Kemijska analiza kestenovog meda

Martić, Ivan

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

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:159:878896

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

Ivan Martić

6684/PT

KEMIJSKA ANALIZA KESTENOVOG MEDA

Modul: Analitika prehrambenih proizvoda

Mentor: prof.dr.sc. Nada Vahčić

Zagreb, 2016.

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu **Završni rad**

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda

Laboratorij za kontrolu kvalitete u prehrambenoj industriji

KEMIJSKA ANALIZA KESTENOVOG MEDA

Ivan Martić, 6684/PT

Sažetak: Cilj rada bio je odrediti kemijska svojstva analiziranog kestenovog meda. Analizirano je 16 uzoraka kestenovog meda proizvedenih u 2015. godini na području Republike Hrvatske. Provedena je analiza udjela vode, hidroksimetilfurfurala, reducirajućih šećera, saharoze te električne vodljivosti i kiselosti meda. Sve analize provedene su metodama propisanim od Međunarodne Komisije za med. Iz rezultata dobivenih kemijskom analizom 16 uzoraka meda može se zaključiti da je velika većina kemijskih parametara u skladu sa Pravilnikom o medu.

Ključne riječi: kestenov med, kemijski sastav meda

Rad sadrži: 29 stranica, 5 tablica, 30 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: prof.dr.sc. Nada Vahčić

Rad predan: Lipanj, 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb **Final work**
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Undergraduate study of Food Technology
Department of Food Quality Control
Food analises

CHEMICAL ANALYSIS OF CHESTNUT HONEY

Ivan Martić, 6684 PT

Abstract: The aim of this research was to determine chemical parameters of chestnut honey. Sixteen samples of Croatian chestnut honey made in 2015. were analysed. Water mass fraction, content of hydroxymethylfurfural, acidity, electrical conductivity, total reducing sugar mass fraction and sucrose mass fraction were determined. All chemical parameters were determined using the methods proposed by International Honey Commission. The obtained results mostly meet the demands imposed by Croatian regulations.

Keywords: chestnut honey, chemical composition of honey
Thesis contains: 29 pages, 5 tables, 30 references
Original in: Croatian
Final work in printed and electronic (pdf format) **version is deposed in**: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb
Mentor: Nada Vahčić, PhD, Associate Professor

Thesis delivered: June, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 2
2.1 DEFINICIJA MEDA 2
2.2 PODJELA MEDA 2
2.2.1 NEKTARNI MED 3
2.2.2 MED MEDLJIKOVAC 4
2.3 KEMIJSKI SASTAV MEDA 6
2.3.1 UGLJIKOHIDRATI 6
2.3.2 VODA 6
2.3.3 PROTEINI I AMINOKISELINE 7
2.3.4 ENZIMI 7
2.3.5 ORGANSKE KISELINE 8
2.3.6 VITAMINI 9
2.3.7 MINERALI 9
2.3.8 FITOKEMIKALIJE 10
2.3.9 HMF 10
2.4 FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA 11
2.4.1 KRISTALIZACIJA 11
2.4.2 VISKOZNOST 12
2.4.3 HIGROSKOPNOST 12
2.4.4 OPTIČKA AKTIVNOST 13
2.4.5 ELEKTRIČNA VODLJIVOST 13
2.4.6 INDEKS REFRAKCIJE 14
2.4.7 POVRŠINSKA NAPETOST 14
2.4.8 SPECIFIČNA MASA 14
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 15
3.2.3 ODREĐIVANJE KISELOSTI MEDA 16
3.2.4 ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE PROVODNOSTI 16
3.2.5 ODREĐIVANJE UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA 16
3.2.6 ODREĐIVANJE UDJELA REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA 18
3.2.7 ODREĐIVANJE UDJELA SAHAROZE 20
4. EKSPERIMENTALNI DIO 22
5. RASPRAVA 24
6. ZAKLJUČAK 26
7. LITERATURA 27

1. **UVOD**

Med je namirnica velike hranidbene vrijednosti i od davnina se koristi u ljudskoj prehrani. U današnje vrijeme stručnjaci preporučuju konzumaciju meda zbog njegovih ljekovitih i terapijskih svojstava. Medu se pripisuju antibakterijska, antiseptička i antioksidacijska svojstva i zato pozitivno utječe na zdravlje ljudi.

Sastav meda ovisi o različitim čimbenicima, a ponajviše o botaničkom podrijetlu, klimatskim uvjetima, pasmini pčela i uvjetima procesiranja. Općenito, med se sastoji od jednostavnih šećera, proteina, kiselina, enzima, vitamina, minerala i brojnih antibakterijskih tvari. Ovisno o udjelu nabrojenih tvari, postoje razlike u fizikalno-kemijskim svojstvima meda kao što su viskoznost, sposobnost kristalizacije itd.

Važno je redovito kontrolirati kvalitetu meda prvenstveno zbog zaštite potrošača, ali i radi stjecanja novih spoznaja o medu koje se mogu primijeniti tijekom proizvodnje, skladištenja meda te njegove primjene.

Cilj ovog rada je određivanje kemijskih parametara kestenovog meda i utvrđivanje njihove kvalitete s obzirom na zahtjeve Pravilnika. Ispitivano je 16 uzoraka kestenovog meda iz 2015. godine sa područja Republike Hrvatske.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 DEFINICIJA MEDA

Prema Pravilniku o medu, med se definira kao prirodno sladak proizvod što ga medonosne pčele (*Apis melifera*) 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, 2015).

Prema definiciji Hrvatskog pčelarskog saveza med je gusta, slatka, sirupasta ili kristalizirana tvar blijedožute do tamnosmeđe boje, specifičnog mirisa i okusa.

Codex standard definira med kao prirodno slatku tvar koju od nektara biljaka ili izlučevina živih dijelova biljaka, odnosno izlučevina kukaca koji sišu sokove na živim dijelovima biljaka, proizvode pčele medarice na način da iste skupljaju, preinačuju dodajući im vlastite specifične tvari, odlažu, isušuju, pohranjuju i ostavljaju u saću da sazru.

2.2 PODJELA MEDA

Iz navedenih definicija meda proizlazi da podrijetlo meda može biti biljno ili životinjsko. Med se osnovno može podijeliti na nektarni (cvjetni) med i medljikovac. Nektarni ili cvjetni med proizvode pčele od nektara medonosnih biljaka, a može biti monoflorni i poliflorni.

Monoflorni med je takav med koji u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 45% peludnih zrnaca iste biljne vrste. Pojedini medovi mogu se svrstati među monoflorne medove ako im udjel peludnih zrnaca u netopljivom sedimentu iznosi najmanje za: pitomi kesten - 85% , lucernu - 30% , ružmarin - 30% , lipu - 25% , kadulju - 20% , bagrem - 20% , lavandu - 20% .

Poliflorni med je mješavina meda različitih vrsta .

Medljikovac je takav med koji se dobiva od medne rose odnosno izlučevina insekata koji skupljaju sokove sa živih dijelova biljaka ili izlučevina živih dijelova biljaka.

Prema načinu proizvodnje i/ili prezentiranja razlikuju se:

- 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)
- cijeđeni med (dobiva se cijeđenjem otklopljenog saća bez legla)

- prešani med (dobiva se hladnim gnječenjem nezaležanog saća, sa ili bez korištenja umjerene temperature koja ne smije prijeći 45 °C)
- vrcani med (dobiva se vrcanjem u centrifugi otklopljenog saća bez legla)
- filtrirani med (med dobiven na način koji tijekom uklanjanja stranih anorganskih ili organskih tvari dovodi do značajnog uklanjanja peludi) (Pravilnik o medu, 2015)

2.2.1 NEKTARNI MED

Nektarni med pčele proizvode od nektara biljaka cvjetnica ili nektara van cvjetnih nektarija. Nektar je slatka tekućina koju izlučuju biljne žlijezde nektarije. Nektar je po kemijskom sastavu 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).

Različite vrste meda dobile su imena po biljkama sa kojih pčele skupljaju nektar. Ako pčele skupljaju med na biljci jedne vrste, dobiva se monoflorni med (npr. kestenov med, bagremov med, suncokretov med).

Najznačajnije vrste nektarnog meda su:

- **Bagremov med** - bagrem (*Robinia pseudoacacia*) je trajna biljka, najmedonosnija od svih biljaka. Potječe iz Sjeverne Amerike, a na našem području prostire se u Podravini, Baranji te Hrvatskom zagorju. Bagrem cvijeta u drugoj polovici svibnja i početkom lipnja, 10 - 15 dana. Najprije počne mediti na nižim područjima, a zatim u višim područjima. Bagremov med odlikuje ugodna aroma i okus te vrlo svijetla boja. Spada u medove koji jako sporo kristaliziraju te stoga mjesecima ostaje u tekućem stanju.
- **Kestenov med -** kesten (*Castanea sativa Mill.*) je najmedonosnija voćna vrsta i jedina koja spada u biljke glavne pčelinje paše. Raste u samoniklim šumama u Istri, okolici Petrinje, Zagreba i Hrvatske Kostajnice. Cvjeta u lipnju i daje velike količine nektara. Kestenov med je tamne boje i brzo kristalizira. Prepoznatljiv je po mirisu te gorkom i trpkom okusu.
- **Lipov med -** lipa (*Tilia L.*) je nakon bagrema najmedonosnija biljka. Postoji više vrsta lipa, a u našim krajevima su najzastupljenije sitnolisna lipa, krupnolisna lipa i srebrnolisna lipa. Najviše lipe ima u okolici Bilogore. Cvjeta u lipnju i srpnju kad su

visoke dnevne temperature i niska relativna vlažnost zraka. Lipov med je svijetložute boje, ugodnog i blagog okusa i mirisa te sporo kristalizira.

- **Amorfin med** - amorfa (*Amorfa fructicosa L.*) je grm visine do 2 metra sa tamnocrvenim cvjetovima. Cvjeta početkom lipnja, a zanimljivo je da rijetko kad dobro zamedi . Amorfin med je karakteristično crvenkast, blagog mirisa i okusa.
- **Lavandin med** - lavanda (*Lavandula officinalis L.*) je gust grm sa svijetlim listovima i modro-ljubičastim cvjetovima. U Hrvatskoj se nalazi na području Dalmacije, naročito na otocima. Najčešće se koristi u farmaceutskoj industriji za dobivanje eteričnog ulja koje je vrlo cijenjeno. Lavandin med je svijetložut, vrlo bistar i proziran. Ima karakteristično jak miris i oštar okus po samoj biljci.
- **Ružmarinov med** - ružmarin (*Rosmarinus officinalis L.*) je niski zimzeleni grm sa zadebljanim listovima i modrim cvjetovima koji su smješteni u pršljenovima između listova. U našim krajevima nalazi se na otocima poput Šolte, Hvara, Visa, Korčule, djelomično na Pelješcu i u Istri. Ružmarinov med je svijetle boje, proziran i bistar. Med brzo kristalizira u fine, sitne kristale i u čvrstom je stanju bijele boje. Ima ugodan i blag okus te je bez mirisa.
- **Livadni med** - livadni med je med od različitog livadnog cvijeća. Boja i okus livadnog meda ovise o biljnoj vrsti koja prevladava u medu. Ovaj med potječe od nektara različitih biljaka i zato se cijeni kao vrijedan med.
- **Kaduljin med** - kadulja (*Salvia officinalis)* je višegodišnji drvenasti grm i poslije bagrema je najvrjednija pčelinja paša. Najbolje raste u predjelima od Dubrovnika do Metkovića, na Biokovu te otocima Braču, Kornatima, Dugom otoku, Pagu. Kaduljin med je svijetložute do zelene boje i ima izraziti miris po cvijetu biljke. Sporo kristalizira u srednje krupne kristale i vrlo je ugodnog okusa (Šimić, 1980).

2.2.2 MED MEDLJIKOVAC

Medljika ili medna rosa je slatka tvar koja se nalazi na listovima i ostalim dijelovima crnogoričnog i bjelogoričnog drveća. To je izlučevina kukaca iz reda jednakokrilaca (*Homoptera*) od kojih su najvažniji za pčelarstvo lisne i štitaste uši. U odnosu na nektarni med, medljikovac ima veći sadržaj mineralnih tvari i veću obojanost. Također, medljikovac je manje sladak od nektarnog meda, ima manje kiselina i veću vrijednost pH (Sajko i sur., 1996).

Prema podrijetlu med medljikovac se dijeli na :

- medljikovac koji potječe od crnogoričnog drveća poput jele, smreke, bora, ariša
- medljikovac koji potječe od bjelogoričnog drveća poput hrasta, bukve, lipe

Najvažnije vrste meda medljikovca su:

- **Jelov medljikovac**- jelov medljikovac je tamnosive do smeđe boje sa zelenom nijansom. Miris mu je srednje intenzivan, karakterističan po smoli i sladu. Smatra se jednim od najcjenjenijih medova u Europi. Mednu rosu skupljaju lisne uši roda *Cinara* od polovice lipnja do kasne jeseni. U našim krajevima jela je rasprostranjen u Gorskom Kotaru te Maloj i Velikoj Kapeli (Persano Oddo i Piro, 2004).
- **Smrekov medljikovac**- smrekov medljikovac je tamnojantarne boje sa crvenkastom nijansom. Intenzivnog je mirisa po smoli, podsjeća na sirup i biljne bombone. Mednu rosu skupljaju štitaste uši roda *Physokermes* i to obično u svibnju i lipnju. Najveće smrekove šume nalaze se u Gorskom Kotaru (Šimić, 1980).
- **Hrastov medljikovac**- hrastov medljikovac je tamnocrvene boje, slabog mirisa po hrastu i opornog okusa. Vrlo je gust i rastezljiv te žari u grlu. Medljiku na hrastu proizvode i lisne i štitaste uši. Hrast je u nas najrasprostranjeniji u Slavoniji, okolici Siska i Jasenovca.
- **Medljikovac od medljike medećeg cvrčka** (*Metcalfa pruinosa (Say)*) - mutno smeđe je boje, a ponekad gotovo i crn. Razlikuje se od ostalih medljikovaca po svojim fizikalno-kemijskim svojstvima. Okusom podsjeća na suho voće i melasu, a iako je slabo izražene slatkoće ovaj medljikovac dugo zadržava okus u ustima. Najčešće ga nalazimo u Istri (Persano Oddo i Piro, 2004).

2.3 KEMIJSKI SASTAV MEDA

Med predstavlja vrlo složenu prirodnu smjesu u čiji sastav ulazi do 70 različitih komponenata. Najzastupljeniji sastojci u medu su ugljikohidrati, od kojih najviše ima šećera fruktoze i glukoze. Uz ugljikohidrate, u medu najznačajniji udjel zauzima voda i zajedno čine više od 99% meda. Ostatak čine i proteini, mineralne tvari, vitamini, enzimi, organske kiseline, fenolni spojevi, tvari arome i razni derivati klorofila (Singhal, 1997).

2.3.1 UGLJIKOHIDRATI

Glavni sastojak meda su ugljikohidrati i oni čine 95-99% suhe tvari ovisno o vrsti. Med je prezasićena otopina šećera jer je ukupni udjel ugljikohidrata u medu 73-83%. Najzastupljeniji su fruktoza, čiji je prosječni udjel u medu 39,1% i glukoza koja prosječno zauzima 30,3%. Ova dva monosaharida najviše utječu na fizikalna svojstva meda kao što su gustoća, viskoznost, ljepljivost, higroskopnost te sklonost kristalizaciji (Barhate i sur., 2003).

Prosječan omjer fruktoze i glukoze u medu iznosi 1,2/1. Omjer fruktoze i glukoze, kao i omjer glukoze i vode vrlo su bitni u analizi meda jer se pomoću njih može odrediti tendencija kristalizacije meda. U medu je identificirano i 11 disaharida, a to su: saharoza, maltoza, izomaltoza, kobioza, nigeroza, turanoza, laminoriboza, izomaltulozamelibioza, gentiobiozamaltuloza, α- i β- trehaloza. Glavni ugljikohidrati koji medu daju slatkoću su fruktoza, glukoza, saharoza i maltoza.

Med sadrži i 12 oligosaharida: erloza, panoza, melecitoza, maltotrioza, kestoza, izomaltotrioza, izopanoza, 6-α-glukozilsaharoza, 3-α-3-izomaltozilglukoza, rafinoza, izomaltopentoza i izomaltoteroza (Sanz i sur., 2004).

2.3.2 VODA

Voda je, uz ugljikohidrate, najvažniji sastojak meda i njezin udjel u medu iznosi između 15 i 20% prema hrvatskom Pravilniku. Iznimku predstavlja med od vrijeska čija količina vode može iznositi i do 23%. Udjel vode u medu je najvažniji parametar jer ona utječe na fizikalna svojstva meda (viskoznost, kristalizacija) i stabilnost meda te otpornost na mikrobiološko kvarenje tijekom čuvanja (Bogdanov i sur., 1999). Općenito, što je veći udjel vode u medu lakše će doći do kvarenja uzrokovanog fermentacijom, ali takav med će sporije kristalizirati. Do fermentacije vrlo vjerojatno neće doći ukoliko je udjel vode ispod 18%.

Tablica 1. Prosječan udjel vode u hrvatskim medovima različitog biljnog podrijetla (Šarić i sur., 2008).

VRSTA MEDA	UDJEL VODE	VRSTA MEDA	UDJEL VODE
Bagrem	14,0 - 20,4	Lipa	13,9 - 21,8
Kesten	13,9 - 20,9	Medun	15,4 - 20,4
Cvjetni	14,6 - 20,6	Suncokret	16,6 - 22,1
Livadni	14,1 - 21,2	Vrijesak	3,5 - 19,5

2.3.3 PROTEINI I AMINOKISELINE

Ukupni udjel proteina u medu iznosi 0 - 1,7%, a medljikovac je bogatiji proteinima od nektarnog meda. Proteini se sastoje od brojnih povezanih aminokiselina i kao takvi utječu na fizikalna svojstva meda kao što su kristalizacija, stvaranje pjena i tamnjenje. Med sadrži i slobodne aminokiseline koje nisu vezane u obliku proteina. Najzastupljenija aminokiselina u medu je prolin koji čini 80 - 90% ukupnih aminokiselina u medu. Ostale aminokiseline u medu su histidin, lizin, argininin, asparaginska kiselina, serin, treonin, valin, cistein, metionin, izoleucin, leucin, triptofan, glutaminska kiselina, glicin, alanin, fenilalanin, tirozin, prolin. Proteini u medu mogu biti biljnog podrijetla (pelud) ili životinjskog podrijetla (pčele). Neki znanstvenici pretpostavljaju da proteini u medu potječu iz žlijezda slinovnica pčela, dok drugi smatraju da je najveći izvor proteina pelud, koji je bogat proteinima (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.3.4 ENZIMI

Enzimi su proteinske molekule koje u organizmu imaju ulogu pokretanja i ubrzavanja brojnih kemijskih procesa. Med sadrži niz enzima od kojih su najznačajniji glukoza oksidaza, invertaza, amilaza, peroksidaza, katalaza i kisela fosfataza (Škenderov i Ivanov, 1986).
Dijastaza je enzim koji se u medu sastoji od α-amilaze i β-amilaze. Funkcija ovog enzima je razgradnja škroba do dekstrina ili maltoze. Aktivnost dijastaze opada zagrijavanjem, stoga ovaj enzim služi kao dobar pokazatelj stupnja zagrijavanja meda.

Glukoza oksidaza je enzim koji katalizira reakciju oksidacije glukoze u glukonsku kiselinu pri čemu kao produkt nastaje i vodikov peroksid. Vrlo je važan nastanak vodikovog peroksida u ovoj reakciji jer on značajno doprinosi antimikrobnim svojstvima meda. Glukoza oksidaza

potječe iz pčelinjih žlijezda slinovnica. Količina glukoza oksidaze u medu može se odrediti mjerenjem nastalog vodikovog peroksida u vremenu.

Invertaza je enzim koji ima glavnu ulogu u preradi nektra u med. Ovaj enzim katalizira reakciju hidrolize saharoze na glukozu i fruktozu, ali ima i ulogu stvaranja viših šećera transglukozidaznim reakcijama. Optimalni uvjeti za djelovanje invertaze su: pH 6,0 - 6,2, temperatura 25 – 30°C, koncentracija supstrata 10 - 20%. Aktivnost invertaze opada povišenjem temperature i već pri temperaturi od 75°C gubi se njena aktivnost.

Katalaza je enzim koji katalizira reakciju razgradnje vodikovog peroksida na kisik i vodu. Ovaj enzim u medu potječe iz peludi. Što je veća koncentracija katalaze u medu, to je manja koncentracija vodikovog peroksida. Na taj način katalaza direktno utječe na antimikrobna svojstva meda.

Kisela fosfataza ubrzava reakciju hidroliziranja estera fosfatne kiseline. U pčelinjem medu mogu se pronaći još i proteaze, peroksidaza, polifenoloksidaza i proteolitički enzimi, ali je njihova aktivnost mnogo slabija (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.3.5 ORGANSKE KISELINE

Med sadrži organske kiseline čiji udjel iznosi 0,17 - 1,17%. Organske kiseline u medu su značajne jer se njihovom prisutnošću usporava rast mikroorganizama (zbog niskog pH). Mnoge organske kiseline nalaze se u medu u obliku estera pa zato utječu i na miris, okus i trpkost meda. Bagremov i kestenov med ne obiluju organskim kiselinama, dok su tamniji medovi kiseliji. Previsoka kiselost meda uglavnom znači da je med fermentirao neko vrijeme što je rezultiralo pretvorbom alkohola kao produkta fermentacije u organsku kiselinu. Od kiselina najzastupljenija je glukonska kiselina koja nastaje iz glukoze djelovanjem enzima glukoza oksidaze. Zastupljene su i sljedeće organske kiseline: mravlja, octena, maslačna, vinska, limunska, jabučna, mliječna, benzojeva i jantarna (Anupama i sur., 2003).

2.3.6 VITAMINI

Med sadrži dosta različitih vitamina, ali ne u količini koja bi značajno mogla utjecati na ljudski organizam. Pelud i nektar su izvori vitamina u medu pa tako i prisutnost vitamina ovisi o pčelinjoj paši. Općenito, med sadrži vitamine B grupe, vitamine C, K i E. Najznačajnija je prisutnost vitamina B grupe poput tiamina, riboflavina, niacina, pantotenske kiseline, vitamina B6. Vitamin C uglavnom se nalazi u saću, a gubi se tijekom procesa prerade. Livadni med sadrži vitamin E i folnu kiselinu koja je važna za rast i razvoj (Balen, 2003).

2.3.7 MINERALI

U kemijski sastav meda spadaju i mineralne tvari koje zauzimaju maksimalno 0,6% kod nektarnih medova, a kod medljikovaca i do 1,2%. Udjel mineralnih tvari u medu izražava se kao količina pepela. Minerali su esencijalne tvari koje organizam ne može sam proizvoditi pa je vrlo važan njihov unos prehranom. Med je najbogatiji mineralima kao što su: kalij, natrij, kalcij i fosfor. Navedena 4 minerala zauzimaju najmanje 50% ukupnog udjela mineralnih tvari u medu. Ostale mineralne tvari prisutne u medu su: sumpor, magnezij, željezo, cink, bakar, mangan, klor, magnezij, krom, olovo i arsen. Udjel mineralnih tvari ovisi o vrsti meda, klimatskim uvjetima i sastavu tla na kojem se nalazila biljka. Tamnije vrste meda (npr. med od vrijeska i eukaliptusa) općenito imaju veliki udjel pepela. Vrlo mali sadržaj mineralnih tvari karakterizira bagremov i suncokretov med (Przybylowski i Wilczynska, 2001).

Tablica 2. Prosječna masa minerala u 100 g meda (National Honey Board, 2005; Krell, 1996)

MINERALI	**www.honey.com**	**www.fao.org**
Kalcij	6,00 mg	4-30 mg
Fosfor	4,00 mg	2-60 mg
Natrij	4,00 mg	0,6-40 mg
Kalij	52,00 mg	10-470 mg
Željezo	0,42 mg	1-3,4 mg
Cink	0,22 mg	0,2-0,5 mg
Magnezij	2,00 mg	0,7-13 mg
Selen	0,80 mg	/
Bakar	0,04 mg	0,01-0,1 mg
Mangan	0,08 mg	/

2.3.8 FITOKEMIKALIJE

Fitokemikalije (sekundarni biljni metaboliti) su biološki aktivni spojevi biljaka, a u ljudskom organizmu imaju zaštitnu ulogu prema različitim bolestima, naročito kardiovaskularnim bolestima i karcinomu. Med je bogat flavonoidima, fitokemikalijama koje imaju antioksidativni učinak što znači da štite stanice od oksidacijskog djelovanja slobodnih radikala.

Slobodni radikali su vrlo reaktivne molekule sa nesparenim elektronom u vanjskoj elektronskoj ljusci. Oni mogu promijeniti strukturu drugih molekula i oštetiti stanice pa je vrlo važno spriječiti njihovo djelovanje unosom antioksidansa.

Antioksidansi mogu biti enzimske (katalaza, glukoza oksidaza) i neenzimske (organske kiseline, proteini, produkti Maillardovih reakcija, aminokiseline, flavonoidi, fenoli, vitamini C i E, karotenoidi) prirode. Flavonoidi imaju antioksidativno djelovanje, ali djeluju i antimikrobno, imaju antitumorni učinak, inhibiraju razne enzime. U medu su prisutni flavonoidi poput pinocembrina, kamferola, galangina, krisina i apigenina. Uz flavonoide, u medu su pronađene i fenolne kiseline koje također imaju antioksidativno, blagotvorno djelovanje na organizam. Od fenolnih kiselina najčešće su u medu identificirane: galna, elaginska, kumarinska, kafeinska kiselina te njihovi esteri. Udjel fenolnih tvari o medu ovisi o njegovom botaničkom podrijetlu (Meda i sur., 2005).

2.3.9 HMF

Hidroksimetilfurfural je ciklički aldehid koji nastaje u Maillardovim reakcijama ili dehidracijom glukoze i fruktoze u kiselom mediju. Prilikom čuvanja i zagrijavanja meda mijenja se količina HMF-a i zbog toga se ovaj spoj koristi kao indikator zagrijavanja i dugotrajnog skladištenja meda. Pojava i udjel HMF-a ovise isto tako i o vrsti meda, njegovoj pH vrijednosti, udjelu kiselina i vlage te izloženosti svjetlosti (Spano i Casula, 2005).

HMF se prirodno pojavljuje i u svježem medu, ali u količinama manjim od 1 mg/kg. U iscijeđenom i prerađenom medu udjel HMF-a rijetko prelazi 10 mg/kg. Udjel HMF-a u medu jako brzo raste porastom temperature iznad 20°C. Dozvoljena količina hidroksimetilfurfurala u hrvatskim medovima je 40 mg/kg. Međutim, u medovima koji potječu iz regija s tropskom klimom i temperaturom, dopušteni udjel HMF-a može biti i do 80 mg/kg zbog toga što su takvi medovi izloženi visokim vanjskim temperaturama prilikom čuvanja i transporta.

U praksi postoje 3 metode za određivanje HMF-a. Najstarija metoda je spektrofotometrijska metoda po Winkleru, ali ona se rijetko koristi zbog kancerogenosti jednog reagensa(p-toluidin) i relativno male preciznosti. Druga metoda je također spektrofotometrijska i naziva se metoda po Whiteu. Treća i najpouzdanija metoda jest određivanje HMF-a pomoću HPLC-a (high-performance liquid cromatography) (IHC, 2009).

Tablica 3. Prosječan udjel HMF-a u hrvatskim medovima (ZZZagimed, 2003; ZZZagimed, 2004; ZZZagimed, 2005; ZZZagimed,2006; ZZZagimed 2007)

VRSTA MEDA	**UDJEL HMF-a (mg/kg)**	**VRSTA MEDA**	**UDJEL HMF-a (mg/kg)**
Bagrem	14,2	Lipa	14,2
Kesten	10,9	Medun	14,0
Cvjetni	18,8	Suncokret	25,2
Livadni	12,1	Vrijesak	11,9
Kadulja	11,4	Amorfa	21,9

2.4 FIZIKALNA SVOJSTVA MEDA

U fizikalna svojstva meda spadaju kristalizacija, električna vodljivost, higroskopnost, viskoznost, optička svojstva te indeks refrakcije. S obzirom da svaki med karakterizira različit udjel pojedinih tvari, tako se i svojstva meda razlikuju ovisno o vrsti meda, odnosu vode i ugljikohidrata, udjelu mineralnih tvari. O udjelu vode najviše ovisi viskoznost, indeks refrakcije i specifična masa meda, a optička aktivnost ovisi o sastavu i udjelu pojedinih ugljikohidrata (Lazaridou i sur., 2004).

2.4.1 KRISTALIZACIJA

Do kristalizacije dolazi jer je med prezasićena otopina šećera, prvenstveno glukoze i fruktoze, koji čine oko 70% meda. Glukoza, prelazeći u stanje ravnoteže, gubi vodu i prelazi u kristalni oblik. Voda koja je bila vezana uz glukozu postaje slobodna i nalazi se u nekristaliziranim dijelovima meda. Fruktoza ne prelazi u kristalni oblik, nego je raspoređena oko kristala glukoze u tekućem obliku. Općenito, što med sadrži više glukoze to je veća sklonost meda prema kristalizaciji. Kristalizacijom med ne gubi ništa na svojoj nutritivnoj vrijednosti, ali je skloniji fermentaciji i kvarenju zbog oslobađanja vode. Također, nakon kristalizacije med više

nije proziran i mijenja mu se okus. Temperatura pogodna za kristalizaciju iznosi 10 - 20 °C, a idealna je između 11 i 15 °C. Pri temperaturama višim od 27 °C vrlo rijetko dolazi do kristalizacije. Ako je omjer glukoze i fruktoze veći od 2,1, med brzo kristalizira. Kada med kristalizira, može se vratiti u početno, tekuće stanje zagrijavanjem ispod 40 °C kako ne bi došlo do uništavanja vrijednih komponenti meda. Medovi od bagrema, lipe i kadulje vrlo će sporo kristalizirati zbog velikog udjela fruktoze. Nasuprot njima, suncokretov i maslačkov med vrlo brzo kristaliziraju zbog većeg postotka glukoze. Kristalizaciji potpomaže i prisutnost stranih tijela kao što su koloidi ili zrnca peluda te intenzivno miješanje meda (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.2 VISKOZNOST

Viskoznost meda označava stupanj likvidnosti odnosno tekućeg stanja meda i jedno je od osnovnih svojstava meda i naročito utječe na postupanje s medom tijekom dorade i skladištenje.

Nekoliko različitih čimbenika utječe na viskoznost meda, a to su: sastav meda (najvažniji je udjel vode), vrsta meda, temperatura te broj i veličina kristala u medu. Općenito, što je manji udjel vode u medu to je viskoznost veća. Povećanjem temperature pri konstantnom udjelu vode dolazi do smanjenja viskoznosti meda. Veći udjel disaharida i trisaharida te dekstrina utječu na povećanje viskoznosti meda (Assil i sur., 1991).

2.4.3 HIGROSKOPNOST

Higroskopnost je svojstvo meda da upija vlagu iz zraka pa dolazi do povećanja količine vode u površinskom sloju meda. Ovaj proces je uvjetovan velikom količinom šećera i ovisi o relativnoj vlažnosti zraka i udjelu vode u medu. Fruktoza je higroskopnija od grožđanog šećera i stoga veći udjel voćnog šećera doprinosi povećanju higroskopnosti meda. Pri temperaturi od 20°C med upija vlagu iz zraka onda kada atmosferska relativna vlažnost zraka prelazi 60%.

Čuvanjem meda u vlažnom prostoru dolazi do povećanja masenog udjela vode u medu. Ovo je važno i za pčelare i za potrošače jer takav med je skloniji fermentaciji i kvarenju (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.4 OPTIČKA AKTIVNOST

Vodena otopina meda je optička aktivna odnosno ima sposobnost zakretanja ravnine polarizirane svjetlosti. Optička aktivnost ovisi o udjelu pojedinih ugljikohidrata u medu. Za fruktozu je karakteristično da zakreće ravninu polarizirane svjetlosti ulijevo, a glukoza, svi disaharidi, trisaharidi i viši oligosaharidi udesno. Medljikovac je med koji sadrži više oligosaharida, poput melecitoze i erloze, te on ima pozitivnu optičku aktivnost tj. zakreće ravninu polarizirane svjetlosti udesno. Nektarni med sadrži više fruktoze i zato pokazuje negativnu optičku aktivnost. Specifični kut rotacije nektarnog meda se povećava ako su pčele bile hranjene otopinom saharoze (Škenderov i Ivanov, 1986).

2.4.5 ELEKTRIČNA VODLJIVOST

Električna vodljivost meda manja je u usporedbi s električnom vodljivosti soli, kiselina ili baza, a ovisi o udjelu mineralnih tvari i kiselina u medu. Što je više kiselina i minerala u medu, veća je i njegova električna vodljivost. Električna vodljivost meda je provodnost 20%-tne otopine meda pri temperaturi od 20°C, gdje se 20% odnosi na suhu tvar meda. Rezultat se izražava u mS/cm. Poznavanjem električne vodljivosti meda možemo razlikovati nektarni med od medljikovca. Prema Pravilniku o medu, nektarni i miješani med moraju imati električnu vodljivost nižu od 0,8 mS/cm, dok medljikovac i kestenov med imaju električnu vodljivost višu od 0,8 mS/cm. U tablici su prikazane vrijednosti električne vodljivosti različitih vrsta meda.

Tablica 4. Električna vodljivost medova različitog botaničkog podrijetla (Bogdanov i sur., 1999)

VRSTA MEDA	EL.VODLJIVOST (mS/cm)
Kesten	0,80 - 2,07
Lavanda	0,12 - 0,60
Suncokret	0,20 - 0,60
Lipa	0,33 - 1,15
Ružmarin	0,20 - 0,35
Cvjetni	0,10 - 0,70
Medljikovac	0,80 - 2,11
Vrijesak	0,42 - 1,40

2.4.6 INDEKS REFRAKCIJE

Mjerenje indeksa refrakcije povezano je sa određivanjem udjela vode odnosno udjela suhe tvari u medu. Mjerenje se provodi pri 20°C uređajem koji se zove refraktometar. Refraktometar radi na principu loma svjetlosti kad ona prolazi kroz otopinu (National Honey Board, 2005).

2.4.7 POVRŠINSKA NAPETOST

Med karakterizira mala površinska napetost i upravo zbog toga jako dobro zadržava vlažnost. Površinska napetost meda ovisi o podrijetlu meda, a povezana je vjerojatno s koloidnim česticama. Zajedno s velikom viskoznošću odgovorna je za stvaranje pjene u medu (Krell, 1996).

2.4.8 SPECIFIČNA MASA

Specifična masa neke tvari je omjer između mase te tvari i mase iste količine vode. Specifična masa meda je omjer mase meda prema masi vode iste količine te ovisi o udjelu vode u medu. Specifična masa kvalitetnih vrsta meda je veća od 1,42 (National Honey Board, 2005).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 MATERIJALI

U eksperimentalnom dijelu ispitivano je 16 uzoraka kestenovog meda s područja Republike Hrvatske iz 2015. godine. Svakom uzorku meda određen je udjel vode, kiselost, električna vodljivost, maseni udjel prirodnih šećera, maseni udjel saharoze te maseni udjel hidroksimetilfurfurala.

3.2 METODE RADA

3.2.1 PRIPREMA UZORKA ZA ANALIZU

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

Ako je med u tekućem stanju, prije početka analize polako se izmiješa štapićem ili 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. Tijekom zagrijavanja može se miješati štapićem ili kružno protresti te zatim brzo ohladiti.

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

Ako med sadrži 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 i na temperaturi od 65°C. Tijekom zagrijavanja promiješa se štapićem ili kružno protrese te zatim brzo ohladi (IHC, 2009).

3.2.2 ODREĐIVANJE UDJELA VODE U MEDU

Udjel vode u medu određuje se metodom koja se temelji na refraktometrijskom određivanju. Izmjeri se indeks refrakcije pri stalnoj temperaturi od 20°C te izračuna količina vode pomoću tablice za proračun udjela vode u medu (IHC, 2009).

Ukoliko se indeks refrakcije ne odredi na temperaturi od 20°C, napravi se korekcija temperature i to na sljedeći način:

- pri temperaturama višim od 20°C dodaje se 0,00023 na vrijednost indeksa refrakcije za svaki °C
- pri temperaturama nižim od 20°C oduzima se 0,00023 od vrijednosti indeksa refrakcije za svaki °C

3.2.3 ODREĐIVANJE KISELOSTI MEDA

Pripremljeni uzorak se titrira otopinom 0,1 mol/L natrijevog hidroksida, uz indikator fenolftalein, sve do pojave svijetloružičaste boje (IHC, 2009).

Kiselost se izražava u mmol-ima kiseline po kilogramu meda po sljedećoj formuli:

kiselost = 10 x V

pri čemu je: V - broj potrošenih mLNaOH za neutralizaciju 10 g meda.

3.2.4 ODREĐIVANJE ELEKTRIČNE VODLJIVOSTI

Električna vodljivost 20%-tne otopine meda mjeri se pomoću kondukometra. Zapravo, određuje se električna otpornost koja je obrnuto proporcionalna električnoj vodljivosti.

Konduktometar se standardizira pomoću otopine KCl na temperaturi od 20°C. U destiliranoj vodi otopi se 20 grama meda, prebaci se u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. U posudu se ulije 40 mL otopine i stavi se u vodenu kupelj termostatiranu na 20°C. Elektroda se najprije ispere pripremljenom otopinom, a nakon toga uroni u posudu s otopinom uzorka. Očita se električna vodljivost pri temperaturi od 20°C (IHC, 2009).

Električna vodljivost računa se prema sljedećoj formuli:

Sh = K x G
pri čemu je:
Sh - električna otpornost meda (mS/cm)
K - konstanta elektrode (cm^{-1})
G - vodljivost u mS
Rezultati se prikazuju s točnošću 10^{-2}mS/cm.

3.2.5 ODREĐIVANJE UDJELA HIDROKSIMETILFURFURALA

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.).

Kao reagensi se koriste:

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 10.0 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 10.00 grama meda, otopi u 20 mL vode te kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL. Doda se 1 mL Carrezove otopine I i dobro promiješa. Nakon toga se doda 1 mL Carrez II otopine te opet promiješa. Dopuni se s 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 s 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 1.0 mL vode u jednu epruvetu (slijepa proba) i 1.0 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.

IZRAČUNAVANJE UDJELA HMF-a:

HMF = 192 x A x 10/m

pri čemu je:

A - apsorbancija

192 - faktor razrjeđivanje i koeficijent ekstinkcije

m - masa meda (g)

3.2.6 ODREĐIVANJE UDJELA REDUCIRAJUĆIH ŠEĆERA

Metoda se temelji na redukciji Fehlingove otopine titracijom s pomoću otopine reducirajućih šećera iz meda uz upotrebu metilenskog modrog bojila kao indikatora (IHC, 2009).
Kao reagensi se koriste:

1. Fehlingova otopina

Otopina A: otopi se 69,28 g bakrenog sulfata ($CuSO_4$ x $5H_2O$) i tome se doda destilirana voda od jedne litre. Otopina se pripremi 24 sata prije titracije.

Otopina B: otopi se 346 g kalijnatrijevatartarata ($C_4H_4KNaO_6$ x $4H_2O$) 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 i destilirane vode do 100 mL. Otopina se može pohraniti nekoliko dana, ovisno o temperaturi: od 12°C do 15°C do sedam dana ili na temperaturi 20°C - 25°C tri dana.
Pripremljenoj otopini doda se voda do jedne litre. Neposredno prije upotrebe odgovarajuća količina otopine se neutralizira 1 mol otopinom NaOH/L, a zatim se razrijedi do koncentracije 2 g/L - standardna otopina.

3. Otopina metilenskog modrog bojila:

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

4. Otopina stipse: pripremi se hladno zasićena otopina $K_2SO_4Al_2(SO_4)$ x 24 H_2O 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 vode se odlije, a preostala pasta pohrani u boci s brušenim zatvaračem.

PRIPREMA UZORKA:

- Postupak I (primjenjiv na med s talogom):

a) Izvaže se 25 g homogeniziranog meda i prenese u odmjernu tikvicu od 100 mL, doda se 5 mL stipse i tikvica se dopuni vodom do oznake, pri temperaturi od 20°C. Nakon toga se otopina filtrira.

b) U odmjernu tikvicu volumena 500 mL otpipetira se 10 mL uzorka pod a) i to se razrijedi destiliranom vodom do oznake na tikvici.

- Postupak II:

a) Izvaže se 2 g homogeniziranog meda, prenese u odmjernu tikvicu volumena 200 mL i otopi u vodi, a tikvica se nadopuni vodom do oznake.

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

STANDARDIZACIJA FEHLINGOVE OTOPINE

Fehlingova otopina se standardizira tako da se otpipetira 5 mL Fehlingove otopine A i pomiješa sa 5 mL Fehlingove otopine B. Ta otopina mora potpuno reagirati s 0,0050 g invertnog šećera dodanog u količini od 25 mL kao standardna otopina invertnog šećera (2g/L).

PRETHODNA TITRACIJA

Ukupni volumen 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 med mora sadržavati više od 60% reducirajućih šećera, potrebno je najprije obaviti titraciju da bi se utvrdio točan volumen vode što se dodaje kako bi se postupku analize osigurala redukcija pri stalnom volumenu. Volumen potrebne količine vode dobiva se odbijanjem potrošenog volumena razrijeđene otopine meda u prethodnoj titraciji.

Pipetom se odmjeri 5 mL Fehlingove otopine A i prenese u stožastu Erlenmeyerovu tikvicu volumena 50 mL, doda se 5 mL Fehlingove otopine B, 7 mL destilirane vode, malo plovučca te 15 mL razrijeđene otopine meda iz birete. Medna mješavina se zagrijava do vrenja pa dvije minute polako vrije, dok se za to vrijeme doda 1 mL 0,2%-tne otopine metilenskog modrog bojila. Titracija se završi ukupno za 3 minute ponovnim dodavanjem razrijeđene otopine meda sve dok ne nestane boja indikatora. Potrošeni volumen razrijeđene otopine meda koji je potpuno reduciran bilježi se sa „X“ mL.

ODREĐIVANJE

Pipetom se odmjeri 5 mL Fehlingove otopine A i prenese u stožastu Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL te se doda 5 mL Fehlingove otopine B. Zatim se doda (25 mL - „X“ mL) destilirane vode, malo kamena plovučca te razrijeđena otopina meda, tako da za kompletnu titraciju ostane oko 1,5 mL. Zatim se hladna mješavina zagrijava do vrenja i dvije minute održava se vrenje. Dok traje vrenja doda se 1,0 mL 0,2%-tne otopine metilenskog modrog bojila. Titracija se mora završiti ukupno za tri minute dodavanjem razrijeđene otopine meda do obezbojenja indikatora. Potrošena količina razrijeđene otopine meda obilježava se sa „Y“ mL.

IZRAČUNAVANJE:

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

- postupak I.: $C = 25/W_1 \times 1000/Y_1$
- postupak II. $C = 2/W_2 \times 1000/Y_2$

pri čemu je:

C- invertni šećer (g)

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

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

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

3.2.7 ODREĐIVANJE UDJELA SAHAROZE

Metoda određivanja udjela saharoze temelji se na hidrolizi saharoze, redukciji Fehlingove otopine titracijom reducirajućih šećera iz hidrolizata meda uz metilensko modro bojilo (IHC, 2009).

Kao reagensi se koriste:

1. Fehlingova otopina A i B, utvrđena metodom određivanje reducirajućih šećera
2. standardna otopina invertnog šećera, utvrđena metodom određivanje reducirajućih šećera

3. solna kiselina c (HCl) = 6,34 mol/L
4. otopina natrijevog hidroksida c (NaOH) = 5 mol/L
5. 2%-tna otopina metilenskog modrog bojila

PRIPREMA UZORKA

Izvaže se 2 g homogeniziranog meda, prenese u odmjernu tikvicu te otopi u destiliranoj vodi pa se tikvica nadopuni vodom do volumena 200 mL.

HIDROLIZA UZORKA

Otopina meda (50 mL) prenese se u odmjernu tikvicu od 100 mL i doda 26 mL destilirane vode. Termometar se zaroni u pripremljeni uzorak koji se zagrijava do 65°C u kipućoj vodenoj kupelji. Tikvica se nakon toga iznese iz kupelji i doda se 10 mL solne kiseline. Pusti se da se otopina hladi 15 minuta, a zatim se temperatura podesi na 20°C i otopina neutralizira dodatkom otopine NaOH, uz upotrebu lakmusovog papira kao indikatora. Ponovno se ohladi do 20°C i tikvica se nadopuni vodom do volumena od 100 mL. Tako se dobije 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:

Najprije se izračuna postotak invertnog šećera nakon inverzije (pri čemu se koristi formula za određivanje postotka invertnog šećera prije inverzije).

Saharoza se izražava u g/100 g meda i računa:

m (saharoze) = (količina invertnog šećera nakon inverzije - količina invertnog šećera prije inverzije) x 0,95

4. EKSPERIMENTALNI DIO

Tablica 5. Rezultati kemijske analize kestenovog meda

Broj uzorka	Maseni udjel vode (%)	Kiselost (mmol/kg)	Električna vodljivost (mS/cm)	Maseni udjel HMF-a (mg/kg)	Maseni udjel reducirajućih šećera (%)	Maseni udjel ukupnih šećera (%)	Maseni udjel saharoze (%)
1	17,8	22,0	1,29	14,2	68,9	68,9	0,0
2	16,1	21,7	1,09	2,9	68,2	69,2	0,9
3	15,0	14,2	1,53	1,3	67,7	68,0	0,3
4	18,0	21,5	0,95	4,0	70,3	71,8	1,5
5	18,0	30,5	1,29	13,6	65,4	65,9	0,4
6	15,8	17,5	1,41	21,3	61,6	64,0	2,4
7	17,0	33,8	0,53	6,3	62,9	64,5	1,6
8	17,3	19,4	0,91	1,5	65,6	67,2	1,2
9	19,1	18,1	1,36	2,3	65,8	68,0	2,2
10	15,5	13,1	1,41	17,7	67,6	70,6	3,0

Tablica 5. Rezultati kemijske analize kestenovog meda (nastavak)

Broj uzorka	Maseni udjel vode (%)	Kiselost (mmol/kg)	Električna vodljivost (mS/cm)	Maseni udjel HMF-a (mg/kg)	Maseni udjel reducirajućih šećera (%)	Maseni udjel ukupnih šećera (%)	Maseni udjel saharoze (%)
11	14,5	20,4	1,04	0,0	64,4	68,1	3,7
12	16,9	22,2	1,06	5,8	63,9	64,8	1,0
13	16,4	18,2	1,24	5,8	68,6	73,3	4,8
14	15,9	19,9	0,97	9,4	68,1	70,3	2,1
15	16,0	11,9	1,55	14,0	69,9	70,6	0,7
16	15,8	9,9	1,65	16,7	70,6	72,6	2,1
Prosječna vrijednost	16,6	19,6	1,20	8,6	66,8	68,6	1,7
Standardna devijacija	1,2	6,2	0,29	6,8	2,7	2,8	1,3
Koeficijent varijabilnosti (%)	7,2	31,6	24,16	79,1	4,0	4,1	76,5
Zahtjev Pravilnika o medu	<20	<50	>0,8	<40	>60	>65	<5

5. RASPRAVA

U tablicama su prikazane vrijednosti kemijskih parametara (udjel vode, kiselost, električna provodnost, udjel HMF-a, udjel prirodnih i ukupnih šećera te udjel saharoze) u uzorcima kestenovog meda. U tablici broj 5 prikazane su i prosječna vrijednost, standardna devijacija te koeficijent varijabilnosti za sve navedene parametre te zahtjevi Pravilnika o medu.

U 16 analiziranih uzoraka meda, maseni udjel vode kretao se od 14,5% do 19,1% što je u skladu s Pravilnikom o medu koji zahtijeva udjel vode u medu manji od 20%. Prosječna vrijednost udjela vode u uzorcima iznosi 16,56%. U analizi različitih uzoraka kestenovog meda s područja Republike Hrvatske iz 2005. godine koju su provodili Šarić i suradnici prosječan udjel vode iznosio je 16,6%. Golob i Plestenjak provele su analizu kestenovog meda iz 1996. godine porijeklom iz Slovenije. Udjel vode u uzorcima kretao se od 14,6-16,9%, a prosječna vrijednost udjela vode iznosila je 15,4%. Na temelju ovih istraživanja vidljivo je da među hrvatskim medovima nema gotovo nikakvih statističkih razlika u udjelu vode, dok je prosječan udjel vode u slovenskim medovima nešto manji u usporedbi s uzorcima meda s područja Hrvatske.

Kiselost analiziranih uzoraka iz 2015. godine kretala se između 9,9 i 33,8 mmol/kg što je u skladu sa zahtjevima Pravilnika o medu. Prosječna kiselost iznosi 19,6 mmol/kg, a prosječna kiselost uzoraka meda s područja RH iz 2005. godine iznosila je 11,8 mmol/kg. U analizi koju su proveli Golob i Plestenjak 1996. godine na području Slovenije prosječna kiselost iznosila je 17,5 mmol/kg. Može se zaključiti da postoje vidljive statističke razlike u kiselosti medova ovisno o razdoblju i području na kojem su se provodila istraživanja.

Električna vodljivost analiziranih uzoraka meda iz 2015. godine iznosila je od 0,53 mS/cm do 1,65 mS/cm, a prosječna vrijednost iznosi 1,20 mS/cm. Samo jedan uzorak meda (uzorak broj 7) odstupa od zahtjeva Pravilnika o medu jer je vrijednost električne vodljivosti bila preniska. Prosječna vrijednost električne vodljivosti u uzorcima kestenovog meda iz 2005. godine iznosila je 1,18 mS/cm, a u slovenskim uzorcima iz 1996. godine 1,483 mS/cm. Iz navedenih podataka vidljivo je da uzorci kestenovog meda s područja Hrvatske imaju nižu vrijednost električne vodljivosti od uzoraka s područja Slovenije.

Udjel hidroksimetilfurfurala u 16 uzoraka kestenovog meda s područja RH iz 2015. godine kretao se od 0,0 mg/kg do 21,3 mg/kg, dok je prosječan udjel HMF-a iznosio 8,6 mg/kg. Prosječni udjel HMF-a u uzorcima iz 2005. godine iznosio je 29,5 mg/kg, a u slovenskim

uzorcima meda iz 1996. godine 1,3 mg/kg. Mogu se primijetiti značajne razlike u udjelu HMF-a ovisno o porijeklu meda, ali i razdoblju u kojem su se provodile analize. Medovi s područja Slovenije imaju puno manji udjel HMF-a u usporedbi s uzorcima meda iz Hrvatske. Također, uzorci meda s područja RH iz 2015. imaju značajno manji udjel HMF-a u usporedbi s uzorcima s istog područja iz 2005. godine.

Maseni udjel reducirajućih šećera u uzorcima kestenovog meda iz 2015. godine iznosi od 61,6% do 70,6%, a prosječna vrijednost udjela reducirajućih šećera iznosi 66,8%. Uzorci kestenovog meda s područja Slovenije iz 1996. godine imaju prosječan udjel reducirajućih šećera 70,9%, dok analiza kestenovog meda iz 2005. godine ukazuje na prosječan udjel reducirajućih šećera 69,6%. Iz navedenih podataka može se zaključiti da uzorci s područja Republike Hrvatske iz 2015. godine imaju nešto manji udjel reducirajućih šećera u usporedbi s uzorcima iz 2005., odnosno slovenskih medova iz 1996. godine.

U ispitivanim uzorcima kestenovog meda iz 2015. godine maseni udjel saharoze iznosio je od 0,0% do 4,8% što je u skladu s hrvatskim Pravilnikom o medu. Prosječan udjel saharoze iznosio je 1,7%. U istraživanju Golob i Plestenjak, uzorci kestenovog meda iz 1996. godine imali su prosječan udjel saharoze 0,8%, a uzorci s područja Hrvatske iz 2005. godine 1,1%. Može se primijetiti da uzorci kestenovog meda iz 2015. godine imaju nešto veći udjel saharoze u usporedbi s uzorcima hrvatskih medova iz 2005. i slovenskih medova iz 1996. godine.

6. ZAKLJUČAK

- Prema Pravilniku o medu, maseni udjel vode u medu ne smije biti veći od 20% i svih 16 uzoraka zadovoljava ovaj zahtjev Pravilnika.

- Količina slobodnih kiselina u medu ne smije biti veća od 50 mEq kiseline na 1000 grama meda i nijedan uzorak ne odstupa od zahtjeva Pravilnika.

- Jedan uzorak meda pokazao je odstupanje od zahtjeva Pravilnika za vrijednosti električne vodljivosti. Kestenov med mora imati vrijednost električne vodljivosti najmanje 0,8 mS/cm, a uzorak pod brojem 7 ima manju električnu vodljivost od propisane.

- Najveća dopuštena količina hidroksimetilfurfurala u medu je 40 mg/kg i svi ispitivani uzorci su u skladu sa propisima Pravilnika o medu.

- Svih 16 ispitivanih uzoraka meda ima više od 60 grama reducirajućih šećera na 100 grama meda i u skladu su sa zahtjevima Pravilnika o medu.

- Svi ispitivani uzorci kestenovog meda ispunjavaju zahtjev Pravilnika o medu u pogledu udjela saharoze u medu koji mora biti ispod 5%.

- U usporedbi s rezultatima kemijske analize kestenovog meda s područja Republike Hrvatske iz 2005. godine i rezultatima istraživanja iz 1996. godina s područja Slovenije, vide se jasne razlike u vrijednostima kemijskih parametara s obzirom na vrijeme istraživanja i područje s kojeg med potječe. Osobito su izražene razlike u udjelu HMF-a i vrijednosti električne vodljivosti između hrvatskih medova iz 2015. godine i kestenovog meda s područja Slovenije iz 1996. godine.

7. **LITERATURA**

Assil, H., Sterling, R., Sporns, P. (1991) Crystal control in processed liquid honey. *J. Food Sci.* **56,** 1034-1041.

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

Bauer, Lj. (1999) Med- pčelarenje i običaji, Pučko otvoreno učilište, Zagreb

Bogdanov, S., Lullmnn, C., Martin, P. (1999) Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Commission. *Mitt. Lebensm. Hyg.* **90**, 108-125.

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

Corbet, S.A. (2003) Nectar sugar content: Estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie* **34**, 1-10.

Golob, T., Plestenjak, A. (1999) Quality of Slovene Honey, *Food Technol. Biotech.* **37 ,** 195-201.

Honey composition (2007) www.hielscher.com, Pristupljeno travanj, 2016.

International Honey Commission (2009) Harmonised methods of the International Honey Commission, www.ihc-platform.net, Pristupljeno svibanj, 2016.

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

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, L., Nacoulma, O.G. (2005) Determinationof total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radicals cavenging activity. *Food Chem.* **91**, 571-577.

National HoneyBoard (2005) A Reference Guide to Nature's Sweetener, Colorado, USA. www.honey.com, Pristupljeno ožujak, 2016.

Persano Oddo, L., Piro, R. (2004) Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie* **35**, Suppl.1. 38-81

Pine, S.H. (1994) *Organska kemije,* 3. izdanje (preveli Bregovec, I., Rapić. V.), Školska knjiga, Zagreb, str 763.

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

Przybylowski, P., Wilczynska, A. (2001) Honey as anenvironmental marker. *Food Chem.* **74**, 289-291

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 disacharides and trisaccharides in honey, *J. of Chrom. A,* 143-148

Singhal, R.S., Kulkarni, P.P., Rege, D.V. (1997) Handbook of indices of food quality. Wood head 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. *Talante* **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**

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

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

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

Udruga pčelara neposrednih proizvođača. Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda (2009). www.pcelinjak.hr, Pristupljeno veljača, 2016.

ZZZagimed (2003) 1. međunarodno natjecanje pčelara u kvaliteti meda. Izvješće o kategorizaciji nagrada. Pčelarsko društvo Zagreb, Zagreb

ZZZagimed (2004) 2. međunarodno natjecanje pčelara u kvaliteti meda. Izvješće o kategorizaciji nagrada. Pčelarsko društvo Zagreb, Zagreb

ZZZagimed (2005) 3. međunarodno natjecanje pčelara u kvaliteti meda. Izvješće o kategorizaciji nagrada. Pčelarsko društvo Zagreb, Zagreb

ZZZagimed (2006) 4. međunarodno natjecanje pčelara u kvaliteti meda. Izvješće o kategorizaciji nagrada. Pčelarsko društvo Zagreb, Zagreb

ZZZagimed (2007) Zbornik 5. Međunarodnog ocjenjivanja kvalitete meda. Pčelarsko društvo Zagreb, Zagreb