Fizikalna, kemijska i antioksidativna svojstva meda

Crnoja, Ana-Maria

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:641959

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

zir.nsk.hr

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ana-Maria Crnoja

Naziv studija, Zootehnika

Smjer studija, Specijalna Zootehnika

KEMIJSKA, FIZIKALNA I ANTIOKSIDATIVNA SVOJSTVA MEDA

diplomski rad

Osijek, 2018

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Ana-Maria Crnoja

Naziv studija, Zootehnika

Smjer studija, Specijalna Zootehnika

KEMIJSKA, FIZIKALNA I ANTIOKSIDATIVNA SVOJSTVA MEDA

diplomski rad

Povjerenstvo za obranu i ocjenu diplomskog rada:

1. prof.dr.sc. Zlatko Puškadija, predsjednik
2. Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, mentor
3. prof.dr.sc. Marcela Šperanda, član

Osijek, 2018

Sadržaj

1. UVOD 1

2. PREGLED LITERATURE 2

2.1. Povijest pčelarstva i meda 2

2.2. Definicija i vrste meda 4

2.3. Nektar i njegove osobine 5

2.4. Cvjetni ili nektarni med 6

2.5. Medljika ili medljikovac 7

2.6. Prerada nektara u med i zrenje meda 7

2.7. Pelud 8

3. POKAZATELJI KAKVOĆE MEDA 10

3.1. KEMIJSKE OSOBINE MEDA 11

3.1.1. Ugljikohidrati 11

3.1.2. Invertni šećer 12

3.1.3. Voda u medu 12

3.1.4. Proteini i aminokiseline 13

3.1.5. Hidroksimetilfurfural (HMF) 13

3.1.6. Enzimi 14

3.1.7. Minerali i vitamini 15

3.1.8. Fenolni spojevi i fenolne kiseline i flavonoidi 16

3.2. FIZIKALNE OSOBINE MEDA 17

3.2.1. Kristalizacija 17

3.2.2. Viskoznost 18

3.2.3. Električna vodljivost 18

3.2.4. Indeks refrakcije 18

3.3. ORGANOLEPTIČKA SVOJSTVA MEDA 18

3.3.1. Boja 18

3.3.2. Miris i okus meda 19
4. EKSPERIMENTALNI DIO 20
4.1. Zadatak diplomskog rada 20
4.2. Analize fizikalnih i kemijskih svojstava meda 22
4.3. Mjerenje pH 22
4.4. Mjerenje električne provodljivosti 24
4.5. Mjerenje hidroksimetilfurfurala (HMF) 25
4.6. Određivanje sadržaja pepela 26
4.7. Određivanje sadržaja vode u medu 27
4.8. DPPH metoda- određivanje antioksidativnog kapaciteta 27
4.9. FOLIN- CIOCALTEU metoda- određivanje ukupnih fenola 31
5. REZULTATI 35
5.1. Rezultati mjerenja pH 35
5.2. Rezultati mjerenja električne provodljivosti 37
5.3. Rezultati mjerenja HMF-a 40
5.4. Rezultati refraktometrijske analize udjela vode u medu 43
5.5. Udio pepela u različitim vrstama meda 46
5.6. Krivulja apsorbancije galne kiseline 48
5.7. Ukupni fenoli po mg galne kiseline po kg meda 49
5.8. Rezultati IC_{50} svih uzoraka 52
6. RASPRAVA 55
7. ZAKLJUČAK 57
8. LITERATURA 58
9. SAŽETAK 60
10. SUMMARY 61
11. POPIS SLIKA 62
12. POPIS TABLICA 63

13. POPIS GRAFIKONA 65

TEMELLJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA 66

BASIC DOCUMENTATION CARD 67

1. UVOD

Uz ostale grane poljoprivrede, pčelarstvo predstavlja kompleksnu poljoprivrednu djelatnost koja povezuje bilinogojstvo, voćarstvo i prerađivačku industriju. Smatra se da očuvanju biološke raznolikosti mnogih biljnih vrsta uvelike pridonosi pčelarstvo upravo iz razloga jer je pčela prirodni oprašivač. Pretpostavlja se da je pradomovina medonosne pčele Indija (Batinić, 2014). Najstariji fosilni ostatci datiraju iz eocena, odnosno prije 40-50 milijuna godina a pripadaju porodici *Apinae* iz fosilnog roda *Electrapis* (Šukelja, Laktić, 2008). Stoljećima, med se koristi kao hrana i prirodan lijek a definira se kao prirodna slatka tvar koju proizvode medonosne pčele (*Apis mellifera*) od izlučevina živih dijelova biljaka ili od nektara biljaka i izlučevina kukaca koji konzumiraju sokove nektarnog bilja, tako da skupljaju, dodaju vlastite specifične tvari te pohranjuju u saće da sazrije (Codex Alimentarius Commission, 2001). Vodena otopina glukoze, saharoze i fruktoze koju pčele skupljaju naziva se nektar a izlučuju ga cvjetne žlijezde nektarije. Udio pojedinih vrsta ugljikohidrata u nektaru ovisi ponajviše o klimatskim uvjetima dobu godine i vrsti biljaka.

Svaka vrsta meda ima specifična kemijska, fizikalna i organoleptička svojstva. U kemijskom pogledu med predstavlja smjesu s više od 70 različitih komponenata (Batinić, 2014). Neke komponente podrijetlom su od medonosne biljke, za neke su zaslužne pčele, a neke nastaju zrenjem u saću (Krell, 1996). Fizikalnim svojstvima meda smatraju se viskoznost, električna vodljivost, indeks refrakcije i dr. a povezana su s kemijskim svojstvima meda. Najvažnija senzorna svojstva su boja, miris i okus a ovise o botaničkom podrijetlu, količinom pepela, željeza, bakra i mangana (Batinić, 2001).

Med je izrazito bogat antioksidansima te se može koristiti kao funkcionalna hrana zbog blagodati djelovanja na ljudski organizam. Flavonoidi u medu imaju antioksidacijsku djelotvornost jer mogu neposredno hvatati slobodne radikale, a djeluju i posredno tako što štite vitamin C od oksidacije (Kapš, 2013).

Cilj rada je odrediti fizikalna, kemijska i antioksidativna svojstva meda različitog botaničkog porijekla te odrediti parametre kvalitete. Svojstva koja je potrebno analizirati su: pH, udio vode i pepela, električna provodljivost, hidroksimetilfurfural (HMF), ukupne fenole te antioksidativni kapacitet.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Povijest pčelarstva i meda

Poznato je da čovjek u svojoj prehrani koristi med još od prapovijesti. Zaključak da je Indija kolijevka pčelarstva i pradomovina medonosnih pčela proizlazi iz pretpostavke da su migracijama dospjele na zapad, na istok se nisu mogle kretati zbog himalaja a na jug zbog oceana (Batinić, 2014).

Prema E. Crane tijekom Pliocena, kada su medonosne pčele postojale već milijunima godina, praljudi živjeli su u tropskim dijelovima Afrike i bili su skupljači meda. Kasnije, vrsta poznata kao *Australopitecus* razvila se u Africi, no taj genom je izumro tijekom Pleistocena. U međuvremenu pojavila se nova vrsta *„Homo*“ za koje se pretpostavlja da su predci današnjeg modernog čovjeka. Prvi je bio *H. habilis* prije oko 2,5 milijuna godina, koji je imao isti izvor meda kao i prethodnici i koji je izumio i koristio se oruđem za pomoć prikupljanja. Nakon toga javlja se *H. erectus* prije 1,7 milijuna godina. Fosili ovog pračovjeka pronađeni su u Africi, Aziji i također u Europi. Kolonije *Apis mellifera* koje su stekle otpornost na preživljavanje zime nastanile su se prije nego li je *H. erectus* stigao na to područje. Od vrste *Homo sapiens* razlikuju se dvije podvrste: *H. s. neanderthalensis* (neandertalski pračovjek) te *H. s. sapiens* (predak modernog čovjeka). Neandertalski pračovjek pronađen je samo u Europi i zapadanoj Aziji. U to vrijeme u tropskim krajevima razvile su se tri vrste medonosnih pčela: *Apis dorsata*, *Apis cerana* i *Apis florea*a u južnoj Kini i Japanu ekotipovi *A. cerana* prilagođavaju se na preživljavanje zime. Većinu svojega postojanja *Homo sapiens* bio je lovac i skupljač u Paleolitiku. Skupljali su hranu, lovili životinje, skupljali biljke i njihovo sjemenje i voće uključujući i pčelinja gnijezda i saće s medom (Crane,1999).

Spiljski crteži iz Mezolitika i post- Mezolitika pronađeni u Indiji, Španjolskoj i Južnoj Africi dokaz su potrage za medom tijekom ljudske povijesti. Tijekom paleolitika u Australiji tamošnji stanovnici koristili su pčelinji vosak kao medij za stvaranje crteža, a prema masenoj spektrometriji radioaktivnog ugljika koju su obavili D.E. Nelson i sur. (1995) datiraju oko 2000 godina pr.n.e.. Pronalasci iz starog Egipta od osnutka prve dinastije 3100 godina pr.n.e. do vremena vladavine Ptolomeja koji je vladao 330 godina pr.n.e. stvarano je najviše crteža medonosnih pčela iz razloga što je to predstavljalo topografski simbol Egipta. Po tome se zaključuje da je pčelarstvo bilo izuzetno važna

djelatnost 3000 godina pr.n.e. posebice na području Nila (Crane, 1999). Tada se djelotvornost meda primjenjivala u raznim djelatnostima od medicine, kozmetike pa sve do religijskih ceremonija. Med se smatrao Božjim darom i predstavljao je lijek. Osim meda korišten je i propolis, koji je bio važan dio preparata za mumificiranje (Batinić, 2014). Prvi grčki filozof koji je pisao o pčelama bio je Homer. U njegovoj „Ilijadi“ opisao je načina na koji se skupljao med, a govorio je o dvije posude koje su nastanile pčele i tamo spremale med. Hipokrat, koji se smatra ocem medicine, govorio je kako su lijek za sve ljudske tegobe zrak, voda i med. A pisani tragovi također govore o korištenju meda i pčelinjeg otrova u medicinske svrhe (Batinić, 2014). Malo se zna o skupljanju meda u starom Rimskom Carstvu. No navodi se kako je Cicero 106-43 god. pr.n.e. koristio robove za skupljanje divljeg meda po šumama. Zaključno navedenome, pretpostavlja se da je posao skupljanja meda običaj star kao i sam čovjek (Crane, 1999).



Slika 1: Spiljski crtež i Mezolitika, Španjolska

(Izvor: https://www.pinterest.com/pin/442197257147832511/)

2.2. Definicija i vrste meda

Prema pravilniku o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda (Narodne novine, br. 30/2015) med je prirodno sladak, tekući, viskozni ili kristalni proizvod što ga proizvode medonosne pčele (*A. mellifera*) od nektara cvjetova medonosnih biljaka ili od ekstrakta kukaca roda *Hemiptera* koji sišu žive dijelove biljaka, dodaju mu vlastite specifične tvari, preoblikuju i odlažu u stanice saća da sazri.

Med je proizvod medonosnih pčela neovisno o definiciji. Mogu ga proizvesti kao uniflorne ili poliflorne medove. Senzorna svojstva, kakvoća, kemijski sastav, količina peludi ovise o podneblju na kojem se odvija pčelinja ispaša, klimi, te pčelarskoj praksi (Mujić, 2014). Pčele skupljeni nektar dorađuju u košnici tako da ga zgusnu smanjivanjem udjela vode. Skladište ga u saćama gdje se odvija proces zrenja odnosno smanjivanje sadržaja tekućine i sastav različitih vrsta ugljikohidrata (Kapš, 2013). Pčela radilica u košnicu može ponijeti nektar u količini polovice težine svoga tijela. U procesu putovanja prema košnici u mednom mjehuru pčele odvija se prva promjena kemijskih svojstava nektara djelovanjem enzima koje dodaje sama pčela. Šećer se mijenja od složenog do jednostavnog šećera. Nakon ulaska u košnicu pčela radilica žvače kap nektara i izlaže ga zraku. Tim procesom smanjuje se sadržaj tekućine u nektaru. Polaganjem takvih uzastopnih kapi u saću do ispunjenja saća dodatno se smanjuje sadržaj vode na oko 19%. Tada nastaje med. Kada je proces punjenja saća gotov pčela zatvara ćeliju tankim slojem svježeg voska (Mujić i sur., 2014).

Prema izvoru meda razlikujemo dvije vrste meda. Cvjetni med ili nektarni med koji se dobiva od nektara medonosnog bilja i medljikovac ili šumski med koji se dobiva većinom od izlučevina kukaca roda *Hemiptera* koji borave na biljkama i hrane se njihovim sokovima (Kapš, 2013).

Prema načinu dobivanja meda on može biti med u saću, med sa saćem ili dijelovi saća u medu, cijeđeni med, vrcani med, prešani med, filtrirani, i pekarski med. Med u saću pčele skladište u stanicama saća, a gotov proizvod koji se plasira na tržište je cijela saća ili dijelovi takvih saća. Med sa saćem sadrži dijelove saća, bez pčelinjeg legla, u medu. Cijeđeni med se dobiva kapanjem meda iz saća dok se vrcani med dobiva vrcanjem uz pomoć centrifugalne sile iz otvorenih saća. Prešani med dobiva se prešanjem saća bez legla uz moguću uporabu topline. Filtrirani med dobiva se odstranjivanjem organskog ili

anorganskog sedimenta u medu uključujući i pelud, dok se pekarski med može koristiti samo za industrijske, odnosno prerađivačke svrhe kao sastojak drugim namirnicama koje se prerađuju, a ima drugačiji okus i miris (Mujić, 2014).

Med se imenuje prema medonosnim biljkama na kojima se odvija pčelinja paša i na kojima sabiru nektar. Kod nas poznajemo med od bagrema, lipe, kestena, uljane repice, vrijeska, kadulje, livadni med i druge vrste (Laktić i Šukelja, 2008).

2.3. Nektar i njegove osobine

Prema Laktić i Šukelja (2008) nektar je vodena otopina saharoze, glukoze i fruktoze, odnosno slatki sok kojeg izlučuju cvjetne žlijezde nekarije, a skupljaju ga pčele. Odnos različitih ugljikohidrata u medu ovisi o vrsti biljke i klimatu, količinama oborina i temperaturama. Pretpostavlja se da je ukupni udio ugljikohidrata u nektaru od 3 do 80%, a da pčelama najviše odgovara nektar koji ima 50% šećera. Specifična težina nektara je od 1,02 do 1,35 a pH vrijednost mu je u rasponu od 2,7 do 6,4. Osim ugljikohidrata u nektaru se nalaze razni drugi spojevi kao što su: vitamini, organske kiseline, dušikovi spojevi, enzimi, mineralne soli i drugi. Najviše nektara se u biljci izlučuje u trenutku pogodnom za oprašivanje, a ono prestaje ili se smanjuje kada završi proces oprašivanja. Optimalna vlažnost zraka je između 60 do 80% dok je najbolja temperatura za proizvodnju i izlučivanje nektara od 10 do 30°C. Za ocjenjivanje količine nektara u cvijetu postoji nekoliko metoda.

Metodom kapilarne cijevi krajem vagnute kapilarne cijevi dotiče se žlijezda nektarija, a pod djelovanjem kapilarnog tlaka nektar biva uvučen u kapilaru. Nakon toga kapilarna cijev se opet važe. Uzorkovanje se provodi u okrugu od 1 Ha istodobno na 30-40 cvjetova sa različitih mjesta. Ovo mjerenje obavlja se tri puta u 6, 14 i 16 sati tijekom 24 sata. Prosječna težina tih mjerenja reprezentira prosječnu dnevnu količinu nektara, dok zbroj svih prosječnih dnevnih količina nektara u vrijeme izlučivanja predstavlja količinu nektara za vrijeme cijele vegetacije (Laktić, 2008).

Metoda filter papirom vrlo je slična metodi kapilarne cijevi. Razlika je u tome što se kapilara zamjenjuje filter papirom. Koristi se filter papir duljine 20-25 mm i širine 1-2,5

mm. Izvagani filter papir naslanja se na nektariju da upije nektar i nakon toga se odmah izvaže (Laktić, 2008).

U metodi ispiranja nektara cvijet se potapa u destiliranoj vodi. Nakon određenog vremena, kvantitativnom kemijskom analizom određuje se ukupna količina ugljikohidrata odnosno šećera a ta se količina šećera preračunava u med (Laktić, 2008).

Posljednja metoda je metoda intenziteta posjećivanja cvjetova od strane pčela. Ovisno o tome koliko se dugo vremena pčela, cvijet izlučuje određenu količinu nektara. Ova metoda temelji se na vremenskom zadržavanju pčele na cvijetu. Naime, na cvijetu koji ima manje nektara po pravilu pčela se zadržava dulje, a na onom koji ima više, zadržava se kraće. Kod povećane proizvodnje nektara po cvijetu pčele u većem broju posjećuju to cvijeće, a tim postupkom ne samo da se povećava količina sakupljenog meda po hektaru, već isto tako i poboljšava urod određene kulture bilja (Laktić, 2008).

Kod nas, pčelinje paše traju relativno kratko, oko 15-20 dana. Ako te iste biljke rastu na velikim površinama daju do 8 kg. Livadne paše imaju tihu pčelinju pašu, ali mogu trajati i do 80 dana (Laktić, 2008). Ukoliko u okolini pčelinjaka ima više medonosnog bilja, količina skupljenog nektara biti će veća iz razloga što pčele lete na pašu 2-3 km udaljenosti od pčelinjaka, a za hladnijeg vremena 1 km (Laktić, 2008).

2.4. Cvjetni ili nektarni med

Cvjetni ili nektarni med podrijetlom je od cvjetova biljaka. Može biti monoflorni med, što znači po svome sastavu potječe od jedne vrste bilja. Takav med je na primjer: bagremov med, suncokretov, livadski, med uljane repice i slično. Naime, unatoč što se naziva monoflorni med on nije podrijetlom od jedne biljke. U isto vrijeme tijekom ispaše cvijeta veliki broj biljaka i uvijek se dio nektara drugih biljaka pomiješa sa medom koji pčele pretežno skupljaju na tom području. Određivanjem peluda u drugih čestica koje čine sediment u medu može se odrediti vrsta monoflornog meda. Za razliku od monoflornog meda, poliflorni sadrži nektar i pelud više vrsta biljaka. Peludna analiza iz sedimenta meda jedina je analiza uz organoleptičke i kemijske osobine kojima je moguće identificirati med. Analiza određivanja botaničkog podrijetla meda temelji se na bojanju peludnih zrnaca nektarskog bilja. Moguće je isto tako, botaničko podrijetlo meda prepoznati po

organoleptičkim svojstvima, a uz melisopalinološku analizu upotpuniti informaciju o geografskom i botaničkom podrijetlu meda.

Za određivanje podrijetla meda, monoflornog ili poliflornog, izrađuju se trajni preparati peludnih zrna i iz zrna prašnika i koriste se peludni atlasi. Naime, monoflorni med u svome sastavu, odnosno netopivom sedimentu mora imati minimalno 45% peludnih zrna iste biljne vrste. Unatoč tomu, postoje vrste meda na koje se to pravilo ne odnosi,a to su bagrem, lavanda, kadulja kojima je udio 20%, za lipu je 25% a za kesten 85% (Laktić,2008).

2.5. Medljika ili medljikovac

Medna rosa ili medljikovac može poticati iz raznih izvora. Pretežito izvori za nastanak medljikovca su bjelogorica i crnogorica, ali isto tako nastaje i od korova, ukrasnog bilja i slično. Medljikovac za razliku od nektarnog meda, nije biljnog podrijetla, već je isključivo životinjskog (Laktić,2008). Medonosne pčele proizvode ovaj med iz četinara ili lišćara i iz ekstrakta kukaca roda Hemiptera koji sišu žive dijelove biljaka (Mujić,2008). Razlikovati nektarni med i medljikovac može se analizom električne provodljivosti. Naime, medljikovac ima veću električnu provodljivost nego li nektarni med i to od 1mS/cm (Laktić,2008). Prema Laktić i Šukelja (2008) medljikovac sadržava 5-18% suhe tvari, pH iznosi od 5,1 do 7,9, a specifična težina mu je od 1,0 do 1,3. Količina šećera je visoka i iznosi 90-95% suhe tvari a sastoji se od saharoze, maltoze, glukoze, fruktoze, manoze, a ima daleko više oligosaharida nego nektar i također imaju enzime: dijastaze, proteaze i invertaze.

2.6. Prerada nektara u med i zrenje meda

Medonosne pčele kada posišu nektar i medljiku, spremaju ih u medni mjehur i prenose do saća. Kako bi se nektar pretvorio u med potrebno je smanjiti sadržaj vode. Obično se u nektaru nalazi 50% vode, a taj se udio mora smanjiti na oko 20%. Smanjivanje sadržaja vode jest prvi korak u nastajanju meda. Naime, pčele radilice koje skupe nektar odnose ga u košnicu i prepuštaju jedinkama koje ne lete. One ga žvaču i sabijaju u stanici saća. Dodatnim žvakanjem i sabijanjem, iz nektara isparava voda. Drugi proces je hidroliza saharoze u glukozu i fruktozu uz pomoć enzima invertaze. Kada je stanica saće u potpunosti napunjena, ostavljena na zraku da se isuši i koncentracija postala dovoljno

gusta, pčele zatvaraju stanicu voštanim poklopcem. Povećanjem koncentracije ugljikohidrata, ponajprije oligosaharida kojih nema u medljici i nektaru, dobiva se veća količina ugljkohidrata koja ima ulogu u sprječavanju razvoja mikroorganizama, a doprinosi sprječavanju fermentacijskih procesa kod skladištenja meda (Laktić, 2008).

2.7. Pelud

Pelud je muški gametofit kod golosjemenjača i kritosjemenjača, a formiraju se u prašnicima biljaka. U procesu oprašivanja, pelud se prenosi sa prašnika na njušku tučka anemofilijom odnosno zračnim strujanjima, vodom odnosno hidrofilijom ili entemofilijom što označava oprašivanje insektima. Znanost koja proučava pelud naziva se palinologija. Najčešći insekti oprašivači upravo su pčele. One pelud skupljaju odmah po početku sezone pčelinje paše, u rano proljeće. Različite vrste biljaka oprašuju se na različite načine. Upravo iz tog razloga svaka pelud karakteristična za vrstu ima specifičan kemijski sastav, boju i sadržaj hranjivih tvari. Kod palinoloških istraživanja to su vrlo važni čimbenici koji pomažu pri determinaciji izvora peludi, botaničkog i geografskog porijekla (Mujić, 2014).

Pčele medarice skupljaju pelud tako što prilikom skupljanja nektara s cvjetova kupe i pelud te ju premještaju na korpice na zadnjim nogama. U košnicu unose i predaju pelud pčelama radilicama koje pelud skladište zajedno s medom u saćama. Kada smjesa u saćama sazrije, nastaje pčelinji kruh. Njega pčele koriste za ishranu u zimskim uvjetima, kada paša nije dostupna. Njime podmiruju potrebe za mineralima, mastima, vitaminima i proteinima (Mujić, 2014).

Pčele nekada znaju prikupiti i prevelike količine peludi. Jedna posljedica takvog nagomilavanja peludi u saćama je takozvana „svibanjska bolest“. Zbog izobilja peludi nastaje nedostatak vode, pa mlade pčele mogu počet izumirat. Isto tako, sama pelud ne može biti hrana i ne može zamijeniti hranidbenu vrijednost meda (Relić, 2006).

Pelud kojeg pčele skupe miješa se zajedno s nektarom i medom. Slatkastog je okusa, a pelud nekih biljnih vrsta bogata je uljima. Karakteristične je boje i varira u rasponu od zelene, žute do crvene (Mijić, 2014) (Tablica 1.) Zrna peludi mogu biti raznih veličina od 6- 200 μm u promjeru, različitih oblika i površinskih struktura (Zombročević, 2007). Melisopalinološkom analizom sedimenta u medu, u čijem je sastavu pelud, određuje se porijeklo biljke od koje je nastao med i geografski položaj.

Tablica 1. Različitost boja zrna peludi ovisno o vrsti biljke

Naziv biljke	Boja peludnog zrnca	Naziv biljke	Boja peludnog zrnca
Lijeska	Svijetložuta	Kesten	Zlatnožuta
Jela	Bijela	Hrast	Žutozelena
Mak	Crvena	Malina	Bijela
Glog	Svijetlosmeđa	Kruška	Crvenkasta
Maslačak	Crvenožuta	Jabuka	Svijetložuta
Javor	Zelenožuta	Breza	Svijetlosiva

Izvor: Cvek D. (2013): Pelud (fizičke karakteristike, sastav, fiziološki učinak, upotreba danas)

3. POKAZATELJI KAKVOĆE MEDA

Med je viskozna tvar, specifične žute do zlatno smeđe boje. Postoji niz karakteristika kojima je moguće utvrditi izvornost, svježinu i ostale karakteristike meda. Jedan od najpouzdanijih pokazatelja kakvoće meda je određivanje hidroksimetilfurfurala (HMF). Naime, u svježem medu njega gotovo i nema, stoga je njegov sadržaj manji od 1mg po kilogramu meda (Kapš, 2013). Po zastupljenosti komponenata u medu, voda zauzima drugo mjesto. Udio vode je između 15 i 23%, a utječe na kristalizaciju, viskoznost, a vrlo važnu ulogu ima kod čuvanja meda. Med je higroskopan, i upravo taj udio vode definira njegovu stabilnost i otpornost na fermentaciju (Mujić i sur,2014). Ukoliko je količina vode manja od 17,1% preostaje nedovoljno vode za preživljavanje mikroorganizama jer se ta količina vode koristi za reakciju sa šećerima (Laktić, 2008). Med mora sadržavati 70% smjese glukoze i fruktoze. A u smjesi mora biti više fruktoze nego glukoze. Sadržaj saharoze ne smije biti veći od 5% (Mujić i sur, 2014). Od kvarenja med također čuva i količina vodikovog peroksida. U medu vodikov peroksid nastaje enzimatskim procesima. Naime, vodikov peroksid je toksičan za većinu mikroorganizama koji se mogu razviti u medu. Količina vodikovog peroksida ovisi o količini katalaze. Prema tome, med s visokim sadržajem vodikovog peroksida ima nisku aktivnost enzima katalaze i obrnuto (Laktić i Šukelja, 2008).

Prema pravilniku o kakvoći meda (Narodne novine,46/07, 155/08) med koji se stavlja na tržište mora imati najmanje 65% reducirajućih šećera u obliku invertnog šećera, dok medljikovac mora imati minimalno 60% reducirajućih šećera. Isto tako, ne smije sadržavati više od 6% mineralnih tvari, osim medljikovca koji može imati do 1,2% mineralnih tvari. Nadalje, med namijenjen tržištu ne sadrži više od 0,1% tvari netopivih u vodi, a aktivnost dijastaze nakon miješanja nije manja od 8,0 i hidroksimetilfurfurol je manji od 40mg/kg, a ako je niža od 0,8 hidroksimetilfurfural (HMF) ne smije biti veći od 15 mg/kg meda. Med ne smije biti obojan nikakvim bojama i ne smiju mu biti dodana sredstva za konzerviranje i aromatiziranje, odnosno da ima svojstven okus, boju i miris bez stranih primjesa. Udio vode u medu ne smije prelaziti 20% osim za med vrijeska koji može imati 20% vode. Električna provodljivost ne bi trebala biti viša od 0,8 mS/cm (NN 53/2015).

3.1. KEMIJSKE OSOBINE MEDA

3.1.1. Ugljikohidrati

Ugljikohidrati ili šećeri čine 95 do 97% ukupne suhe tvari u medu (Alvarez-Saurez i sur., 2009). Med sadrži jednostavne šećere, monosaharide, u prvom redu fruktozu i glukozu. Isto tako i disaharide, saharozu, te u manjim količinama polisaharide (Kapš,2013). Prema udjelu pojedinih šećera sadrži oko 40% fruktoze, 34% glukoze i saharoze najviše 5% (Laktić i Šukelja, 2008). Omjeri tih šećera u medu, vidljivo iz navedenog, različiti su, ovisno o vrsti meda i učinkovitosti enzima invertaze koji u med dospije iz pčelinjih žlijezda i iz nektara. Otopine navedenih šećera međusobno se razlikuju po tome kako zakreću ravninu polarizirane svjetlosti. Naime, glukoza zakreće ravninu polarizirane svjetlosti udesno, fruktoza ulijevo a saharoza udesno, osim nakon hidrolize s enzimom invertaze kada prelazi iz desne u lijevu (Kapš, 2013). Glukoza i fruktoza su važne komponente meda jer mu daju slatkast okus te određuju fizikalna svojstva poput gustoće, viskoznosti i sklonosti kristalizaciji. Od ostalih disaharida u medu se mogu naći izomaltoza, maltuloza, maltoza i drugi (Mujić i sur., 2014). U medljikovcu lipe, bora i jele nalazi se šećer melicitoza. Zbog prisutnosti tog šećera i zbog njegove slabe topivosti saće nije moguće izvrcati (Laktić i Šukelja, 2008).

Udio šećera ima važnu ulogu i prilikom fermentacije meda. Činjenica je da približno 95% ugljikohidrata u medu može fermentirati. Naime, za fermentaciju meda važan je i udio vode i količina šećera. Tako med s udjelom vode ispod 17,1% i udjelom šećera višim od 83% neće fermentirati ukoliko se pravilno skladišti (Mujić i sur, 2014).

Šećeri predstavljaju osnovnu komponentu važnu za formiranje okusa meda. Mogu biti reducirajući i nereducirajući. Reducirajuću šećeri su oni koji imaju slobodnu keto skupinu koja može izomerirati u slobodni aldehid ili oni koji imaju slobodnu aldehidnu skupinu. Zbog toga se kod polisaharida mogu razlikovati nereducirajući i reducirajući krajevi lanaca, ovisno o tome može li se prsten monosaharidne jedinice otvoriti u aldehidnu skupinu. Svi nemodificirani monosaharidi su reducirajući. Primjer nereducirajućeg šećera je saharoza (Mujić i sur. 2014).

3.1.2. Invertni šećer

Enzim saharaza, poznat i po nazivu invertaza ili α-glukozidaza nalazi se u medu, a pripada skupini enzima hidrolaze i podskupinu karbiksidaze. Prisutnost ovog enzima u medu vrlo je važna. Naime, odgovoran je za promjene do kojih dolazi prilikom zrenja meda. Ovaj enzim je prirodni konzervans. Njegovo djelovanje se očituje cijepanjem glikozidne veze pri čemi kao produkt dobije se glukoza i fruktoza. Mješavina ovih dvaju ugljikohidrata naziva se invertni šećer i čini glavni dio meda (Kapš, 2013).

3.1.3. Voda u medu

Voda je jedan od najznačajnijih sastojaka u medu. Prvenstveno jer utječe na njegovu kvalitetu, održivost i granulaciju. Količina vode u medu je od 15 do 23% i prema tome čini drugi po redu sastavni element meda (Laktić i Šukelja, 2008). Količina vode u medu ovisi o vrsti meda, godišnjoj dobi i stupnju zrelosti meda. Po pravilu u medu ne bi trebalo biti više od 21% vode iz razloga što s povećanjem udjela vode med postaje podložniji fermentaciji (Kapš, 2013).

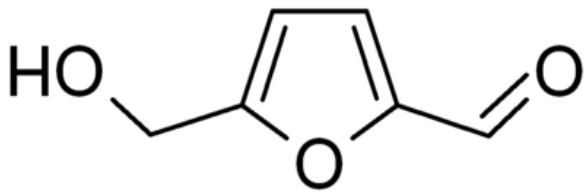
Udio vode također utječe na kristalizaciju, viskoznost, specifičnu težinu, ali najveću utjecaj uvjerljivo ima tijekom čuvanja meda. Ukoliko u medu ima manje od 18% vode, po pravilu med bi trebao biti zaštićen od fermentacije. Unatoč tomu, ta se mogućnost ne može u potpunosti isključiti i kada je udio vode manji od 17,1% jer je za fermentaciju isto tako važna i količina kvasca u medu i temperatura (Mujić i sur., 2014). Prema hrvatskom Pravilniku o kakvoći meda (N.N. 20/00) u medu koji se stavlja na tržište ne smije biti više od 20% vode, osim za med vrijeska koji može imati udio vode do 23% . (Mujić i sur., 2014). Uz pomoć refraktometra može se procijeniti udio vode u medu. Ovo se mjerenje zasniva na mjerenju loma zrake svjetla na prolazu iz jedne tvari u drugu različite gustoće (Laktić i Šukelja, 2008).

3.1.4. Proteini i aminokiseline

Dušične spojevi u medu prisutne su u tragovima od 0,2 do 0,3 %, a nalaze se u obliku proteina i aminokiselina. U med dospijevaju iz nektara medljike i peluda (Mujić i sur.,2014). U medu se nalazi oko 18 aminokiselina od kojih su najzastupljenije glutaminska kiselina, tirozin, prolin, alanin, fenilalanin, leucin i tirozin (Iglesias i sur., 2004). Najzastupljenija aminokiselina je prolin. Prolin potječe od pčela i smatra se indikatorom zrelosti meda (Mujić i sur.,2014). Udio samih proteina u medu je od 0 do 1,67%. Bagremov i lipov med imaju najmanje proteina za razliku od medljike koja ima najviše. Po pravilu, tamniji med bi trebao sadržavati više proteina od svjetlijeg meda (Laktić i Šukelja, 2008).

3.1.5. Hidroksimetilfurfural (HMF)

HMF odnosno hidroksimetilfurfural je ciklički aldehid koji nastaje dehidratacijom glukoze i fruktoze u kiselom mediju (Mujić i sur., 2014). Razlaže se na mravlju i levulinsku kiselinu, a brzina razlaganja je viša pri povišenim temperaturama, odnosno porast brzine proporcionalan je porastu temperature (Karabournioti i Zervalaki, 2001). Određivanje HMF-a koristi se za utvrđivanje patvorenja meda bilo to naknadnim zagrijavanjem ili dodavanjem sirupa invertnog šećera (Espinoza-Mansilla i sur., 1993). U svježem medu udio HMF-a je nizak, ispod 1mg/kg a to znači da je on prirodni sastojak meda. Udio mu raste ukoliko se temperatura okoline u kojoj se skladišti poveća iznad 20°C, a u svježem medu ne prelazi granicu od 10mg/kg (Mujić i sur., 2014). Prema pravilniku iz Narodnih Novina (46/07, 155/08)godine udio HMF-a u hrvatskim medovima je do 40 mg/kg meda.



Slika 2. Struktura hidroksimetilfurfurola

(*Izvor: http://www.wikiwand.com/sh/Hidroksimetilfurfural*)

3.1.6. Enzimi

Enzimi koji se nalaze u medu potječu od izlučevina pčela, cvjetnog praha te dijelom iz nektara (Kapš, 2013). Enzimi su biološki katalizatori, a uloga u medu im je ubrzavanje kemijskog procesa pretvaranja nektara u med (Mujić i sur., 2014). U medu najzastupljeniji enzimi su invertaza, katalaza, dijastaza, kisela fosfataza i drugi (Laktić i Šukelja, 2008).

Osnovni izvor enzima invertaze u medu je iz žlijezda slinovnica pčela. Uloga invertaze je cijepanje glikozidne veze kod saharoze u jednostavnije šećere glukozu i fruktozu. Invertaza djeluje za cijelo vrijeme sazrijevanja meda (Mujić i sur., 2014). Prema Laktić i Šukelja (2008) smatra se da je optimalan pH za djelovanje invertaze između 6,0 i 6,2 pri temperaturi od 25 do 35°C, a aktivnost invertaze izražava se u gramima saharoze koju za jedan sat razlaže invertaza u 100 grama meda (invertazni broj).

Vrlo važnu ulogu u analizama meda ima dijastaza. Dobar, odnosno med visoke kvalitete mora imati pokazatelj dijastaze 8 jedinica po Gotheu. Takoza parametar izvornosti i kvalitete meda uzima se dijastazni broj. Za mjeru aktivnosti dijastaze uzima se količina 1%-tne otopine škroba (cm^3) koju za jedan sat razgradi dijastaza sadržana u jednom gramu meda pri 40°C. Očitana aktivnost ne smije biti niža od 8 jedinica. Ukoliko i jest niža u tom slučaju HMF vrijednost ne smije biti veća od 15 mg/kg meda. Prilikom prevelikog zagrijavanja meda i skladištenja u uvjetima visoke temperature dijastaza propada (*tablica 2.).* Za kontrolu kvalitete i prirodnosti dijastazni broj je jedan od glavnih pokazatelja (Lakatić i Šukelja, 2008).

Osim enzima katalaze koji razgrađuje vodikov peroksid na vodu i kisik i kisele fosfataze čija je uloga hidroliza fosfatnih estera, važnu ulogu ima i glukoza oksidaza. Njegova uloga se očituje u oksidaciji malih količina glukoze u glukonolakton nakon čega će nastati glukonska kiselina. Ovom reakcijom nastaje vodikov peroksid koji se razgrađuje na vodu i kisik, a djelovanje je baktericidno (Mutsaers i sur., 2005). Dakle, pored navedenih, glukoza oksidaza je vrlo važan enzim u procesu nastajanja meda, a izvor su mu ždrijelne žlijezde pčela (Mujić i sur., 2014).

Tablica 2. Dijastazna poluvrijednost računata za različite temperature skladištenja

TEMPERATURA	POLUVRIJEDNOST DIJASTAZE MEDA
10	**34,5 godina**
20	**4 godine**
25	**18 mjeseci**
30	**6,6 mjeseci**
32	**4,2 mjeseci**
35	**2,6 mjeseci**
40	**31 dan**
50	**5,38 dana**
60	**1,05 dana**
63	**16,2 sati**
70	**5,3 sati**
71	**4,5 sati**
80	**1,2 sata**

(*Izvor: Krell, 1996*)

3.1.7. Minerali i vitamini

U medu se nalaze vitamini B skupine i askorbinska kiselina. Unatoč tomu vitamini u medu nisu značajan izvor za ljudsku prehranu (Mujić i sur., 2014).

Minerali su prisutni u malim količinama. Medljike imaju najveći udio minerala i tamniji medovi. Najveći udio čini kalij, ostali su natrij, kalcij, fosfor, sumpor, klor, magnezij, željezo i aluminij. U tragovima se može naći i bakar. Udio minerala ponajviše ovisi o botaničkom podrijetlu meda, no isto tako i o klimatskim uvjetima podneblja i sastavu tla (Stankovska i sur., 2008; Nanda i sur.,2009). Za med je propisano da ne smije imati više od 0,6% mineralnih tvari, osim medljikovca koji smije imati do 1,2% (Latić i Šukelja, 2008).

3.1.8. Fenolni spojevi i fenolne kiseline i flavonoidi

Fenolni spojevi prisutni su u cijelom biljnom svijetu. To su sekundarni metaboliti koji posjeduju najmanje jedan aromatski prsten s jednom ili više hidroksilnih skupina. Najčešće su u obliku glikozida što ih čini dobro topivima u vodi (Kapš, 2013). Fenolne komponente u medu dijele se u tri skupine: flavonoid aglikoni, benzojeva kiselina i njezini esteri te cimetna kiselina i njezini esteri. Izvor fenola u medu su nektar i propolis (Mujić i sur.,2014). U medu, obično ima od 60 do 460 μg/100g, a udio je viši u suhim sezonama (Kenjerić i sur.,2007). U podgrupama se dijele na halkone, flavonole, flavone, antocijane i izoflavonoide (Mujić i sur., 2006).

Fenolni spojevi imaju antioksidativno djelovanje. Fenoli su antioksidansi koji mogu spriječiti lipidnu peroksidaciju u stanici. Imaju mogućnost hvatanja slobodnih radikala, aktiviranja antioksidativnih enzima, popravljanje oksidacijom oštećenih stanica. Nadalje prisutnost fenolnih spojeva u medu, medu daje antialergijsko i protuupalno svojstvo, također i antimutageno i antimikrobno svojstvo (Kapš, 2013).

Veliki utjecaj na antioksidativni status meda ima botaničko porijeklo, a manje geografsko porijeklo i način dobivanja meda te skladištenje (Kapš, 2013).

3.2. FIZIKALNE OSOBINE MEDA

3.2.1. Kristalizacija

Svaki med kristalizira i to je u potpunosti normalno svojstvo. To je prirodan proces koji nema utjecaja na kvalitetu meda niti na kemijska svojstva (Kapš, 2013). Brzina kristalizacije ovisi o porijeklu meda. Naime, neke vrste meda kristaliziraju brže nego li druge, a to svojstvo ponajviše ovisi o sadržaju šećera, udjelu vode, vremenu čuvanja i temperaturi skladištenja. Tako na primjer, bagremov i kestenov med ne kristaliziraju brzo, dok za razliku od njih, med uljane repice i medljikovac kristaliziraju relativno brzo (Laktić i Šukelja, 2008). Prema Kapš (2013) šećeri čine 85% meda, većim udjelom monosaharidi fruktoza i glukoza. Može se zaključiti da je med prezasićena otopina glukoze koja pri sobnoj temperaturi spontano kristalizira i stvara glukozu monohidrat.

Ukoliko u medu ima veći udio vode i fruktoze, taj med će sporije kristalizirati. Medljikovac koji brzo kristalizira, naime, ima puno melicitoze. Iz tog razloga može kristalizirati još dok se nalazi u saću. Ukoliko je sadržaj glukoze u medu ispod 30% kristalizacija će vjerojatno izostati. Kod temperatura iznad 27°C i ispod 10°C kristalizacija je manje moguća, dok je najpovoljnija temperatura za kristalizaciju meda je 10 do 15°C. Moguće je dekristalizirati med, no važno je paziti da temperatura zagrijavanja meda ne prelazi 40°C. Zagrijavanjem meda iznad navedene temperature dovodi do gubitka nutritivnih sastojaka i narušava se kvaliteta meda. Naime, zagrijavanje iznad 40°C izaziva denaturaciju, smanjuje se enzimatska aktivnost meda, i pojavljuje se veća količina hidroksimetilfurfurala (Laktić i Šukelja, 2008).



Slika 3. Kristalizirani med

(Izvor: https://receptiasmir.wordpress.com/2016/11/11/postupak-s-kristaliziranim-medom/)

3.2.2. Viskoznost

Med je gusta viskozna tekućina. Viskoznost je osobina tekućine koju karakterizira ljepljivost i opiranje curenju (Mujić i sur., 2014). Tečnost i viskoznost meda ovise o sadržaju vode i temperaturi. Med s malim udjelom vode teče polako, no med koji ima 15% više vode fluidniji je do tri puta (Kapš, 2008). Povećanjem temperature smanjuje se viskoznost meda (Mujić i sur., 2014).

3.2.3. Električna vodljivost

Karakteristika neke tvari da provodi električnu struju je električna vodljivost. U medu, električnu struju provode ionski oblici minerala i disocirane kiseline. Mjera za električnu vodljivost je milisimens po centimetru (mS/cm) (Petričko, 2015).

3.2.4. Indeks refrakcije

Indeksom refrakcije određuje se udio vode tj. udio topive suhe tvari u medu. Postupak se provodi digitalnim refraktometrom. Princip rada temelji se na mjerenju loma svjetlosti koja prolazi kroz otopinu. Mjerenje se obavlja pri sobnoj temperaturi od oko 20°C (Batinić, 2014).

3.3. ORGANOLEPTIČKA SVOJSTVA MEDA

3.3.1. Boja

Boja meda varira u rasponu od svjetlo žute do tamno smeđe a ponajviše ovisi o botaničkom podrijetlu meda. Svjetlije žute boje su bagremov, livadski med i med od djeteline, crvenkastom bojom odlikuje se lipa, vrijesak je tamnožuti, dok je suncokretov med i med uljane repice jantarno žute boje. Nadalje, kadulja je žućkasto smeđe boje dok su medljikovci najtamniji, odnosno tamno smeđe boje. Kristalizacijom med posvijetli, ali potamni tijekom čuvanja pri višim temperaturama. Kemijski sastav također utječe na boju

meda. Naime, boja je jednom djelom određena udjelom karotenoida, ksantofila, klorofila, flavonoida, količinom pepela i udjela željeza, mangana i bakra (Batinić, 2014).

3.3.2. Miris i okus meda

Miris i okus meda određuju biljke od kojih je med nastao, odnosno od kojih je dobiven nektar. Aromatične tvari biljke oblikuju senzorna svojstva mirisa i okusa. Tako na primjer monoflorni medovi kao što su bagremov, vrijesak ili lipa imaju karakterističan okus za vrstu biljke od kojih je med proizveden. Smatra se da su okus i miris meda međusobno povezani i da ovise jedan od drugome u nekoj mjeri. Punoća i slatkoća ovise o udjelu ugljikohidrata, aminokiselina, eteričnih ulja i organskih kiselina. Med može imati i kiseo okus, ali je to rezultat fermentacije meda. U tablici 3. prikazani su rezultati senzorske analize nekih vrsta medova.

Tablica 3. Senzorske značajke nekih vrsta medova

Vrste meda	Boja	Miris/aroma	Okus
Amorfa	Tamnocrvenkasta	Ugodna	Ugodan
Bagrem	Stakleno prozirna, gotovo bezbojna	Slabog do blagog mirisa i arome	Vrlo sladak i blag
Lipa	Svjetlo žuto do zelenkaste boje	Jak miris po cvijetu lipe	Oštar, snažan, dugotrajan ali ugodan
Kesten	Tamno žuta do smeđa	Jaka oštra aroma	Trpko-gorki
Uljana repica	Svijetložuta	Slabog do blagog mirisa i arome	Po repičinom ulju
Suncokret	Jantarnožuta	Slabog mirisa po biljci	Sladak do malo trpak

Izvor: Gonzales i de Lorenzo (2002) Calidad sensoral de las mieles de Madrid, Configuracion de un grupo de cata y obtencion de escalas normalizadas, Alimentaria 97

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Zadatak diplomskog rada

Uzorke meda, prikupljenih s raznih obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava i proizvođača diljem regije potrebno je analizirati i odrediti pH, električnu vodljivost, hidroksimetilfurfural, udio vode te ukupne fenole i antioksidativni kapacitet.



Slika 4. Uzorci meda

Uzorci meda porijeklom su iz različitih regija i različitih podneblja Hrvatske, Srbije, Mađarske, Italije i Slovenije i Bosne i Hercegovine. Razlikuju se po botaničkom podrijetlu kesten, bagrem, lipa, vrijes, kadulja, uljana repica i medljikovac i drugi (Tablica 4.).

Tablica 4. Uzorci meda različitih proizvođača

Uzorak	Proizvođač	Vrsta meda
1.	Čebelarstvo Pislak-Bali	KESTEN
2.	Robert Đera	BAGREM
3.	Robetr Đera	SUNCOKRET
4.	Danijel Majić	BAGREM
5.	Milan Crevar	CVJETNI
6.	Anđelko Kokorić	CVJETNI
7.	OPG Fehervari	LIPA
8.	OPG Dubravka Gici	AMORFA
9.	Josip Bazina	BAGREM
10.	Pčelarski obrt Jakupec	FACELIJA
11.	Pčelarski obrt Jakupec	BAGREM
12.	Ratko Mirkajlović	BAGREM
13.	Ratko Mirkajlović	CVJETNI
14.	Milan Maligec	BAGREM
15.	Danijel Lisjak	CVJETNI
16.	OPG „Franić Davorka“	BAGREM
17.	OPG „Franić Davorka“	KESTEN
18.	Dario Detković	KESTEN
19.	Mirko Šapina	BAGREM
20.	Mirko Šapina	LIPA
21.	Mirko Šapina	SUNCOKRET
22.	Borka Zagorac	SUNCOKRET
23.	Borka Zagorac	BAGREM
24.	Aleksandar Kovač	SUNCOKRET
25.	Marija Ivošev	CVJETNI
26.	Roland Rajić	ULJANA REPIC
27.	Roland Rajić	SUNCOKRET
28.	Zoran Vazdar	LIVADSKI
29.	Silvio Bertone	ŠUMSKI
30.	Silvio Bertone	KADULJA

31.	Zadruga „Pod Papukom“	BAGREM
32.	Marina tomičić	CVJETNI
33.	Milan Štimac	BAGREM
34.	Milan Štimac	CVJETNI
35.	Niko Vezilić-Novaković	KADULJA
36.	Kuća Meda	KESTEN
37.	Kuća Meda	MEDLJIKA
38.	Kuća Meda	LIPA
39.	Kuća Meda	LIVADSKI
40.	Kuća Meda	BAGREM
41.	OPG Rončević	SMILJE
42.	Ivanka Rončević	KADULJA
43.	Damir Piljić	KESTEN
44.	Damir Piljić	MEDLJIKA
45.	Damir Piljić	BAGREM
46.	Massimo Zugan	LIVADSKI
47.	Ivica Fajdetić	KADULJA
48.	Slavko Anđelić	KADULJA
49.	Ivan Kolić	LIVADSKI
50.	Ivica Kompes	KESTEN

4.2. Analize fizikalnih i kemijskih svojstava meda

4.3. Mjerenje pH

Postupak mjerenja pH meda obavljena se digitalnim pH metrom. To je uređaj koji mjeri aktivnost vodikovih iona u otopini pri određenoj temperaturi. Elektroda koja služi za mjerenje čuva se u otopini KCl-a. Prije postupka mjerenja važno je kalibrirati pH metar. Kalibracija se obavlja puferima pH 4,0 i pH 7,0. Nakon obavljene kalibracije, uređaj je spreman za mjerenje.

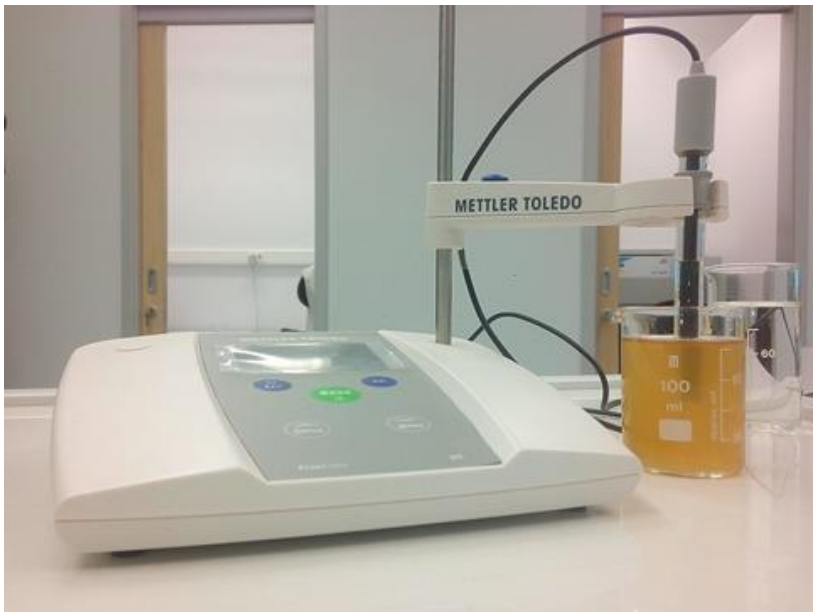
Postupak: Od danog uzorka, u laboratorijsku čašu, uz pomoć analitičke vage odvaže se 20g uzorka meda. U tako izmjerenu količinu uzorka doda se 80 ml destilirane

vode izmjereno menzurom. Kako bi otopina postala homogena prvo se miješa staklenim štapićem i zatim električnom miješalicom na 3000 okretaja u minuti (slika 5.).



Slika 5. Miješanje uzorka s vodom električnom miješalicom

Tako nastala homogena smjesa spremna je za mjerenje pH. Elektroda pH metra vadi se iz otopine KCl-a u kojoj se čuva. Ispire se destiliranom vodom te se posuši filter papirom. Nakon toga uranja se u otopinu uzorka i pritisne se tipka za početak mjerenja (Slika 6.). Nakon nekoliko sekundi kada je mjerenje završeno, sa ekrana se očitava dobivena vrijednost. Nakon svakog mjerenja elektroda se ponovno ispire destiliranom vodom i stavlja natrag u otopinu KCl-a.



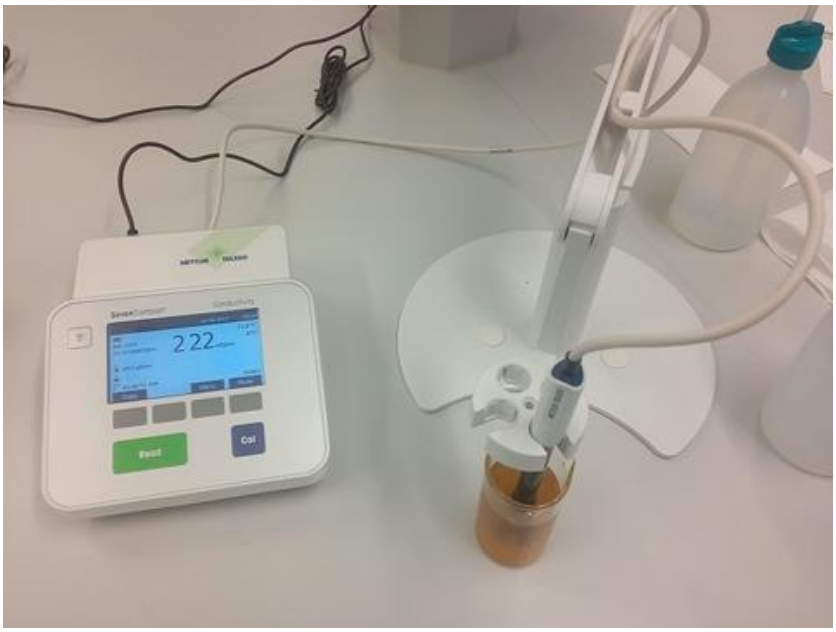
Slika 6. Mjerenje pH

4.4. Mjerenje električne provodljivosti

Električna provodljivost mjeri se konduktometrijskim uređajem Metller Toledo. Elektroda kojom se mjeri mora biti čista i suha. Rezultati se izražavaju u milisimensima po centimetru (mS/cm).

Postupak: U odvaganih 20g uzorka meda doda se 80 ml destilirane vode i miješa se električnom miješalicom dok smjesa ne postane homogena. Tako dobivena smjesa spremna je za analizu. Čista i suha elektroda uranja se do pola dubine otopine i za početak mjerenja pritisne se tipka „READ“. Nakon što je mjerenje završeno sa digitalnog ekrana očitava se rezultat a elektroda se vadi iz otopine, ispire destiliranom vodom i posuši kako bi bila spremna za iduće mjerenje. Rezultat koji se dobije izražen je u µS/cm (mikrosimensima) i stoga ga je potrebno preračunati u mS/cm. To se obavlja prema formuli :

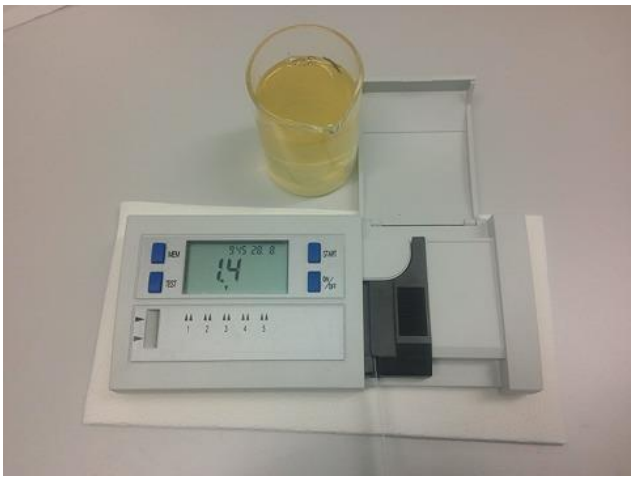
$$\frac{rezultatu\mu S/cm}{1000} = rezultat\ u\ mS/cm$$



Slika 7. Mjerenje električne provodljivosti uređajem Metller Toledo

4.5. Mjerenje hidroksimetilfurfurala (HMF)

Hidroksimetilfurfural mjera je za izvornost meda. Uz pomoć određivanja postojanja HMF-a u medu moguće je odrediti je li med dodatno zagrijavan ili na bilo koji drugi način patvoren. Uređaj RQflex 10 koji se koristi za mjerenje kalibrira se trakom za kalibraciju. Nakon kalibracije spreman je za mjerenje. Za mjerenje koriste se trakice koje se čuvaju u hladnjaku pri 4°C, a mijenjaju boju u ovisnosti o prisutnoj količini hidroksimetilfurfurala.



Slika 8. Uređaj za mjerenje HMF-a

Postupak: Analitičkom vagom u laboratorijsku čašu odvaže se 20g meda. U tako odvagani uzorak doda se 80ml destilirane vode i miješa se prvo staklenim štapićem, zatim električnom miješalicom. Kada je uzorak spreman za mjerenje iz hladnjaka se vadi trakica koja se uranja u otopinu i odmah izvadi van. Prilikom uranjanja trakice u otopinu pritisne se tipka „START“ jer reakcija odmah započinje a uređaj počinje odbrojavati duljinu reakcije. U posljednjih 10 sekundi reakcije trakica se umeće u prostor u uređaju koji je predviđen za to. Nakon nekoliko sekundi slijede rezultati koje je potrebno preračunati u mg/kg uz pomoć formule:

$$HMF = \frac{1{,}2 \times (rezultat mjerenja)}{1{,}4}$$

4.6. Određivanje sadržaja pepela

Za određivanje sadržaja pepela potrebni su rezultati električne provodljivosti. Razlog tomu je sediment meda koji provodi električnu struju a sastoji se od minerala i organskih kiselina i drugih tvari. Električna provodljivost izračunava se prema formuli:

$$\frac{(električna vodljivost) \times 0{,}14}{1{,}74}$$

4.7. Određivanje sadržaja vode u medu

Određivanje sadržaja vode u medu obavlja se refraktometrijski digitalnim refraktometrom (slika 8.). Za ovu analizu med se ne razrjeđuje kao za prijašnje metode. Digitalni refraktometar radi na principu loma zraka svijetlosti koja prolazi kroz otopinu.



Slika 9. Digitalni refraktometar

Postupak: Od uzorka meda ukapa se nekoliko kapi staklenim štapićem na predviđeno mjesto, najčešće prizma. Mjerenje započinje pritiskom na tipku „START“. Nakon nekoliko sekundi sa digitalnog monitora očitava se vrijednost koja je izražena u postotku (%).

4.8. DPPH metoda- određivanje antioksidativnog kapaciteta

DPPH, odnosno 2,2- difenil-1-pikril-hidrazil reducira se u hidrazil pri reakciji s antioksidansima. Prilikom te reakcije mijenja se boja iz ljubičaste u žutu. Što je prisutno više antioksidansa boja će biti žuća. Analiza redukcije obavlja se mjerenjem apsorbancije

spektrofotometrom pri valnoj duljini od 517 nm. Rezultat mjerenja preračunava se prema određenoj formuli i izražava se u postotku DPPH radikala.

Preostali DPPH (%) = 100 x (DPPH) preostali/ (DPPH) T = 0

Antioksidativni kapacitet računa se preko $IC_{50,}$ a on predstavlja potrebnu koncentraciju antioksidansa koja je potrebna da se koncentracija DPPH smanji za 50%.

Postupak: Prije same analize potrebno je prirediti DPPH reagens. Za izradu reagensa potrebno je 4g DPPH u prahu koji se otapa sa 96%-tnim etanolom u tikvici od 100ml i dobije se otopina DPPH 130 mM (milimola). Ovu smjesu potrebno je dobro otopiti kako ne bi ostale neotopljenog DPPH, nakon što se prenese u dozator, otopina se miješa na vorteksu. Kada u otopina bistra, DPPH otopina je gotova.



Slika 10. Dozator s otopinom DPPH i 96%-tnog etanola

Nakon pripremljene otopine DPPH slijedi priređivanje uzoraka za analizu. Od uzorka meda čistom jednokratnom žlicom uz pomoć analitičke vage izvažemo 15g meda u laboratorijsku čašu. Najprije je potrebno med otopiti u malo destilirane vode dok je još u čaši. Razlog tome je prenošenje razrijeđenog uzorka u odmjernu tikvicu. Kada se presipa tako djelomično razrijeđeni uzorak u odmjernu tikvicu dopuni se destiliranom voda do oznake za 25 ml. Tako razrijeđeni uzorak miješa se na vorteksu kako bi otopina bila u potpunosti homogena. Ovim razrjeđenjem dobije se otopina 0,6 g/cm^3. Potom se uzorak prenese u laboratorijsku čašu označenu brojem uzorka i stupnjem razrjeđenja.



Slika 11. Otopina uzorka 0,6 g/ml

Za daljni postupak rada potrebne su eppendorf tube („ependorfica“). Svaka „ependorfica“ označava se oznakama razrjeđenja kako slijedi: 30, 60, 100, 200, 300, 400, 500 i 600.



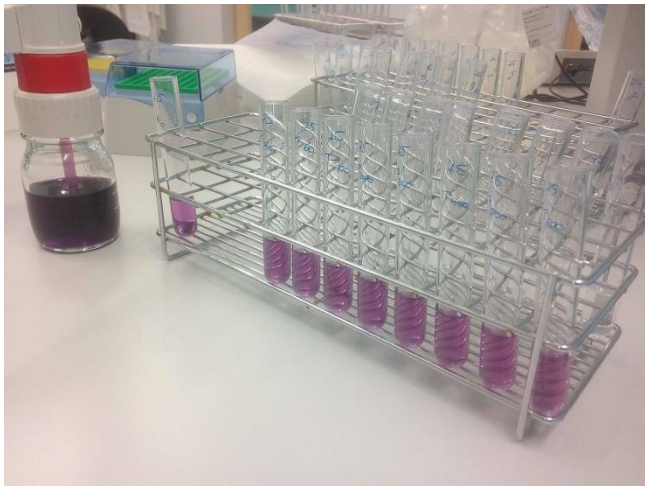
Slika 12. Označene eppendorf tube

U eppendorf tube prave se daljnja razrjeđenja s destiliranom vodom (Tablica 5.).

Tablica 5. Razrjeđenja u eppendorf tube-ama

	30	**60**	**100**	**200**	**300**	**400**	**500**	**600**
Destilirana voda (µl)	950	900	833	667	500	333	167	0
µl uzorka 0,6g/ml	50	100	167	333	500	667	833	1000

Nakon priređenih razrjeđenja, „eppendorfice“ je potrebno dobro promućkati i promiješati na vorteksu. U pripremljene epruvete jednako označene kao eppendorfice, iz svake predviđene eppendorfice pipetira se 100µl (0,1ml) otopine u za to predviđene dvije epruvete. Naime, jedna epruveta služi kao slijepa proba, a druga kao proba. U epruvetu označenu kao A_o ne pipetira se otopina meda, već 0,1 ml destilirane vode. Nakon toga potrebno je u epruvete odpipetirati 1ml acetatnog pufera (pH 5,5). U epruvete koje su „slijepa proba“ pipetira se 1,9 ml etanola, dok se u epruvete označene kao „proba“ pipetira 1,9 ml pripremljene otopine DPPH. Razlog izrade slijepe probe je boja meda. Kako bi bili sigurni da boja meda neće imati utjecaj na rezultate mjerenja radi se slijepa proba koja sadrži jednaku koncentraciju meda kao i probe, ali nema DPPH, već umjesto DPPH se koristi etanol. DPPH se u epruvete mora dozirati brzo, i nakon što je DPPH dodan u prvu epruvetu otpočinje reakcija. Reakcija se odvija 90 minuta na tamnom mjestu. Nakon završetka predviđenih 90 minuta, mjeri se apsorbancija na spektrofotometru i izračunava se IC_{50} za svaki uzorak.



Slika 13. Doziranje DPPH u epruvete „Proba“

IC_{50} računa se tako da se rezultat uzorka A_o podjeli na pola, i dobije se 50% ukupne vrijednosti u mg galne kiseline po kilogramu meda. Od rezultata probe oduzima se rezultat slijepe probe i dobiva se konačani rezultat apsorbancije.

Tablica 6. Izračunavanje

A_o	0,7	÷ 2	IC_{50}=0,35			
P_{30}	0,697	-	S_{30}	0	=	0,697
P_{60}	0,692	-	S_{60}	0,001	=	0,691
P_{100}	0,684	-	S_{100}	0,002	=	0,682
P_{200}	0,664	-	S_{200}	0,004	=	0,66
P_{300}	0,648	-	S_{300}	0,006	=	0,642
P_{400}	0,631	-	S_{400}	0,009	=	0,622
P_{500}	0,617	-	S_{500}	0,012	=	0,605
P_{600}	0,601	-	S_{600}	0,016	=	0,585

4.9. FOLIN- CIOCALTEU metoda- određivanje ukupnih fenola

Ukupni fenoli određuju se Folin-Chiocalte-u metodom. Ovaj reagens u reakciji sa fenolima mijenja žutu boju u plavu. Intenzitet pojave plave boje ovisi o koncentraciji fenola u otopini. Rezultat promjene obojenja mjeri se na spektrofotometru pri valnoj duljini 750 nm.

Postupak: U laboratorijsku čašu odvaže se 15g meda. Odvagani uzorak prvo se otopi u malo destilirane vode i zatim se prenese u odmjernu tikvicu od 50 cm^3 i dopuni destiliranom voda do oznake. Otopinu u tikvici valja dobro promiješati sve dok se sa sigurnošću može zaključiti da je otopina u potpunosti homogena. Otopina iz tikvice prenese se u laboratorijsku čašu označenu „0,3 g/ml“. Za ovu analizu potrebno je ukupno 4 epruvete. Prva epruveta označava se kao „slijepa proba“ a ostale tri označavaju se brojevima od 1 do 3.



Slika 14. Otopina uzorka i označene epruvete

U prvu epruvetu označenu kao „slijepa proba“ pipetira se 100µl destilirane vode a u ostale jednako toliko uzorka odnosno otopine uzorka meda. Nakon toga, u sve epruvete se redom pipetira 1000µl Folin-Chiocalteu reagensa. Po dodavanju reagensa, epruvete valja dobro promiješati na vorteksu. Kada je miješanje završeno u epruvete „proba“ i epruvetu „slijepa proba“ dodaje se pipetom 1000µl Na_2CO_3 (7,5%) i ponovno se dobro promiješa. Epruvete se nakon toga odlažu na tamno mjesto u trajanju od 30 minuta. Kada reakcija nakon 30 minuta završi obavlja se mjerenje na spektrofotometru a koncentracija ukupnih fenola dobije se uz pomoć krivulje galne kiseline, a rezultati se izražavaju kao mg galne kiseline po kilogramu meda.



Slika 15. Dodavanje Na_2CO_3 u epruvete

4.9.1 Priprava baždarne krivulje galne kiseline

Potrebno je napraviti ukupno 10 razrjeđenja galne kiseline. Razrjeđenja se rade prema tablici 7. U svaku epruvetu se prenese 1 ml Folin-Chiocalteu reagensa te se promiješa na vorteksu. Nakon miješanja doda se 1ml Na_2CO_3 (7,5%). Epruvete se ostave na tamnom mjestu 30 minuta nakon čega se očita apsorbancija na spektrofotometrom pri valnoj duljini od 750 nm.

Tablica 7. Priprava različite koncentracije galne kiseline

Galna kiselina	**Destilirana voda (µl)**	**Proba 1.**	**Proba 2.**	**Prosjek**
0,02	100 + 900	0,126	0,127	**0,126**
0,04	200 + 800	0,246	0,242	**0,244**
0,06	300 + 700	0,361	0,355	**0,358**
0,08	400 + 600	0,461	0,473	**0,467**
0,10	500 + 500	0,569	0,566	**0,567**
0,12	600 + 400	0,681	0,693	**0,687**
0,14	700 + 300	0,778	0,781	**0,779**
0,16	800 + 200	0,888	0,888	**0,888**
0,18	900 +100	0,982	0,983	**0,982**
0,20	1000 + 0	1,077	1,083	**1,080**

Nakon izmjerene apsorbance potrebno je izračunati X os na grafu. To se radi na sljedeći način:

$$\frac{(\boldsymbol{proba1})+(\boldsymbol{proba2})+(\boldsymbol{proba3})}{\mathbf{3}} = \text{Y} - \textit{slijepa proba}$$

Nadalje, prema pravcu galne kiseline očitava se vrijednost fenola po mg galne kiseline po kilogramu meda. Računa se prema formuli :

$$y = 5{,}290x + 0{,}035$$

Ova formula zapravo predstavlja jednadžbu pravca koji najbolje aproksimira točke na grafu.

Primjer: Ukupni fenoli uzorka 7:

Proba 1: 0,475 Slijepa proba: 0,001

Proba 2 : 0,595

Proba 3: 0,582

$$\frac{(0,475)+(0,595)+(0,582)}{3} = 0,551 - 0,001 = 0,55$$

$$y = 5,2903x + 0,0359$$

$$0,55 = 5,2903x + 0,0359$$

$$-5,2903x = -0,55 + 0,0359$$

$$-5,2903x = -0,5141$$

$$x = {(-0,5141)}/{(-5,2903)}$$

$$x = 0,0972$$

Dakle, vrijednost x predstavlja količinu ukupnih fenola u mg galne kiseline po kilogramu meda.

5. REZULTATI

5.1. Rezultati mjerenja pH

Minimalan pH od svih uzoraka ima med suncokreta i iznosi 3,34 , dok je najveći 6,05 pH medljikovca. Ostali rezultati mjerenja prikazani su u tablicama 8, 9 i 10.

Tablica 8. Rezultati mjerenja pH uzoraka 1-18

UZORAK	***pH***
1.KESTEN	4,47
2.BAGREM	3,76
3.SUNCOKRET	3,70
4.BAGREM	3,61
5.CVJETNI	4,67
6.CVJETNI	3,76
7.LIPA	3,97
8.AMORFA	4,44
9.BAGREM	3,79
10.FACELIJA	3,81
11.BAGREM	3,66
12.BAGREM	3,58
13.CVJETNI	3,74
14.BAGREM	3.71
15.CVJETNI	3,61
16.BAGREM	3,44
17.KESTEN	4,78
18.KESTEN	4,25

Tablica 9. Rezultati mjerenja pH uzoraka 19- 41

19. BAGREM	3,79
20. LIPA	3,72
21.SUNCOKRET	3,53
22.SUNCOKRET	3,65
23.BAGREM	3,60
24.SUNCOKRET	3,34
25.CVJETNI	3,75
26.ULJANA REPICA	3,73
27.SUNCOKRET	3,57
28.LIVADSKI	4,24
29.ŠUMSKI	5,17
30.KADULJA	4,22
31.BAGREM	3,51
32.CVJETNI	3,95
33.BAGREM	3,41
34.CVJETNI	4,13
35.KADULJA	4,20
36.KESTEN	4,74
37.MEDLJIKA	6,05
38.LIPA	4,15
39.LIVADSKI	4,52
40.BAGREM	3,68
41.SMILJE	3,87

Tablica 10: Rezultati mjerenja pH uzoraka 42-50

42.KADULJA	3,90
43.KESTEN	4,51
44.MEDLJIKA	5,02
45.BAGREM	3,65
46.LIVADSKI	3,48
47.KADULJA	4,13
48.KADULJA	4,93
49.LIVADSKI	3,84
50.KESTEN	5,09

5.2. Rezultati mjerenja električne provodljivosti

Najveću električnu provodljivost što je vidljivo iz sljedećih tablica (Tablica 11, Tablica 12, Tablica 13) ima medljika i iznosi 1,738 mS/cm, dok je najmanja električna provodljivost 0,1319 mS/cm, a ima ju bagremov med u odnosu na ostale uzorke.

Tablica 11. Rezultati mjerenja električne provodljivosti uzoraka 1- 7

UZORAK	***EL.PROV (mS/cm)***
1.KESTEN	0,625
2.BAGREM	0,1536
3.SUNCOKRET	0,621
4.BAGREM	0,1319
5.CVJETNI	1,343
6.CVJETNI	0,644
7.LIPA	0,936

Tablica 12. Rezultati mjerenja električne provodljivosti uzoraka 8- 30

8. AMORFA	0,884
9. BAGREM	0,1683
10. FACELIJA	0,240
11.BAGREM	0,1402
12.BAGREM	0,1374
13.CVJETNI	0,577
14.BAGREM	0,1768
15.CVJETNI	0,531
16.BAGREM	0,262
17.KESTEN	1,607
18.KESTEN	1,368
19.BAGREM	0,1372
20.LIPA	0,477
21.SUNCOKRET	0,506
22.SUNCOKRET	0,612
23.BAGREM	0,1848
24.SUNCOKRET	0,298
25.CVJETNI	0,686
26.ULJANA REPIC	0,1634
27.SUNCOKRET	0,378
28.LIVADSKI	0,942
29.ŠUMSKI	1,682
30.KADULJA	0,415

Tablica 13. Rezultati mjerenja pH uzoraka 31- 50

31.BAGREM	0,202
32.CVJETNI	0,784
33.BAGREM	0,312
34.CVJETNI	0,654
35.KADULJA	1,050
36.KESTEN	1,529
37.MEDLJIKA	1,526
38.LIPA	0,751
39.LIVADSKI	1,224
40.BAGREM	0,182
41.SMILJE	0,323
42.KADULJA	0,372
43.KESTEN	0,951
44.MEDLJIKA	1,738
45.BAGREM	0,1616
46.LIVADSKI	0,398
47.KADULJA	0,359
48.KADULJA	1,540
49.LIVADSKI	0,953
50.KESTEN	1,695

5.3. Rezultati mjerenja HMF-a

Prema sljedećim tablicama (Tablica 14, Tablica 15, Tablica 16) prikazani su rezultati mjerenja HMF-a. Iz navedenih rezultata jasno je vidljivo da je maksimalan izmjereni HMF 6,26, koji pripada medljikovcu, dok je najmanji izmjereni HMF je bio 0.

Tablica 14. Rezultati mjerenja HMF-a uzoraka 1-19

UZORAK	***HMF***
1.KESTEN	2.93
2.BAGREM	1
3.SUNCOKRET	1,53
4.BAGREM	1
5.CVJETNI	1,53
6.CVJETNI	1.93
7.LIPA	1,2
8.AMORFA	1,4
9.BAGREM	1,53
10.FACELIJA	2,2
11.BAGREM	0,73
12.BAGREM	0
13.CVJETNI	3,2
14.BAGREM	0,66
15.CVJETNI	2,07
16.BAGREM	0,66
17.KESTEN	1,6
18.KESTEN	1,67
19.BAGREM	1,06

Tablica 15: Rezultati mjerenja HMF-a uzoraka 20- 39

20.LIPA	0,67
21.SUNCOKRET	1,4
22.SUNCOKRET	2,07
23.BAGREM	1,46
24.SUNCOKRET	1,2
25.CVJETNI	1,66
26.ULJANA REPIC	1,53
27.SUNCOKRET	1,46
28.LIVADSKI	2,07
29.ŠUMSKI	0,73
30.KADULJA	0,93
31.BAGREM	1,66
32.CVJETNI	4,93
33.BAGREM	0,93
34.CVJETNI	1
35.KADULJA	1,93
36.KESTEN	6,1
37.MEDLJIKA	6,26
38.LIPA	4,26
39.LIVADSKI	2,067

Tablica 16. Rezultati mjerenja HMF-a uzoraka 40-50

40.BAGREM	1,66
41.SMILJE	2,13
42.KADULJA	1,33
43.KESTEN	1
44.MEDLJIKA	1,3
45.BAGREM	1
46.LIVADSKI	1,93
47.KADULJA	0
48.KADULJA	2,3
49.LIVADSKI	1,6
50.KESTEN	0,93

5.4. Rezultati refraktometrijske analize udjela vode u medu

Najmanji udio vode (Tablica 17, Tablica 18, Tablica 19) imaju livadski med i med kadulje od 14,0% , a najveći izmjereni udio vode u medu je 18,8% cvjetnog meda.

Tablica 17. Udio vode u različitim medovima, uzorci 1-20

UZORAK	***VODA (%)***
1.KESTEN	14,1
2.BAGREM	16,4
3.SUNCOKRET	14,1
4.BAGREM	17
5.CVJETNI	16,8
6.CVJETNI	17,8
7.LIPA	16,6
8.AMORFA	15,8
9.BAGREM	16,1
10.FACELIJA	15,2
11.BAGREM	16,1
12.BAGREM	16,1
13.CVJETNI	18,0
14.BAGREM	15.8
15.CVJETNI	18,8
16.BAGREM	16,8
17.KESTEN	16,5
18.KESTEN	16,7
19.BAGREM	15,3
20.LIPA	17,2

Tablica 18. Rezultati mjerenja udjela vode uzoraka 21- 40

21.SUNCOKRET	16,50
22.SUNCOKRET	16,9
23.BAGREM	17,2
24.SUNCOKRET	17,0
25.CVJETNI	17,4
26.ULJANA REPIC	17,1
27.SUNCOKRET	16,2
28.LIVADSKI	16,9
29.ŠUMSKI	14,2
30.KADULJA	15,2
31.BAGREM	15,4
32.CVJETNI	16,4
33.BAGREM	16,4
34.CVJETNI	16,7
35.KADULJA	16,2
36.KESTEN	15,8
37.MEDLJIKA	17,4
38.LIPA	17,4
39.LIVADSKI	16,3
40.BAGREM	15,6

Tablica 19. Rezultati refraktometrijske analize meda, uzorci 41-50

41.SMILJE	15,4
42.KADULJA	15,2
43.KESTEN	15,3
44.MEDLJIKA	14,8
45.BAGREM	16,7
46.LIVADSKI	14,0
47.KADULJA	14,0
48.KADULJA	14,7
49.LIVADSKI	15,0
50.KESTEN	14,8

5.5. Udio pepela u različitim vrstama meda

Najveći udio pepela je 0,918 mg/100g meda, dok je najmanja izmjerena vrijednost 0 mg/100g meda (Tablica 20, Tablica 21, Tablica 22).

Tablica 20. Udio pepela u medu, uzorci 1- 18

UZORAK	PEPEO (mg/100 g meda)
1.KESTEN	0,279
2.BAGREM	0.008
3.SUNCOKRET	0,276
4.BAGREM	0
5.CVJETNI	0,691
6.CVJETNI	0,301
7.LIPA	0,457
8.AMORFA	0,428
9.BAGREM	0,016
10.FACELIJA	0,57
11.BAGREM	0,0001
12.BAGREM	0,0015
13.CVJETNI	0,473
14.BAGREM	0,026
15.CVJETNI	0,225
16.BAGREM	0,070
17.KESTEN	0,119
18.KESTEN	0,706

Tablica 21. Udio pepela u medu uzoraka 19- 39

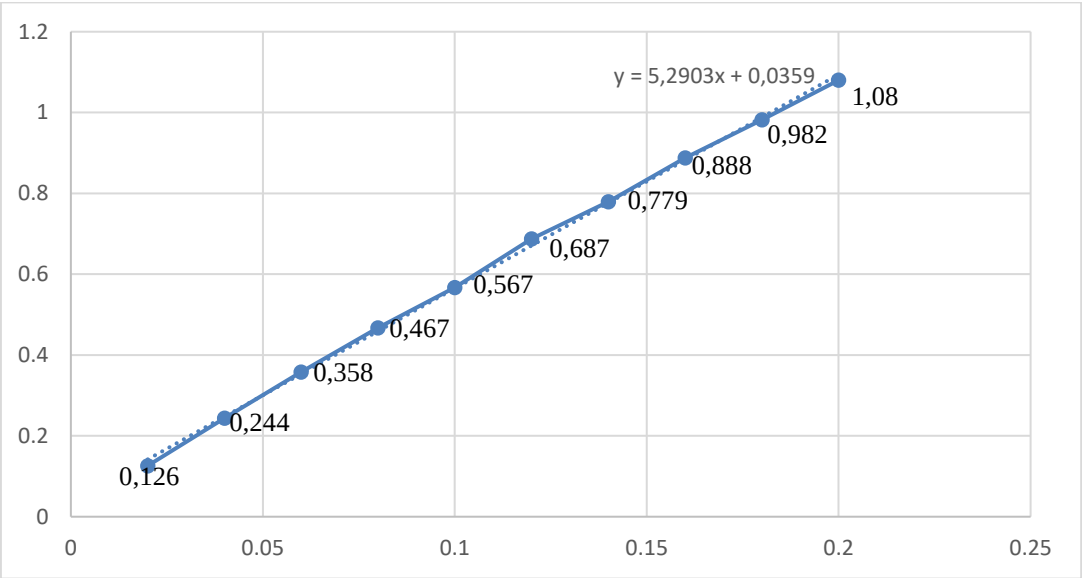
19.BAGREM	0
20.LIPA	0,194
21.SUNCOKRET	0,210
22.SUNCOKRET	0,271
23.BAGREM	0,026
24.SUNCOKRET	0,091
25.CVJETNI	0,314
26.ULJANA REPIC	0,013
27.SUNCOKRET	0,137
28.LIVADSKI	0,461
29.ŠUMSKI	0,162
30.KADULJA	0,158
31.BAGREM	0,036
32.CVJETNI	0,370
33.BAGREM	0,099
34.CVJETNI	0,295
35.KADULJA	0,523
36.KESTEN	0,798
37.MEDLJIKA	0,797
38.LIPA	0,351
39.LIVADSKI	0,623

Tablica 22. Udio pepela u medu uzoraka 40- 50

40.BAGREM	0,024
41.SMILJE	0,105
42.KADULJA	0,133
43.KESTEN	0,466
44.MEDLJIKA	0,918
45.BAGREM	0,012
46.LIVADSKI	0,148
47.KADULJA	0,125
48.KADULJA	0,804
49.LIVADSKI	0,467
50.KESTEN	0,894

5.6. Krivulja apsorbancije galne kiseline

Grafikon 1. Krivulja apsorbancije galne kiseline



5.7. Ukupni fenoli po mg galne kiseline po kg meda

Najniža vrijednost ukupnih fenola po mg galne kiseline po kilogramu meda iznosi 0,043, a pripada bagremovom medu, dok je najviše izmjereno 0,305 mg galne kiseline po kilogramu meda, a rezultat je analize livadskog meda, nakon njega ide šumski med s 0,300 mg (Tablica 23, Tablica 24, Tablica 25).

Tablica 23. Ukupni fenoli po mg Galne kilesine/kg meda uzoraka 1-18

Broj uzorka	Apsorbanca (y)	Mg Galne kis. /kg meda (x)
1.KESTEN	0,736	0,132
2.BAGREM	0,321	0,054
3.SUNCOKRET	0,71	0,127
4.BAGREM	0,288	0,047
5.CVJETNI	1,161	0,213
6.CVJETNI	1,105	0,202
7.LIPA	0,551	0,097
8.AMORFA	0,812	0,147
9.BAGREM	0,378	0,064
10.FACELIJA	0,483	0,085
11.BAGREM	0,266	0,043
12.BAGREM	0,336	0,057
13.CVJETNI	0,812	0,147
14.BAGREM	0,358	0,061
15.CVJETNI	0,638	0,114
16.BAGREM	0,503	0,088
17.KESTEN	0,906	0,164
18.KESTEN	0,847	0,153

Tablica 24. Ukupni fenoli uzoraka 19-38

19.BAGREM	0,291	0,048
20.LIPA	0,554	0,098
21.SUNCOKRET	0,508	0,089
22.SUNCOKRET	0,773	0,139
23.BAGREM	0,380	0,065
24.SUNCOKRET	0,679	0,122
25.CVJETNI	0,856	0,155
26.ULJANA REPIC	0,335	0,057
27.SUNCOKRET	0,438	0,076
28.LIVADSKI	1,652	0,305
29.ŠUMSKI	1,625	0,300
30.KADULJA	0,526	0,093
31.BAGREM	0,363	0,062
32.CVJETNI	0,744	0,134
33.BAGREM	0,376	0,064
34.CVJETNI	0,538	0,095
35.KADULJA	1,001	0,182
36.KESTEN	1,376	0,253
37.MEDLJIKA	1,337	0,246
38.LIPA	0,726	0,130

Tablica 25. Ukupni fenoli uzoraka 39-50

39.LIVADSKI	1,054	0,193
40.BAGREM	0,338	0,057
41.SMILJE	0,609	0,108
42.KADULJA	0,626	0,112
43.KESTEN	0,675	0,121
44.MEDLJIKA	0,945	0,172
45.BAGREM	0,322	0,054
46.LIVADSKI	0,519	0,091
47.KADULJA	0,477	0,083
48.KADULJA	1,479	0,273
49.LIVADSKI	0,824	0,149
50.KESTEN	1,045	0,191

5.8. Rezultati IC_{50} svih uzoraka

Prema dobivenim rezultatima (tablica 26, Tablica 27, Tablica 28) najniži IC_{50} je 0,286, što znači da najveći antioksidativni kapacitet ima med kestena.

Tablica 26. Rezultati IC_{50} uzoraka 1-20

Broj uzorka	**A_0**	**IC_{50}**
1.KESTEN	0,572	0,286
2.BAGREM	0,611	/
3.SUNCOKRET	0,628	0,314
4.BAGREM	0,637	0,3185
5.CVJETNI	0,612	0,306
6.CVJETNI	0,633	0,3165
7.LIPA	0,625	/
8.AMORFA	0,624	0,312
9.BAGREM	0,63	0,315
10.FACELIJA	0,618	/
11.BAGREM	0,621	0,3105
12.BAGREM	0,682	0,341
13.CVJETNI	0,617	0,3085
14.BAGREM	0,626	0,313
15.CVJETNI	0,627	0,3135
16.BAGREM	0,62	0,31
17.KESTEN	0,626	0,313
18.KESTEN	0,628	0,314
19.BAGREM	0,625	/
20.LIPA	0,627	/

Tablica 27. Rezultati IC_{50} uzoraka 21- 39

21.SUNCOKRET	0,629	/
22.SUNCOKRET	0,628	0,314
23.BAGREM	0,624	/
24.SUNCOKRET	0,623	/
25.CVJETNI	0,622	0,311
26.ULJANA REPIC	0,634	/
27.SUNCOKRET	0,643	/
28.LIVADSKI	0,625	0,3125
29.ŠUMSKI	0,632	0,316
30.KADULJA	0,629	/
31.BAGREM	0,6	/
32.CVJETNI	0,631	0,3155
33.BAGREM	0,601	/
34.CVJETNI	0,602	0,301
35.KADULJA	0,655	0,3275
36.KESTEN	0,634	0,317
37.MEDLJIKA	0,649	0,3245
38.LIPA	0,644	0,322
39.LIVADSKI	0,711	0,3555

Tablica 28. Rezultati IC_{50} uzoraka 40-50

40.BAGREM	0,709	/
41.SMILJE	0,711	0,3555
42.KADULJA	0,711	0,3555
43.KESTEN	0,718	0,359
44.MEDLJIKA	0,719	0,3595
45.BAGREM	0,718	/
46.LIVADSKI	0,715	/
47.KADULJA	0,777	/
48.KADULJA	0,7	0,35
49.LIVADSKI	0,727	0,3635
50.KESTEN	0,71	0,355

6. RASPRAVA

Ukupno 50 uzoraka meda prikupljenih iz različitih zemalja regije i različitog botaničkog podrijetla testirani su na kemijske, fizikalne i antioksidativne karakteristike. Testirani su: pH, električna provodljivost, udio pepela i vode u medu, ukupni fenoli te antioksidativni kapacitet i HMF.

Prema pravilniku iz Narodnih Novina (46/07, 155/08), med je viskozna, kristalična tvar, karakterističnih organoleptičkih svojstava i fizikalno-kemijskih parametara, a proizvode ga pčele radilice. Prema hrvatskom Pravilniku o kakvoći meda (N.N. 46/07, 155/08) u medu koji se stavlja na tržište ne smije biti više od 20% vode, osim za med vrijeska koji može imati udio vode do 23% Mujić i sur., 2014). Prema obavljenoj analizi digitalnim refraktometrom svih 50 uzoraka zadovoljava navedene uvjete. Najveći izmjereni udio vode u medu bio je 18,8%. Smatra se, da med koji ima manje vode teže podliježe fermentaciji.

Nadalje, optimalan pH meda je od 3,2 do 6,5 (Laktić i Šukelja, 2008). Obavljenom analizom i dobivenim rezultatima (Tablica 8.) da se zaključiti da svi uzorci zadovoljavaju propisane parametre. Naime, najmanji pH imao je med suncokreta, 3,34, dok je najveći pH bio pH medljikovca i to 6,05.

Prema Mujić i sur. (2014) udio HMF-a u svježem medu je nizak i ne bi trebao prelaziti granicu od 10 mg/kg meda, dok pravilnikom dozvoljeno 40 mg/kg (N.N., 46/07, 155/08). U ovoj analizi HMF medova je od 0 do 6,26. Najveći udio HMF-a imao je medljikovac. To bi značilo da tamniji medovi mogu imati veći HMF od svjetlijih medova.

Najveći izmjereni udio pepela je 1,184 mg/kg meda. Najveću električnu provodljivost ima medljika i iznosi 1,738 mS/cm, dok je najmanja električna provodljivost 0,1319 mS/cm, a ima ju bagremov med. Zaključno tome, medljika ima najviše organskih kiselina i minerala.

Za analizu antioksidativnog kapaciteta korištena je DPPH metoda. Za interpretaciju rezultata korišten je IC_{50}. Ukoliko je IC_{50} vrijednost uzorka niža, med ima veći antioksidativni kapacitet. Prema tome, najveći antioksidativni kapacitet ima med kestena od 0,286 IC_{50}.

Najveća vrijednost ukupnih fenola je 0,305 mg galne kiseline/kg meda, a ima ju livadski med, koji je bio ne karakteristično, tamnije obojen, dok najmanje fenola ima bagremov med i to 0,0042 mg galne kiseline/kg meda (tablica 13.). Zaključak je taj, da se povećanjem obojenosti meda povećava i količina fenola. Zapravo, što je med tamniji, to je količina ukupnih fenola veća.

.

7. ZAKLJUČAK

U ovoj analizi bilo je obuhvaćeno 50 uzoraka meda iz različitih regija i različitog botaničkog podrijetla. Prema rezultatima fizikalno- kemijskih analiza može se zaključiti da svojstva odnosno ove karakteristike uvelike ovise prvenstveno o botaničkom podrijetlu meda i o tipu skladištenja, postupanju s medom i svježini meda. Najveću vrijednost HMF-a imala je medljika od 6,26. Unatoč tomu, taj med je i dalje svjež i prihvatljiv za tržište jer je maksimalna propisana količina HMF-a 40 mg/kg. Nadalje, udio vode također je bio u propisanim parametrima. Naime, najveći izmjereni udio vode je 18,8. Taj med je sačuvan od fermentacije i pogodan za skladištenje. Veću električnu provodljivost i veći sadržaj pepela imaju tamniji medovi. Razlog tomu je veća količina organskih kiselina i minerala. Raspon pH analiziranih uzoraka bio je unutar propisanog raspona pH. S rasponom od 3,34 do 6,05 da se zaključiti da je med relativno kiseli proizvod. Najveća količina ukupnih fenola je 0,305 mg galne kiseline/kg meda, a ima ju livadski med, koji je bio ne karakteristično, tamnije obojen, dok najmanje fenola ima bagremov med i to 0,0042 mg galne kiseline/kg meda. Fenolne kiseline, flavonoidi i flavoni imaju karakteristične boje, i boju meda. Ovaj livadski med je za razliku od bagremovog meda puno tamniji i moguće je zaključiti da tamniji medovi mogu imati veći udio fenola. Pokazalo se da najveći antioksidativni kapacitet ima med kestena. Svi uzorci meda koji su analizirani bili su dobrih fizikalno-kemijskih svojstava i udovoljavaju propisima.

8. LITERATURA

1. Alvarez-Saurez, J.M., Tulipani, Romandini, Betroli, Battino (2009) Contribution of honey in nutrition and human health: a review. Mediterr. J. Nutr. Metab. Springer. DOI 10.1007/s12349-009-0051-6, pp. 1-9.
2. Batinić (2014) Priručnik o medu, Federalni agromediteranski zavod Mostar.
3. Batinić K. i sur. (2014): Priručnik o medu, Agronomski i prehrambeno-tehnički fakultet Sveučilišta u Mostaru, Federalni agromediteranski zavod Mostar, Mostar
4. Codex Alimentarius Commission (2001), Revised Codex standard for honey, Codex STAN 12-1981, Rev 1 (1987), Rev 2 (2001)
5. Crane Eva (1999): The world history of beekeeping and honey hunting, Routledge, New York
6. Espinosa-Mansilla-A, Munoz de laP ena, Salinas F. (1993) Semiautomatic determination of furanic aldehydes in food and pharmachemical samples by a stopped flow injection analysis method, Journal of AOAC International, str. 1255-1261
7. Gonzales i de Lorenzo (2002) Calidad sensoral de las mieles de Madrid, Configuracion de un grupo de cata y obtencion de escalas normalizadas, Alimentaria 97, 97-102
8. Iglesias M.t., De Lorenzo, Polo, Martin-Alvares, Pueyo (2004) Usefulnessn of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Aplication to honeys from a small greographic area. J.Argic. Food Chem., 52, 84-89
9. Kapš Peter (2013): Liječenje pčelinjim proizvodima Apiterapija, Geromar, Udruga Dobar život, Zagreb
10. Karabournioti S., Zervalaki P. (2001) The effect of heating on honey HMF and invertaze, Apiacta 36, 177-181
11. Kenjerić D. i sur. (2007): Flavonoid profile of 5 Robinia honeys produced in Croatia, Food Chem 102, 683-690
12. Krell R. (1996) Value- added products from beekiping, Ch 2, FAO Agricultural Services Bulletin No 124.
13. Laktić Z. i Šukelja D. (2008) Suvremeno pčelarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb
14. Mujić Ibrahim i sur. (2014) Prerada meda i drugih pčelinjih proizvoda, Studiograf Rijeka, Rijeka
15. Mujić Ibrahin i sur. (2006) Ekstrakcija i ekstraktori biljnih sirovina, Grafičar, Bihać, str. 49-50
16. Mutsaers M. i sur. (2005) Bee products, properties, processing and marketing, Agrodok 42, str. 21-28
17. Nanda V. i sur. (2009) Physoco- chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India, J. Food Comp. Anal. 16, 613-619

18. Nelson D.E. i sur.(1995) Radiocarbon dates for beeswax figure sin the prehistoric rock art of northern Australia, Archaeometry Vol. 37, Iss. 1
19. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1475-4754.1995.tb00733.x
20. Narodne Novine (2015) Pravilnik o medu, broj 30/2015
21. Narodne Novine (2009) Pravilnik o medu, broj 46/07, 155/08
22. Petričko P. (2015) Fizikalno kemijski parametri cvjetnog meda kontinentalne Hrvatske, Završni rad, Veleučilište u Karlovcu
23. Relić Branko (2006) Pčelarstvo, Biblioteka Agro-Hit, Bjelovar
24. Stankovska e. i sur. (2008) Monitoring of trace element sin honey from the Republic of Macedonia by atomic absorption spectrometry, Environ, Monit, Asses. 142, 117-126
25. Zombročević A. (2007) Pelud (polen, cvijetni prah), Pčelarstvo, 85.

9. SAŽETAK

Med je gusta viskozna tekućina čija boja varira u rasponu od svijetlo žute do tamno smeđe. Med i proizvodi od meda koriste se u ljudskoj prehrani oduvijek. Osim u prehrani med se koristio i u medicini. Karakteristična svojstva meda, kemijska, fizikalna i senzorna ovise o vrsti meda, botaničkom podrijetlu i klimatu u kojem je nastao te o vrsti i količini pčelinje ispaše. Različiti medovi imaju različita fizikalna svojstva, no ona mogu biti narušena patvorenjem kao i kemijska svojstva. Naime, određivanjem kemijskih svojstava kao što su pH, električna provodljivost, udio vode i pepela, te fizikalnih svojstava kao što su kristalizacija meda moguće je odrediti kvalitetu meda. Med ima antibaktericidno djelovanje i antioksidativno, zahvaljujući prisustvu fenola i antioksidansa u medu.

Ključne riječi: med, pH meda, ukupni fenoli, antioksidativni kapacitet

10. SUMMARY

Honey is a dense, viscous liquid whose color ranges from light yellow to dark brown. Honey and honey products have always been used in human nutrition. Except in the diet, honey was also used in medicine. Characteristic properties of honey, chemical, physical and sensory dependence on the type of honey, botanical origin and climate in which it originated, as well as on the type and quantity of bees harvested. Different honey have different physical properties, but they can be damaged by swelling as well as chemical properties. Namely, by determining chemical properties such as pH, electrical conductivity, water and ash content, and physical properties such as honey crystallization, it is possible to determine the quality of honey. The honey has antibacterial activity and antioxidant, thanks to the presence of phenol and antioxidant in the honey.

Key words: honey, honey pH, phenols, antioxidant activity

11. POPIS SLIKA

Slika 1: Spiljski crtež i Mezolitika, Španjolska

(Izvor: https://www.pinterest.com/pin/442197257147832511/)

Slika 2. Struktura hidroksimetilfurfurola

(*Izvor: http://www.wikiwand.com/sh/Hidroksimetilfurfural*)

Slika 3. Kristalizirani med

(Izvor:https://receptiasmir.wordpress.com/2016/11/11/postupak-s-kristaliziranim-medom/)

Slika 4. Uzorci meda

Slika 5. Miješanje uzorka s vodom električnom mješalicom

Slika 6. Mjerenje pH

Slika 7. Mjerenje električne provodljivosti uređajem Metller Toledo

Slika 8. Uređaj za mjerenje HMF-a

Slika 9. Digitalni refraktometar

Slika 10. Dozator s otopinom DPPH i 96%-tnog etanola

Slika 11. Otopina uzorka 0,6 g/ml

Slika 12. Označene ependorfice

Slika 13. Doziranje DPPH u epruvete „Proba“

Slika 14. Otopina uzorka i označene epruvete

Slika 15. Dodavanje Na_2CO^3 u epruvete

12. POPIS TABLICA

Tablica 1. Različitost boja zrna peluda ovisno o vrsti biljke

Izvor: Cvek D. (2013): Pelud (fizičke karakteristike, sastav, fiziološki učinak, upotreba danas)

Tablica 2. Dijastazna poluvrijednost računata za različite temperature skladištenja

Izvor: Krell, 1996

Tablica 3. Senzorske značajke nekih vrsta medova

Izvor: Gonzales i de Lorenzo (2002) Calidad sensoral de las mieles de Madrid, Configuracion de un grupo de cata y obtencion de escalas normalizadas, Alimentaria 97

Tablica 4. Uzorci meda različitih proizvođača

Tablica 5. Razrijeđenja u ependorficama

Tablica 6. Izračunavanje

Tablica 7. Krivulja apsorbancije Galne kiseline

Tablica 8. Rezultati mjerenja pH uzoraka 1-18

Tablica 9. Rezultati mjerenja pH uzoraka 19- 41

Tablica 10: Rezultati mjerenja pH uzoraka 42-50

Tablica 11. Rezultati mjerenja električne provodljivosti uzoraka 1- 7

Tablica 12. Rezultati mjerenja električne provodljivosti uzoraka 8- 30

Tablica 13. Rezultati mjerenja pH uzoraka 31- 50

Tablica 14. Rezultati mjerenja HMF-a uzoraka 1-19

Tablica 15: Rezultati mjerenja HMF-a uzoraka 20- 39

Tablica 16. Rezultati mjerenja HMF-a uzoraka 40-50

Tablica 17. Udio vode u različitim medovima, uzorci 1-20

Tablica 18. Rezultati mjerenja udjela vode uzoraka 21- 40

Tablica 19. Rezultati refraktometrijske analize meda, uzorci 41-50

Tablica 20. Udio pepela u medu, uzorci 1- 18

Tablica 21. Udio pepela u medu uzoraka 19- 39

Tablica 22. Udio pepela u medu uzoraka 40- 50

Tablica 23. Ukupni fenoli po mg Galne kilesine/kg meda uzoraka 1-18

Tablica 24. Ukupni fenoli uzoraka 19-38

Tablica 25. Ukupni fenoli uzoraka 39-50

Tablica 26. Rezultati IC_{50} uzoraka 1-20

Tablica 27. Rezultati IC_{50} uzoraka 21- 39

Tablica 28. Rezultati IC_{50} uzoraka 40-50

13. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Krivulja apsorbancije galne kiseline

TEMELLJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Sveučilišni diplomski studij Zootehnike
Smjer Specijalna Zootehnika

Diplomski rad

FIZIKALNA, KEMIJSKA I ANTIOKSIDATIVNA SVOJSTVA MEDA

Ana-Maria Crnoja

Sažetak: Med je gusta viskozna tekućina čija boja varira u rasponu od svijetlo žute do tamno smeđe. Med i proizvodi od meda koriste se u ljudskoj prehrani oduvijek. Osim u prehrani med se koristio i u medicini. Karakteristična svojstva meda, kemijska, fizikalna i senzorna ovise o vrsti meda, botaničkom podrijetlu i klimatu u kojem je nastao te o vrsti i količini pčelinje ispaše. Različiti medovi imaju različita fizikalna svojstva, no ona mogu biti narušena patvorenjem kao i kemijska svojstva. Naime, određivanjem kemijskih svojstava kao što su pH, električna provodljivost, udio vode i pepela, te fizikalnih svojstava kao što su kristalizacija meda moguće je odrediti kvalitetu meda. Med ima antibaktericidno djelovanje i antioksidativno, zahvaljujući prisustvu fenola i antioksidansa u medu.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku
Mentor: Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo

Broj stranica: 67
Broj grafikona: 1
Broj slika: 15
Broj tablica: 28
Broj literaturnih navoda: 24
Broj priloga:6
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: med, pH meda, ukupni fenoli, antioksidativni kapacitet

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:
1. Prof. dr.sc. Zlatko Puškadija
2. Izv. prof. dr.sc. Drago Bešlo
3. Prof. dr.sc. Marcela Šperanda

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agriculture
University Graduate Studies Zootehnike
Course Specijalna Zootehnika

Graduate thesis

PHYSICAL, CHEMICAL AND ANTIOKSIDATIVE PROPERTIES OF HONEY

Ana-Maria Crnoja

Adstract: Honey is a dense, viscous liquid whose color ranges from light yellow to dark brown. Honey and honey products have always been used in human nutrition. Except in the diet, honey was also used in medicine. Characteristic properties of honey, chemical, physical and sensory dependence on the type of honey, botanical origin and climate in which it originated, as well as on the type and quantity of bees harvested. Different honey have different physical properties, but they can be damaged by swelling as well as chemical properties. Namely, by determining chemical properties such as pH, electrical conductivity, water and ash content, and physical properties such as honey crystallization, it is possible to determine the quality of honey. The honey has antibacterial activity and antioxidant, thanks to the presence of phenol and antioxidant in the honey.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo

Number of pages: 67

Number of figures: 1
Number of tables: 28
Number of references: 24
Number of appendices: 6
Original in: Croatian

Key words: honey, honey pH, phenols, antioxidant activity

Thesis defended on date:

Reviewers:
1. Prof. dr.sc. Zlatko Puškadija
2. Izv. prof. dr.sc. Drago Bešlo
3. Prof. dr.sc. Marcela Šperanda

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.