zagrijavanja i trajnosti te čuvanja meda (White i sur., 1964). Zajedno s proteinima medu daju svojstva koja se umjetnim putem ne mogu proizvesti niti nadomjestiti (Singhal i sur, 1997).

2.3.6. ORGANSKE KISELINE

Veliki broj organskih kiselina u medu nalazi se u obliku estera, a dokazana je i prisutnost anorganskih iona poput fosfata, klorida i sulfata. Neke kiseline se unose u med nektarom i medljikom 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. Udjel organskih kiselina u medu kreće se u rasponu od 0,17% do 1,17 %. Bagremov, kestenov i livadni med karakterizira mala količina organskih kiselina dok tamniji medovi imaju veću kiselost. Najzastupljenija je glukonska kiselina koja u medu nastaje iz glukoze djelovanjem enzima glukoza oksidaze. Ostale organske kiseline koje su zastupljene: mravlja, octena, maslačna, vinska, limunska, jabučna, mliječna, benzojeva i jantarna (Anupama i sur., 2003).

2.3.7. MINERALNE TVARI

Med sadrži čitav niz mineralnih tvari od kojih su neke vrlo važne za pravilan rad ljudskog organizma iako su količinski slabo zastupljene (prosječno 0,1-0,2 % u nektarnom medu i do 1,5 % u medljikovcu izraženo kao udjel pepela). Prevladavaju kalij, natrij, kalcij, fosfor, sumpor, klor, magnezij, željezo i aluminij, a u malim količinama prisutni su još i bakar, mangan, krom, cink, olovo, arsen, titan, selen i dr. Najzastupljeniji je kalij koji zajedno s natrijem, kalcijem i fosforom čini najmanje 50 % ukupnog udjela mineralnih tvari (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.3.8. FITOKEMIKALIJE

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

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

Antioksidansi smanjuju rizik od oksidativnih oštećenja stanica nastalih djelovanjem slobodnih radikala. Mogu biti enzimski (katalaza, glukoza – oksidaza) i neenzimski (organske kiseline, produkti Maillardovih reakcija, aminokiseline, proteini, flavonoidi, fenoli, vitamin E, vitamin C, karoteonidi). Flavonoidi imaju antioksidativni učinak, djeluju antimikrobno, inhibiraju razne enzime, imaju citotoksični antitumorni učinak te djeluju kao estrogeni. Flavonoidi koji se najčešće nalaze u medu su pinocembrin, apigenin, kamferol, kvercetin, galangin, krisin, pinobanksin, luteolin i hesperitin (Meda i sur., 2005).

Med sadrži i fenolne kiseline koje se mogu podijeliti na dvije grupe: 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 (Meda i sur., 2005).

2.3.9. HIDROKSIMETILFURFURAL

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

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

2.4. FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

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

2.4.1. VISKOZNOST

Viskoznost je stupanj likvidnosti, odnosno tekućeg stanja i naročito utječe na postupanje s medom tijekom dorade i skladištenja. Na viskoznost utječe više faktora kao što su sastav meda (ponajviše udjel vode), vrsta meda, temperatura te broj i veličina kristala u medu. Što je veći udjel vode, manja je viskoznost. Porastom temperature pri konstantnom udjelu vode viskoznost meda se smanjuje. Veći udjel di- i trisaharida doprinosi većoj viskoznosti (Assil i sur., 1991).

Uz udjel vode najviše utjecaja na viskoznost ima temperatura (Lazaridou i sur, 2004). Porastom temperature viskoznost se meda smanjuje, a taj utjecaj najizraženiji je na temperaturi ispod 15 ºC. Kao i kod drugih šećerom bogatih tekućina (koncentrati voćnih skova i šećerni sirupi) i kod meda se ovisnost viskoznosti o temperaturi može izraziti Arrheniusovom jednadžbom:

$\mu=\mu o \exp(Ea/RT)$

gdje je:

μ - viskoznost (Pa s),

μo - konstanta, Ea energija aktivacije (J/g mol)

R - opća plinska konstanta (8,14 J/kg K)

T - temperatura (K).

2.4.2. KRISTAIZACIJA

Med je prezasićena otopina glukoze i spontano prelazi u stanje ravnoteže kristalizacijom suvišne količine glukoze u otopini. Glukoza gubi vodu (postaje glukoza monohidrat) i prelazi u kristalni oblik, a voda, koja je prije bila vezana na glukozu, postaje slobodna tako da se povećava sadržaj vode u nekristaliziranim dijelovima meda. Zbog toga med postaje skloniji fermentaciji i kvarenju. Fruktoza ostaje u tekućem stanju i čini tanak sloj oko kristala glukoze. Med mijenja boju, postaje svjetliji, više nije proziran, a mijenja i okus. Iako med kristalizacijom ne gubi ništa od svojih osobina i vrijednosti, zbog odbojnosti potrošača prema kristaliziranom medu ona se nastoji izbjeći. Čuvanjem meda na temperaturi nižoj od 11 °C, dobro zatvorenog da ne dođe do apsorpcije vode može se spriječiti kristalizacija. Također ako je omjer glukoze i vode manji od 1,7 med neće kristalizirati odnosno kad taj omjer prijeđe 2,1 med brzo kristalizira. Proces pasterizacije odgađa kristalizaciju meda. Tako med koji je pasteriziran na temperaturi od 77ºC kroz 5 minuta nije kristalizirao na sobnoj temperaturi više od 2 godine (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.3. HIGROSKOPNOST

Higroskopnost je osobina meda da, u ovisnosti o relativnoj vlažnosti zraka i udjelu vode, na sebe privlači ili otpušta vodu. Proces je uvjetovan velikom količinom šećera. 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 (Vahčić i Matković, 2009).

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 (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.4. ELEKTRIČNA VODLJIVOST

Električna vodljivost je fizikalno svojstvo koje uvelike ovisi o udjelu mineralnih tvari i kiselina u medu; što je on veći, veća je i električna vodljivost meda. Budući da postoji linearan odnos između udjela pepela i električne vodljivosti:

C=0,14+1,74A

gdje je

C - električna vodljivost u mS/cm

A - udjel pepela u g/100 g

Danas se sve više u rutinskoj kontroli kakvoće meda zbog jednostavnosti i brzine umjesto udjela pepela provodi mjerenje električne vodljivosti. Ono služi kao dobar kriterij za određivanje botaničkog podrijetla meda odnosno za razlikovanje nektarnog meda od medljikovca. Prema zakonskoj regulativi, kako hrvatskoj tako i europskoj, nektarni i miješani med moraju imati električnu vodljivost manju od 0,8 mS/cm, a medljikovac i med kestena veću od 0,8 mS/cm. Iznimke su medovi eukaliptusa, vrijeska i lipe, zbog prirodno velikih varijacija u električnoj vodljivosti (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.5. OPTIČKA AKTIVNOST

Vodena otopina pčelinjeg meda je optički aktivna, tj. ima sposobnost zakretanja ravnine polarizirane svjetlosti. Optička aktivnost je funkcija udjela pojedinih ugljikohidrata u medu. Fruktoza zakreće ravninu polarizirane svjetlosti ulijevo, a glukoza, svi disaharidi, trisaharidi i viši oligosaharidi udesno (3). Nektarni med zbog većeg udjela fruktoze zakreće svjetlost ulijevo, odnosno pokazuje negativnu optičku aktivnost dok medljikovac zbog većeg udjela

oligosaharida, ponajviše melecitoze i erloze, zakreće svjetlost udesno, tj. pokazuje pozitivnu optičku aktivnost. Stoga se mjerenje specifičnog kuta rotacije u nekim zemljama (Grčka, Italija i Velika Britanija) koristi za razlikovanje nektrarnog meda od medljikovca (Bogdanov i sur., 1999).

2.4.6. 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 pri prolazku 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 (Bogdanov i sur., 1999).

2.4.7. SPECIFIČNA MASA

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

2.5. SENZORSKA SVOJSTVA MEDA

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

Boja je meda 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. Nakon kristalizacije med posvijetli, no potamni tijekom čuvanja.

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

Aroma meda potječe od omjera glukoze i fruktoze, esencijalnih ulja, terpena, aromatičnih aldehida, diacetila, metilacetilkarbamata, hlapljive i nehlapljive kiseline. Svježi med je aromatičniji (Škenderov i Ivanov, 1986).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Kao ispitivani materijal u ovom radu koristili smo uzorke sa međunarodnog natjecanja Zzzagimed 2016. pri čemu je za analizu ispitivano 30 uzoraka poznatog podrijetla s područja Republike Hrvatske i Republike Slovenije iz 2016. godine. Unutar 30 uzoraka bile su tri vrste meda sa po:

- 11 uzoraka kestenovog meda
- 9 uzoraka lipinog meda
- 10 uzoraka meda od bilja livade

Kod svih navedenih uzoraka analizirana su sljedeća fizikalno kemijska svojstva:

- Maseni udio vode
- Električna provodnost
- Kiselost
- Maseni udio hidrokimetilfurfurala
- Maseni udio redurajućih šećera
- Maseni udio saharoze

3.2. METODE RADA

3.2.1. PRIPREMA UZORKA ZA ANALIZU

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

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

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

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

Ako med sadržava strane tvari, kao što su vosak, dijelovi pčela ili dijelovi saća, uzorak se zagrijava u vodenoj kupelji na temperaturi od 40°C, a zatim procijedi kroz tkaninu, koja se stavlja na ljepilo zagrijavano toplom vodom.

Ako je med u saću, saće se otvori, procijedi kroz žičano sito s kvadratnim otvorima promjera 0,5 mm x 0,5 mm. Ako dio saća i voska prođe kroz sito, uzorak se zagrijava u vodenoj kupelji na temperaturi od 60°C , a prema potrebi zagrijava se 30 minuta i na temperaturi od 65°C. Za vrijeme zagrijavanja promiješa se štapićem ili protrese kružnim pokretima, a zatim brzo prohladi.

Ako je med u saću granuliran, zagrijava se da bi se vosak otopio, promiješa se i ohladi. Nakon hlađenja vosak se odstrani.

3.2.2. ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU

PRINCIP

Temelji se na refraktometrijskom određivanju

ODREĐIVANJE

Uzorak se priprema na način utvrđen za metodu pripreme uzoraka za analizu, a zatim se indeks refrakcije uzorka odredi refraktometrom, pri stalnoj temperaturi od 20°C. Na temelju indeksa refrakcije izračuna se količina vode (% m/m), pomoću tablice za proračun udjela vode u medu (IHC, 2009).

IZRAČUNAVANJE

Ako se indeks ne odredi na temperaturi od 20°C, uzme se u obzir korekcija temperature i rezultati se svedu na temperaturu od 20°C ,temperatura viša od 20°C – dodati 0,00023 za svaki °C, temperatura do 20°C – oduzeti 0,00023 za svaki °C.

3.2.3. ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI MEDA

PRINCIP

Mjeri se električna provodnost meda pomoću konduktometra. Bazira se na mjerenju električne otpornosti koja je obrnuto proporcionalna provodnosti

PRIPREMA UZORKA

Potrebno je odvagati 20 g bezvodnog meda, odnosno količina koja odgovara tabličnoj vrijednosti utvrđenoj prema udjelu vode za ispitivani uzorak.

ODREĐIVANJE

Odvaže se potrebna masa meda u Erlenmeyer tikvicu od 100 ml i miješanjem otopi u deioniziranoj vodi. Nakon što se uzorak otopi ulije se deionizirane vode do oznake na tikvici od 100 ml. Zatim se sonda za mjerenje uroni u tikvicu i izmjeri provodnost. Očitanje se izvodi pri 20 °C. Pri korekciji za svaki stupanj iznad 20 °C potrebno je oduzeti 3.2% vrijednosti , a za svaki stupanj ispod 20 °C potrebno je dodati 3.2% vrijednosti (IHC, 2009).

3.2.4. ODREĐIVANJE KISELOSTI MEDA

PRINCIP

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

ODREĐIVANJE

Potrebno je odvagati 10 g uzorka i otopiti ih u 75 ml deionizirane vode. Nakon čega kreće postupak titravije (IHC, 2009).

IZRAČUNAVANJE

Ukupna kiselost se računa prema formuli:

Kiselost = 10 x V

Gdje je:

V – broj potrošenih ml 0,1 mol (NaOH)/L za neutralizaciju 10 g meda

3.2.5. ODREĐIVANJE UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA U MEDU

PRINCIP

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

REAGENSI:

1. Otopina p-toluidina

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

2. Otopina barbiturne kiseline

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

3. Carrrezova otopina I:

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

4. Carrezova otopina II:

30 grama cink acetata otopi se u 100 mL vode.

POSTUPAK:

Izvaže se 10.0 grama meda, otopi u 20 mL vode te kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL. Doda se 1.0 mL Carrezove otopine I i dobro promiješa. Nakon toga se doda 1.0 mL

Carrez II otopine te opet promiješa. Dopuni se vodom do oznake i još jednom promiješa. Kap etanola sprječava moguće pjenjenje. Otopina se filtrira kroz filter papir. Prvih 10 mL filtrata se baci. Ostatak analize se odmah treba dovršiti. U slučaju da su uzorci vrlo bistri, pročišćavanje Carrezovim otopinama nije potrebno.

ODREĐIVANJE:

Otpipetira se po 2.0 mL otopine uzorka u dvije epruvete i u obje se doda 5.0 mL otopine p-toluidina. Doda se 1 mL vode u jednu epruvetu (slijepa proba) i 1 mL otopine barbiturnekiseline u drugu epruvetu uz nježno miješanje. Reagens se treba dodavati bez prekida, a sve se mora završiti za 1 do 2 minute. Nakon 3 – 4 minute, kada intenzitet boje dosegne svoj maksimum, očita se apsorbancija na 550 nm u kiveti promjera 1 cm (IHC, 2009).

IZRAČUNAVANJE UDJELA HMF-a:

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

pri čemu je:

A - apsorbancija

192 - faktor razrjeđivanje i koeficijent ekstinkcije

m - masa meda (g)

3.2.6. ODREĐIVANJE UDJELA REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA U MEDU

PRINCIP

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

REAGENSI:

1. Fehlingova otopina

Otopina A: Otopi se 69,28 g bakrenog sulfata ($CuSO4 \times 5H2O$) i tome se doda destilirana voda do jedne litre. Otopina se pripremi 24 sata prije titracije.

Otopina B: Otopi se 346 g kalijnatrijeva tartarata ($C4H4KNaO6 \times 4H2O$) i 100 g natrijeva hidroksida (NaOH) u litri destilirane vode. Otopina se zatim filtrira.

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

Izvaže se 9,5 g čiste saharoze, doda 5 ml otopine solne kiseline (oko 36,5 %) i destilirane vode do 100 mL. Otopina se može pohraniti nekoliko dana, ovisno o temperaturi: na temperaturi od 12°C do 15°C do sedam dana, a na temperaturi od 20°C do 25°C tri dana. Pripremljenoj otopini doda se vode do jedne litre. Neposredno prije upotrebe odgovarajuća se količina otopine neutralizira 1 mol otopinom NaOH/L, a zatim se razrijedi do zahtijevane potrebne koncentracije (2 g/L) - standardna otopina.

Napomena: 1%-tna zakiseljena otopina invertnog šećera stabilna je nekoliko mjeseci.

3. Otopina metilenskog modrog bojila

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

4. Stipsa (alaun)

Otopina stipse: Pripremi se hladno zasićena otopina [K2SO4Al2 (SO4)3 x 24H2O] u vodi. Zatim se uz stalno miješanje štapićem dodaje amonijev hidroksid dok otopina ne postane alkalna, što se utvrđuje lakmusom. Pusti se da se otopina slegne, provodi se ispiranje vodom, uz dekantiranje sve dok je voda slabo pozitivna pri testu na sulfate, što se utvrđuje otopinom barijeva klorida. Višak se vode odlije, a preostala pasta pohrani u boci s brušenim zatvaračem.

PRIPREMA UZORKA

Postupak I. - primjenjiv na med s talogom:

a) Izvaže se 25 g (W1) homogeniziranoga meda i prenese u odmjerenu tikvicu obujma 100 mL, doda se 5 mL stipse i tikvica se dopuni vodom do oznake, pri temperaturi od 20°C, pa se otopina filtrira.

b) U odmjerenu tikvicu obujma 500 mL otpipetira se 10 mL uzorka pod a) i to se razrijedi destiliranom vodom do oznake na tikvici (razrijeđena otopina meda).

Postupak II. :

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

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

STANDARDIZACIJA FEHLINGOVE OTOPINE

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

PRETHODNA TITRACIJA

Ukupni obujam tvari koja reagira na kraju redukcijske titracije mora biti 35 mL, a to se postiže dodavanjem određene količine vode prije početka titracije. S obzirom na to da se Pravilnikom za med propisuje više od 60% reduciranih šećera (računatih kao invertni šećer), potrebno je najprije obaviti titraciju, da bi se utvrdio točan obujam vode što se dodaje da bi se u postupku analize osigurala redukcija pri stalnom obujmu. Obujam potrebne količine vode dobiva se odbijanjem potrošenog obujma razrijeđene otopine meda u prethodnoj titraciji. Pipetom se odmjeri 5 mL Fehlingove otopine A i prenese u stožastu Erlenmeyerovu

tikvicu obujma 250 mL, doda se 5 mL Fehlingove otopine B, 7 mL destilirane vode, malo plovućca i 15 mL razrijeđene otopine meda iz birete. Medna se mješavina zagrijava do vrenja, pa dvije minute polako vrije, za koje se vrijeme doda 1 mL 0,2 %-tne otopine metilenskog modrog bojila. Titracija se završi ukupno za tri minute, ponovnim dodavanjem razrijeđene otopine meda sve dok ne iščezne boja indikatora. Potrošeni obujam razrijeđene otopine meda koji je potpuno reduciran obilježava se s "X mL".

ODREĐIVANJE

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

IZRAČUNAVANJE

Invertni šećer izražava se u g/100 g i izračunava prema sljedećoj formuli:

postupak I.: $C = 25/W1 \times 1000/Y1$

postupak II. $C = 2/W2 \times 1000/Y2$

pri čemu je:

C- invertni šećer (g)

W1,2 - masa uzorka (g)

Y1,2 - volumen razrijeđene otopine meda potrošen za određivanje (mL)

Napomena: Radi preciznosti i ponovljivosti rezultata nužno je da se za svaki pokus odredi koliki obujam vode valja dodati da bi ukupan obujam iznosio 35 mL. U zadanoj su tablici dane približne vrijednosti, uz pretpostavku da je početna masa uzorka iznosila 25 g odnosno 2 g.

3.2.7. ODREĐIVANJE UDJELA SAHAROZE U MEDU

PRINCIP

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

REAGENSI:

Fehlingova otopina (A i B), utvrđena metodom određivanja reduciranih šećera,

standardna otopina invertnog šećera, utvrđena metodom određivanja reduciranih šećera,

solna kiselina C (HCl) = 6,34 mol/L,

otopina natrijeva hidroksida C (NaOH) = 5 mol/L,

2 %-tna otopina metilenskoga modrog bojila (2 g/L).

PRIPREMA UZORKA

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

HIDROLIZA UZORKA

Otopina meda (50 mL) prenese se u odmjernu tikvicu obujma 100 mL i doda se 25 mL

destilirane vode. Toplomjer se zaroni u pripremljeni uzorak, koji se zagrijava do temperature od65°C u kipućoj vodenoj kupelji. Tikvica se zatim iznese iz kupelji i doda se 10 mL solne kiseline[C(HCl) = 6 mol/L]. Pusti se da se otopina hladi 15 minuta, zatim se temperatura ugodi na 20°C i otopina neutralizira 5 mol otopinom NaOH/L, uz upotrebu lakmusova papira kao indikatora. Ponovno se ohladi (20°C) te se tikvica dopuni vodom do obujma 100 mL (razrijeđena otopina meda).

ODREĐIVANJE

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

IZRAČUNAVANJE

Prvo se obračunava postotak invertnog šećera nakon inverzije, pri čemu se primjenjuje formula za određivanje postotka invertnog šećera prije inverzije.

Saharoza se iskazuje u g/100 g meda i izračunava prema formuli:

masa saharoze, g/100 g = (količina invertnog šećera nakon inverzije - količina invertnog šećera prije inverzije) x 0,95.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Tablica 1. Rezultati fizikalno-kemijske analize kestenovog meda

Uzorak	Maseni udjel vode (%)	Električna provodnost (mS/cm)	Kiselost (mmol/kg)	Maseni udio HMF (mg/kg)	Maseni udjel reducirajućih šećera (%)	Maseni udjel saharoze (%)
1	19,44	1,2450	20,92	0,72	66,54	0,91
2	19,48	1,8480	14,10	0,00	65,96	1,00
3	17,76	1,4350	19,94	1,06	65,29	1,20
4	17,84	1,4470	18,90	0,90	68,90	1,02
5	16,64	1,2670	24,36	0,60	66,73	0,90
6	18,92	1,3660	16,02	0,59	66,17	4,25
7	17,12	1,1330	20,22	0,85	66,30	0,94
8	19,80	1,2720	29,17	45,91	56,14	1,92
9	16,93	1,5410	17,24	0,58	65,88	1,11
10	18,16	1,3380	24,50	0,42	65,47	0,98
11	17,88	1,2260	26,31	0,30	65,82	1,16
Prosječna vrijednost	18,18	1,3744	21,06	4,72	65,38	1,40
Standardna devijacija	1,09	0,1953	4,59	13,66	3,21	0,99
Koeficijent varijabilnosti (%)	6,00	14,2108	21,82	289,44	4,91	70,60
Zahtjevi Pravilnika	<20	>0,8	<50	<40	>60	<5

Tablica 2. Rezultati fizikalno-kemijske analize meda lipe

Uzorak	Maseni udjel vode (%)	Električna provodnost (mS/cm)	Kiselost (mmol/kg)	Maseni udio HMF (mg/kg)	Maseni udjel reducirajućih šećera (%)	Maseni udjel saharoze (%)
1	16,80	0,6450	25,00	2,62	65,18	1,70
2	18,52	0,8420	41,08	0,73	64,53	0,90
3	16,36	0,7670	17,14	0,51	64,31	1,33
4	17,80	0,6550	12,25	0,54	65,20	1,69
5	17,00	0,8300	23,83	2,27	62,50	1,46
6	17,88	0,6420	20,20	1,39	64,43	0,89
7	16,72	0,7830	27,08	1,23	66,62	0,93
8	16,20	0,8530	24,97	0,68	61,21	1,25
9	18,04	0,9920	26,02	0,37	63,78	0,87
Prosječna vrijednost	17,26	0,7788	24,17	1,15	64,20	1,22
Standardna devijacija	0,82	0,1171	7,96	0,81	1,58	0,34
Koeficijent varijabilnosti (%)	4,75	15,0348	32,92	70,62	2,46	27,99
Zahtjevi Pravilnika	<20	/	<50	<40	>60	<5

Tablica 3. Rezultati fizikalno-kemijske analize meda livade

Uzorak	Maseni udjel vode (%)	Električna provodnost (mS/cm)	Kiselost (mmol/kg)	Maseni udio HMF (mg/kg)	Maseni udjel reducirajućih šećera (%)	Maseni udjel saharoze (%)
1	19,40	0,7090	34,14	0,70	64,59	1,02
2	19,40	0,7660	31,90	0,00	64,39	0,90
3	19,32	0,4450	35,24	0,00	64,41	1,70
4	18,92	0,4870	34,10	0,35	66,71	1,38
5	18,00	0,7900	23,14	0,63	63,67	1,08
6	18,92	0,7660	29,00	2,00	66,26	0,91
7	16,64	0,7360	36,25	2,29	64,54	0,91
8	18,28	0,4900	40,28	0,32	67,43	0,95
9	16,64	0,3320	22,79	3,02	66,17	1,47
10	17,24	0,4740	32,97	16,22	65,85	1,23
Prosječna vrijednost	18,28	0,5995	31,98	2,55	65,40	1,16
Standardna devijacija	1,10	0,1694	5,57	4,91	1,24	0,28
Koeficijent varijabilnosti (%)	6,04	28,2521	17,42	192,51	1,89	24,21
Zahtjevi Pravilnika	<20	<0,8	<50	<40	>60	<5

U tablicama 1-3 prikazane su dobivene vrijednosti za određivane fizikalno-kemijske parametre (maseni udjel vode, električnu provodnost, kiselost, maseni udjel hidroksimetilfurfurala, maseni udjel reducirajućih šećera te maseni udjel saharoze) meda kestena, lipe i livade. U tablicama se također nalaze izračunate vrijednosti srednje vrijednosti, standardne devijacije te koeficijenta varijabilnosti za svaki skupinu određivanih parametara kod određene vrste meda te zahtjevi Pravilnika o medu.

U analiziranim uzorcima meda maseni udjel vode kretao u rasponu od 16,20% kod uzorka meda lipe, do 19,8% kod uzorka meda kestena. Sukladno sa zahtjevima Pravilnika ni jedan ispitivani uzorak ne prelazi ograničenje od 20% masenog udjela vode. Prosječni udio vode kod uzoraka meda kestena je 18,18%, lipe 17,26% te livade 18,28%. U istraživanju kojeg su proveli Korošec i suradnici za lipin med dobili su rezultate za maseni udio vode u intervalu od 14,5% do 17,8% što također zadovoljava uvjete Pravilnika o medu (Korošec i sur., 2016). Udjel vode iz analize kojeg su proveli Šarić i suradnici 2003. godine srednja vrijednost za kestenov med bila je 16,9%, a za livadni med 16,0%. (Šarić i sur., 2008).

Vrijednost električne provodnosti za kestenov med trebaju biti veće od 0,8 mS/cm, za med livade manji od 0,8 mS/cm, a za med lipe ne postoji ograničenje prema Pravilniku o medu. Kod kestenovog meda i livadnog meda svi ispitivani uzroci su sukladni sa Pravilnikom o medu. Najnižu vrijednost električne provodnosti imao je uzorak meda lipe od 0,3320 mS/cm, dok je najviša vrijednost izmjerena kod uzorka meda kestena od 1,8480 mS/cm. Srednje vrijednosti električne provodnosti za sve tri vrste meda su sukladne sa Pravilnikom te iznose redom za kesten 1,3744 mS/cm, lipu 0,7788 mS/cm te livadu 0,5995 mS/cm. Analiza Korošeca i suradnika također pokazuje širok raspon električne provodnosti za lipin med koji se kretao od 0,55 do 1,07 mS/cm (Korošec i sur., 2016). Iz istraživanja Šarića i suradnika srednje vrijednosti električne provodnosti kestenovog meda i livadnog meda se kreću unutar granica prema Pravilniku o medu. Srednja vrijednost za kestenov med iznosila je 1,27 mS/cm, a za livadni med 0,61 mS/cm (Šarić i sur.,2008).

Kiselost svih ispitivanih uzoraka se kreće ispod propisane granice od 50 mmol/kg Pravilnikom o medu. Najnižu i najvišu vrijednost imali su uzorci meda lipe od 12,25 mmol/kg i 41,08 mmol/kg. Srednja vrijednost kiselosti za med kestena iznosi 21,06 mmol/kg, med lipe 24,17 mmol/kg i med livade 31,98 mmol/kg. U istraživanju Korošeca te Šarića i suradnika raspon kiselosti za lipin med bio je od 6,1 do 21,4 mmol/kg, kestenov med od 8,0 do 21,7 mmol/kg te livadni med od 13,9 do 35,0 mmol/kg (Korošec i sur., 2016, Šarić i sur.,2008). Vrijednosti dobivene u oba istraživanja slična su onima dobivenim u ovom radu.

Maseni udio HMF-a kretao se od 0,00 mg/kg do 45.91 mg/kg. Prema Pravilniku o medu udio HMF-a mora biti manji od 40 mg/kg što nije zadovoljio samo jedan uzorak kestenovog meda sa već prethodno navedenom vrijednošću. Prosječne vrijednosti za ove vrste medova iznose: kestenov med 4,72 mg/kg, med lipe 1,15 mg/kg i livadni med 2,55 mg/kg. Korošec i suradnici navode kako je preko 600 ispitivanih uzoraka meda s područja Slovenije tijekom 5 godina njih 75% pokazalo vrijednosti udjela HMF-a 5 mg/kg ili manje dok nijedan uzorak nije prešao zakonsku granicu od 40 mg/kg prema Pavilniku o medu (Korošec i sur., 2016). Analiza različitih vrsta medova Šarića i suradnika iz 2003., 2004. i 2005. vezano na udjel HMF-a dobivene su srednje vrijednosti za iste godine redom 6,4%, 7,0% te 29,7% (Šarić i sur.,2008). Možemo zaključiti da postoje razlike u masenom udjelu HMF-a ovisno o razdoblju provođenja istraživanja.

Maseni udio reducirajućih šećera nije zadovoljio samo jedan uzorak kestenovog meda s izmjerenom vrijednošću od 56,14%, koji je imao manje od propisane granice od minimalno 60 grama reducirajućih šećera na 100 grama uzorka prema Pravilniku o medu. Najviša izmjerena vrijednost iznosila je 68,90%, također kod uzorka kestenovog meda. Srednje

vrijednosti iznose: kestenov med 65,38%, med lipe 64,20% i livadni med 65,40%. Udio reducirajućih šećera iz analize koju je proveo Šarić za kestenov med srednja vrijednost iznosi 73,1%, a za livadni med 71,2% (Šarić i sur.,2008). U analizi kojeg su proveli Korošec i suradnici za različite vrste slovenskih medova srednja vrijednost reducirajućih šećera iznosila je 66,65% što je slično vrijednostima iz ovog rada (Korošec i sur., 2016).

Udio saharoze u medu prema Pravilniku o medu mora biti manji od 5%, ukoliko je taj iznos veći može ukazivati na patvorenje meda. Od ispitivanih uzoraka svi su u skladu sa Pravilnikom o medu. Najnižu izmjerenu vrijednost imao je uzorak meda lipe s 0,87%, a najvišu uzorak meda kestena s 4,25%. Srednje vrijednosti kreću se za kestenov med 1,40%, med lipe 1,22% i med livade 1,16%. Analiza udjela saharoze lipinog meda što su proveli Korošec i suradnici dobili su vrijednosti koje se kreću od 0,09% do 3,51% čime zadovoljavaju uvjete Pravilnika o medu (Korošec i sur., 2016). Vrijednosti koje su dobili Šarić i suradnici u svom istraživanju vezano na udjel saharoze kreću se u intevalu za kestenov med od 2,4% do 4,5% te livadni med od 0,2% do 4,5% (Šarić i sur.,2008).

5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bilo je odrediti kvalitetu meda određivanjem fizikalno-kemijskih parametara kod 3 vrste meda s područja Republike Hrvatske i Republike Slovenije. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti:

Većina ispitivanih uzoraka je u skladu s Pravilnikom o medu, dok nekolicina pokazuje odstupanja.

Za parametre masenog udjela vode, kiselost, električnu provodnost i maseni udio saharoze svi uzorci su u skladu za zahtjevima propisanog Pravilnika o medu.

Samo jedan uzorak ne zadovoljava uvjet o udjelu reducirajućih šećera, odnosno ispod je propisane granice od 60 grama reducirajućih šećera na 100 grama meda prema Pravilniku o medu.

S obzirom na zahtjeve Pravilnika o medu vezano za maseni udjel hidroksimetilfurfurala samo jedan uzorak prelazi dopuštenu granicu od 40 mg/kg.

6. LITERATURA

Anupama, D., Bhat, K.K., Sapna, V.K. (2003) Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Research International* **36**: 183-191.

Assil, H., Sterling, R., Sporns, P. (1991) Crystal control in processed liquid honey. *Journal of Food Science* **56**: 1034-1041.

Barhate, R. S., Subramanian, R., Nandini, K. E., Hebbar, H. U. (2003) Processing of honey using polymeric microfiltration and ultrafiltration membranes. *Journal of Food Engineering*. **60**: 49-54.

Bogdanov, S., Lüllmnn, C., Martin, P. (1999) Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Commission. *Mitteilungen Aus Dem Gebiete Der Lebensmittel-untersuchung Un Hygiene.* **90**: 108-125.

Codex Alimentarius Commission (2001). Revised Codex Standard for Honey, *Codex STAN 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001).*

International Honey Commission (2009) Harmonised methods of the International Honey Commission, <www.ihc-platform.net>, Pristupljeno svibanj, 2017.

Janković, A. (1979) Pčelinji proizvodi- hrana i lek, 3. izd., Nolit, Beograd.

Korošec, M., Kopf, U., Golob, T., Bertoncelj, J. (2016) Functional and Nutritional Properties of Different Types od Slovenian Honey, *Functional Properties of Traditional Foods* **23**: 323-338.

Krell, R. (1996) Value-added products from beekeeping. Ch. 2. FAO Agricultural Services Bulletin No. 124.

Lauterer, P. (2002) Metcalfa pruinosa, A new pest ornamental horticulture in the Czech Republic. *Plant Protection Science* **38**: 145-148.

Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., Bacandritsos, N., Sabatini, A. G. (2004) Composition, thermal and rheological behaviour of selected Greek honeys. *Journal of Food Engineering* **64**: 9-21.

Meda, A., Lamien, C.E., Millogo, J., Romito, M., Nacoulma, O.G. (2005) Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey. *Acta Veterianria Brno* **74**: 147-152.

National Honey Board (2005) Honey's Nutrition and Health Facts. Longmon, Colorado, USA. www.nhb.org, Pristupljeno svibanj, 2017.

Nedialkov, S., Bižev, B., Mitev, B., Simitčijev, T., Venov, B. (1986) Praktično pčelarstvo (preveli Stamenović, B., Ivanova. K., Račeva, S.) Nolit, Beograd.

Persano Oddo, L., Piro, R. (2004) Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* **35**: Suppl.1. S38-S81.

Petrović Jojriš, N. (1979) Pčele i medicina (preveo Đeranović, A.) Nolit, Beograd.

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

Sajko, K., Odak, M., Bubalo, D., Dražić, M., Kezić, N. (1996) Razvrstavanje meda prema biljnom podrijetlu uz pomoć peludne analize i električne provodljivosti. *Hrvatska pčela* **10**: 193-196.

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

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

Spano, N., Casula, L., Panzanelli, A., Pilo, M.I., Piu, P.C., Scanu, R., Tapparo, A., Sanna, G. (2005) An RP-HPLC determination of 5-hydroximethylfurfural in honey. The case of strawberry tree honey. *Talanta* **68**: 1390-1395.

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

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

Škenderov, S., Ivanov. C. (1986) Pčelinji proizvodi i njihovo korišćenje (preveli Stamenović, B., Ivanova. K., Petrov, J.) Nolit, Beograd.

Tucak, Z., Bačić, T., Horvat, S., Puškadija, Z. (1999) Pčelarstvo, Poljoprivredni fakultet, Osijek

Vahčić, N., Matković, D. (2009) Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda, <www.pcelinjak.hr>. Pristupljeno svibanj, 2017.

White, J., Kushnir, I., Subers, M.H. (1964) Effects of storage and processing temperatures on honey quality. *Food Technology* **18**: 153-156.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Filip Hlenay

ime i prezime studenta