

Antioksidansi u medu

Minarik, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:309050>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-13**



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](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Ana Minarik

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Zootehnika

Antioksidansi u medu

Završni rad

Osijek, 2018

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Ana Minarik

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Zootehnika

Antioksidansi u medu

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu završnog rada:

1. Izv.prof.dr.sc. Drago Bešlo, mentor

2. Doc.dr.sc. Mislav Đidara

3. Prof.dr.sc. Marcela Šperanda

Osijek, 2018

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek
Preddiplomski sveučilišni studij
Biotehničke znanosti Zootehnika

Završni rad

Ana Minarik

Antioksidansi u medu

Sažetak: Pčelarstvo¹ je grana poljoprivrede, koja se bavi uzgojem pčela radi dobivanja pčelinjih proizvoda. Fizikalna, kemijska i mikrobiološka svojstva tih proizvoda ovise o biološkom i geografskom porijeklu medonosnih biljaka, te sposobnosti pčelara da te proizvode pravilno sakupi i skladišti. Kroz povijest, med² je poznat kao ljekovita prehrambena namirnica, a razvojem tehnologije istražuju se pojedine komponente meda i spojevi, koji medu daju ta ljekovita svojstva. Pčele sakupljaju nektar i probavnim enzimima ga pretvaraju u med koji služi za prehranu zajednice. S obzirom na porijeklo nastanka meda postoje cvjetni med, medljikovac i miješani med. U ovom radu, rađene su kemijske i spektrofotometrijske metode na različitim uzorcima meda, radi određivanja antioksidativnog kapaciteta³ raznih tipova meda od različitih proizvođača metodom DPPH⁴ (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) i Folin-Ciocalteu⁵ reagensom.

Ključne riječi: Pčelarstvo¹, med², antioksidativni kapacitet³, DPPH⁴, Folin-Ciocalteu⁵

27 stranica, 4 tablica, 13 slika, 26 literaturnih navoda

Završni rad je pohranjen: u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek
Undergraduate university study Agriculture,
Zootechnique

BSc Thesis

Antioxidants in Honey

Summary: Beekeeping¹ is a sector of agriculture, which involves breeding of bees for the purpose of obtaining bee products. The physical, chemical and microbiological properties of these products depend on the biological and geographical origin of melliferous plants, as well as the ability of beekeepers to properly collect and store the products. Throughout history, honey² is known to be one of the best medicinal nutritional foods and as the technology develops, certain components of honey are being explored, especially compounds, which have healing properties for humans. Bees harvest nectar and with the help of their digestive enzymes, convert it into honey that serves for feeding the beecolony. Taking into consideration the origin of the honey, there are blossom honey, honeydew honey and mixed honey. In this paper, chemical and spectrophotometric methods were performed on different honey samples to determine the antioxidant capacity³ of various types of honey from different manufacturers using DPPH⁴ (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) method and Folin-Ciocalteu⁵ reagent.

Keywords: Beekeeping¹, honey², antioxidant capacity³, DPPH⁴, Folin-Ciocalteu⁵

27 pages, 4 tables, 13 figures, 26 references

BSc Thesis archived: in Library of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek and digital repository of Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

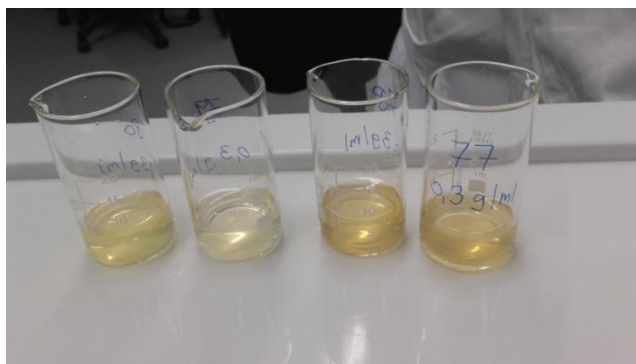
SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. UZGOJ MEDONOSNIH PČELA..... | 2 |
| 2.1. Nastanak meda i pčelinja paša | 4 |
| 2.2. Medonosno bilje..... | 5 |
| 2.3. Kvaliteta i krivotvorenje meda..... | 6 |
| 3. KEMIJSKI SASTAV MEDA | 8 |
| 3.1. Šećeri u medu..... | 8 |
| 3.2. Voda u medu | 8 |
| 3.3. Organske kiseline u medu | 9 |
| 3.4. Mineralne tvari u medu | 9 |
| 3.5. Antioksidansi u medu..... | 10 |
| 3.6. Fenolni spojevi u medu | 10 |
| 4. MATERIJALI I METODE | 12 |
| 4.1. Uzorci meda | 12 |
| 4.2. Priprema otopine meda za analize pH, električne vodljivosti, HMF-a | 13 |
| 4.3. Priprema otopine meda za mjerenje metodom DPPH i Folin-Ciocalteu reagensom | 14 |
| 4.4. Priprema acetatnog pufera..... | 14 |
| 4.5. Priprema natrijeva karbonata | 14 |
| 4.6. Priprema otopine DPPH..... | 15 |
| 4.7. Metode analiza | 15 |
| 5. ZADATAK ZAVRŠNOG RADA | 16 |
| 5.1. Mjerenje pH meda..... | 17 |
| 5.2. Mjerenje električne provodljivosti u medu | 17 |
| 5.3. Mjerenje hidrosimetilfurfurala u medu | 18 |
| 5.4. Mjerenje vlage u medu..... | 19 |
| 5.5. Određivanje antioksidativnog kapaciteta DPPH metodom..... | 19 |
| 5.6. Određivanje ukupnih fenola Folin – Ciocalteu metodom | 20 |
| 6. REZULTATI..... | 22 |
| 7. RASPRAVA | 24 |
| 8. ZAKLJUČAK | 25 |
| POPIS LITERATURE | 26 |

1. UVOD

Pčelarstvo je grana poljoprivrede duge povijesti, koja se bavi uzgojem pčela radi dobivanja pčelinjih proizvoda i oprašivanja uzgajanih kultura. Njime se danas bave muškarci i žene različite starosne dobi i različitih stupnjeva obrazovanja, radi stjecanja prihoda ili hobija. Ljudsko iskorištavanje meda prati se unazad 8000 godina kroz povijest, što opisuju slike iz kamenog doba (Bukraâ, 2014). Tada se med koristio kao hrana i lijek, a s vremenom i iskustvom u preradi namirnica, proširivao se i njegov opseg uporabe. Med je lako probavljiva namirnica koja trenutno vraća izgubljenju energiju, a dugotrajnom primjenom osigurava fizičku izdržljivost i psihičku stabilnost (Mitrić, 2017). Danas se koristi u izvornom obliku za prehranu, u slastičarskim proizvodima, ima primjenu u farmaciji, kozmetici, duhanskoj industriji, industriji alkoholnih pića, koristi se kao konzervans, a postoji još mnogo drugih načina korištenja jedinstvenih svojstava meda. Med posjeduje svojstva koja ga čine neizostavnim dodatkom za zdravu prehranu. Posjeduje jedinstvenu strukturu koju čovjek još uvijek nije u mogućnosti u potpunosti imitirati, a koristan je zbog svojih antimikrobnih i antioksidativnih svojstava. Ljekovitost meda ovisi o kvaliteti meda te vrsti medonosne biljke od kojeg su ga pčele napravile, a kemijskim analizama moguće je utvrditi porijeklo meda, njegova kemijska i fizikalna svojstva i kvaliteta.

U ovom radu korištene su kemijske analize i spektrofotometrijske metode za određivanje koncentracije vodikovih iona u raznim otopinama meda, električnu provodljivost, količinu hidroksimetilfurfurala (HMF), sadržaj vode, sadržaj ukupnih fenola i antioksidativna aktivnost meda.



Slika 1. Otopine različitih vrsta meda za analizu

Izvor: Minarik A. (2017.)

2. UZGOJ MEDONOSNIH PČELA

Uzimanje meda od pčela nikada nije bio bezbolan posao, jer pčele instinktivno brane svoju zajednicu, dom i hranu od uljeza. Prvi sakupljači meda pratili su pčele na povratku s pčelinje paše do njihovih košnica, koje su se najčešće nalazile u dupljama drveća ili pećinama (Belčić, 1985). Kada je čovjek otkrio nagon rojenja kod pčela, počeo ih je prilagođavati sebi i uzgajati na čovjeku dostupnijim mjestima. Danas uzgajani člankonošci (*Arthropoda*), iz razreda opnokrilaca (*Hymenoptera*), za dobivanje meda su pčele medarice (*Apis mellifica* L.), koje se dijele na četiri vrste (*Species*) i uzgajaju se na različitim područjima. Na području Europe, Azije i Afrike, ne uključujući južne i istočne dijelove te Sibira, nalazi se vrsta medonosnih pčela *Apis mellifica*, dok se u južnoj i istočnoj Aziji nalaze vrste *Apis florea*, *Apis dorsata* i *Apis indica* (Belčić, 1985). Od četiri europske rase pčela medarica, tamna europska (*Mellifica*), kranjska (*Carnica*), talijanska (*Ligustica*) i kavkaska (*Caucasica*), za moderno pčelarstvo na našem području najvažnija je kranjska pčela medarica (*Apis mellifica carnica*), koja se aktivno uzgaja i selektira na poželjne proizvodne, zdravstvene i fiziološke odlike rase.



Slika 2. Radilica na saću

Izvor: Minarik A. (2018.)

Prvi period u povijesti razvoja pčelarstva je okarakteriziran nepoznavanjem biologije i fiziologije pčela, razvoja i života pčelinje zajednice, te procesa nastanka pčelinjih proizvoda. Taj period se može vremenski ograničiti do 1500-te godine (Tucak, 2005). Sljedeća era povijesti razvoja pčelarstva je trajala do 1850. godine (Tucak, 2005), kada su pčelari počeli istraživati što se događa s pčelama unutar košnice, a također se i počinju razvijati razne metode i oprema za pčelarenje, kao i identifikacija matice, trutova, radilica, shvaćanje o nastanku voska, peludi, te funkciji oprašivanja pčelama nazvanoj entomofilija. U zadnjoj fazi razvoja pčelarstva, koja traje od 1850-te godine, pa sve do danas (Tucak, 2005), došlo je do izuma praktičnih košnica za pčelinje zajednice. Tehnološki napredak u pčelarstvu olakšao je proizvodnju pčelinjih proizvoda, posebice meda, koji se i danas primjenjuju kao dio prirodne medicine, zbog čega se uvodi pojam apiterapija.

Apiterapija je primjena pčelinjih proizvoda kao terapija za očuvanje zdravlja ili liječenje bolesti. Od pčelinjih proizvoda za liječenje koriste se med, propolis, pelud, matična mliječ i pčelinji otrov. Med je u najvećoj mjeri sadržan od ugljikohidrata koji služe kao izvor energije. Uz med se često koristi pelud kao izvor proteina za izgradnju organizma. Propolis se koristi kao prirodni antiseptik, a matična mliječ je izvor vitamina, enzima i drugih hranjivih tvari za jačanje imuniteta organizma. S druge strane, pčelinji otrov još uvijek nema učestalu primjenu u liječenju bolesti, niti su njegovi funkcija i djelotvornost u potpunosti istraženi. Zbog kompleksnosti sastava svakog navedenog pčelinjeg proizvoda, njihovo korištenje ne izaziva razvoj otpornosti kod mikroorganizama na te proizvode, kao što je to slučaj kod sintetički napravljenih lijekova i preparata. Pčelinji proizvodi su jedna od rijetkih namirnica u ljudskoj prehrani, koje do potrošača dolaze u izvornom obliku, tj. bez ikakve prerade, dodataka aditiva, konzervansa i sl. Oni na tržište dolaze onakvi kakvi su proizvedeni od pčela u pčelinjaku.



Slika 3. Leto LR košnice

2.1. Nastanak meda i pčelinja paša

Med jest sladak, gust, viskozni, tekući ili kristaliziran proizvod što ga medonosne pčele proizvode od nektara cvjetova medonosnih biljaka ili od medne rose, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari i odlažu u stanice saća da sazre (NN 20/2000: Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda).

Nektar je slatka otopina šećera i vode s manjom količinom mineralnih tvari, koju izlučuju žlijezde nektarija u cvijetu. Pčele tu tekućinu sakupljaju u mednom mjehuru, miješaju saspecifičnim tvarima iz vlastitih žlijezda, kao što je enzim invertaza, te skladište u saću kako bi sazrio u med. Osim nektara za dobivanje meda, pčele skupljaju mednu rosu ili izlučevine biljnih kukaca, kao što su lisne uši. S obzirom na porijeklo nastanka meda, postoje tri vrste meda:

- cvjetni,
- medljikovac i
- miješani.

Nadalje, cvjetni med se može podijeliti prema vrstama biljaka od kojih su pčele sakupile nektar, kao što su: livadni, bagremov med, med od uljane repice, suncokretov med, kaduljin, lavandin, kestenov, med od lipe itd. Prema broju biljaka od kojih je sakupljen med, može biti monoflorni i uniflorni. Monoflorni med je svaki med, koji sadrži minimalno 45% peludnih zrnaca iste biljne vrste u netopivom sedimentu, a poliflorni med je mješavina meda različitih vrsta (NN 20/2000, Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda). Svaka vrsta meda ima svoje prednosti u liječenju pojedinih tegoba. Za primjer, bagremov med ima dobre rezultate kod ljudi za ublažavanje stresa, dok kestenov med i medljika pomažu u regulaciji minerala u organizmu. Iskusni pčelari mogu prepoznati vrijeme medenja određenih vrsta biljaka, stoga znaju kada i kako treba pripremiti pčelinjake za skupljanje određene vrste meda u vrijeme pčelinje paše, jer je vrijeme medenja medonosnih biljaka ograničeno, a čisti medovi dostižu bolju vrijednost na tržištu.

Pčelinja paša je vrijeme kada pčele izlaze iz pčelinjaka u sakupljanje nektara, medne rose ili peludi za proizvodnju hrane za pčele. Najveći prinos meda je u vrijeme glavne pčelinje paše, kada pčele intenzivno kreću u sakupljanje hrane. Medonosna pčela je jedna od rijetkih životinjskih vrsta koja skuplja više hrane nego što joj je potrebno (Tucak, 2005). Hrana koja je u suvišku bit će odložena u saće, a to je prinos pčelinjih proizvoda, koji je pčelarima

zanimljiv. Dolaskom jeseni, pčelinja paša polako prestaje i time se do proljeća ne odvijazajednički život pčele i pčelara.



Slika 4. Med u saću

Izvor: Minarik A. (2018.)

2.2. Medonosno bilje

Medonosnim biljkama smatraju se one biljne vrste iz čijih cvjetova pčele uzimaju nektar, pelud, s čijih grančica uzimaju medljiku i s čijih pupova uzimaju propolis (Tucak, 2005).S obzirom na geografsku raznolikost, Republika Hrvatska ima potencijal proizvodnje velikog broja različitih vrsta meda.

Jedna od prvih medonosnih biljaka koje mede na početku pčelinjih paša je lijeska. Lijeska (*Corylus avellana*) je višegodišnji grm rasprostranjen po nizinskim šumama, šikarama i živicama, a danas se sve više i uzgaja radi svojih orašastih plodova, koji se nazivaju lješnjaci. Lijeska je jedna od prvih biljaka koje mede najčešće u ožujku, no ako su zime blage i kratke može mediti i ranije. Nakon lijeske, za pčelare je važna i uljana repica (*Brasica L.*), koja u vrijeme cvatnje obilno medi i donosi velike prinose brzo kristalizirajućeg meda. Uljana repica je jednogodišnja ili dvogodišnja zeljasta medonosna biljka žutih cvjetova, koja se uzgaja radi ulja ili kao krmna biljka i cvate u travnju. Nakon uljane repice, krajem travnja, započinje cvatnja kadulje (*Salvia officinalis L.*), koja najviše raste na primorskom i dalmatinskom kršu. Ovaj ljekoviti i višegodišnji grmić je vrlo medonosna u vrijeme cvatnje, te je druga najvažnija medna paša našeg područja. Najvažnijom medonosnom biljkom naših krajeva smatra se bagrem (*Robinia pseudoacacia L.*) koji izvorno potječe iz Sjeverne Amerike. Jedan je od najcjenjenijih i najsigurnijih izvora nektara (Kulinčević, 2016), jer u

vrijeme svoje cvatnje dostiže velike prinose, a med bagrema je veoma cijenjen. Uz bagrem, u vrijeme glavne pčelinje paše dobar, prinos daje i divlji kesten (*Aesculus hippocastanum L.*) koji cvate drugom polovinom travnja, a nešto manji prinos u glavnoj pčelinjoj paši daje lipa (*Tilia L.*) koja cvijeta u lipnju. Nakon lipe, početkom srpnja dolazi do cvjetanja suncokreta (*Helianthus annuus L.*). To je jednogodišnja glavočika porijeklom iz Meksika i Perua (Belčić, 2005) koja na jednoj glavici može imati do 1500 cvjetova. Izrazito dobro medi i med dobiven od suncokreta se brzo kristalizira i spada u lošije medove, kao i uljana repica. Još jedna od ljetnih medonosnih biljaka je facelija (*Phacelia tanacetiofolia*) koja cvate od lipnja do rujna. Male je gospodarske vrijednosti, stoga je slabo uzgajana na našim područjima, no dobar je predusjev nekim biljkama i dobra organska masa za zaoravanje, a može poslužiti i kao krmivo. Pčelama daje veliku količinu meda, iako nema puno površina zasijanih ovom kulturom. Među posljednjim medonosnim biljkama koje cvjetaju je vrijesak (*Calluna vulgaris (L.) Hull.*). Vrijesak je vazdazelena polugrmolika medonosna biljka, koja cvjeta od početka kolovoza, do jeseni i njegov med se najčešće čuva pčelama za zimnicu.

Krajem cvatnje medonosnih biljaka završava medna paša pčela i one moraju pripremati košnicu za zimovanje zatvarajući otvore propolisom te pripremanjem zimniceza dane bez nektara.

2.3. Kvaliteta i krivotvorenje meda

Uvjeti za med koji se stavlja na tržište određeni su zakonom (NN 20/2000: Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda). Prema tom zakonu, med za tržište mora sadržavati minimalno 65% reducirajućih šećera, tj. invertnih šećer, dok medljikovac mora imati najmanje 60% istih. S druge strane, ne smije sadržavati više od 5% saharoze. Izuzetak su med od vrijeska i kadulje kod kojih je dopuštena vrijednost saharoze do 8% te za med od bagrema, lavande i medljikovca do 10% saharoze. Postotak vode u medu ne smije prelaziti 20%, a maksimalan sadržaj mineralnih tvari treba biti 0,6%, osim medljikovca, kod kojeg je dopuštena količina mineralnih tvari do 1,2%. Ukupna kiselost meda ne smije biti veća od 40 milimola kiseline na 1000 grama, te ne smije sadržavati više od 0,1% tvari netopljivih u vodi. Udio hidrosimetilfurfurola (HMF) ne smije biti veći od 40 mg/kg. Prilikom procesa dekrystalizacije med se ne smije zagrijavati na temperaturu višu od 40°C, a okusom i mirisom mora odgovarati vrsti meda kojem pripada te ne smije sadržavati strane primjese, boje, konzervanse i arome. Medu ne smiju biti dodavani šećer niti neki drugi proizvodi koji su konzistencijom i sastavom slični medu, a također ne smije biti produkt pčela dobiven

prihranjivanjem. Stavljati na tržište med koji je mješavina domaćeg i uvoznog meda je zabranjeno (NN 20/2000: Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda).

Kvaliteta meda ovisi o okolišnim uvjetima, ali i o sposobnosti pčelara da taj med pravilno vrca i skladišti. Med se čuva u zatvorenim posudama i suhim, tamnim, provjetrenim prostorijama, na sobnoj temperaturi (NN 20/2000: Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda). Med je jedna od prehrambenih proizvoda koje najviše podliježu krivotvorenju. Med se može krivotvoriti dodavanjem šećera i vode u obliku šećernih sirupa radi povećanja volumena proizvoda (Franić, 2016). Neispravno deklariranje porijekla proizvoda, kako botaničkog tako i geografskog, također se smatra prijevarom, jer potrošaču daju krivu percepciju kvalitete i vrijednosti tog proizvoda. Otkrivanje ovakvog pokušaja prevare zahtjeva razne analize, koje dostižu visoke cijene i ponekad nisu pouzdane ako se ne zna točno što se traži, zbog čega mnogi proizvođači krivotvorenih proizvoda prođu neopaženo. Unatoč tomu, većina pčelara ipak drži do tradicije i čistoće svojih proizvoda, stoga je najsigurnije kupovati od malih i poznatih proizvođača.



Slika 5. Teglice meda različitog porijekla

Izvor: Minarik A. (2017.)

3. KEMIJSKI SASTAV MEDA

Svaka vrsta meda, ovisno o porijeklu, ima specifična kemijska, fizikalna i organoleptička svojstva. Osim prirodnih i okolišnih čimbenika na kemijski sastav i kvalitetu meda utječe i ljudski faktor, tj. briga o pčelama, pravilno uzimanje i skladištenje meda. Kemijski sastav meda dugo nije bio poznat, jer je sastav meda izrazito složen, a ta kompleksnost sastava daje medu kao namirnici izrazito ljekovite spojeve za žive organizme. Med se sastoji od organskih i anorganskih spojeva, te mineralnih tvari. Organske tvari u medu su: šećeri, proteini, vitamini i organske kiseline. Ostatak meda čini voda, mineralne tvari, fenolni spojevi i hlapljive komponente.

3.1. Šećeri u medu

Med je prezasićena otopine šećera, jer može sadržavati do 83% ugljikohidrata. Najviše zastupljeni ugljikohidrati meda trebaju biti monosaharidi fruktoza i glukoza. Preveliki udio disaharida saharoze u medu ukazuje na moguće krivotvorenje meda, direktnim unošenjem šećera u med ili neprikladnim prihranjivanjem pčela. Glukoza i fruktoza su jednostavne molekule i zbog toga su lako probavljive. Laka probavljivost šećera čini med visoko energetsom namirnicom, jer ovi šećeri imaju sposobnost direktnog ulaska u krv i iskoristiti se u stanicama za proizvodnju energije. Koncentracija glukoze i fruktoze ovisi o botaničkom porijeklu meda. Velika koncentracija šećera daje medu viskoznost, specifičnu gustoću, mogućnost kristalizacije, higroskopnost i smanjenu mogućnost kvarenja.

Neprikladnim skladištenjem ili zagrijavanjem meda dolazi do kemijskih promjena, kao što je razgradnja pentoza i heksoza, pri čemu nastaju spojevi koji se nazivaju furani (Gjuračić, 2016). Dva glavna produkta raspada monosaharida u šećeru su furfural, koji nastaje razgradnjom pentoza, te 5-hidroksimetil furfural, koji je rezultat raspada heksoza u medu. To su ciklički aldehidi koji nastaju dehidracijom heksoza u kiselom mediju kao što je med. Koncentracija ovih spojeva koristi se kao jedan od indikatora za kvalitetu meda.

3.2. Voda u medu

Voda je molekula života i važna je za opstanak svih živih bića, pa tako i pčela. Pčele dio potreba za vodom unose hranom. Nakon ugljikohidrata, najveći udio meda odlazi na vodu. Od ukupnog sadržaja meda, na vodu otpada 15 do 23%, a idealnom količinom se smatra 18%. Količina vode u medu ovisi o nekoliko parametara, kao što su klimatski uvjeti u kojima je med proizveden, jačina pčelinjeg društva, medonosne biljke od kojeg je nektar sakupljen,

vremenski uvjeti, tetemperatura zraka unutar i izvan košnice. Vlaga u medu također se može povećati tijekom procesa obrade, kao i prilikom neadekvatnog skladištenja, pošto je med higroskopan i upija vlagu iz atmosfere (Gjuračić, 2016). Ako se u medu nađe manji postotak vode i koncentracija meda je veća, on brže kristalizira i smanjena je mogućnost pojave fermentacije i kvarenja meda. S druge strane, ako se poveća postotak vode iznad 20%, med sporije kristalizira, a voda postaje medij koji pogoduje procesu fermentacije ili kvarenja meda uslijed mikrobiološke aktivnosti. Količina vode ukazuje na dozrelost meda, te je važan parametar za određivanje kvalitete meda.

3.3. Organske kiseline u medu

Med je prehrambena namirnica s vrlo niskim pH. Kiselost meda je posljedica prisutnosti organskih kiselina u medu. Udio organskih kiselina u medu kreće se od 0,17 do 1,17 %, a prosječno iznosi 0,57 %. Iako je samo mali postotak organskih kiselina prisutan u medu, one imaju značajan utjecaj na neka organoleptička svojstva tvorbom estera, a također utječu i na mikrobiološki sastav meda stvaranjem nepogodnih uvjeta za opstanak određenih mikroorganizama. Organske kiseline su rezultat enzimatske razgradnje šećera prilikom pretvaranja nektara u med. Enzimi u medu potječu direktno iz nektara ili iz žlijezda pčela. Mjere za pH u medu kreću se od 3,2 do 6,5 (Petričko, 2015). Ako je pH vrijednost iznad dozvoljene, to nam govori da je došlo do fermentacijskih procesa i pretvorbe alkohola nastao fermentacijom organsku kiselinu, stoga je važno pratiti kretanje kiselosti pojedinih vrsta meda.

3.4. Mineralne tvari u medu

Osim organskih spojeva i vode u medu se može naći i velik broj mineralnih tvari. Nektarni med ne smije sadržavati više od 0,6 % mineralnih tvari, a medljikovac ne smije sadržavati više od 1,2% (NN 20/2000: Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda). Količina mineralnih tvari varira u različitim vrstama meda, a tamniji med ima više mineralnih tvari od svjetlijeg meda, stoga se uglavnom tamniji medovi koriste kod ljudi koji imaju nedostatak nekih elemenata u organizmu. Najviše ima natrija, magnezija, aluminijska, fosfora, sumpora, klora, kalija, kalcija, i željeza, dok se u manjoj količini nalaze još i titan, krom, mangan, bakar, arsen, selen i olovo. Količina mineralnih tvari se izražava u pepelu, a određuje se uz pomoć električne provodljivosti preko određene formule:

$$\text{Sadržaj pepela} = \frac{\text{električna vodljivost [mS/cm]} * 0,14}{1,74}$$

Pravilnikom je određena električna vodljivost meda, prema kojem medljikovac, med od kestena i njihove mješavine trebaju imati električnu provodljivost minimalno 0.8 mS/cm, a ostalim vrstama meda i njihovim mješavinama je najvećadopuštena električna vodljivost 0.8 mS/cm. U slučaju prevelikog odskakanja od zadanih vrijednosti u Pravilniku, može se sumnjati u krivotvorenje meda.

3.5. Antioksidansi u medu

Pored mnogih spojeva, medicini najzanimljiviji za istraživanja su antioksidansi. Antioksidansi štite hranu od oksidacije smanjujući posljedice oksidativnog stresa uzrokovanih slobodnim radikalima u stanicama. Slobodni radikali i reaktivni oblici kisika (ROS, reactive oxygen species) su nusproizvodi metaboličkih procesa u kojem je prisutan kisik i pokazalo se da doprinose procesu starenja i obolijevanja od malignih bolesti, čemu doprinosi njihova vrlo reaktivna priroda. Oksidativni stres u stanicama rezultat je neravnoteže organizma uzrokovan razlikom u brzini nastanka reaktivnih kisikovih spojeva i neutralizacije istih antioksidativnom aktivnošću organizma. Kisikovi slobodni radikali koji se pojavljuju u organizmu su:

- superoksidni anioni, O_2^- ,
- hidroksidni radikali, $-OH^-$,
- alkoksilni radikali, $-RO^-$,
- i peroksilni radikali, $-ROO^-$.

Antioksidansi meda mogu se podijeliti na enzimске antioksidanse, poput katalaze, te neenzimске antioksidanse, kao što su organske kiseline, aminokiseline, flavonoidi, fenoli, vitamini E i C, karotenoidi i dr. Mjera kojom se označava sposobnost reduciranja i zaustavljanja štetnih reakcija oksidativnog stresa u hrani i organizmu naziva se antioksidativni kapacitet. Količina i tip antioksidativnih spojeva, prvenstveno ovisi o medonosnom bilju od kojih je nektar sakupljen. Za primjer, tamni medu pravilu sadrži veće količine antioksidanata od svjetlijih vrsta meda. Antioksidansi djeluju na način da lako stupaju u reakcije sa slobodnim radikalima, tj. reaktivnim molekulama kisika i dušika, te ih neutraliziraju čime se zaustavlja lančana reakcija stvaranja novih slobodnih radikala u stanici.

3.6. Fenolni spojevi u medu

Fenolni spojevi u biljkama su sekundarni metaboliti, koji su izgrađeni od aromatskih prstenova na koje su vezane hidroksilne skupine. Antioksidativna aktivnost meda nalazi se

u pozitivnoj korelaciji s koncentracijom ukupnih fenola u medu, stoga povećanjem koncentracije fenola, povećava se i antioksidativni kapacitet meda. Više kemijski povezanih fenolnih skupina čine složenije strukture nazvane polifenole. Polifenolni spojevi prisutni u medu su u najvećoj mjeri flavonoidi, a manje ima fenolnih kiselina, poput elaginske, ferulične, kafeinske, kumarinske, galne kiseline, uključujući i estere tih kiselina. Flavonoidi su tvari prisutne u biljkama i sudjeluju u procesu fotosinteze, a preko biljaka, ulaze i u sastav meda, najčešće u obliku apigenina, galangina, hesperitin, kamferola, krisina, kvarcetina, luteolina, pinobanksina i pinocembrina. Ovi spojevi su jedni od važnih antioksidativnih spjeva. Flavonoidi su u reakciji sa slobodnim radikalima donori vodikovih atoma, formirajući slabo reaktivne fenoksil radikale. U usporedbi s ostalim hranjivim namirnicama u ljudskoj prehrani, med se ne smatra dobrim nit bogatim izvorom ovih spojeva, jer je njihov sadržaj u medu u rasponu od 40 do 460 μg na 100 g meda, ali su vrlo važan predmet istraživanja, zbog svojih sposobnosti sprečavanja redukcije dehidroaskorbinske kiseline i inhibicije nekih enzima, čime je usporen proces razlaganja elastina i poboljšana homeostaze u živim organizmima.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Uzorci meda

Napravljena je analiza na uzoraka meda porijeklom od različitih proizvođača, iz različitih područja u Europi.

Tablica 1. Popis uzoraka meda za analizu

| BROJ UZORKA | PROIZVOĐAČ | VRSTA MEDA |
|--------------------|---------------------|-------------------|
| 1. | Ivan Bašić | Kadulja |
| 2. | Ivan Bašić | Cvjetni |
| 3. | Zoran Matić | Cvjetni |
| 4. | Zoran Matić | Kesten |
| 5. | Boško Erceg | Cvjetni |
| 6. | OPG Željko Nekić | Kadulja |
| 7. | Jadranko Cvitanović | Medljika |
| 8. | Jadranko Cvitanović | Kadulja |
| 9. | Jure Madunić | Medljika |
| 10. | Božo Đurakić | Bagrem |
| 11. | Armando Petani | Kadulja |
| 12. | Marija Bojanović | Kadulja |
| 13. | Marija Bojanović | Vrijesak |
| 14. | Ivan Mišković | Bagrem |
| 15. | Ivan Mišković | Kesten |
| 16. | Zlatko Đukić | Cvjetni |
| 17. | Darko Ham | Suncokret |
| 18. | Darko Ham | Livadni |
| 19. | Branko Slijepčević | Kesten |
| 20. | Željko Nekić | Vrijesak |
| 21. | Juraj Svetičanin | Kesten |
| 22. | Jože Štimec | Cvjetni |
| 23. | Mate Bušelić | Cvjetni |
| 24. | Milan Kos | Bagrem |
| 25. | Milan Kos | Lipa |
| 26. | Toni Rakić | Kadulja |
| 27. | Mijo Radonić | Kadulja |
| 28. | Ljubomir Vuleta | Kadulja |
| 29. | OPG „Kata Grgić“ | Lipa |
| 30. | OPG „Kata Grgić“ | Cvjetni |
| 31. | OPG „Kata Grgić“ | Bagrem |
| 32. | OPG „Kata Grgić“ | Kesten |
| 33. | Nedjeljko Barišić | Lipa |
| 34. | Nedjeljko Barišić | Livadni |
| 35. | Slobodan Jevtić | Lipa |
| 36. | Slobodan Jevtić | Cvjetni |
| 37. | Slobodan Jevtić | Medljika |

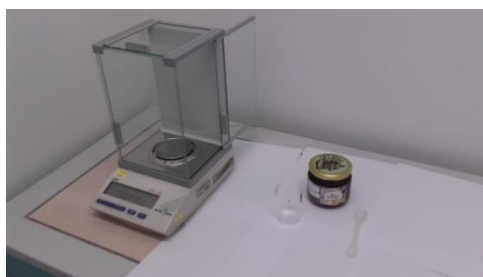
| | | |
|-----|-----------------------------|--------------|
| 38. | VadasneHazafiAranka | Cvjetni |
| 39. | DaielVadas | Bagrem |
| 40. | DaielVadas | Suncokret |
| 41. | OPG „Petar Bošnjaković“ | Cvjetni |
| 42. | Miljenko Bušelić | Cvjetni |
| 43. | Zoltan Tozjan | Bagrem |
| 44. | Zoltan Tozjan | Facelija |
| 45. | Zoltan Tozjan | Kremasti med |
| 46. | Zoltan Tozjan | Lipa |
| 47. | ApicolturaRaggianiCristiano | Kesten |

4.2. Priprema otopine meda za analize pH, električne vodljivosti, HMF-a

Pribor potreban za pripremu otopine jednog uzorka je:

1. Staklena čaša 80 ml,
2. Plastična žlica,
3. Digitalna vaga,
4. Destilirana voda,
5. Stakleni štapić,
6. Destilirana voda,
7. Graduirana menzura 100 ml,
8. Magnetna miješalica.

Izvaž se prazna staklena čaša na digitalnoj vagi i tarira se vaga kako težina čaše ne bi bila uračunata u odvagu. U tu istu staklenu čašu odvaž se 20 g meda, koji će se analizirati. Izvagani uzorak meda otopi se u čaši dodavanjem 80 ml destilirane vode odvojene u menzuri. Otapanje se ubrzava miješanjem staklenim štapićem ili magnetnom miješalicom. Ravnomjerno otopljen uzorak je spreman za analizu.



Slika 6. Vaganje uzoraka

Izvor: Minarik A. (2017.)

4.3. Priprema otopine meda za mjerenje metodom DPPH i Folin-Ciocalteu reagensom

Potreban pribor za pripremu otopina za mjerenje antioksidativnog kapaciteta DPPH metodom i ukupnih fenola Folin-Ciocalteu reagensom:

1. 3 staklene čaše 100 ml,
2. digitalna vaga,
3. plastična žlica,
4. graduirana menzura,
5. destilirana voda,
6. stakleni štapić,
7. odmjerna tikvica 25 ml sa staklenim čepom,
8. pipeta 1000 ml.

Na digitalnoj vagi izvažuje se prva staklena čaša i stisne tipka „TARE“, kako bi se pri vaganju uzorka oduzela težina staklene čaše. U istu čašu, uz pomoć plastične žlice, izdvoji se 15 g meda za analizu i otopi se u 15 ml destilirane vode. Nakon što se uzorak otopi, otopina se iz čaše prenese u odmjernu tikvicu i nadopuni destiliranom vodom do oznake da se dobije 25 ml otopine, začepi se staklenim čepom i snažno promućka. Sadržaj iz odmjerne tikvice prenese se u drugu čašu, a koncentracija dobivene otopine je 0,6 g/ml koja se koristi za dobivanje razrjeđenja pri analizi DPPH metodom.

Za dobivanje otopine koncentracije 0,3 g/ml, u treću čašu se pipetom odvoji 3 ml otopine 0,6 g/ml i razrijedi sa 3 ml destilirane vode. Ova koncentracija koristi se za određivanje ukupnih fenola Folin-Ciocalteu reagensom.

4.4. Priprema acetatnog pufera

Acetatni pufer čini smjesa natrijeva acetata (CH_3COONa) i octene kiseline (CH_3COOH). U odmjernu tikvicu dodano je 0,1 M (mol/dm^3) otopine natrijeva acetata, koji čini 13,6 g natrijeva acetata u 1000 ml vode. Također je u istu tikvicu dodana i 0,1 M otopina octene kiseline, koja je smjesa 5,762 ml koncentrirane octene kiseline i 1000 ml vode.

4.5. Priprema natrijeva karbonata

U odmjernoj tikvici otopljeno je 37,5 g kristaliziranog natrijeva karbonata u 500 ml vode, radi dobivanja 7,5 %-tnog natrijeva karbonata (Na_2CO_3).

4.6. Priprema otopine DPPH

U laboratorijskom dozatoru se otopi 4 mg 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) u 100 ml etanola, pri čemu se dobije 130 mM otopina DPPH.

4.7. Metode analiza

Za analize pH otopina, koristi se pH metar. Površina kojom se mjeri je staklena membrana, koja se uranja u otopinu. Unutar membrane na određenoj udaljenosti postavljaju se dva elektrolita između kojih dolazi do izmjene iona na obje strane membrane. Razlikom potencijala između otopine koje se mjeri i otopine unutar staklene membrane, senzori određuju koncentraciju vodikovih iona. Prije upotrebe, kalibrira se fosfatnim puferima s $\text{pH} = 4$, $\text{pH} = 7$ i $\text{pH} = 9$.

Prilikom analize električne provodljivosti u otopinama, koristi se konduktometar. Uređaj radi na principu detekcije količine iona u otopini privlačenjem suprotno nabijenih naboja. Elektrode su građene od platine ili legure platine, a uređaj se prije uporabe kalibrira uz pomoć standardne otopine.

Analiza hidroksimetilfurfurala provodi se reflektokvantom, koji radi na principu mjerenja reflektirane svjetlosti od mjerne trakice. Kao i u klasičnoj fotometriji, razlika u intenzitetu emitirane i reflektirane svjetlosti omogućava kvantitativno određivanje koncentracije specifičnih čestica.

Vlaga u medu analizira se pomoću refraktometra. Princip rada refraktometra temelji se na usporedbi brzine prolaska svjetlosti kroz med i vakuum. Svjetlost će brže prolaziti kroz med koji sadrži više vode, odnosno sporije kroz med koji sadrži manje vode.

Spektrofotometar je uređaj za kvantitativnu analizu spektra elektromagnetskog zračenja koje prolazi ili se reflektira kroz uzorak u kivetu kao funkcija valne duljine. Spektrofotometrijsku metodu koristili smo za određivanje ukupnih fenola i antioksidansa u medu.



Slika 7. Spektrofotometar

Izvor: Minarik A. (2017.)

5. ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Cilj završnog rada je ispitivanje svojstava i kvalitete meda kemijskim i spektrofotometrijskim metodama. Analizirano je 47 vrsta meda iz različitih područja Europe, proizvedeno od strane malih proizvođača. Uzimajući u obzir razlike u botaničkom i geografskom porijeklu, očekivani su i različiti rezultati analiza. U prvo dijelu istraživanja, mjereni su vrijednosti pH i električne provodljivosti, količina hidrosimetilfurfurala,

postotak vlage, a u drugom dijelu su mjerene vrijednosti antioksidativnog kapaciteta i ukupnih fenola u uzorkovanim vrstama meda.

5.1. Mjerenje pH meda

Koncentracija vodikovih atoma u medu mjerena je pH metrom (MettlerToledo pH meter, FiveEasy). Kiselost meda jedan je od najvažnijih uvjeta za njegova antibakterijska svojstva. Kada se pH metar ne koristi, elektroda za mjerenje drži se u otopini KCl. Prije svakog korištenja pH metar je potrebno kalibrirati sa fosfatnim puferima pH vrijednostima: pH=4, pH=7, pH=9. Prije i nakon svakog korištenja, elektroda se ispere destiliranom vodom. Prilikom mjerenja, elektroda se uranja u otopinu meda. Pritiskom na tipku „READ“ očita se rezultat nakon što se na displeju pojavi znak \sqrt{A} .



Slika 8. Mjerenje pH metrom

Izvor: Minarik A. (2017.)

5.2. Mjerenje električne provodljivosti u medu

Električna vodljivost je jedan od pokazatelja količine mineralnih tvari u medu, a time i njegovog porijekla. Mjeri se konduktometrom MettlerToledo. U pripremljenu otopinu meda uroni se čitač i pritisne tipka „READ“. Kada se na ekranu pojavi oznaka \sqrt{A} , rezultat se očita. Dobiveni rezultat u $\mu\text{S}/\text{cm}$ podijeli se s 1000 da se dobije iznos u mS/cm . Nakon korištenja elektroda se ispere destiliranom vodom.

Sadržaj pepela izračunava se uz pomoć izmjerene električne vodljivosti izražene u mS/cm uvrštavanjem u formulu:

$$\text{Sadržaj pepela [mg/100g]} = \frac{\text{električna vodljivost } \left[\frac{\text{mS}}{\text{cm}} \right] - 0,14}{1,74}$$



Slika 9. Konduktometar

Izvor: <http://khanhlinhvn.com/may-do-do-dan-dien-s230-k-10408050.html>

5.3. Mjerenje hidroksimetilfurfurala u medu

U analizama meda, vrlo važan parametar je količina hidroksimetilfurfurala ili HMF. On nam pokazuje kvalitetu meda te njegovu nutritivnu vrijednost. On u medu nastaje kao posljedica zagrijavanja meda i nepoželjan je u medu u većim koncentracijama. Kada je riječ o štetnom djelovanju HMF na ljudsko zdravlje, tu postoje različita mišljenja mišljenja (Spano at all., 2009). Značajan broj autora navodi da HMF i njegovi metaboliti predstavljaju potencijalnu opasnost po ljudsko zdravlje, jer djeluju mutageno, kancerogeno i citotoksično (Islam, at all., 2014; Kmeči et all., 2014). Također, epidemiološke studije su pokazale da HMF u karameliziranom šećeru čije se konzumiranje može povezati sa rizikom od kolorektalnog karcinoma (Bruce at all, 2009). Postoje, međutim, navodi da HMF u hrani nije štetna i da mnogi proizvodi koji sadrže šećere (džemovi, sirupi, melasa i sl.) imaju 10-100 puta veći sadržaj HMF od sadržaja u medu. Također, prehrambeni artikli koji imaju visok sadržaj fruktoznog kukuruznog sirupa, kao na primjer gazirana bezalkoholna pića, mogu imati sadržaj HMF od 100 do 1000 mg/kg.

HMF se određuje reflektokvantom RQfleX 10. Uz pomoć trakica za određivanje koncentracije, pomoću refleksije svjetlosti, uređaj određuje njegovu količinu. Trakica se uroni u otopinu meda na 10 sekundi. Prilikom uranjanja, štoperica na uređaju se upali na odbrojavanje 1 minute, a za to vrijeme se trakica drži na zraku da se reakcija odvije. Rezultat se očitava zadnjih 10 sekundi kada se trakica stavlja na za to predviđeno mjesto u uređaju. Dobiveni rezultat se najprije pomnoži s 4, a zatim podijeli s 1,4 kako bi se dobila količina HMF-a u mg/kg.



Slika 10. RqfleX 10 reflektokvant za mjerenje HMF

Izvor: <http://www.capitolscientific.com/core/media/media.nl?id=1280163&c=1250437&h=4a2f9421e4a04a9a5db8>

5.4. Mjerenje vlage u medu

Količina vode u medu važna je radi provjere ispravnosti, kvalitete i dokazivanja krivotvorenja meda. Voda u medu mjeri se optičkim refraktometrom. Nerazrijeđeni uzorak meda kapne se na za to predviđeno mjesto, pritisne „START“ i uređaj na temelju brzine svjetlosti koja prolazi kroz med određuje postotak vlage u medu i izražava ga u postotku.

5.5. Određivanje antioksidativnog kapaciteta DPPH metodom

Pripremljenu otopinu meda koncentracije 0,6 g/ml potrebno je razrijediti u eppendorf tubama označenim prema različitim razrjeđenjima. U osam eppendorf tuba ispipetiraju se različiti omjeri destilirane vode i 0,6 g/ml otopine meda.

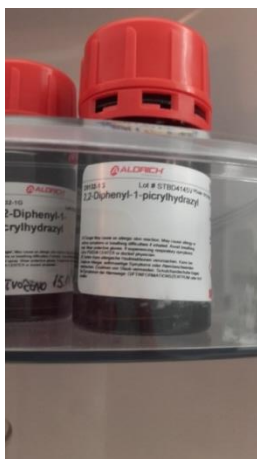
Tablica 2. Razrjeđenja u eppendorf tubama

| OZNAKA | OTOPINA, μ l | DESTILIRANA VODA, μ l |
|-----------|------------------|---------------------------|
| 30 mg/ml | 50 | 950 |
| 60 mg/ml | 100 | 900 |
| 100 mg/ml | 167 | 833 |
| 200 mg/ml | 333 | 667 |
| 300 mg/ml | 500 | 500 |
| 400 mg/ml | 667 | 333 |
| 500 mg/ml | 833 | 167 |
| 600 mg/ml | 1 ml | 0 |

Nakon priređenih razrjeđenja u eppendorf tubama, pripremi se 17 epruveta na stalku za epruvete. U prvih osam epruveta označenih kao slijepa proba (S) odpipetiramo 0,1 ml otopine meda različitih razrjeđenja pripremljenih u eppendorf tubama u zasebne epruvete, 1 ml acetatnog pufera i 1,9 ml etanola. U drugih osam testnih epruveta označenih kao proba

(P) odpipetira se 0,1 ml razrijeđenih otopina u zasebne epruvete označene po razrjeđenjima. U iste epruvete odpipetirase 1 ml ranije pripremljeni acetatni pufer i 1,9 ml 130 mM otopine DPPH uz pomoć dozatora. U zadnju epruvetu odpipetira se 1 ml acetatnog pufera, 1,9 ml DPPH i 0,1 ml destilirane vode. Sve epruvete se promješaju na Vortexu i uključuje se uređaj za odbrojavanje na 90 min. Reakcija se mora odvijati na tamnom prostoru pri sobnoj temperaturi.

Nakon isteka 90 minuta, mjeri se apsorbancija pojedinog uzorka na spektrofotometru na 517 nm.

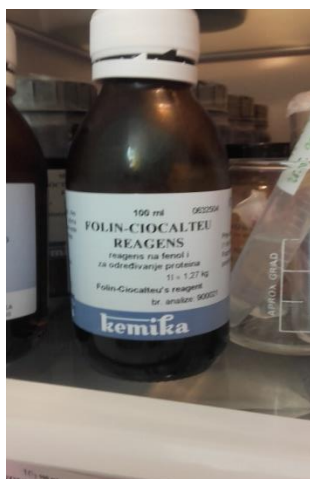


Slika 11: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

Izvor: Minarik A. (2017.)

5.6. Određivanje ukupnih fenola Folin – Ciocalteu metodom

U tri epruvete odpipetiramo po 100 μ l otopine meda koncentracije 0,3 g/ml, a u četvrto epruvetu pipetira se 0,1 ml destilirane vode i ta epruveta se označava kao 0. U sve četiri epruvete pipetom se doda 1 ml 10 %-tnog Folin – Ciocalteu reagensa i promiješati na Vortexu. Otopine ostaviti 5 min da odstoje. Nakon 5 min pipetom dodati u sve epruvete 1 ml 7,5%-tne otopine ranije pripremljenog natrijeva karbonata. Nakon miješanja na Vortexu, epruvete se sa stalcima ostavljaju se 30 minuta, kako bi se reakcija odvijala u tamnom mjestu pri sobnoj temperaturi, a nakon odvijanja reakcije, mjeri se apsorbancija otopina u spektrofotometru pri 750 nm. Uzorak s vodom služi kao nula. Dobivene apsorbancije s otopinama zbrojimo i podijelimo s brojem uzoraka, radi dobivanja prosječnog rezultata.



Slika 12: Folin-Ciocalteu reagens

Izvor: Minarik A. (2017.)

6. REZULTATI

U Tablici 3. prikazani su rezultati po svakom uzorku i to: pH, električna provodljivost, HMF, % vode, sadržaj pepela, ukupnih fenola i antioksidativna aktivnost.

Tablica 3. Prikaz svih rezultata analiziranih uzoraka meda

| Broj uzorka | pH | Električna provodljivost mS/cm | HMF mg/kg meda | Voda % | Pepeo mg/100 g meda | Ukupni fenoli mg/100 g meda | Antioksi. Aktivnost mg/ml uzorka |
|-------------|------|--------------------------------|----------------|--------|---------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 1. | 4.02 | 0.951 | 0.93 | 14.8 | 0.466 | 1.045 | 283.16 |
| 2. | 4.13 | 0.923 | 0 | 15.8 | 0.45 | 0.902 | 268.91 |
| 3. | 3.93 | 0.454 | 2.13 | 16 | 0.18 | 0.927 | 540.57 |
| 4. | 4.36 | 1.104 | 0.86 | 16.3 | 0.554 | 0.7 | 345.4 |
| 5. | 4.38 | 1.125 | 1.8 | 16.2 | 0.566 | 0.9297 | 271.42 |
| 6. | 3.9 | 0.285 | 0.66 | 14.5 | 0.083 | 0.983 | 714.80 |
| 7. | 4.53 | 1.127 | 1.33 | 16.1 | 0.567 | 0.508 | 195.75 |
| 8. | 4.34 | 0.972 | 0.86 | 14.8 | 0.482 | 1.276 | 211.64 |
| 9. | 4.69 | 1.332 | 1.73 | 15.4 | 0.685 | 1.169 | 288.72 |
| 10. | 3.67 | 0.1566 | 1.4 | 14.6 | 0.009 | 0.949 | 1804 |
| 11. | 3.65 | 0.487 | 1.27 | 14.8 | 0.199 | 0.280 | 412.22 |
| 12. | 4.28 | 1.226 | 1.8 | 15.9 | 0.624 | 0.834 | 232.42 |
| 13. | 3.93 | 0.875 | 1.6 | 15.5 | 0.422 | 1.266 | 203 |
| 14. | 3.61 | 0.1851 | 7.07 | 16.6 | 0.025 | 1.618 | 1761 |
| 15. | 4.21 | 1.37 | 1.3 | 15.1 | 0.707 | 0.3137 | 423.625 |
| 16. | 3.59 | 0.434 | 0.87 | 16 | 0.169 | 0.859 | 589.17 |
| 17. | 4.09 | 0.929 | 1.87 | 15.8 | 0.453 | 0.575 | 498.29 |
| 18. | 4.8 | 1.312 | 0 | 16.7 | 0.674 | 0.658 | 300.36 |
| 19. | 4.08 | 0.962 | 1.47 | 16.3 | 0.672 | 1.002 | 431.375 |
| 20. | 3.52 | 0.269 | 1.13 | 17.3 | 0.074 | 0.817 | 260.37 |
| 21. | 3.69 | 1.322 | 3.2 | 17 | 0.679 | 1.058 | 268.23 |
| 22. | 4.37 | 1.32 | 1.46 | 16 | 0.687 | 0.969 | 251 |
| 23. | 4.31 | 1.185 | 1.93 | 18.5 | 0.601 | 1.0937 | 229.92 |
| 24. | 3.55 | 0.203 | 0.73 | 14.7 | 0.36 | 1.11 | 1223.33 |
| 25. | 3.76 | 0.45 | 1.2 | 17.4 | 0.178 | 0.329 | 881.25 |
| 26. | 4.49 | 1.166 | 1.13 | 17.6 | 0.589 | 0.459 | 214.67 |
| 27. | 4.6 | 1.278 | 1.07 | 15.2 | 0.654 | 1.126 | 218.33 |
| 28. | 5.11 | 1.552 | 0 | 15.2 | 0.811 | 1.185 | 161.2 |
| 29. | 3.86 | 0.503 | 0.93 | 13.8 | 0.208 | 1.351 | 704.8 |
| 30. | 3.57 | 0.532 | 2.13 | 14.4 | 0.225 | 0.616 | 276.17 |
| 31. | 3.91 | 0.1225 | 2.53 | 16 | 0 | 0.805 | 1774.5 |
| 32. | 4.74 | 1.064 | 1.2 | 14.6 | 0.531 | 0.272 | 372 |
| 33. | 4.04 | 0.833 | 1.93 | 15.7 | 0.398 | 0.8897 | 449.25 |
| 34. | 3.56 | 0.5 | 0.86 | 17.7 | 0.207 | 0.674 | 358.18 |
| 35. | 4.69 | 0.804 | 2.27 | 18.4 | 0.381 | 0.667 | 599.67 |
| 36. | 4.69 | 1.314 | 0 | 14.8 | 0.675 | 1.011 | 300.72 |
| 37. | 5.29 | 2.2 | 1.6 | 16.7 | 1.184 | 0.503 | 201.72 |
| 38. | 4.28 | 0.638 | 1.07 | 14.7 | 0.286 | 1.766 | 596.33 |

| | | | | | | | |
|-----|------|--------|------|------|--------|--------|---------|
| 39. | 3.66 | 0.138 | 1.53 | 14.6 | 0.084 | 0.5297 | 1756 |
| 40. | 3.65 | 0.377 | 0.86 | 17.1 | 0.136 | 0.3097 | 886.25 |
| 41. | 3.58 | 0.45 | 1.53 | 17.3 | 0.178 | 0.457 | 499.57 |
| 42. | 4.16 | 1.146 | 3.46 | 16.2 | 0.576 | 0.652 | 246.67 |
| 43. | 3.74 | 0.1263 | 1.8 | 15.2 | 0 | 1.021 | 1850.5 |
| 44. | 3.4 | 0.1792 | 0.66 | 14.5 | 0.0225 | 0.261 | 1193.67 |
| 45. | 3.71 | 0.183 | 3.33 | 15.2 | 0.0247 | 0.412 | 700.2 |
| 46. | 4.16 | 0.653 | 0 | 18.8 | 0.295 | 0.484 | 596.5 |
| 47. | 4.74 | 1.518 | 2.07 | 14.8 | 0.466 | 0.543 | 367 |

Tablicom 4. prikazuju se fizikalno kemijski parametri (srednja vrijednost, standardna devijacija, minimalna i maksimalna vrijednost).

Tablica 4. Rezultati srednjih vrijednosti, standardne devijacije, te minimalne i maksimalne vrijednosti

| Naziv parametra | $\bar{x} \pm SD$ | Maksimum | Minimum |
|-----------------------------------|-------------------|----------|---------|
| pH | 4,106809±0,4567 | 5,29 | 3,40 |
| Električna provodljivost | 0,813526±0,481565 | 2,20 | 0,1225 |
| HMF | 1,501277±1,145076 | 7,07 | 0 |
| % vlage | 15,88511±1,188236 | 18,8 | 13,8 |
| Ukupni fenoli | 0,812026±0,351975 | 1,766 | 0,261 |
| Antioksidacijska aktivnost | 585,7518±482,1101 | 1850,5 | 161,2 |

7. RASPRAVA

Zadatak ovog rada bio je izvršiti fizikalno kemijsku analizu 47 uzoraka meda prikupljenih u srednjoj i istočnoj Europi (Italija, Slovenija, Srbija, Bosna i Hercegovina, Mađarska i Hrvatska).

Fizikalno kemijske analize meda provedene su prema Pravilniku o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda (Narodne Novine br. 20/00 i 114/04). Dobiveni rezultati ukazuju da svi medovi zadovoljavaju kvalitetu prema Pravilniku.

Udio vode je važan parametar za određivanje kvalitete meda, jer ima utjecaj na trajanje samog meda. Svi uzorci su zadovoljili kriterij iz Pravilnika (Tablica 3). Raspon se kretao od 13,8 do 18,8% vode.

Električna provodljivost je kriterij koji nam može okarakterizirati pripada li med u skupinu nektarnih medova ili medljikovac. Rezultati (Tablica 3.) pokazuju da je bilo kako nektranih medova, tako i medljikovaca, jer je raspon od 0,1225 do 2,20 mS/cm.

Udio HMF- a je pokazatelj svježine meda. Prema Pravilniku HMF ne smije prelaziti 40 mg/kg. Dobiveni rezultati (Tablica 3) pokazuju da se vrijedosti HMF, a kreću od 0-7,7 mg/kg meda.

Sadržaj ukupnih fenola određen je Folin-Ciocalteu metodom, a rezultati su izraženi kao mg galne kiseline/kg meda. Dobiveni rezultati su (Tablica 3) se kreću od 0,261 do 1,766 mg/kg meda.

Za određivanje antoksidativnog kapacitea korištena je metoda sa DPPH. Rezultati dobiveni DPPH metodom izraženi su kao IC_{50} (mg/ml) tj. koncentracija meda (mg/ml) potrebna da se za 50% smanjuje početna vrijednost DPPH. To znači da je antioksidativni kapacitet viši što je niža vrijednost IC_{50} analiziranog uzorka. Dobiveni rezultati su se kretali u intervalu od 1850,5 do 161,2 mg/ml.

8. ZAKLJUČAK

Pčelarstvo je grana poljoprivrede koja se bavi uzgojem pčela radi dobivanja pčelinjih proizvoda i oprašivanja uzgajanih kultura. Najvažniji nusproizvod pčelarenja je med. Danas se koristi u izvornom obliku za prehranu, a ima primjenu i u farmaciji, kozmetici, duhanskoj industriji, industriji alkoholnih pića, koristi se kao konzervans, a postoji još mnogo drugih načina korištenja korisnih svojstava meda.

S obzirom na porijeklo nastanka meda, postoje tri vrste meda, a to su cvjetni, medljikovac i miješani med. Cvjetni med se može dalje podijeliti prema vrstama biljaka od kojih su pčele sakupile nektar. Uvjeti za med koji se stavlja na tržište određeni su zakonom, anjegova kvaliteta ovisi o okolišnim uvjetima, no i o sposobnosti pčelara da taj med pravilno izvrcu i skladišti.

Kemijski sastav meda dugo nije bio poznat, jer je izrazito složen, a ta kompleksnost sastava daje medu kao namirnici izrazito ljekovita svojstva. Med se sastoji od organskih i anorganskih spojeva, te mineralnih tvari. Organske tvari u medu su: šećeri, proteini, vitamini i organske kiseline. Ostatak meda čini voda, mineralne tvari, fenolni spojevi i hlapljive komponente.

Provođenjem eksperimentalnih analiza, rezultati su pokazali da otopine svjetlijih medova imaju niži izmjereni pH, što im daje veću kiselost naspram medova tamnije boje. Električna provodljivost, a paralelno s njom i sadržaj pepela u tamnijim medovima su veći, osobito u medljici.

Mjerenjem vrijednosti ukupnih fenola i antioksidansa, rezultati su pokazali više vrijednosti u tamnijim medovima, a posebno visoke vrijednosti izmjerene su u medu od kadulje.

Vrijednosti hidrosimetilfurfurala i vlage u svim uzorcima meda su u propisanim granicama prema Pravilniku o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda (NN 20/00 i 114/04).

POPIS LITERATURE

1. Belčić, J., Katalinić, J., Loc, D., Lončarević, S., Peradin, L., Sulimanović, Đ., Šimić, F., Tomašec, I. (1985) Pčelarstvo: Šesto, dotjerano izdanje, Zagreb: Nakladni zavod Znanje, 646;
2. Bukraâ, L. (2014) Honey in Traditional and Modern Medicine: Traditional Herbal Medicines for Modern Times, Boca Raton: CRC Press, 444;
3. Franić, Z. (2017) Sigurnost, kvaliteta i krivotvorenje meda. Hrvatska pčela, 1/2017: 16-17 str;
4. Gjuračić, D. Fizikalno kemijske karakteristike različitih vrsta meda hrvatskoga i slovenskoga podrijetla. Završni rad. Veleučilište u Karlovcu, Prerada mlijeka, Prehrambena tehnologija. Karlovac, 2016.;
5. Hrvatska poljoprivredna agencija, Popis metoda. URL: <http://www.hpa.hr/popis-metoda/>. (25/6/2018);
6. Kapš, P. (2013) Liječenje pčelinjim proizvodima – Apiterapija: Prvo izdanje, Sveta Nedjelja: Biblioteka Dobar život, 440;
7. Kulinčević, J. (2016) Pčelarstvo: Deveto, dopunjeno izdanje, Beograd: Partenon, 325;
8. LORIFE – Department for hunting, fishery and beekeeping. URL: <http://lorife.info/> (1/6/2018.);
9. Mitrić, L. Fizikalno-kemijska svojstva meda. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu, Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda, Prehrambeno-biotehnološki fakultet. Zagreb, 2017.;
10. Petričko, P. Fizikalno-kemijski parametri cvjetnog meda kontinentalne Hrvatske. Završni rad. Veleučilište u Karlovcu, Prerada mlijeka, Prehrambena tehnologija. Karlovac, 2015.
11. Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda, Narodne novine, 20/2000, čl. 6, čl. 7, čl. 8;
12. Singh, M. P., et al. (2012) Honey as Complementary Medicine: - A Review. International Journal of Pharma and Bio Sciences, vol 37/ Issue 2, 19. - 20. Str;
13. Tucak, Z., Bačić, T., Horvat, S., Puškadija, Z.. (2005) Pčelarstvo: III. Dopunjeno izdanje, Osijek: Poljoprivredni fakultet Osijek, 251;
14. Spano, N., M. Ciulu, I. Floris, A. Panzanelli, M.I. Pilo, P.C. Piu: A direct RP-HPLC method for the determination of furanic aldehydes and acids in honey. Talanta 78, (2009) 310-314.

15. Islam, N., K. Khalil, I. AsifulandGan, S.K: Toxiccompoundsinhoney. Journal of Applied Toxicology, Volume 34, Issue 7, (2014) 733–742.
16. Kmeči, V., M.I. SmodišŠkerl: A comparison of twomethods for determination of HMF inhoneyandbeefood: HPLC methodversusspectrophotometricWinklermethod, 49. hrvatski i 9. međunarodni simpozij agronoma, Dubrovnik, 2014.
17. Bruce, W.R., M.C. Archer, D.E. Corpet, A. Medline, S. Minkin, D. Stamp: Diet, aberrantrypocycloandcolorectal cancer. Mutat. Res. 290 (1) (1993) 111-118

POPIS SLIKA

Slika 1. Otopine različitih vrsta meda za analizu, izvor: privatni

Slika 2. Radilica na saću, izvor: privatni

Slika 3. Leto LR košnice, izvor: privatni

Slika 4. Med u saću, izvor: privatni

Slika 5. Teglice meda različitog porijekla, izvor: privatni

Slika 6. Vaganje uzoraka, izvor: privatni

Slika 7. Spektrofotometar, izvor: privatni

Slika 8. Mjerenje pH-metrom, izvor: privatni

Slika 9. Konduktometar, izvor: <http://khanhlinhvn.com/may-do-do-dan-dien-s230-k-10408050.html>

Slika 11. RqfleX 10 reflektokvant za mjerenje HMF, izvor:

<http://www.capitolscientific.com/core/media/media.nl?id=1280163&c=1250437&h=4a2f9421e4a04a9a5db8>

Slika 12. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, izvor: privatni

Slika 13. Folin-Ciocalteu reagens, izvor: privatni

POPIS TABLICA

Tablica 1: Popis uzoraka meda za analizu

Tablica 2: Razrjeđenja u eppendorf tubama

Tablica 3: Prikaz svih rezultata analiziranih uzoraka meda

Tablica 4: Rezultati srednjih vrijednosti, standardne devijacije, te minimalne i maksimalne vrijednosti